

Universidad Nacional de Buenos Aires

Escuela para Graduados

Variación geográfica y genética en caracteres adaptativos iniciales de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser en una zona de alta heterogeneidad ambiental.

Tesis para optar al grado de

Doctor en Ciencias Agropecuarias

Autor: Ing. Forestal Víctor Alejandro Mondino

Esquel, octubre de 2014

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Leonardo Ariel Gallo

Ingeniero Forestal (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Forestales (Universidad de Göttingen)

Co-director

Mario Juan Pastorino

Ingeniero Forestal (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Forestales (Universidad de Göttingen)

JURADO DE TESIS

JURADO

María Mónica Poverene

Ingeniera Agrónoma (Universidad Nacional del Sur)

Doctora en Biología (Universidad Nacional del Sur)

JURADO

Silvana Beatriz Saidman

Licenciada en Química (Universidad Nacional de Tucumán)

Doctora en Química (Universidad Nacional de Tucumán)

JURADO

Daniel Renison

Licenciado en Biología (Universidad Nacional de Córdoba)

Doctor en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional de Córdoba)

Fecha de defensa de la tesis: 12/09/2014

DEDICATORIA

A Oscar y María mis padres, quienes me acompañaron, y forjaron.

A Pablo y Lucía, mis dos hijos, el mayor de los regalos que pude tener y al que les dedico e intento transmitir mi amor y pasión hacia todo lo que emprendo

A la memoria de Mario, apoyo incondicional en mi vida y Haydé, mi segunda madre

AGRADECIMIENTOS

Al INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), y a todos mis amigos y compañeros de trabajo, quienes siempre me alentaron a seguir luchando por los sueños.

A mi Director y Co-director, por su continuo apoyo en el desarrollo de la tesis.

A Luis Tejera, especialmente, quien siempre confió que podía enfrentar este desafío.

A Teddy Lloyd, quién me impulsó a esta capacitación y estimuló a trabajar en este tema.

A Martín Aguiar, sin cuyo apoyo no hubiese podido llegar a buen puerto, con su consejo oportuno.

A Alejandro Aparicio, quién en forma incondicional siempre estuvo sugiriendo, y prontamente ayudando a analizar mis datos.

A Teresa Schinelli Casares, con quien en el vivero, comenzamos a producir plantines de lenga.

A Jorge Rementería, Jorge Rocha, Martín Hourcade, Martín Gimenez y Ramiro Rojas, con quienes compartí jornadas de campo, carpa, caminatas y asados en las recorridas de cosecha en los bosques de lenga chubutenses.

A Martín Honorato, Sergio Aguerre, Rodrigo Barbosa, Chango Cárdenas, Benjamín Centeno, Elías Rivas, Pablo Castillo, Villegas, Cecilio Jones, Miriam Paredes, Amalia Price, Armando Escalona, todos ellos con quienes realicé las campañas de plantación y evaluación de ensayos a campo.

Al personal de la Subsecretaría de Bosques y Parques de Chubut, por su apoyo, coordinación de trabajos, mapas y estadísticas suministradas.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total como tesis en ésta u otra institución.

Víctor Alejandro Mondino

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	ix
INDICE TABLAS	xiv
INDICE DE FIGURAS.....	xix
Resumen	1
Abstract.....	2
1 INTRODUCCIÓN GENERAL: CARACTERIZACIÓN DESCRIPTIVA DE LA ESPECIE Y SU AMBIENTE.....	3
1.1 Justificación de la Tesis	5
1.2 Descripción ambiental	5
1.2.1 Geología y Geomorfología de la región Andinopatagónica	5
1.2.2 Clima	7
1.2.3 Historia glaciaria en la Patagonia.....	9
1.2.4 Glaciación en el área de estudio.....	10
1.2.5 Redistribución de las especies forestales patagónicas durante los procesos de cambio climático del Último Máximo Glaciario.....	11
1.2.6 Definición del área de estudio.....	13
1.3 Variación genética: importancia, causas y estimación	14
1.3.1 Fuerzas evolutivas modeladoras de la variación genética.....	14
1.3.2 Diversidad genética y variación geográfica.....	16
1.3.3 Marco conceptual de los métodos de evaluación de la variación geográfica.....	19
1.3.4 Caracteres cuantitativos adaptativos y no adaptativos	20
1.4 Objeto de estudio: la lenga	23

1.5	Finalidad, objetivo e hipótesis.....	25
1.5.1	Finalidad.....	25
1.5.2	Objetivo general	26
2	METODOLOGIA GENERAL	27
2.1	Muestreo.....	29
2.2	Mediciones seminales	32
2.3	Ensayos de ambiente común en vivero.....	32
2.4	Ensayos de ambiente común en el campo	34
2.5	Metodología Estadística.....	34
2.6	Parámetros de Variación Genética.....	36
3	VARIACIÓN EN EL GRADIENTE DE PRECIPITACIONES Y LATITUDINAL.....	43
3.1	Introducción.....	45
3.2	Variación natural en caracteres seminales	47
3.2.1	Materiales y Métodos	47
3.2.2	Resultados	51
3.3	Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento enplantines en vivero.....	58
3.3.1	Materiales y Métodos	58
3.3.2	Resultados	59
3.4	Variación en caracteres de vigor en plantas al año de su instalación en el campo.....	65
3.4.1	Materiales y Métodos	65

3.4.2	Resultados	66
3.5	Discusión	68
4	VARIACIÓN EN EL GRADIENTE ALTITUDINAL	75
4.1	Introducción.....	77
4.2	Variación natural en caracteres seminales	79
4.2.1	Materiales y métodos	79
4.2.2	Resultados	80
4.3	Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero.....	82
4.3.1	Materiales y métodos	82
4.3.2	Resultados	83
4.4	Variación en caracteres de vigor en plantas al año de su instalación en el campo.....	88
4.4.1	Materiales y métodos	88
4.4.2	Resultados	89
4.5	DISCUSIÓN.....	91
5	VARIACIÓN MORFOTÍPICA	95
5.1	Introducción.....	97
5.2	Variación seminal.....	101
5.2.1	Materiales y métodos	101
5.2.2	Resultados	103
5.3	Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero.....	104

5.3.1	Materiales y métodos	104
5.3.2	Resultados	105
5.4	 Discusión	107
6	VARIACIÓN GENÉTICA EN LENGA (Intrapoblacional)	109
6.1	 INTRODUCCIÓN.....	111
6.2	 Variación en caracteres seminales.....	113
6.2.1	Materiales y métodos	113
6.2.2	Resultados	113
6.3	 Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivo	114
6.3.1	Materiales y Métodos	114
6.3.2	Resultados	115
6.4	 DISCUSION.....	120
7	CAPITULO VI: DISCUSIÓN GENERAL.....	125
7.1	 CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS.....	126
7.2	 VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN LENGA.....	126
7.2.1	Ensayos de variación natural	127
7.2.2	Variación en ensayos de ambiente común	128
7.3	 VARIACIÓN GENÉTICA EN LENGA	133
7.3.1	Diversidad genética intrapoblacional	133
7.3.2	Diferenciación entre poblaciones	135
7.4	 IMPLICANCIA PARA EL MANEJO Y LA CONSERVACIÓN....	138

7.5 Conclusiones	139
8 BIBLIOGRAFIA GENERAL	142

INDICE TABLAS

Tabla 2-1: Poblaciones incluidas en al menos uno de los ensayos de la tesis: ubicación, precipitación media anual estimada por interpolación en el mapa de isohietas, año de cosecha y número de árboles cosechados.	30
Tabla 3-1: Caracteres seminales de lenga: peso de 100 semillas, largo y ancho de semilla, relación largo de semilla / ancho de se semilla (L/A), promedios poblacionales y entre paréntesis sus respectivos coeficientes de variación en %.....	51
Tabla 3-2: Análisis de la varianza de la regresión lineal para la variable peso de 100 semillas y Latitud y Precipitaciones.....	52
Tabla 3-3: Correlación de Pearson entre caracteres seminales: Peso de 100 semillas, Largo, Ancho y porcentaje de semillas llenas (<i>Ll</i>). Por debajo de la diagonal coeficientes de correlación y sobre la diagonal probabilidad asociada.....	54
Tabla 3-4: Partición del peso de semillas en los componentes peso de 100 embriones + endosperma (<i>EE</i>) y peso de la cubierta del fruto (<i>Cub</i>).....	54
Tabla 3-5: Promedios poblacionales del área, longitud del eje mayor y longitud del eje menor de los cotiledones de las poblaciones ensayadas (CV en %).	55
Tabla 3-6: Medias del porcentaje de germinación a los 28 días y tiempo de inicio de germinación (IG) para las 3 poblaciones y para los cuatro tratamientos pregerminativos utilizados en el ensayo de germinación de lenga (letras diferentes indican diferencias significativas $comp < 0,05$).	57
Tabla 3-7: Media, desvíos estándares (entre paréntesis) máximo y mínimo de la variable peso de 100 semillas para semillas cosechada en reiterados años en 3 poblaciones en la transecta latitudinal norte (2003-2009).	57
Tabla 3-8: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal de la pendiente de la curva de crecimiento (<i>S</i>) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones.	59

Tabla 3-9: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal del tiempo para la finalización de crecimiento (T_{90}) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones.	60
Tabla 3-10: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal de la duración del período de crecimiento (Dur) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones...	60
Tabla 3-11: Medias y CV para las poblaciones ensayadas para las variables obtenidas a través del modelo de crecimiento: H_0 = altura inicial, H_f = altura final, T_{50} = tiempo medio, S = pendiente, $Tasa$ = tasa máxima de crecimiento, T_{10} = inicio de crecimiento, T_{90} = cesación de crecimiento, Dur = duración del crecimiento.....	61
Tabla 3-12: Coeficiente de correlación de Pearson entre variables analizadas. Por debajo de la diagonal principal se presentan los coeficientes de correlación y por encima su significancia estadística (* = significativo, ns = no significativo).	63
Tabla 3-13: Medias poblacionales y CV (entre paréntesis) para las principales variables arquitecturales de los plantines de lenga ensayados: Longitud del vástago principal (L), diámetro (D), número de yemas del vástago principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primera orden (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de esbeltez (L/D), longitud promedio del entrenudo (L/NY), índice de ramosidad (L/NRI).	64
Tabla 3-14: Valores medios poblacionales de altura y diámetro al cuello con sus respectivos desvíos estándares (entre paréntesis) de las plantas ensayadas en el campo.	65
Tabla 3-15: Medias poblacionales (y CV) para las variables sobrevivencia, crecimiento, ápice seco (AS) y ramoneo en el ensayo de procedencias de lenga en el campo.....	67
Tabla 3-16: Medias de cada régimen de precipitación en los porcentajes de sobrevivencia y de ápices secos (AS) en el ensayo de procedencias de lenga en el campo y contrastes de a pares por test de Tukey ($p < 0,05$).	67

Tabla 4-1: Peso medio (y su error estándar) de 100 semillas en cada uno de los pisos altitudinales muestreados de cada población analizada.	80
Tabla 4-2: Valores medios de ancho de semilla y relación largo sobre ancho para los tres pisos altitudinales. Letras diferentes indican diferencias significativas.....	81
Tabla 4-3: Medias (y CV en %) para los sitios altitudinales ensayados para las variables obtenidas a través del modelo: H_0 = altura inicial, H_f = altura final, T_{50} = tiempo medio, S = pendiente, $Tasa$ = tasa máxima de crecimiento, T_{10} = inicio de crecimiento, T_{90} = cesación de crecimiento, Dur = duración.....	83
Tabla 4-4: Medias (y CV en %) para las variables arquitecturales relacionadas a vigor para los sitios altitudinales ensayados: Altura (L), diámetro (D), número de yemas del vástago principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primera orden (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de esbeltez (L/D), longitud promedio del entrenudo (L/NY), índice de ramosidad (L/NRI).	85
Tabla 4-5: Medias (y CV en %) para las variables arquitecturales relacionadas a forma para los sitios altitudinales ensayados: número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primer orden (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de ramosidad (L/NRI), bifurcaciones (B).	85
Tabla 4-6: Estimación de efectos fijos para la altura de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (MLM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) <i>a posteriori</i> del MLM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros, $pMCMC$ es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula.* denota diferencias significativas ($p < 0,05$).	86
Tabla 4-7: Estimación de efectos fijos para la altura de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (LMM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) <i>a posteriori</i> del LMM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros,	

<i>pMCMC</i> es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula. * denota diferencias significativas ($p < 0,05$).	86
Tabla 4-8: Estimación de efectos fijos para la longitud de entrenado (L/Y) de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (LMM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) <i>a posteriori</i> del LMM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros, <i>pMCMC</i> es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula. * denota diferencias significativas ($p < 0,05$).	86
Tabla 4-9: Promedios por piso altitudinal de origen y tipo de cobertura de las variables consideradas en la parcela baja de un ensayo de transferencias recíprocas (<i>Hf</i> : altura final, <i>Crec</i> : crecimiento, <i>Sob</i> : sobrevivencia, <i>AS</i> : ápice seco). Coberturas (sin cobertura (SC) y bajo dosel (BD)).	90
Tabla 4-10: Promedios por piso altitudinal de origen y sitio de ensayo de las variables consideradas en un ensayo de transferencias recíprocas (<i>Hf</i> : altura final, <i>Crec</i> : crecimiento, <i>Sob</i> : sobrevivencia, <i>AS</i> : ápice seco). Coberturas (sin cobertura (SC) y bajo dosel (BD)).	90
Tabla 4-11: Temperaturas letales para los diferentes órganos vegetativos de <i>Nothofagus pumilio</i> en las distintas estaciones del año. Extraído de Alberdi 1987.	93
Tabla 5-1: Test de Tukey para $p < 0,05$. Medias y diferencias significativas de largo, ancho y relación largo sobre ancho de semilla entre los morfotipos evaluados. Letras diferentes indican diferencias significativas.	103
Tabla 5-2: Medias (y CV, en %) de los parámetros estimados de las curvas de crecimiento para los morfotipos ensayados en cada población.	105
Tabla 5-3: Variación entre morfotipos para altura final ajustada del modelo de crecimiento. Salidas de modelo mixto, simulación Método de Markov (MCMC), letras diferentes denotan diferencias significativas (p de MCMC $< 0,05$).	105

Tabla 5-4: Variación entre morfotipos para pendiente máxima ajustada del modelo de crecimiento. Salidas de modelo mixto, simulación Método de Marcov (MCMC), letras diferentes denotan diferencias significativas (p de MCMC < 0,05).	106
Tabla 5-5: Medias y CV de las variables arquitecturales evaluadas: altura (H), diámetro (D), número de ramas de primer orden (R1), longitud de la rama más larga (LR1), relación altura sobre diámetro (LD), longitud de entrenudos (ent), relación altura sobre longitud de rama (lr).....	106
Tabla 6-1: Media y desvío estándar del peso de 100 semillas para las cuatro poblaciones estudiadas (N es el número de familias de cada población).....	113
Tabla 6-2: Medias (y CV en %) de los parámetros estimados para las curvas de crecimiento para las tres poblaciones analizadas. N es el número de familias analizadas por población. Letras diferentes denotan diferencias significativas, utilizando MCMC.	116
Tabla 6-3: Medias de parámetros arquitecturales (CV) estimados para cada población. N es el número de familias incluidas en cada población.	117
Tabla 6-4: Varianza genética aditiva (σ_A), coeficiente de variación genética aditiva ($CV_A\%$) y heredabilidad (h^2) para cinco variables medidas en plantines de lenga en cuatro poblaciones naturales. Coeficientes de diferenciación genética entre poblaciones (Q_{ST}) están indicados para cada variable en la columna a la derecha.	118

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Provincias geológicas patagónicas (modificado de Coronato y col. 2009). Referencias, 1: Cordillera principal, 2 cordillera patagónica norte, 3 cordillera patagónica sur y 4 cordillera fueguina.	7
Figura 1-2: Mapa de la Patagonia con la posición y distribución de la capa de hielo en el Pleistoceno, de Singer y col. 2004.	11
Figura 1-3: Distribución geográfica de <i>Nothofagus pumilio</i> (de Premoli 2004).	24
Figura 2-1: Poblaciones de lenga cosechadas, ubicadas sobre un mapa regional de la distribución natural de la especie (DGBYP Chubut 1997) con isohietas delineadas (Barros y col. 1979) y con el trazado del borde oriental del último máximo glacial (Glasser y col. 2008).	31
Figura 3-1: Interacción entre transectas Norte, Central y Sur y regímenes de precipitación seco, méxico y húmedo para el peso de 100 semillas.	52
Figura 3-2: Interacciones régimen de precipitación y transecta latitudinal para las variables a) ancho de semilla b) relación largo sobre ancho de semilla ($p < 0,05$).	53
Figura 3-3: Proporción de semillas llenas a) entre transectas latitudinales b) entre sitios de precipitación.	53
Figura 3-3: Variación del área foliar de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.	55
Figura 3-4: Variación de la longitud del eje mayor de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.	56
Figura 3-5: Variación de la longitud del eje menor de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.	56
Figura 3-7: Curvas medias por transecta (Norte, Centro y Sur) del crecimiento del segundo año de plantines de lenga, modeladas por regresión no lineal según ecuación de Boltzmann.	62

Figura 3-8: Medias y desvío estándar Por transecta latitudinal, para las variables finalización del período de crecimiento (T_{90}) (a) y duración del período de crecimiento (b) correspondiente a plantines de lenga en su segundo período vegetativo.	62
Figura 4-1: a) Laderas de bosque seco en el Cordón Esquel (población del Cerro La Hoya), b) Laderas de bosque mésico en el Cordón Rivadavia (población Huemules)...	79
Figura 4-2: Efecto de la altitud de origen para las variables derivadas de las curvas de crecimiento: a) tiempo medio (T_{50}), b) Pendiente (S), c) tiempo de inicio de crecimiento (T_{10}) y d) duración del período de crecimiento (Dur). Letras diferentes indican diferencias significativas con una $p < 0,05$	84
Figura 4-3: Interacción entre población y piso altitudinal para la longitud de ramas de primer orden.	87
Figura 4-4: Temperaturas mínimas para el período 26 de enero al 16 de mayo de 2007 para los dos pisos altitudinales en el ensayo de transferencia recíproca. Se resalta la temperatura mínima ocurrida el 15 de febrero de 2007.	89
Figura 5-1: Morfotipos consociados en el estrato de la <i>timberline</i> altitudinal de lenga. a) arbóreo, b) achaparrado, c) rastrero.	99
Figura 5-2: Timberline en la población La Hoya.....	102
Figura 5-3: Efecto de la interacción del origen de la semilla y el morfotipo, para el peso de 100 semillas.	103
Figura 6-1: Simulación de curvas de crecimiento promedio para las tres poblaciones ensayadas, obtenidas a partir de los parámetros generados por la función Boltzmann.	116
Figura 7-1: Distribución geográfica de los clusters inferidos mediante el análisis bayesiano de la estructura poblacional (BAPS). <i>c1-c7</i> : clusters genéticos. De Soliani (2012). (Los colores indican diferentes clusters). Poblaciones de la provincia de Chubut incluidas en el análisis: La Hoya (H), Huemules (Hm), Trevelin (Te), Nahuel Pan (NP), Lago Guacho (G), Lago del Engaño (Eg), José de San Martín (JSM), Lago Fontana (F), Río Unión (U), Arroyo Perdido (AP).....	131

Resumen

La diversidad genética es un requisito para el cambio evolutivo. Por consiguiente, la conservación de la diversidad genética dentro de las especies es importante para asegurar el potencial de adaptación en un medio ambiente cambiante. La variación genética de los rasgos de importancia adaptativa se puede medir mediante la observación de la variación fenotípica en los ensayos de ambiente común.

De acuerdo a su área de distribución y productividad potencial, *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) es la especie arbórea nativa más importantes de la Patagonia. Se halla en bosques puros en el límite superior arbóreo a ambos lados de la Cordillera de los Andes. El objetivo de este estudio fue evaluar la variación geográfica y genética de poblaciones naturales de la especie en rasgos cuantitativos potencialmente adaptativos. Se muestrearon poblaciones naturales de la Provincia de Chubut representando los tres gradientes ambientales más relevantes de su área de distribución: latitudinal, altitudinal y de precipitación. Se analizó variación natural en caracteres seminales y se instalaron ensayos de ambiente común en los que se evaluaron variables correspondientes a plántulas en invernadero y plantines en campo. Con los datos obtenidos se estudió variación en caracteres cuantitativos entre y dentro de poblaciones. Los resultados principales muestran evidencias de variación clinal y ecotípica en los gradientes latitudinal y altitudinal, respectivamente, con indicios de adaptación local en el caso del gradiente altitudinal. También se verificó variación genética entre morfotipos. En algunas de las variables consideradas se registró una importante diversidad genética, tanto entre como dentro de poblaciones, mientras que en otras la diversidad fue muy baja.

En la discusión se da cuenta del complejo patrón de variación geográfica y genética de la especie, presumiblemente determinado por factores históricos (probablemente relacionado con la última glaciación) y la presión de selección que opera actualmente. Las diferencias fueron evidentes en los gradientes evaluados y entre los diferentes tipos de caracteres, operando procesos de adaptación local y plasticidad fenotípica en un equilibrio variable.

Palabras claves: adaptación, conservación, plasticidad fenotípica, genética cuantitativa, *Nothofagus pumilio*.

Abstract

Genetic diversity is a prerequisite for evolutionary change. The conservation of genetic diversity within species is therefore important in order to ensure the potential for adaptation in a changing environment. Genetic variation for traits of adaptive importance may be measured by observation of phenotypic variation in common garden experiments.

According to its distribution area and potential productivity, *Nothofagus pumilio* (Poepp. Et Endl.) is the most important native tree species of Patagonia. It builds pure forests up to the treeline at both sides of the Andean Cordillera. The aim of this study was to assess the amount and distribution of geographic and genetic variation of its natural populations in potentially adaptive quantitative traits. Several natural populations from the Chubut province were sampled in order to evaluate variation across the three most relevant environmental gradients of its range: precipitation, latitudinal and altitudinal. Natural variation in seed traits was analyzed, and several common garden trials were installed at which seedling and sapling traits were analyzed in greenhouse and in the field respectively. Data were utilized to study variation in quantitative traits at the inter and the intra-population level as well. Evidence supporting ecotypic and clinal variation was found in the latitudinal and altitudinal gradients respectively, and also the presence of genetic variation among morphotypes linked to local adaptation processes. Considerable genetic diversity was recorded, both among and within populations, which varied in the amount of genetic diversity they possessed.

It can be concluded that *N. pumilio* presents a complex pattern of geographic and genetic variation, determined by both historical factors (probably related to the last glaciation) and selection pressure that currently operates. Differences were evident in each of the gradients evaluated and among different kind of traits, with local adaptation processes and phenotypic plasticity operating in a varying balance.

Key words: adaptation, conservation, phenotypic plasticity, quantitative genetics, *Nothofagus pumilio*.

1 INTRODUCCIÓN GENERAL: CARACTERIZACIÓN DESCRIPTIVA DE LA ESPECIE Y SU AMBIENTE

1.1 Justificación de la Tesis

La diversidad genética es esencial para la sobrevivencia a largo plazo de las especies. Sin ella, las especies no pueden adaptarse a los cambios ambientales y son más susceptibles a la extinción (Amos y Harwood 1998). La variación genética que se produce en árboles forestales suele estar asociada a diferencias ambientales entre los lugares en donde crecen.

La lenga (*Nothofagus pumilio* [Poepp. et Endl.] Krasser) es la especie forestal nativa más importante en la Patagonia y la segunda de mayor importancia en Argentina en cuanto a la superficie que ocupan sus bosques y al volumen de madera aserrado. Cubre en nuestro país una superficie aproximada de 1.019.870 ha (Secr.Amb.Desarr.Sust.Nac. 2007) distribuyéndose en las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. Dado este amplio rango geográfico de distribución, sin dudas asociado a varios gradientes ambientales, entre los que se destacan el latitudinal y el de precipitaciones (Dimitri 1972, Donoso 1993, Prémoli 2004, Donoso 2006, Tortorelli 2009), la lenga es una especie adecuada como objeto de estudio para el análisis de procesos de adaptación. Se suma a las condiciones ambientales actuales en las que vegeta la especie, una rica historia glaciaria reciente que se espera haya impactado sobre los acervos genéticos de la lenga.

La conservación de la diversidad genética en las especies es importante para asegurar el potencial evolutivo de las poblaciones para futuras adaptaciones (Eriksson 2006). Conocer la variación genética entre y dentro de las poblaciones puede ser útil tanto en la priorización de las poblaciones para la conservación como en el desarrollo de prácticas sostenibles en la gestión de los recursos naturales (Lynch y Walsh 1998, Young y col. 2000).

1.2 Descripción ambiental

1.2.1 Geología y Geomorfología de la región Andinopatagónica

Geológicamente la Patagonia se puede dividir en dos grandes subregiones: la Patagonia Andina, integrada por cadenas montañosas plegadas en el Terciario y con una intensa actividad volcánica y plutónica, y la Patagonia Extraandina caracterizada por mesetas, con amplias depresiones y valles fluviales, resultantes de los depósitos sedimentarios y volcánicos de los bloques tectónicos del antiguo subsuelo (Coronato y col. 2009). El área de cordillera es la que ha sido mayormente afectada por las diferentes glaciaciones, y ha estado sujeta durante los periodos de glaciación y deglaciación a una dinámica de alternancia de climas fríos y secos con cálidos y húmedos, con dominio de vegetación esteparia durante los periodos glaciarios y con avance de la vegetación dominada por leñosas en los interglaciarios.

De esta configuración morfoestructural, se han reconocido diferentes provincias geológicas, definidas como unidades naturales caracterizadas por una secuencia estratigráfica, peculiares características estructurales y geomorfológicas y una historia geológica particular. Siguiendo a Coronato y col. (2009), el área andina en particular, está integrada por cuatro provincias geológicas (ver Figura 1-1): la Cordillera Principal, desde el norte de la Provincia de Neuquén hasta los 39° S, la Cordillera Patagónica Norte, desde los 39° hasta los 44° 30' S, la Cordillera Patagónica Sur, desde los 44° 30' S hasta el extremo continental, y la Cordillera Fueguina en la Isla de Tierra del Fuego. El sector denominado Cordillera Patagónica Norte se caracteriza por su baja altitud relativa,

con alturas superiores cercanas a los 2.500 m snm (Folguera y Ramos 2002), diferenciándose por esta característica fundamentalmente de la Cordillera Principal y de la Cordillera Patagónica Sur que presentan mayores altitudes.

Geomorfológicamente, la provincia geológica Cordillera Patagónica Norte presenta dos sectores diferenciados, divididos aproximadamente a los 42° S. El sector norte presenta mayores altitudes (volcán Lanín 3.776 m snm, volcán Tronador 3.491 m snm), con cordones montañosos y valles orientados con dirección Oeste-Este, que favorecen el ingreso de las masas de aire húmedo provenientes del océano Pacífico. El sector sur presenta las menores altitudes de la cordillera de los Andes Continentales, las que no sobrepasan los 2.515 m snm que alcanza el cerro Dos Picos (máxima altura de la provincia de Chubut), (Del Valle y Cambra 1978). El tipo de relieve y la orientación de los valles constituyen rasgos significativos para este ambiente. Los valles son en promedio de baja altitud sobre el nivel del mar, aunque profundos, y discurren en general con dirección norte - sur, paralelos a la Cordillera. Como consecuencia, la divisoria de aguas no se encuentra en la línea que une las altas cumbres de la Cordillera propiamente dicha, sino que se desplaza hacia el este, dentro de la región montañosa más baja de precordillera. La mayor influencia glaciaria a su vez se refleja en estos valles cordilleranos y en el área andina. Por lo tanto, el sector de la Cordillera de los Andes comprendido entre los 42° S y 45° S es el de menor altitud (sin incluir los Andes Fueguinos), y geomorfológicamente se caracteriza por cordones montañosos orientados en dirección N-S, surcados por valles netamente andinos.

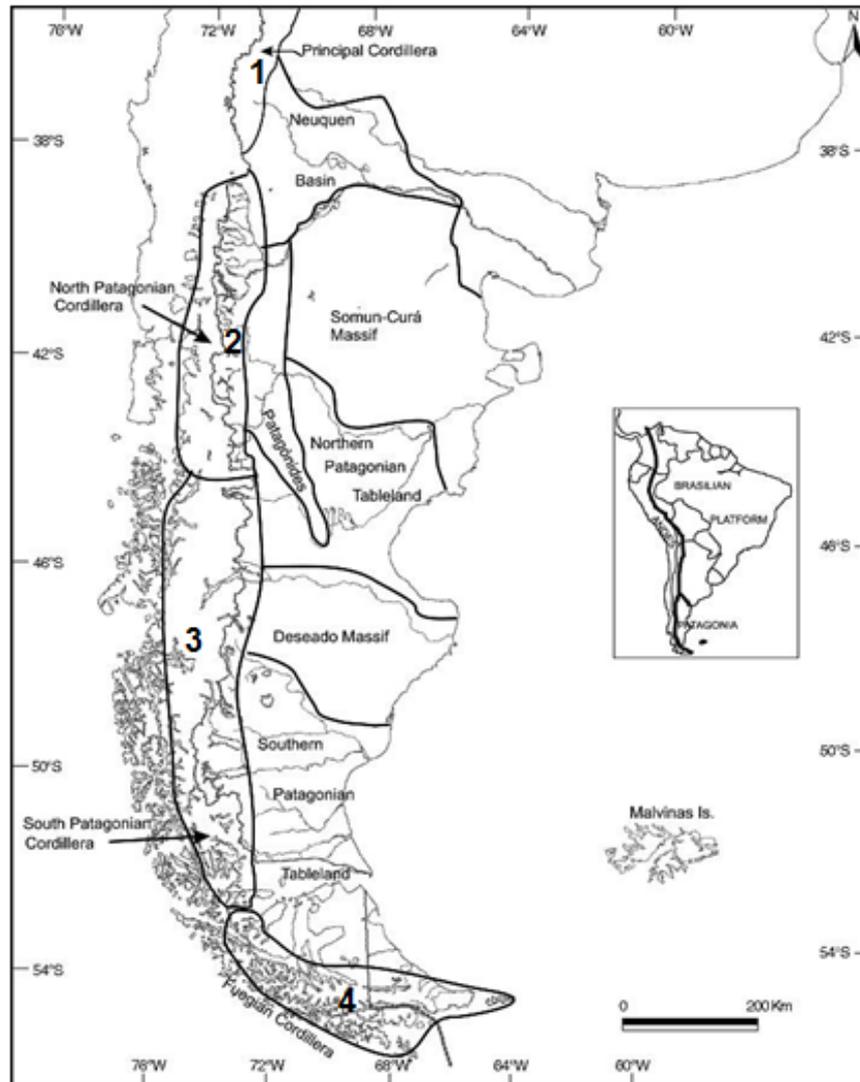


Figura 1-1: Provincias geológicas patagónicas (modificado de Coronato y col. 2009). Referencias, 1: Cordillera principal, 2 cordillera patagónica norte, 3 cordillera patagónica sur y 4 cordillera fueguina.

Del Valle y Cambra (1978) describen para la Provincia de Chubut cinco unidades morfológicas, una de las cuales se halla en la región andina: el área montana, que incluye la cordillera y precordillera. Está caracterizada por los grandes afloramientos rocosos que constituyen los cordones montañosos propiamente dichos, pero también por la presencia de lomas de origen glacial de diferentes altitudes, redondeadas y constituidas por material morénico mezclado con arena y/o ceniza volcánica, abanicos fluviales formados en la desembocadura de torrentes temporales de montaña y sucesión de cerros y/o cordones de arrumbamiento.

1.2.2 Clima

La región patagónica está entre los anticiclones del Océano Atlántico y el Océano Pacífico a los 30° S aproximadamente y el cinturón de baja presión que se sitúa a los 60° S aproximadamente (Paruelo y col. 1998). El movimiento estacional de los centros de alta y baja presión y las corrientes oceánicas ecuatoriales determinan los

patrones de precipitación. Durante el invierno la zona de baja presión subpolar es más intensa, y combinada con el desplazamiento ecuatorial del centro de alta presión del pacífico y la mayor temperatura oceánica que la temperatura continental, produce un incremento en las precipitaciones en esta estación del año. Los vientos del noroeste asociados a las vaguadas frontales producen precipitación sobre la franja cordillerana, y el vapor de agua restante sólo da lugar a la formación de nubes medias y altas que no producen precipitación pero que contribuyen a reducir sensiblemente la radiación solar en toda la región. La precipitación en la Patagonia fuera de la zona cordillerana se produce generalmente con frentes estacionarios cuando el anticiclón, asociado al frente en la masa fría, aporta vientos húmedos desde el Atlántico. Estas precipitaciones son de tipo estratiforme, continuas en tiempo y extendidas por cientos y hasta miles de kilómetros. Estas mismas condiciones de tiempo también pueden producir precipitaciones en la vertiente occidental de la Cordillera de los Andes.

El clima de la región patagónica puede ser definido como templado a templado frío. La temperatura media en la región es relativamente fría para la latitud debido a las corrientes marinas frías en ambos océanos, pero también contribuye a ello la altura. La temperatura varía con la latitud, aunque en forma moderada debido al efecto homogeneizador de las corrientes marinas, y en mayor medida con la altura sobre el nivel del mar, por lo que se establece un fuerte gradiente meridional ya que la altura aumenta hacia el Oeste.

En invierno el gradiente de disminución de las temperaturas con el aumento de la latitud se reduce notablemente. En julio las temperaturas medias van de 7° C en el norte de Río Negro hasta 0° C en Ushuaia. Las temperaturas mínimas extremas se dan desde Santa Cruz hasta Río Negro y Neuquén en la meseta patagónica y están cercanas a los -20° C (Fundación e Instituto Torcuato Guido Di Tella 2006). Durante el verano el aumento de temperaturas con la disminución de la latitud aumenta considerablemente. Así, durante enero las temperaturas medias mensuales en el norte llegan a más de 22° C mientras que en el sur, en Tierra del Fuego, se hallan en torno de los 9° C. Las temperaturas extremas superan los 30° C en prácticamente toda la región, excepto en Tierra del Fuego y en las alturas de la Cordillera (Paruelo y col. 1998).

Los vientos intensos son otra característica relevante del clima patagónico. Se trata de un factor adicional de aridez ya que aumentan la evaporación y transpiración. Asimismo, son un factor erosivo que actúa vigorosamente debido a la frágil cubierta vegetal, proceso que involucra una vasta superficie en el sector árido y semiárido. Las direcciones prevaecientes son del cuadrante oeste (desde el sudoeste al noroeste) que suman alrededor del 60 % del tiempo y en algunos lugares mucho más (Jobbágy y col. 1995), con velocidades promedios anuales cercanas a los 10 m/s.

Para el sector oriental de los Andes la cordillera desempeña un rol crucial en el clima de la Patagonia. En el sector Centro-Norte del área de trabajo del presente estudio, Jobbágy y colaboradores (1995) hallaron que la distancia a la Cordillera de los Andes explica el 94 % de la variación espacial de la media de la precipitación anual. El fenómeno climático descrito determina un acentuado gradiente pluviométrico de Oeste a Este, pasando de más de 3.000 mm a menos de 200 mm anuales desde la franja oriental de la Cordillera hacia el sector occidental de las sierras y mesetas que limitan al Este (Colombani y Arbutis 2008). El límite de la distribución de los bosques de ecotono de lenga, está dado aproximadamente por la isohieta de los 400 - 500 mm anuales, donde se localiza el sector precordillerano, que coincide en el área de estudio aproximadamente con la traza de la Ruta Nacional N° 40. Las precipitaciones en esta

área están mayormente concentradas en invierno (46% ocurren en invierno, 27 % en otoño, 16% en primavera y 11 % en verano) (Jobbágy y col. 1995).

1.2.3 Historia glaciaria en la Patagonia

La distribución presente de la diversidad genética en árboles de bosques templados ha sido influenciada por factores históricos, incluyendo el tamaño y número de refugios durante la última edad de hielo, las rutas de colonización post-glaciaria y el número de individuos fundadores involucrados en el establecimiento de las nuevas poblaciones (Hewit 2000).

El clima de la Patagonia y Tierra del Fuego ha sufrido significativas variaciones durante el Cenozoico, particularmente desde el Mioceno (Rabassa 2008). Se han hallado evidencias de antiguos procesos de glaciación en distintos lugares de la región datados entre 10,5 y 5,1 MA correspondientes a finales del Mioceno (Mercer 1976, Ton-That y col. 1999, Coronato y col. 2004, Rabassa 2008). Durante el Pleistoceno las glaciaciones fueron numerosas, tal como las evidencias de las mismas, las que a veces fueron tan extensas que abandonaron el dominio cordillerano e invadieron la Patagonia extra-andina.

Los hielos tuvieron la máxima expansión hacia el este hace aproximadamente 1 millón de años, durante la denominada Gran Glaciación Patagónica (GGP) (Mercer 1976). Debido a que la excentricidad de la órbita terrestre fue máxima, se desarrolló una capa de hielo continua que cubrió a la Patagonia completamente desde los 36° S a los 56° S, abarcando tanto la Patagonia andina como la extra-andina y la actual plataforma continental a la latitud de Río Gallegos, y al nivel del mar en el Océano Pacífico (Rabassa 2008). Hasta el momento, los estudios para vincular el alcance y extensión de los distintos eventos glaciarios permiten definir una serie de seis o siete glaciaciones de diferente edad (Rabassa y col. 2000).

Durante el último máximo glaciario (UMG), hace unos 20.000 años (Rabassa 2008), los Andes Patagónicos desde los 38° S hacia el sur estaban cubiertos por una capa de hielo. Al norte de esta latitud, la glaciación de tipo alpina fue discontinua y se restringió a las altas cuencas de los valles cordilleranos. Gran parte de la Isla de Tierra del Fuego también estuvo cubierta por glaciares que descargaban la calota que cubría la Cordillera Darwin (Coronato y col. 2004, Rabassa y col. 2000). En Sudamérica, los estudios más completos y con mejor control cronológico de la última glaciación se ubican en la región de los grandes lagos de Chile / isla de Chiloé, correspondientes a la Glaciación Llanquihue (Lowell y col. 1995, Moreno 1997).

El clima dominante en la Patagonia andina durante el UMG fue similar al de la tundra en la actualidad, generándose un área aledaña a los glaciares denominada ambiente periglaciario, con la presencia de permafrost, o sea las capas superficiales del suelo congeladas. El área periglaciaria se habría extendido hasta el área extra andina (Trombotto 2000).

1.2.4 Glaciación en el área de estudio.

Estudios estratigráficos de las últimas morenas de avance (menos de 20.000 años AP) revelan diferentes patrones de glaciación entre el norte y el sur de la Patagonia (Glasser y col. 2008). Al norte de los 40° S, los glaciares fueron de menor dimensión y ocuparon predominantemente los valles de dirección oeste - este. Por lo tanto, hubo más micro hábitats potenciales como refugios glaciarios para las especies arbóreas. Una capa más continua de hielo caracterizó el sur de la región (de los 44° a 55° S) donde la menor altura de la Cordillera de los Andes promovió la formación de extensas capas heladas que cubrieron toda el área. A medias latitudes (42° a 44°S), una zona de transición fue descrita con características particulares. En esta zona, las cadenas montañosas, caracterizadas por su orientación norte - sur, y la existencia de un paso de baja altitud, aproximadamente en los 43° S, el valle del Río Grande (Futalefú), permitió el avance de un gran lóbulo glaciario hasta las inmediaciones de Esquel (Flint e Hidalgo 1969). Esta gran masa glaciaria pudo haber constituido una barrera que impidió el flujo génico entre las poblaciones relicticas ubicadas al norte y al sur de dicho lóbulo glaciario. Además, en el momento de la migración y la recolonización, el predominio de vientos del oeste también determinó condiciones climáticas intermedias en esas latitudes (Markgraf 1993, Markgraf y col. 2003).

En el presente trabajo se diferencian por lo tanto tres sectores. El sector Norte incluye el área al este y oeste de la Cordillera de los Andes entre los 38° S y 44° S, en el distrito de los Lagos Chilenos y las provincias de Río Negro, sur de Neuquén, y norte de Chubut (Figura 1-2). En la vertiente occidental de los Andes se desarrollaron grandes glaciares a piedemonte que labraron profundamente las cuencas, marcadas por terminales de morena cóncavas, en donde se desarrollan los lagos que imponen el nombre al distrito (Glasser y col. 2008). El paisaje fluvial pre-glacial fue eliminado por la erosión glacial, estando actualmente dominado por valles cortos, amplios y profundos (Glasser y col. 2008). En la vertiente oriental, en cambio, los glaciares fueron más restringidos en su extensión, formando los típicos glaciares de valles alpinos, demarcados por morenas simples que atraviesan dichos valles. El paisaje fluvial pre-glacial sigue estando intacto en gran parte, con valles fluviales bien desarrollados y patrones de drenaje dendríticos. Se presenta un fuerte contraste entre el oriente y el occidente de la Cordillera de los Andes tanto en el estilo de glaciación como la modificación del paisaje por efecto de la misma (Glasser y col. 2008).

El sector central incluye el este y el oeste de la cordillera de los Andes entre los 44° S y los 51° S, desde el sur de la Isla de Chiloé en el límite septentrional hasta los campos de hielo sur en el límite austral (Figura 1-2). Hay una fuerte influencia geológica estructural y tectónica en el paisaje de esta región. En la vertiente oeste de los Andes, grandes fiordos han sido labrados por antiguos glaciares, por lo que en la actualidad es escasa la extensión de tierra. Actualmente quedan dos grandes campos de hielo (Campo de Hielo Norte y Campo de Hielo Sur) en este sector (Glasser y col. 2008).

El sector sur incluye las vertientes este y oeste de los Andes meridionales entre los 51° - 56° LS, desde el sur de los campos de hielo Sur hasta la isla de Tierra del Fuego.

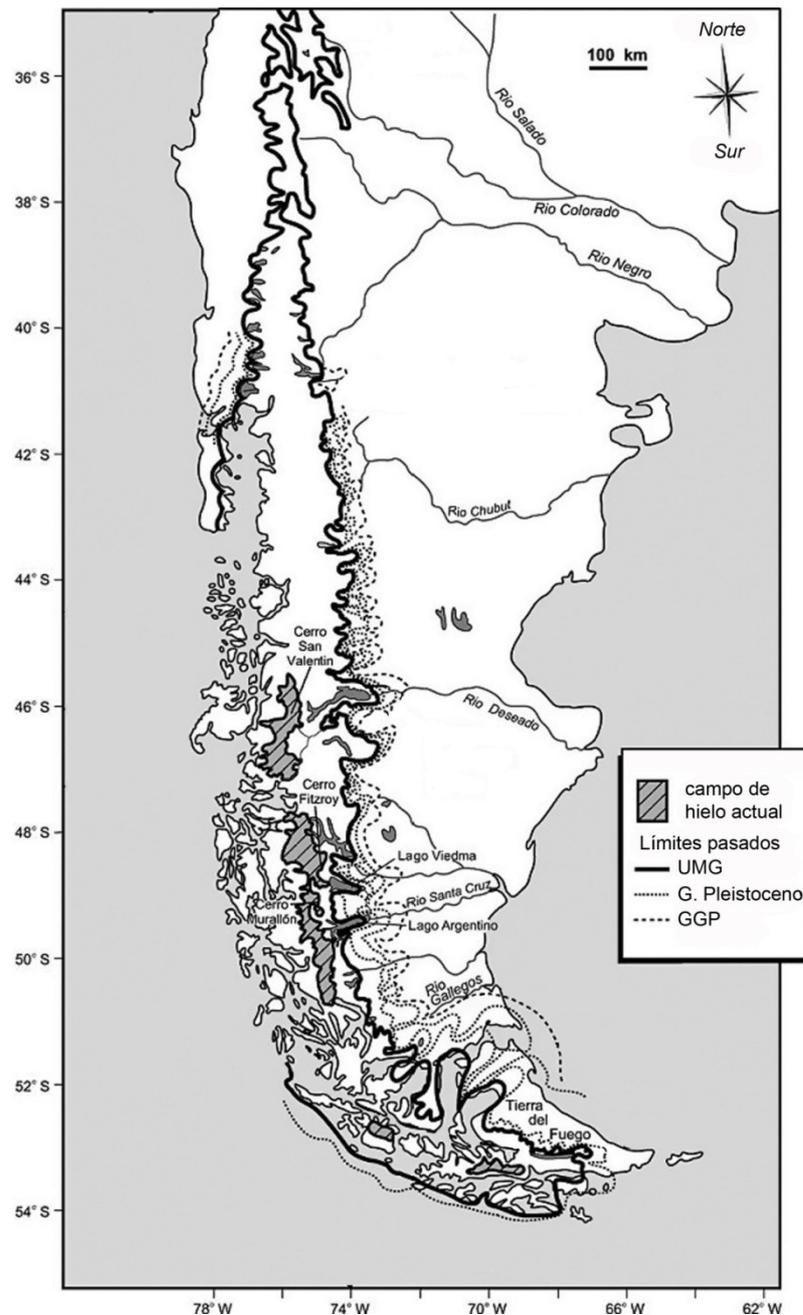


Figura 1-2: Mapa de la Patagonia con la posición y distribución de la capa de hielo en el Pleistoceno, de Singer y col. 2004.

1.2.5 Redistribución de las especies forestales patagónicas durante los procesos de cambio climático del Último Máximo Glaciar

La distribución de las unidades de vegetación refleja la interacción entre las características climáticas, geomorfológicas y edáficas en el área. Son particularmente importantes entre ellas la disponibilidad de precipitaciones, su distribución a lo largo del año, las características térmicas en relación al uso del agua y los mecanismos de sobrevivencia adoptados por las plantas. La distribución de los tipos de vegetación y las formas de crecimiento están correlacionadas con los parámetros climáticos (Mancini 2002).

El género ancestral *Nothofagoxylon* aparecería en el Oligoceno. Durante esta época y el Mioceno y Plioceno (entre 36,5 y 5,3 millones de años atrás) dominó un clima templado frío con un bosque con los elementos florísticos similares a los que existen hoy en los bosques templados de Chile y Argentina, dominados por *Nothofagus* y *Podocarpus* (Donoso 1998). Durante el período Cuaternario, existe poca información referida a los cambios en la vegetación, y la más precisa se refiere a la última edad glaciaria. Se ha datado polen de especies del género *Nothofagus* en aproximadamente 41.000 años antes del presente, tanto en el sector de Patagonia norte (39° S) como en el sector de Patagonia sur (estrecho de Magallanes en áreas actualmente ocupadas por estepa). En el sector norte la zona habría estado cubierta por bosques de *Nothofagus dombeyi*, *Nothofagus alpina*, *Araucaria araucana* y nuestra lenga (Donoso 1998). Posteriormente toda esta área fue cubierta por glaciares, y paralelamente se produjo una serie de erupciones volcánicas. Los cambios ocurridos en la vegetación son poco conocidos, abarcando algunos periodos específicos, como un estudio en la vegetación de Tierra del Fuego en un periodo interstadial hace 41.000 años, que demuestra que en esa época la vegetación existente en la zona era más abundante que la actual (Villagrán 1996). En el mismo periodo, a los 39° S en Argentina, el análisis de polen muestra que en sectores en que hoy existe una estepa árida, había una flora abundante con presencia de numerosas especies de *Nothofagus* (Villagrán 1996). Durante el post glacial se alternan en la Patagonia y Tierra del Fuego periodos secos y cálidos con húmedos y fríos, que implican la invasión de la estepa o invasión del bosque (Mancini 2002).

Una de las zonas mejor estudiadas en el período postglaciario es la Región de los Lagos, en Chile. En el período anterior a los 13.000 años AP se han las fases con vegetación herbácea pionera que precedieron a la colonización del bosque en la Isla de Chiloé. Entre los 14.000 y 13.000 años AP, registros palinológicos de la Región de los Lagos evidencian una simultánea y rápida expansión del bosque lluvioso y la fauna asociada, siendo el elemento florístico dominante el Bosque Nordpatagónico hasta alrededor de 9.500 años AP (Villagrán 1991). Con datos de distintos análisis de fósiles, se concluye que la temperatura media durante el clima glacial fue entre 4 a 5° C menor al clima actual, y el cambio de clima de modo glacial a interglacial ocurrió hace alrededor de 14.000 años AP. Los cambios climáticos fueron rápidos, y en un período de 1.500 años la biota glaciaria fue reemplazada por la biota de un bosque lluvioso (Ashworth y Hogart 1993). Entre los 9.500 y 3.000 años AP, se produjeron los cambios más notables en la composición de los bosques templados de la Región de los Lagos, observándose un retroceso de las Myrtáceas hacia los sitios más oceánicos de la Isla de Chiloé y la expansión de los elementos Valdivianos en la depresión intermedia Chilena. Estos cambios florísticos sugieren una disminución de las lluvias durante este período. En concordancia con esta interpretación climática, en los Andes se observó durante el Holoceno temprano y medio un ascenso altitudinal de *N. dombeyi*, taxa higrófilo y resistente al frío, y una notable expansión hacia el sur del bosque caducifolio de *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. La estructura florística actual del bosque templado de la Región de los Lagos se estableció solamente hace 3.000 años, con un aumento paulatino de las lluvias hasta sus niveles modernos (Villagrán 1991).

La primera hipótesis desarrollada sobre la ubicación de los refugios glaciarios en la región durante el UMG postuló su localización exclusiva en la Cordillera de la Costa (Villagrán y Arnesto 1993). Sin embargo, posteriormente numerosos trabajos en distintas especies abonaron la hipótesis de la presencia de varias áreas libres de hielo también al Este de la Cordillera de los Andes, las cuales se habrían constituido en centros de expansión de la vegetación luego de que el hielo se hubo retirado (Marchelli

y col. 1998, Premoli y col. 2000, Pastorino y Gallo 2002, Marchelli y Gallo 2006, Gallo y col. 2008, Azpilicueta y col. 2009, Marchelli y col. 2010, Premoli y col. 2010).

1.2.6 Definición del área de estudio

En el amplio gradiente latitudinal que actualmente ocupa la lenga, se observa la confluencia de variabilidad geomorfológica, climática actual y pasada y de historia glaciaria. Esta variabilidad de diversos aspectos determinantes de la historia evolutiva de la lenga, promovió diferentes condiciones de retrocesos y avances de las distintas poblaciones de la especie a lo largo de su área de distribución. Unificando estas perspectivas, es posible realizar una subdivisión latitudinal de la porción continental de la distribución de la especie en tres zonas con condiciones distintivas geológicas, geomorfológicas, de historia glaciaria, climáticas actuales y pasadas y de historia evolutiva de la especie. Resumiendo la información presentada hasta aquí se describen: una zona al norte de los 42° S, una zona intermedia entre los 42° S y los 45° S y una tercera zona al sur a los 45° S hasta el Estrecho.

La zona intermedia, comprendida entre los 42° y 45° S, corresponde al sector sur de los Andes Patagónicos Norte y constituye una zona de transición entre las zonas norte y sur, con características peculiares dadas su geomorfología e historia glaciaria. La vegetación es dominada por lenga y *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst. y las poblaciones más meridionales de *N. dombeyi*, con presencia de *Nothofagus betuloides* (Mirb.) Oerst. y *Nothofagus nitida* Ann. K. K. Hofmus en la vertiente occidental de los Andes. Paleoclimáticamente y glaciariamente presenta características comunes al sector norte y al sector sur, aunque a diferencia de lo para el sector Norte, no se han hallado evidencias de poblaciones que hayan servido de posibles refugios glaciarios durante el UMG. El límite sur de esta zona, ocupado actualmente por los lagos postglaciarios Fontana y La Plata, correspondería al sector glaciario sur, en donde una gran capa de hielo cubrió toda la extensión de los sitios ocupados actualmente por los Bosques Andinopatagónicos (Villagrán y col. 1996). El reavance de los bosques a estas latitudes, respondería a la hipótesis de la presencia de refugios glaciarios ubicados en la Cordillera de la Costa y en el Valle Central (Markgraf 1983, Villagrán 1991, Villagrán y Armesto 1993, Villagrán y col. 1996). En el sector comprendido entre las latitudes 42° y 44° S, como ya se describió, las cadenas montañosas orientadas de norte a sur, pueden haber actuado como barreras para el desplazamiento de las grandes masas de hielo desde el sector más húmedo occidental (con excepción del mencionado valle transversal del Río Futaleufú, a los 43° S), creando potenciales sitios al oriente para la existencia de refugios glaciarios (Martínez 2002).

Esta área central, localizada en la actual Provincia de Chubut, constituye por lo tanto un área de especial interés por su peculiar geomorfología e historia glaciaria. Ambos factores pueden haber influido sobre los patrones actuales e históricos de distribución y variación genética de la especie. La heterogeneidad propia de una zona de transición nos induce a la presunción general de mayor variación, tanto fenotípica como genética de nuestra especie de interés: la lenga.

1.3 Variación genética: importancia, causas y estimación

1.3.1 Fuerzas evolutivas modeladoras de la variación genética

La evolución puede ser definida como “los cambios acumulados en la composición genética de una población” (Hartl 2000). Dicha evolución acumulativa ocurre primariamente por el cambio en las frecuencias alélicas y genotípicas de las poblaciones a través del tiempo y el espacio, y estos cambios son modulados por las llamadas fuerzas evolutivas: la mutación, el flujo génico, la deriva genética y la selección.

Mutación: La mutación en un gen es un proceso de alteración de la secuencia de ADN en un cromosoma, refiriéndose tanto al proceso como al producto de dicha alteración (Futuyma 2005). Estas alteraciones pueden tener o no efectos en el aspecto externo del individuo (fenotípicos), y se asume que comúnmente se distribuyen al azar en el genoma.

Flujo Génico: El flujo génico se define como el intercambio de genes entre distintos individuos de una misma o diferentes poblaciones (Slatkin 1985). La magnitud de este factor depende de la distancia entre los individuos, la movilidad de las gametas o los propágulos (polen o semilla), el tamaño efectivo de la población, la forma de distribución de las poblaciones (e.g. continuas, alargadas), y los mecanismos de dispersión y / o apareamiento. Factores que restringen el flujo génico efectivo pueden ser: el escaso número de árboles reproductores, ambientes que dificulten la libre circulación del polen o semillas, y la presencia de barreras naturales físicas o biológicas (e.g. diferenciaciones en la fenología de la floración) (Spurr y Barnes 1980).

Selección Natural: El concepto de selección natural se define como la reproducción diferencial de los genotipos en una población. Desde el momento en que existen diferencias en éxito reproductivo de las distintas variantes genéticas, existe selección natural. La selección natural requiere que la variación fenotípica sea regulada genéticamente y que dé lugar a diferencias en la aptitud reproductiva (Eriksson y col. 2006).

La aptitud reproductiva de un genotipo es su capacidad de contribución con genes para la siguiente generación, y puede medirse a través del tamaño de su prole representada en la siguiente generación (Falconer 1986). Puede entonces decirse que expresa el resultado final de su desempeño en los procesos fisiológicos y de desarrollo, y que las diferencias entre individuos en estos procesos se manifiestan en la variación de atributos mensurables que los reflejan. La aptitud reproductiva relativa de un individuo se mide en referencia a la media de la población. Si una población no se está expandiendo ni contrayendo, la aptitud media de sus individuos es 1.

La aptitud relativa puede ser expresada por una medida estadística de las diferencias entre los individuos en su capacidad de transferencia de genes a la generación filial. Los componentes de la aptitud son: la probabilidad de sobrevivencia a edades reproductivas diferentes (viabilidad) y el número promedio de la descendencia producida a través de las funciones femenina y masculina (fertilidades) y selección gamética (Futuyma 2005).

La relación entre el fenotipo y la aptitud a menudo puede ser descrita como uno de los siguientes tres modelos de selección: para un rasgo cuantitativo (o sea una variable continua), la selección es *direccional* si un fenotipo extremo es más apto; es

estabilizadora en caso de que el fenotipo intermedio es más apto, o *diversificadora* (o disruptiva) si ambos fenotipos extremos son más aptos que el intermedio (Futuyma 2005). La relación entre el fenotipo y la aptitud puede depender del ambiente, ya que las diferentes condiciones ambientales pueden favorecer a diferentes fenotipos.

Vale la pena enfatizar que tanto la selección natural estabilizadora y direccional originan una reducción de variación genética dentro de la población, mientras que la diferenciación entre poblaciones se hace más grande. Por tanto, es importante distinguir entre la selección dentro de una población individual y la selección que se lleva a cabo a nivel de especie. Cuando se produce selección estabilizadora entre poblaciones con rasgos ambientales diferenciales, operando en los dos extremos de la distribución de un carácter biológico este proceso de selección convierte en disruptiva, siendo un mecanismo que puede llevar a la especiación (especiación simpátrica) aunque es poco frecuente.

Deriva génica: Es el cambio en la frecuencias alélicas que ocurre por azar debido al muestreo natural de los cruzamientos efectivos que se suceden en cada generación. Este efecto no se daría en una situación hipotética de poblaciones de dimensión infinita. Sin embargo, dado que el tamaño de las poblaciones en la práctica no es infinitamente grande, siempre se verifica algún grado de deriva génica, aunque el efecto sólo se vuelve relevante en las poblaciones pequeñas.

El predictor más importante de la magnitud de la deriva génica es el tamaño efectivo de la población. Mientras más pequeño es el número de descendientes de una población, mayor es el efecto de la deriva génica. El tamaño efectivo de una población es el número de individuos que intervienen en forma efectiva en los cruzamientos de la población y dejan consecuentemente descendientes. La variación en el éxito reproductivo disminuye el tamaño de población efectivo. En general, muchas poblaciones naturales tienen tamaños efectivos menores que su tamaño sensal, ya que una proporción variable de los individuos que las componen no se cruzan, no producen descendientes o lo hacen en forma despreciable. Por lo tanto la deriva genética es más importante que lo que a priori indicaría el tamaño poblacional estimado por el simple conteo de individuos adultos.

En poblaciones con tamaño efectivo pequeño, este factor es más importante que los otros factores evolutivos. En estos casos, los alelos en baja frecuencia tienden a perderse, y a fijarse los de mayor frecuencia a lo largo de un gran número de generaciones. La probabilidad de que un alelo particular se fije, cuando no hay otros factores evolutivos que operen en la población, es igual a su frecuencia inicial en la población (Whitlock y Philips 2001). Sólo los efectos de la mutación o la migración desde otras poblaciones pueden contrarrestar este efecto, manteniendo así un cierto nivel de variabilidad en el equilibrio entre la tasa de pérdida de variantes alélicas por deriva y la tasa de ganancia por mutación o migración. La deriva génica no descarta la selección natural, sólo que por el tamaño de la población disminuye el efecto de ésta. La deriva aunque cambia la frecuencia de los alelos en las poblaciones, y por lo tanto es un factor de la evolución, no aumenta la adaptabilidad de la población.

En especies forestales, con marcada periodicidad en la floración y fructificación, con ciclos además irregulares, este aspecto es muy relevante, ya que en los años de escasa floración y/o fructificación el número de individuos que efectivamente se aparean es mucho menor que el número de individuos en edad reproductiva en la población.

A largo plazo las poblaciones son muy sensibles a tamaños efectivos de población muy pequeños. Una sola generación en la cual el tamaño de población efectivo tome un valor muy bajo puede causar más cambios en la frecuencia alélica que muchas generaciones en una población de mayor tamaño.

Cuando una población reduce su tamaño de forma drástica tanto por causas naturales como antrópicas, desde el punto de vista genético este fenómeno se refiere como un “cuello de botella”, caracterizado por un fuerte proceso de deriva génica. Similarmente, un proceso migratorio, donde los nuevos propágulos arriban a un sitio donde no está presente la especie, de tal modo que se inicia un proceso de colonización, se refiere como “evento fundador”. En este caso también la deriva genética tiene un fuerte impacto sobre las frecuencias alélicas de la población en formación.

Relacionado con las fuerzas evolutivas descriptas anteriormente es necesario presentar el concepto de *plasticidad fenotípica*, que es la capacidad de algunos genotipos para responder a ambientes diferentes produciendo fenotipos distintos, sin que se haya producido un cambio genético (Pigliucci 2001, Chambel y col. 2005). La plasticidad puede manifestarse morfológica y fisiológicamente, y el rango de variación fenotípica de un mismo genotipo en diferentes ambientes para los caracteres seleccionados constituye la norma de reacción. Aún cuando se considera que la plasticidad fenotípica no compromete al genotipo, la capacidad de una especie para responder fenotípicamente y el grado de plasticidad de un carácter pueden estar bajo control genético. Por otro lado, la variación que pueda haber entre poblaciones de una especie en la plasticidad de un carácter, no está necesariamente correlacionada con la variación que pueda ocurrir en la plasticidad de otro carácter (Donoso y col. 2004).

1.3.2 Diversidad genética y variación geográfica

La diversidad genética es la variedad de alelos y genotipos presentes en un grupo biológico bajo estudio (Frankham y col. 2002), y es lo que hace que distintos individuos presenten diferencias morfológicas y fisiológicas aun dentro de una misma especie, de tal modo que algunos sean más resistentes que otros a estrés biótico o abiótico (Ramanata y Hodgking 2002). Así, la diversidad genética es la base para la sobrevivencia y la adaptación, de las que depende el éxito evolutivo. (Ramanatha y Hodgkin 2002).

La variación genética intraespecífica es comúnmente abordada a distintos niveles jerárquicos: en primer lugar la denominada variación geográfica que involucra la variación entre poblaciones localizadas en distintos sitios, y en segundo lugar la variación dentro de poblaciones, también denominada variación genética intra-poblacional (Zobel y Talbert 1994, White y col. 2007).

La variación geográfica hace referencia a las diferencias fenotípicas entre árboles nativos creciendo en diferentes porciones del área de distribución de una especie. Los patrones geográficos de variación en rasgos cuantitativos normalmente están asociados con patrones espaciales de variación ambiental, sugiriendo que estos patrones son primariamente el resultado de la selección (White y col. 2007). Existe una disciplina específica que estudia la variación geográfica: la genecología, definida como el estudio de la variación intraespecífica en relación con las condiciones ambientales (Aitken 2004). La variación genética dentro de poblaciones se refiere a la variación entre familias de una misma población y entre individuos de esas familias, y puede tener una gran importancia relativa.

La forma en que se distribuye la variación genética total de una especie entre y dentro de sus poblaciones naturales es lo que llamamos su patrón de variación genética. Estos patrones de variación genética reflejan la respuesta de las especies a las fuerzas evolutivas operando dentro del medioambiente actual y pasado, y pueden decirnos cómo las especies han evolucionado y pueden continuar evolucionando en el futuro (White y col. 2007).

El estudio de la variación geográfica en el área de distribución natural es entonces el primer paso para entender el efecto relativo de las fuerzas evolutivas sobre los acervos genéticos de una especie (White y col. 2007), las que en definitiva han sido responsables de la modelación de los patrones de variación observados en la actualidad. La variación geográfica es la variación intraespecífica en relación a las condiciones ambientales del área de distribución natural de la especie en consideración. Su importancia radica en que revela patrones de adaptación de las poblaciones a sus ambientes, resultantes de procesos de selección natural (Aitken 2004).

Los árboles individuales de una especie suelen variar bastante entre sí, aun cuando crezcan en el mismo sitio. Las diferencias que observamos (fenotípicas) entre individuos, son el resultado de tres factores: los diferentes ambientes en los cuales los árboles crecen, las diferencias genéticas entre los árboles y las interacciones existentes entre el genotipo de los árboles y los ambientes en los cuales estos crecen. Muchas de estas diferencias, especialmente las características cualitativas, están controladas genéticamente (Zobel y Talbert, 1994). Y muchas de esas diferencias genéticas han sido modeladas por procesos de adaptación a las condiciones ambientales. Un estudio de variación geográfica busca, entonces, describir la variación observada, pero también discriminar cuánto de genética, cuánto de ambiente y cuánto de interacción hay en los patrones de variación que observamos.

No sólo es importante probar la existencia de variación geográfica, sino también describir los patrones actuales que refleja la variación existente. Numerosos estudios morfológicos y morfométricos muestran una gran diversidad de patrones de variación geográfica. A través de una recopilación de estudios, Thorpe (1987) distinguió los siguientes patrones de variación geográfica: clinal, categórica, de transición, ecotípica, en mosaico, de divergencia independiente de poblaciones aisladas, microgeográfica, de tendencias geográficas en la divergencia y combinada. Sin embargo, de todos ellos dos son especialmente relevantes desde el punto de vista forestal: la variación clinal y la variación ecotípica (White y col. 2007).

Una clina es un gradiente continuo observado en un rasgo medible el cual se asocia con un gradiente ambiental (Daubenmire 1979, Zobel y Talbert 1994, Morgenstern 1996). La clina, por definición, está basada en una sola característica que muestra variación continua, la cual puede o no estar fijada genéticamente, y para una especie dentro del área natural de distribución puede haber una serie de clinas para características diferentes (Zobel y Talbert 1994). Cuando se puede asociar la variación clinal en un carácter con un componente genético, esto es evidencia de que la especie se ha adaptado a través de la selección natural al gradiente del medio ambiente (White y col. 2007).

Un ecotipo es un grupo de plantas con un acervo genético en común que ocupan un nicho ecológico específico (Zobel y Talbert 1994). Los ecotipos no siempre son distinguibles mediante características morfológicas, y con frecuencia sólo pueden separarse a través de diferencias fisiológicas, las cuales están relacionadas por lo

general a la aptitud de sobrevivencia (Rehfeldt 1979). Este concepto fue originalmente definido por Turesson (1922).

Dickinson y Antonovics (1973) investigaron el efecto de un ambiente variable y selección estocástica en una población finita por intermedio de un modelo de simulación, hallando una apreciable correlación genotipo - ambiente. Diferencias en los ambientes generan diferentes presiones de selección, que a la vez conducen a heterogeneidad genética, y ambientes heterogéneos generan muy a menudo barreras al flujo génico. Estas dos fuerzas actuando sinérgicamente (presión de selección diferencial y barreras al flujo génico) producen variabilidad genética entre poblaciones naturales (Linhart y Grant 1996). La diferenciación entre poblaciones es el mayor resultado de la evolución (Eriksson y col. 2006).

De acuerdo con la clásica visión neo-darwiniana, la adaptación a la variabilidad ambiental se da principalmente por medio del mecanismo de selección natural, generándose (en tiempos evolutivos) un ajuste entre la frecuencia de los genotipos (y sus fenotipos expresados) y el ambiente. De este modo, dada la existencia de variación genética dentro de las poblaciones, evolucionarían ecotipos adaptados a sus microhábitats particulares (Dickinson y Antonovics 1973, Linhart y Grant 1996). Sin embargo, se ha demostrado que la plasticidad fenotípica y la diferenciación de ecotipos no constituyen alternativas mutuamente excluyentes de adaptación a la heterogeneidad ambiental en las poblaciones (Scheiner y Goodnight 1984, Schlichting y Levin 1984, Macdonald y Chinnappa 1989, Andersson y Shaw 1994, Black-Samuelsson y Andersson 1997) por lo que un mismo genotipo puede estar adaptado a diferentes condiciones ambientales.

La metodología de análisis es crucial para poder detectar la variación geográfica, discriminar la raíz genética y ambiental de la misma, y dilucidar los patrones de variación subyacentes. El método del análisis de la varianza ha sido ampliamente usado para detectar variación asociada con rasgos ambientales utilizados como factores de clasificación, permitiendo así reconocer la variación ecotípica. El uso de la regresión multivariada, en cambio, es la metodología adecuada para detectar variación clinal en algún rasgo asociado a un gradiente ambiental. Clinas y ecotipos, lo mismo que regresiones y análisis de variancia, no son conceptos mutuamente excluyentes, sino que por el contrario pueden complementarse. Por ejemplo, el uso exclusivo de regresiones puede llevar a pasar por alto discontinuidades, o a no reconocer poblaciones individuales que se desvían significativamente de la regresión. A su vez, el hecho de que dos poblaciones difieran significativamente no justifica llamarlas ecotipos, y debe prestarse especial atención a que las discontinuidades observadas en una especie no sean una consecuencia artificial de un muestreo discontinuo (Callahan 1964). Especies de amplia distribución exhiben patrones muy complejos de variación geográfica que incluyen clinas y ecotipos en un variado rango de escalas (White y col. 2007).

La principal metodología para poder discriminar las bases genética y ambiental de la diferencia entre árboles de distintos ambientes son los ensayos de ambiente común ("*common garden*"). Estos son ensayos en los cuales distintas entidades genéticas (i.e. poblaciones, familias, genotipos) son criadas en un mismo sitio, de tal modo de controlar la componente ambiental, por lo que las diferencias que se manifiestan entre las entidades ensayadas se asocian mayormente a la variación genética (Frankham y col. 2002, Eriksson y col. 2006, White y col. 2007).

1.3.3 Marco conceptual de los métodos de evaluación de la variación geográfica

Para el estudio de variación de poblaciones naturales en caracteres cuantitativos se utilizan dos tipos de abordajes: el análisis de la variación natural y los ensayos de ambiente común. Los análisis de variación natural son estudios basados en el muestreo estadísticamente adecuado de caracteres expresados *in situ*, o sea en el ambiente en el que vegeta naturalmente cada una de las poblaciones evaluadas. Caben dentro de estos, por ejemplo, los estudios de variación ecofisiológica (Alberdi 1987), fenológica (Rusch 1993), de características seminales (Donoso 1977, Donoso 1979 a y b, Werner 1986, Donoso 1998, Marchelli y Gallo 1999, Ipinza y col. 2000), de características foliares (Hovenden y Vander Schoor 2003) y de crecimiento (Donoso y col. 1993) encontrados en la literatura. En estos casos, si bien se pueden estudiar diferencias significativas entre las distintas poblaciones para el carácter elegido, no es posible diferenciar el componente genético del ambiental dentro de la variación observada. Por este motivo, comúnmente los análisis de variación natural se basan en caracteres de los que se presume un alto control genético.

Los ensayos ideados para poder separar el componente genético del ambiental son los ensayos de ambiente común, propuestos por primera vez por Turesson en 1922. Estos pueden ser de larga o de corta duración.

Los ensayos de ambiente común de corto plazo se utilizan comúnmente para evaluar rasgos de alta relevancia adaptativa, por ejemplo momento de brotación, abscisión foliar, resistencia a frío, resistencia a estrés hídrico o arquitectura del plantín (e.g. Rehfeldt 1986, 1987; Aitken y col. 1996, Aitken y Adams 1997, O'Neill y col. 2000, 2001, Martínez-Trinidad y col. 2002, Cunningham y Read 2003, Nielsen y Jorgensen 2003, Savolainen y col. 2004, Notivol y col. 2007, Pastorino y col. 2010). Se pueden llevar a cabo en dispositivos experimentales instalados en el campo o en vivero, pero siempre de una duración de meses o unos pocos años. Usualmente se trata de ensayos de invernadero o cámaras de crecimiento bajo condiciones altamente controladas (experimentos manipulativos). El éxito de estos ensayos está relacionado con la correcta selección de los caracteres a evaluar, su diseño en función de las condiciones ambientales controladas y el efectivo control de las condiciones de ensayo. Muchos de estos ensayos se llevan a cabo para definir zonas o guías de transferencia de semillas, o sea pautas para minimizar el riesgo de maladaptación cuando se utiliza comercialmente semilla de procedencia no-local.

Entre los ensayos de ambiente común a largo plazo más comúnmente utilizados en la investigación forestal pueden citarse los ensayos de procedencia. Los ensayos tradicionales de procedencia han sido ampliamente difundidos en la investigación forestal, originalmente ideados para orientar plantaciones forestales comerciales con especies de valor económico. El objetivo principal de estos ensayos es asistir a la toma de decisiones sobre la selección de los mejores orígenes para reforestación, comúnmente con propósitos productivos. Estos tipos de pruebas de campo se han llevado a cabo para cientos de diferentes especies de árboles forestales, existiendo un amplio listado de excelentes trabajos realizados con esta metodología (Callaham 1964, Morgenstern 1996, White y col. 2007). Los ensayos de procedencia tradicionales requieren 5 pasos (Aitken 2004): colección de semillas, producción de plantines en vivero, plantación de ensayos a campo (en uno o múltiples sitios), medición de las variables seleccionadas y evaluación de las mismas.

Las procedencias pueden representarse con el uso de semilla a “granel” (“*bulk*”) de cada una de ellas o con semilla de familias de polinización abierta, incluyendo unas 10 o más familias por procedencia (White y col. 2007). En el caso del uso de semilla a granel se reduce el número de tratamientos por ensayo, pero a expensas de no conocer la variación familiar dentro de procedencias. En el caso de familias de polinización abierta se trata de semilla de la que se conoce su madre pero se desconocen los polinizadores, que se presumen múltiples y ubicados en el bosque en el que vegeta el árbol cosechado. Cuando el objetivo es caracterizar los patrones de variación geográfica clinal es mejor muestrear más orígenes antes que más árboles madres por localidad (White y col. 2007).

Otro tipo de ensayos utilizados para evaluar la variación geográfica son los denominados *de transferencia recíproca*. Estos consisten en ensayos de procedencia a campo en múltiples sitios, donde siempre una de las procedencias a ensayar es la local. De este modo se ensayan dos factores: las procedencias y los sitios, y el objetivo central es poder poner a prueba la existencia de interacción “sitio” por “procedencia”. Esta interacción es un tipo de interacción genotipo por ambiente que ocurre cuando las procedencias no tienen una performance consistente para un rasgo medido a través de un rango de ambientes experimentales (Aitken 2004, White y col. 2007). La existencia de esta interacción aporta a las hipótesis tanto de adaptación local como de plasticidad fenotípica (Pigliucci 2001).

1.3.4 Caracteres cuantitativos adaptativos y no adaptativos

Un carácter o rasgo es un aspecto de la totalidad o de una cierta porción de los patrones de desarrollo de un organismo. Un rasgo adaptativo es, entonces, un aspecto del cual el patrón de desarrollo tiene efecto sobre la sobrevivencia y/o reproducción de su portador en determinados ambientes (Dobzhansky 1956). En muchas plantas, algunas características de valor para la adaptación a ciertas condiciones ambientales tales como la frecuencia de la floración, la producción de semillas, el ritmo de crecimiento y la tolerancia frente a las enfermedades, muestran variación continua y se dice que son cuantitativamente variables o se los llama rasgos cuantitativos puesto que no varían en clases sino en la “cantidad” o grado de expresión del carácter. Estos caracteres están comúnmente gobernados por la acción de múltiples genes, por lo que se los denomina poligénicos. La acción de estos genes es en cierto grado aditiva, pero también se dan interacciones entre ellos, se traten de genes alelos de un mismo locus en el cromosoma (relaciones de dominancia o codominancia), o de genes de diferentes loci (relaciones epistáticas).

Algunos caracteres cuantitativos están directamente relacionados con la sobrevivencia y/o reproducción de las plantas que los portan, denominándose los “caracteres adaptativos” (“*fitness traits*”) o caracteres de historia de vida (“*life-history traits*”). En cambio existen otros que no afectan claramente la sobrevivencia o el éxito reproductivo, y son denominados “caracteres no adaptativos” (“*non fitness traits*”) o rasgos morfológicos, ya que muchos de ellos se refieren a la forma de las plantas (Mëriila y Sheldon 1999, Roff y Emerson 2006).

Tres grandes categorías de caracteres han sido citados a través de estudios teóricos y empíricos como importantes para determinar la aptitud reproductiva de las plantas: características seminales (morfológicas y referidas al proceso de germinación), características de crecimiento y arquitectura de plantas, y características fisiológicas asociadas con la captación de recursos (Farris y Lechowicz 1990).

Caracteres seminales: El tamaño de la semilla puede afectar su dispersión y predación, y el establecimiento, crecimiento inicial y sobrevivencia de la plántula (Walters y Reich 2000, Moles y col. 2003, Moles y Westoby 2004, Quero y col. 2007), teniendo por tanto importantes consecuencias ecológicas. Este rasgo funcional es expresado comúnmente a través del peso de la semilla, lo que permite comparaciones indirectas de los componentes de aptitud mencionados (i.e. sobrevivencia, movilidad) entre y dentro de poblaciones naturales. Diferencias de peso pueden reflejar efectos de selección causados por factores ambientales tales como los determinados por la latitud o altitud en la que han evolucionado las poblaciones consideradas. Por otro lado, la densidad de la semilla medida en lotes de varias semillas (comúnmente estas variables se refieren a lotes de 1.000 semillas) está influenciada por la relación entre semillas llenas y vanas, o semillas sanas y dañadas por insectos o humedad (Hampton y Hill 2002). Existen numerosos trabajos en los que se describe la variación del peso de semillas entre y dentro de especies en una comunidad (Leishman y col. 2000) y sus implicancias ecológicas. El tamaño de la semilla representa un balance (“*trade-off*”) dentro de la estrategia de una especie, entre producir más semillas pequeñas versus menos semillas grandes con una dada cantidad de recursos destinados para la reproducción. Con respecto a la variación del tamaño de la semilla dentro de una misma especie, Leishman y colaboradores (2000) citan trabajos en donde la variación dentro de la misma planta es mayor que la encontrada entre poblaciones y entre plantas, indicando efectos del ambiente durante el desarrollo antes que variación genética entre madres. Este enfoque, sin embargo también es debatido. Silvertown (1989) cuestiona algunos trabajos que concluyen que el tamaño de semilla de poblaciones esté bajo presión estabilizadora, destacando asimismo que muchas plantas silvestres exhiben una marcada plasticidad fenotípica y bajo control genético en este carácter. Es importante remarcar el efecto materno en este como en otros caracteres seminales (Schmidt y Antonovics 1986, Roach y Wulf 1987, Michaels y col. 1988, Mousseau y Fox 1998, Vaughton y Ramsey 1998, Castro 1999, Gutermann 2000, Galloway 2001, Obeso 2002, Galloway y col. 2009 entre otros), aunque también es abundante la bibliografía acerca del control genético del carácter (Chaisurisri y col. 1992, Davidson y col. 1996, Pastorino y Gallo 2000).

Latencia y germinación: El término latencia (o dormancia) se refiere a la condición de una semilla viable que impide que esta germine en presencia de los factores que normalmente se consideran suficientes para la germinación: temperatura adecuada, humedad y oxígeno en el ambiente (FAO 1991). El fenómeno de la latencia en las semillas, tanto física como fisiológica, es un mecanismo que asegura que la germinación en la naturaleza ocurra sólo cuando las condiciones en el medioambiente de crecimiento son las adecuadas para que la planta complete su ciclo de vida o pueda formar sus estructuras vegetativas y reproductivas. Ha sido demostrada la ciclicidad entre estadios insensibles y sensibles a factores que rompen la dormancia física en semillas en el medioambiente natural en especies de las familias Fabáceas y Convolvuláceas, siendo un fenómeno común en semillas con capas impermeables al agua (Jayasuriya y col. 2009). El grado de latencia puede variar entre las razas o poblaciones de una especie. Spurr y Barnes (1980) citan que las razas o procedencias de latitudes más polares tienen mayor grado de latencia que aquellas de latitudes más ecuatoriales. Este aspecto es variable a su vez en función de las condiciones ambientales en las que se encuentran los distintos árboles. Asimismo existen distintos procesos involucrados en el fenómeno, dependiendo de si se trata de latencia fisiológica, física o debido a inmadurez temporaria del embrión.

Características morfológicas de cotiledón: los cotiledones tienen una función nutricional importante en el rápido establecimiento de las plántulas, tanto en especies pioneras de semillas pequeñas como en la especie de semilla más grande: las plántulas recién establecidas sustentan su provisión de nutrientes más en los cotiledones que en los aportes del suelo (Milberg y Lamont 1997, Milberg y col. 1998).

Ritmo de crecimiento: En bosques templados la sincronización del ritmo anual de crecimiento con el cambio estacional es crítica. Las características fenológicas que implican adaptación fisiológica al ambiente se muestran en rasgos que comprenden una secuencia anual de eventos, comenzando con la brotación de yemas en primavera, expansión del tallo, maduración de las hojas, alargamiento cambial, desarrollo de yemas y lignificación, y concluye con la adecuación de las estructuras al frío en el otoño (Rehfeldt 1987). Se ha estudiado la variación inter-poblacional en el ritmo de crecimiento y en apertura y cierre de yemas en especies forestales de zonas templadas como pino ponderosa y pino oregón (Rehfeldt 1979, 1986, 1987, 1991), pino silvestre (Eriksson y col. 2006, Notivol y col. 2007), *Populus* (Frewen y col. 2000), y en nuestra región en ciprés de la cordillera (Aparicio y col. 2012). La resistencia a heladas en especies forestales es un rasgo en el que se ha hallado una fuerte variación entre poblaciones. Estudios de ambiente común en plantines y a campo han revelado una variación genética significativa entre poblaciones y la existencia de clines a lo largo de gradientes ambientales. La resistencia a heladas puede incluir diversas estrategias de las que se desprenden distintas variables de medición, como el tiempo de inicio y finalización de crecimiento, la dormancia de semillas o yemas, la duración del período de crecimiento o las cualidades de estructuras de resistencia como yemas protectoras de los meristemas primarios (Howe y col. 2003). Dicha diferenciación entre poblaciones no es aleatoria, sino que está asociada fuertemente con gradientes climáticos y geográficos.

Numerosos autores (Rehfeldt 1983, 1984; Loehle 1998; Rehfeldt y col. 1999; Vetaas 2001) han observado que la adaptación de plantas leñosas a sus ambientes locales en regiones con limitaciones al crecimiento por bajas temperaturas implica un compromiso (“*trade-off*”) entre la capacidad competitiva (i.e. crecimiento anual) y la capacidad de sobrevivencia (i.e. rasgos de tolerancia a frío). Este compromiso está fuertemente ligado a la fenología de brotación y cierre de yemas y la consecuente duración del período de crecimiento, en un balance que busca por un lado escapar a las heladas tempranas o tardías protegiendo los meristemas en estructuras estancas, y por otro maximizar el crecimiento para ganar en la competencia con sus congéneres, pudiendo este balance variar en diferentes estadios ontogénicos (Brubaker 1986, Stettler and Bradshaw 1994, Hurme y col. 1997, Dunne y col. 2001). El estadio de plantín en árboles es especialmente sensible (Campbell 1979, Brubaker 1986, Rehfeldt y col. 1999) por la gran variación microclimática cerca del piso del bosque debida a la inversión térmica, pero también por grandes presiones ambientales (por ejemplo nieve o avalanchas) y por menor resistencia intrínseca a ambientes estresantes en estadios tempranos. Por lo tanto el ritmo de crecimiento de los árboles en el estadio de plantín tiene un especial significado ecológico y adaptativo.

Arquitectura de planta: La morfología externa de las plantas, considerando su cambio en el tiempo, proporciona caracteres definidos genéticamente relacionados con el ambiente en el que los individuos se han desarrollado (Perreta y Vegetti 2005). Sin embargo no es tan clara su influencia en la aptitud reproductiva. Al respecto, Farris y Lechowicz (1990) reportan en plantas anuales que su arquitectura puede influir fuertemente en el rendimiento reproductivo. Sin embargo, Mëřila y Sheldon (1999)

señalan que los rasgos morfológicos, tales como número de ramas, largo de entre nudos, largo de ramas, ángulo de inserción de ramas, o altura de plantas a una determinada edad, usualmente están sometidos a procesos de selección débil o estabilizante, con lo cual, a pesar de estar bajo un fuerte control genético (Zobel y Talbert 1994), se comportan como caracteres de bajo valor adaptativo. Pese a esta consideración, los rasgos morfológicos son incluidos en la mayoría de los estudios de variación genética cuantitativa de especies forestales por el valor r que tienen de los individuos en estudio, por el valor ecológico y económico intrínseco de esos caracteres y también por la facilidad de medición de gran parte de ellos.

1.4 Objeto de estudio: la lenga

Nothofagus pumilio (Poepp. et Endl.) Krasser es una especie nativa de los bosques templados de Sudamérica, que mayormente forma masas boscosas puras. Su distribución geográfica abarca la región cordillerana sur de Chile y Argentina, siendo con *Nothofagus antarctica* las especies de más amplia distribución en la región. En Chile se extiende desde los 35° 35' S hasta los 55° 31' S (Donoso 1993), mientras que en Argentina el límite septentrional se ubicaría a los 36° 50' S (Dimitri 1972) (Figura 1-3)

Ocupa en toda la distribución de los bosques andinopatagónicos el piso altitudinal superior, formando la *treeline*. En la zona septentrional se distribuye por sobre los 1.000 hasta los 2.000 m snm en la vertiente pacífica (Donoso 1993) y hasta los 1.700 m snm en la vertiente atlántica (Dimitri 1972). Hacia el sur va disminuyendo la altitud de distribución, hasta alcanzar el nivel del mar en Tierra del Fuego (Dimitri 1972, Donoso 1993, Tortorelli 2009).

Nothofagus pumilio es una especie caducifolia, al igual que otras tres especies del género que crecen en Argentina, *N. alpina* (raulí), *N. obliqua* (roble pellín), y *N. antarctica* (ñire). Es un árbol de primera magnitud, de gran porte, con altura superior a los 35 m en los sitios de mejor calidad, y diámetros de hasta 1,50 m (Tortorelli 2009), con ejemplares de gran longevidad, citándose individuos de más de 400 años de edad (Donoso 2009). En su límite altitudinal superior se desarrolla en forma achaparrada, tortuosa y multicaule (Donoso 2007, Tortorelli 2009), formación a la que se denomina *Krummholz* en la jerga forestal.

La corteza en sus estadios juveniles es gris y lisa, con la presencia de lenticelas características del género. A medida que se desarrolla el ritidomis, con diámetros de tronco superando los 20 - 30 cm, la corteza se vuelve rugosa, para terminar en placas gruesas longitudinales en la senectud. Sus hojas son simples, alternas, de forma oblonga, de entre 2 a 4 cm de longitud y 1,3 a 2,2 cm de ancho, de base obtusa o levemente cordiforme, con frecuencia oblicua, borde crenado, típicamente doblemente crenado entre dos nervaduras, peciolo corto, con nervadura central prominente y nervios laterales paralelos entre sí (Tortorelli 2009). Es una especie diclino monoica, con flores masculinas solitarias al igual que las femeninas, estas últimas dispuestas en las axilas de las hojas. El fruto es un aquenio de sección transversal triangular, de entre 6 a 9 mm de longitud y 4 a 6 mm de ancho, sujeto por una cúpula de dos valvas atrofiadas. La floración ocurre de octubre a enero, y la madurez del fruto entre enero y abril (Donoso 2009).

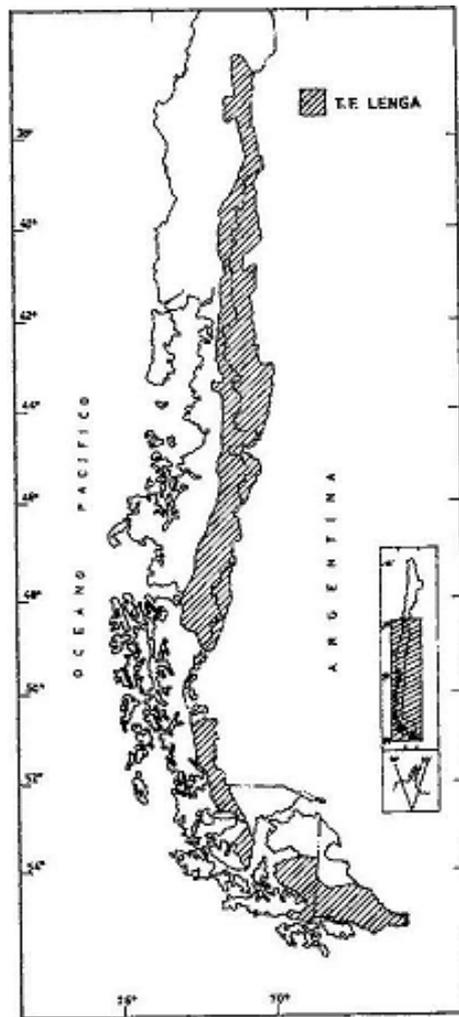


Figura 1-3: Distribución geográfica de *Nothofagus pumilio* (de Premoli 2004).

A lo largo de su distribución latitudinal, los bosques de lenga constituyen comunidades monoespecíficas en el límite altitudinal arbóreo (Dimitri 1972, Donoso 1981, Donoso 1993, Tortorelli 2009). En la faja inferior de su distribución altitudinal se suelen asociar con distintas especies en función del gradiente latitudinal. En la vertiente occidental de la Cordillera de los Andes forma bosques mixtos con *N. obliqua* y *N. alpina* en el norte de su distribución (Donoso 1993), y entre los 38° y 40° S suele consociarse con *Araucaria araucana*, *N. dombeyi* y ocasionalmente con *N. alpina* (Donoso 2009). En el lado argentino, la consociación con *N. dombeyi* se desarrolla hasta los 44 ° S, en el área con mayores precipitaciones. Con *N. antarctica*, si bien se solapan en toda su distribución latitudinal, no forman bosques mixtos, pero sí se produce una zona de contacto entre las dos especies en el límite inferior altitudinal de lenga y el límite altitudinal superior de ñire. En el área más austral de su distribución, la especie se encuentra asociada con *N. antarctica* y *N. betuloides*, con amplio predominio de lenga (Tortorelli 2009).

El escenario ya , climáticamente cambiante, con ambientes hostiles para la sobrevivencia de flora y fauna, periódicos ciclos glaciares e interglaciares, gran heterogeneidad ambiental de condiciones edáficas y geomorfológicas, implicó continuos avances y extinciones locales de las distintas especies. La lenga en su actual distribución geográfica ocupa sitios que durante la última glaciación estuvieron

cubiertos por gruesas capas de hielo, con condiciones ambientales que imposibilitaron su presencia en dichas zonas. Estas modificaciones en su distribución geográfica sin dudas han debido tener un efecto sobre los patrones de variación genética de la especie, tanto entre poblaciones como dentro de ellas, producto de sucesivos eventos de “cuello de botella” acontecidos durante procesos de extinción local, y “efectos fundadores” que devinieron en los posteriores re-avances de la especie. Estos procesos seguramente han contribuido a la diferenciación entre las poblaciones.

Su vasta distribución geográfica implica una gran amplitud ecológica para la especie (Donoso, 1995), encontrándose sus bosques expuestos a tres gradientes ambientales principales: el de precipitaciones, el latitudinal y el altitudinal (Bava 1999, Premoli 2004, Donoso 2006).

En el gradiente latitudinal del área de distribución de la especie hemos descrito tres zonas en función de características geológicas, geomorfológicas, climáticas y de historia glaciaria. Se puede asumir que cada una de las tres zonas impuso una historia de vida diferente a las poblaciones de la especie que las ocupaban. Hacia latitudes mayores, la extensión de la capa de hielo del UMG pudo haber restringido la persistencia *in situ*, mientras que más al Norte, la especie puede haber sobrevivido en distintos refugios glaciarios y posteriormente haber sido sometida a fuerzas de selección como el fuego y la sequía, con potenciales impactos en la demografía y composición genética de las poblaciones. La denominada zona central, que es nuestra área de estudio y se corresponde aproximadamente con la porción de la distribución actual ubicada en la provincia de Chubut, presenta características geomorfológicas, paleoclimáticas y de historia glaciaria particulares que permiten considerarla como una zona de alta variación ambiental presente y pasada. Dentro de esta zona central pueden presumirse distintas fuerzas evolutivas actuando sobre las poblaciones de lenga que la ocupan, entre las que se destacan la deriva genética en relación con la historia glaciaria que varía en función de la latitud, y la selección natural, presuntamente determinada por el gradiente de precipitaciones de dirección este-oeste y el gradiente altitudinal.

1.5 Finalidad, objetivo e hipótesis

En base a los conceptos introducidos me propongo la siguiente finalidad y su consecuente objetivo bajo la puesta a prueba de las hipótesis seguidamente enumeradas:

1.5.1 Finalidad

Contribuir a la conservación y uso adecuado de los acervos genéticos de la lenga, aportando información relevante para el manejo del bosque natural y la implantación de la especie en sistemas productivos y acciones de restauración ecológica.

1.5.2 Objetivo general

Estudiar la variación geográfica de la lenga en caracteres adaptativos tempranos relevantes para su domesticación y el manejo de los bosques naturales.

Hipótesis general: La gran heterogeneidad ambiental y la historia glaciaria reciente en el área de distribución de la lenga en la actual Provincia de Chubut han originado diferencias en caracteres adaptativos tempranos entre las poblaciones naturales ubicadas en esa región.

Hipótesis 1: Los contrastantes ambientes ocupados actualmente por la lenga en la Provincia de Chubut, determinados por marcados gradientes de precipitaciones y altitudinales, han determinado procesos de adaptación local por efecto de la selección direccional, que se evidencian en caracteres relevantes para la aptitud reproductiva.

Hipótesis 2: La particular historia glaciaria de la especie en la actual Provincia de Chubut ha generado diferenciación entre las poblaciones naturales que allí se encuentran, la que puede verificarse tanto en caracteres de alta como de baja aptitud reproductiva y responde a un patrón latitudinal.

Hipótesis 3: La variación genética y fenotípica de la lenga en caracteres cuantitativos responde a una variación clinal ocasionada por el gradiente altitudinal que ocupan sus poblaciones naturales.

Hipótesis 4: Los morfotipos de lenga “rastrero”, “arbóreo” y “achaparrado” son expresiones de adaptación local a ambientes diferenciales.

*Hipótesis 5: Las poblaciones de *Nothofagus pumilio* creciendo en ambientes contrastantes régimen precipitaciones, en latitud y en altitud se han adaptado localmente a dichos ambientes. La diferenciación genética entre las diferentes poblaciones, evidencian procesos de selección operando actualmente y permite inferir acerca de la importancia relativa de dichos factores en el proceso de evolución de la especie.*

2 METODOLOGIA GENERAL

2.1 Muestreo

En cada nivel ontogénico, e incluso en cada ensayo dentro de estos niveles, las poblaciones representadas no fueron siempre las mismas, y en muchos de los casos las muestras fueron tomadas en años distintos. Esto se debió a la irregular producción de semillas en las poblaciones naturales de la especie. Aunque la intención fue realizar los distintos ensayos para un mismo set de poblaciones e individuos, y por más que se pusieron esfuerzos en este cometido, lamentablemente no fue posible cumplirlo. Muchas de las veces nos encontramos con una carencia total de semillas en los bosques que visitamos, o alternativamente con una cantidad insuficiente para llevar a cabo todos los ensayos programados. Esto nos obligó a buscar semillas en poblaciones alternativas, o a reintentar la cosecha de las mismas en los años sucesivos. En cualquier caso, cada población siempre estuvo representada por una mezcla de semillas de polinización abierta (o las plantas derivadas de ellas) provenientes de entre 15 y 20 árboles cosechados un mismo año. Se procuró una distancia mínima de unos 30 m entre individuo para reducir la probabilidad de muestrear árboles emparentados. La cosecha se llevó a cabo cortando los ramilletes fructíferos con tijeras montadas sobre pértigas, conservando la identidad del árbol madre hasta la conformación de las mezclas de semillas remitidas a los distintos ensayos, momento a partir del cual se mantuvo sólo la identificación de cada población. Sólo en los ensayos de variación intra-poblacional se mantuvo la identificación de las familias de polinización abierta en todo momento.

En la Tabla 2-1 y la Figura 2-1 se incluyen todas las poblaciones muestreadas para el desarrollo de esta tesis. En cada capítulo específico y en cada ensayo en particular se detallarán cuáles fueron las poblaciones representadas.

Tabla 2-1: Poblaciones incluidas en al menos uno de los ensayos de la tesis: ubicación, precipitación media anual estimada por interpolación en el mapa de isohietas, año de cosecha y número de árboles cosechados.

Población		Latitud S	Longitud d W	Altitud	P.M.A.	Año cosecha	N° ár. cosech
LV	Lo. Villarino	42° 40´	71° 37´	1.000	700	2003	15
LHb	Co. La Hoya bajo	42° 49´	71° 16´	1.000	500	2003/05	15/20
LHm	Co. La Hoya medio	42° 49´	71° 16´	1.250	500	2003/05	15/20
LHa	Co. La Hoya alto	42° 50´	71° 15´	1.450	500	2003/04/05	15/15/20
AG	Ao. Guanacos	42° 50´	71° 16´	1.100	500	2003/04/05	15/15/20
Hb	Huemules bajo	42° 49´	71° 27´	1.000	700	2003/05	15/20
Hm	Huemules medio	42° 48´	71° 27´	1.200	700	2005	20
Ha	Huemules alto	42° 47´	71° 29´	1.400	700	2005	20
LZ	Lgna. La Zeta	42° 50´	71° 18´	1.000	600	2003	15
NPb	Nahuel Pan bajo	42° 59´	71° 12´	1.000	400	2005	20
NPm	Nahuel Pan medio	42° 58´	71° 11´	1.200	400	2005	20
T	Trevelin	43° 04´	71° 34´	1.100	1.000	2003/05	15/20
SC	Sierra Colorada	43° 12´	71° 20´	1.050	700	2003	15
Ba	Lo. Baguilt	43° 16´	71° 35´	1.100	1.200	2003	15
SM	San Martín	43° 49´	70° 45´	1.500	300	2005	20
LG	Lo. Guacho	43° 49´	71° 27´	1.150	800	2003/05	15/20
LE	Lo. del Engaño	43° 50´	71° 33´	1.000	1.000	2005	20
RP	Río Pico	44° 02´	71° 26´	1.000	600	2005	20
Me	Las Mulas este	44° 20´	71° 09´	1.050	500	2003	15
Mo	Las Mulas oeste	44° 20´	71° 12´	1.100	600	2003	15
RU	Río Unión	44° 50´	71° 38´	1.000	700	2005	20
AP	Ao. Perdido	44° 50´	71° 44´	1.000	1.000	2005	20
LFe	Lo. Fontana este	44° 51´	71° 21´	1.000	500	2005	20
LFo	Lo. Fontana oeste	44° 53´	71° 31´	1.200	600	2005	20

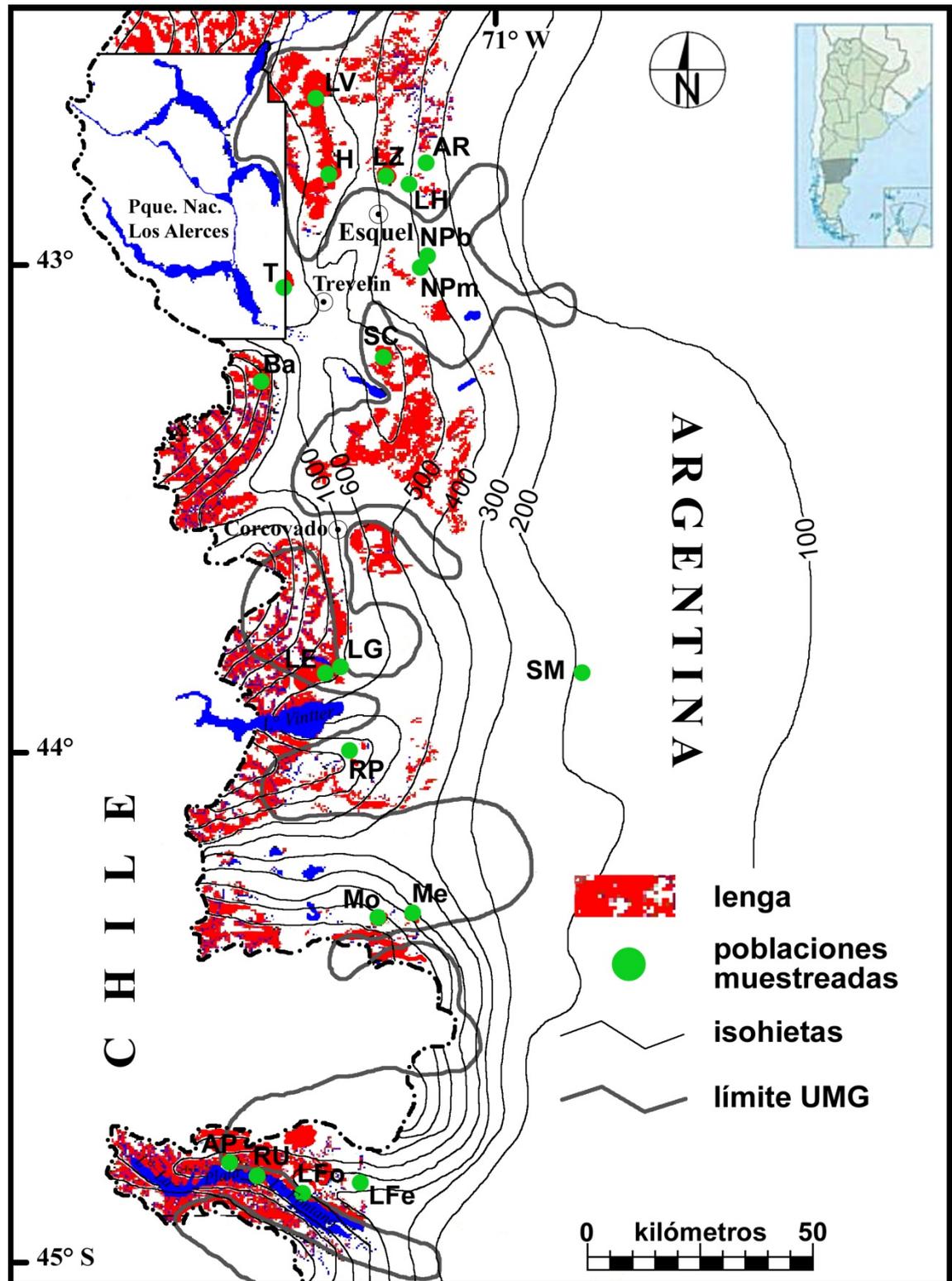


Figura 2-1: Poblaciones de lenga cosechadas, ubicadas sobre un mapa regional de la distribución natural de la especie (DGBYP Chubut 1997) con isohietas delineadas (Barros y col. 1979) y con el trazado del borde oriental del último máximo glaciar (Glasser y col. 2008).

2.2 Mediciones seminales

Para estudiar la variación natural de la especie en caracteres seminales se consideraron las variables peso de 100 semillas (P), largo de semilla (L), ancho de semilla (A) y la relación largo sobre ancho de semilla (L/A). Luego de mezclar las semillas de todas las familias de cada población, para determinar P se tomaron 300 semillas al azar de cada población incluida en los distintos análisis. Estas muestras se dividieron en 3 réplicas que fueron pesadas con una precisión de décima de gramo. Para determinar el largo y el ancho de la semilla se tomó una muestra de 20 semillas de cada población y se midió cada una con calibre hasta la décima de milímetro. Cada una de las veinte semillas medidas fue cortada, consignándose si estaba llena o vana. La variable de semilla vana fue utilizada en dos análisis: por un lado para estudiar la variabilidad del carácter entre los efectos fijos analizados (sitios de precipitación, variación latitudinal, altitudinal y morfotipos) y por otro lado correlacionar el peso de la semilla con el porcentaje de semillas llenas. El análisis de la variable semillas llenas, fue realizado considerando a esta variable como binomial, tal como será explicado con más detalle en el apartado Metodología estadística.

2.3 Ensayos de ambiente común en vivero

Para el establecimiento de los distintos ensayos en invernáculo se produjeron plántulas en el vivero del Campo Experimental Agroforestal. La siembra se realizó dentro de invernáculo, en agosto de 2005, en bandejas plásticas transparentes con tapa, sobre algodón y papel tissue embebidos en agua. Se mantuvo la humedad entre el 90 y 100%, sin control de temperatura. Previamente las semillas fueron estratificadas en frío húmedo por un periodo de 60 días. A medida que las semillas iban germinando, las plántulas fueron repicadas a tubetes de 250 cm³ de forma cónica (tubetes individuales Dassplastic® 250 en bandejas de 54 cavidades) rellenos con sustrato inerte (turba-arena volcánica en proporción 2:1).

Con respecto al diseño de los ensayos en vivero, si bien las condiciones en invernáculo son presuntamente controladas, de todos modos no pueden evitarse gradientes de temperatura, luminosidad o riego, por lo que se optó por un diseño en bloques, lo cual posibilitó mayor elasticidad en la distribución de las parcelas que ocuparon una amplia superficie de mesadas. Además, hubo una segunda fuente de variación, la fecha de repique, el cual se hizo de manera secuencial, repicándose primeramente las plantas del bloque 1, posteriormente las del bloque 2 y por último las del 3. La germinación ocurrió durante un mes después de la siembra, por lo que puede estimarse que la diferencia de tiempo de repique entre las plantas de cada bloque fue de aproximadamente una semana.

Las plantas se criaron por dos temporadas de crecimiento, proveyéndoles riego por microaspersión y nutriéndolas por medio de un sistema de fertirrigación.

Durante la segunda temporada de crecimiento se midió en forma repetida la altura total de cada plantín desde el cuello hasta la yema terminal del vástago principal, con una precisión de 1 mm. Las mediciones se realizaron desde el final de la latencia invernal (considerado el día 0 en el modelo), repitiéndose cada una o dos semanas durante 3 meses, y completando con una medición final para verificar la finalización del crecimiento. La fecha de inicio de medición fue fijada por el momento en el que los primeros plantines del ensayo comenzaron a hinchar las yemas (aún cerradas), y la final

cuando en el 90% de los plantines la medición ulterior no difirió de la anterior y se había producido el cierre de las yemas vegetativas.

Con los valores de altura medidos se ajustaron por regresión no lineal curvas explicativas del crecimiento individual de cada planta. Para el ajuste de las mismas se utilizó el software GraphPad Prism 6.0 (GraphPad 1 Software, San Diego CA, USA). Para simular el crecimiento individual de cada plantín se ajustó una función sigmoideal simétrica, escogiéndose entre ellas la función de Boltzmann, ya utilizada en otra especie forestal (Aparicio y col. 2012), y cuyo algoritmo de cálculo es:

$$Ht = H0 + \frac{Hf - H0}{1 + e^{\left(\frac{T50 - t}{S}\right)}}$$

en donde Ht es la altura de la planta [mm] al tiempo t (en días después de la primer medición), $H0$ [mm] es la asíntota inferior de la curva (altura al inicio de la segunda temporada de crecimiento), e es el número de Euler, Hf [mm] es la asíntota superior de la curva (altura al finalizar la segunda temporada de crecimiento), T_{50} [días] es el tiempo necesario para llegar a la mitad del período de crecimiento (tiempo medio), y S [días] describe la pendiente de la curva (valores más altos implican curvas más achatadas).

Se obtuvieron adicionalmente cuatro variables de cada curva ajustada: iniciación de crecimiento (T_{10}) y cesación del crecimiento (T_{90}), los cuales son el tiempo necesario para realizar el 10% y 90 % de la altura total respectivamente (Notivol y col. 2007); la duración del crecimiento (Dur , en días), que fue calculada como la diferencia entre T_{90} menos T_{10} ; y la tasa máxima de crecimiento ($Tasa$ en mm/día), que es la derivada primera en función del tiempo de la ecuación de Boltzmann valuada en T_{50} . El tiempo 0 para el modelo corresponde a la primera medición efectuada, o medición base, antes de hinchar la yema. Cabe aclarar que Dur es matemáticamente una combinación lineal de S , por lo que el análisis de ambas variables arrojará exactamente el mismo resultado. De todos modos se prefiere reportar el resultado de las dos, ya que su interpretación resulta más clara.

Además de estas variables derivadas del ajuste individual de una curva de crecimiento para cada plantín, también se midieron diversas variables arquitecturales al terminar la segunda temporada de crecimiento y luego de producido el cierre de yemas. Se midió la longitud final del tallo (L) con una precisión de 1 mm, el diámetro del tallo a la altura de cuello (D) con calibre manual y una precisión de 0,5 mm, el número de yemas en el eje principal (NY), el número de ramas de primer orden (NRI), la longitud de la rama de primer orden más gruesa (LRI), el número de ramas de segundo orden ($NR2$), la longitud de rama de segundo orden más larga ($LR2$) y la pérdida de ápice (PA).

Posteriormente se calcularon tres variables derivadas de las primarias: longitud media del internodo (L/NY), la relación entre longitud del eje principal y diámetro del tallo (L/D), cuya evaluación da una idea de la esbeltez de la planta (“índice de esbeltez”), la relación entre longitud del eje principal y el número de ramas de primer orden (L/NRI), también denominada “ramosidad”, y por último, la relación longitud del eje principal y longitud de la rama de primer orden más larga (L/LRI) cuya evaluación brinda información sobre la relación de dominancia del eje principal (Pastorino y col. 2010), y puede por lo tanto denominarse “índice de dominancia”.

2.4 Ensayos de ambiente común en el campo

Para el establecimiento de ensayos en el campo se produjeron plantas también en el vivero del Campo Experimental Agroforestal de INTA en Trevelín. La técnica de producción fue mejorando conforme ganamos experiencia con la especie. Así comenzamos con la implantación de plantas de 2 años, 1+1 (1 año de tubete en invernadero y 1 año en almácigo), luego plantas de 2 años, 2+0 (dos años en tubete en invernadero) y finalmente plantas de 1 sola temporada de crecimiento en tubete en invernadero.

Al finalizar el primer año de crecimiento de cada ensayo se registró la sobrevivencia de plantas, la presencia de ápices secos, el ramoneo de liebre y el crecimiento logrado en ese año, que se calculó por diferencia entre altura final y altura inicial, medidas con una precisión de 0,5 cm. Las variables sobrevivencia, daño por liebre y ápice seco se evaluaron como binarias, mientras que el crecimiento como variable continua. El crecimiento se calculó para las plantas vivas, sin daño de liebre y que no presentaron ápice seco al finalizar la temporada de crecimiento.

2.5 Metodología Estadística

El método general de comparación entre los distintos factores analizados ha sido el análisis de la varianza (ANOVA). Se utilizó esta prueba para testear diferencias significativas entre las medias de los distintos factores y de las distintas interacciones si las hubiese, utilizándose para ello un valor de $\alpha = 0,05$. La aplicación del ANOVA requiere el cumplimiento de una serie de supuestos. En primer lugar, las observaciones de los diferentes sujetos han de ser independientes entre sí. En segundo lugar, los errores experimentales son aleatorios y se distribuyen normal e independientemente con media igual a cero y varianza común. En tercer lugar, las matrices de variancia-covariancia de las medidas de cada grupo han de ser iguales entre sí (supuesto de homogeneidad). Por último, la matriz de variancia-covariancia intragrupo ha de satisfacer el supuesto de esfericidad, es decir, las variancias de las diferencias entre los distintos pares de medidas repetidas deben ser homogéneas (Steel y Torrie 1992, Arnau y Ballerka 2004).

Si bien la mayor parte de los diseños utilizados en los distintos ensayos incluyeron factores de efectos fijos (para los que se probó la diferencia de sus medias) en varios de ellos también se incluyeron factores de efectos aleatorios, para los cuales se probó la diferencia de sus varianzas. Estos casos condujeron a la utilización de modelos lineales de efectos mixtos. Los factores de efectos fijos son aquellos cuyos niveles son limitados (porque no existen más que los considerados o sólo son de interés los considerados) y son los que efectivamente se ponen a prueba. En nuestro caso un factor de efectos fijos será, por ejemplo, el morfotipo de las plantas evaluadas, ya que los morfotipos que forma la especie son sólo tres, y las pruebas que llevemos a cabo con ellos por lo tanto nos permitirán extraer conclusiones exclusivamente para esos tres morfotipos. Los factores de efectos aleatorios, en cambio, son aquellos de los que podemos considerar que existen infinitos niveles, y que los niveles que efectivamente consideramos en nuestros ensayos son sólo una muestra de todos los existentes. Así, las conclusiones que saquemos con nuestras pruebas serán válidas no sólo para los niveles ensayados sino para todos los existentes. En nuestro caso, la familia de polinización abierta de las plantas evaluadas será un factor de efectos aleatorios, ya que las familias

que representamos en nuestros ensayos no tienen un particular interés en sí mismas, sino como representantes de todas las familias existentes.

La ventaja más importante de los modelos de efectos mixtos es que permiten considerar simultáneamente todos los factores que potencialmente contribuyen a la comprensión de la estructura de los datos, incluyendo los específicamente manipulados (tanto fijos como aleatorios) como también covariables unidas a los factores evaluados.

A fin de probar la significancia de los efectos aleatorios en el modelo, se utilizaron tests de cocientes de verosimilitud (*likelihood ratio test*: LRTs) (Faraway 2006). El método de máxima verosimilitud es un procedimiento que permite estimar los parámetros de un modelo probabilístico, o los coeficientes de un modelo matemático, de tal manera que son los más probables a partir de los datos obtenidos. La función de verosimilitud permite comparar modelos, por ejemplo dos modelos en el que en uno de ellos se incluye una variable adicional con respecto al primer modelo, que se distribuye según una χ^2 con grados de libertad igual a la diferencia de parámetros entre modelos (en este caso es 1). Se lo denomina contraste de verosimilitud. Si el contraste resulta ser no significativo aceptamos que la incorporación de la nueva variable no mejora sensiblemente la verosimilitud del modelo y por tanto no merece la pena incluirla en él. Las diferencias en la función de verosimilitud se alteran arbitrariamente con la escala de medida, por lo que la forma adecuada de compararlas es mediante cocientes. De ahí que cuando se comparan modelos que han sido estimados mediante este procedimiento se hable de cociente de verosimilitud o razón de verosimilitud (*likelihood ratio*).

Para la determinación de la significancia en los factores de efectos fijos, se aplicó una estimación MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*) utilizando para ello el paquete estadístico *rlanguage* del programa de uso libre R (R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010) a posteriori del modelo MLM (modelo lineal mixto) para los parámetros con distribución normal (Baayen y col. 2008). Los métodos de Monte Carlo son métodos numéricos usados para calcular, aproximar y simular expresiones o sistemas matemáticos complejos y difíciles de evaluar. Los métodos MCMC se basan en el diseño de una adecuada cadena de Markov. Bajo ciertas condiciones estas cadenas convergen a una densidad estacionaria invariante en el tiempo. La idea fundamental de los métodos MCMC es la generación de una cadena de Markov cuya densidad estacionaria coincide con la densidad que se quiere muestrear. Las cadenas de Markov son procesos estocásticos en el que la probabilidad de que ocurra un evento depende del evento inmediatamente anterior. Por lo tanto, los métodos MCMC producen números aleatorios correlacionados entre sí.

Para analizar las variables con distribución binomial (e.g. presencia/ausencia de ápices secos, vivos/muertos, semillas llenas), tradicionalmente se aplica la transformación del arcoseno para la raíz de proporciones (Steel y Torrie 1992). Sin embargo esta metodología presenta algunas desventajas respecto al uso de la información binaria tal cual es, sin su transformación en proporciones, por lo que está siendo sustituida por el empleo de modelos lineales mixtos generalizados, MLMG (Jaeger 2008), que han desarrollado potentes herramientas para el análisis de variables categóricas (Bates 2007). En este caso, entonces, analizamos estas variables como datos binarios con el paquete *lme4* (Bates y col. 2010) de R. La función *lmer* de dicho paquete implementa la aproximación de Laplace en vez de algoritmos de máxima verosimilitud restringida (REML, según su sigla en inglés), que son los comúnmente utilizados en los modelos lineales mixtos. La máxima verosimilitud restringida (o residual o reducida) es una forma particular de estimación de máxima verosimilitud que no tiene estimaciones

de base en un ajuste de máxima verosimilitud de toda la información, sino que utiliza una función de probabilidad calculada a partir de un conjunto transformado de datos, por lo que los parámetros de molestia no tienen ningún efecto. En el caso de la componente de estimación de la varianza, el conjunto de datos original se sustituye por un conjunto de contrastes calculados a partir de los datos, y la función de probabilidad se calcula a partir de la distribución de probabilidad de estos contrastes, de acuerdo con el modelo para el conjunto completo de datos. En particular, REML se utiliza como un método para ajuste de modelos lineales mixtos. En contraste con la estimación de máxima verosimilitud anterior, REML puede producir estimaciones insesgadas de los parámetros de varianzas y covarianzas.

Los análisis de la varianza, correlaciones, regresiones, Test de Tuckey y gráficos estadísticos se realizaron con el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y col. 2012).

2.6 Parámetros de Variación Genética

La existencia de variación en caracteres cuantitativos es evidente entre individuos, y es así como podemos diferenciarlos por tamaño, peso y forma. Sin embargo, esta variación se debe tanto a causas genéticas como ambientales. En consecuencia, se requieren métodos para determinar la cantidad de variación que se debe a diferencias genéticas hereditarias entre los individuos y la cantidad debida al medio ambiente.

Un objetivo central en un estudio de variación fenotípica es su partición atribuible a diferentes causas. La magnitud relativa de estas componentes determina las propiedades genéticas de la población, y en particular el parecido entre parientes. El grado de variación puede indicarse con la varianza de los caracteres considerados. El total de la varianza de cada carácter es la varianza fenotípica, que es la suma de las componentes separadas. En un modelo básico general decimos que la varianza fenotípica es la suma de la varianza genética más la varianza ambiental.

$$V_P = V_G + V_E$$

De la misma manera en que la varianza fenotípica puede ser dividida en sus componentes genético y ambiental, la varianza genética V_G puede a su vez ser particionada en la variación genética aditiva (V_A), la variación genética de dominancia (V_D) y la variación genética epistática o de interacción (V_I). También en este caso, puede representarse por medio de una fórmula:

$$V_G = V_A + V_D + V_I$$

Los términos “aditiva”, “dominancia” y “epistática” no indican formas específicas de acción génica, como en el caso de las formas de herencia de los caracteres cualitativos. Los términos correctos son “variación genética aditiva”, “variación genética de dominancia” y “variación genética epistática” (acción no génica) y se refieren a componentes específicos de la variación producidos por todo el genoma y no sólo por uno o dos genes. Cada uno de estos componentes tiene importantes implicaciones para la conservación (Frankham 2002):

- V_A y especialmente la relación V_A/V_P (a la que se denomina heredabilidad) refleja el potencial evolutivo de adaptación de la población para el carácter en estudio.
- V_D refleja la susceptibilidad de la población a depresión por endocría.
- V_I influye en los efectos de la exogamia, ya sean beneficiosos o deletéreos

La variación genética aditiva es el componente genético debido a los efectos aditivos de todos los alelos. Puede expresarse diciendo que es la suma de los valores que aporta cada alelo a la producción del carácter. Algunos alelos contribuyen en medida considerable, otros en medida reducida, algunos no contribuyen en absoluto y otros pueden contribuir negativamente, pero todos ellos aportan de un modo aditivo a la expresión de un carácter. O sea que la sola presencia de estos alelos tiene un determinado efecto sobre el carácter en consideración independientemente de la presencia o ausencia de otros alelos en el mismo genoma. Esta componente de la variación genética es entonces crucial, ya que es la responsable de la semejanza entre individuos emparentados.

Por otro lado, la variación genética de dominancia es el componente genético debido a la interacción entre el par de alelos en cada locus. Por ello, no puede heredarse, ya que la expresión de cada uno es dependiente de la presencia o ausencia del otro. La idea de que algunos aspectos genéticos no pueden heredarse produce una cierta confusión pero es un concepto sencillo. La variación genética de dominancia se debe a la interacción del par de alelos en cada locus y, por tanto, corresponde a la condición diploide (2N). No es heredable porque cada uno de los progenitores aporta un gameto haploide (N) a cada descendiente. Los gametos no contienen pares de alelos (2N), pues durante la meiosis el número diploide se reduce al número haploide. En el curso del proceso de división reductora, todos los pares de alelos se separan cuando los cromosomas experimentan la distribución independiente, lo que supone que durante la meiosis se eliminan los efectos genéticos de dominancia de uno de los padres. Al haber sido eliminada durante el proceso de división reductora, la variación genética de dominancia del individuo no puede transmitirse a la descendencia a través del gameto y, por consiguiente, no es heredable. En la fecundación, los genes vuelven a existir en la condición pareada, lo cual implica una interacción entre los pares de alelos de cada locus, lo que supone, a su vez, que existe variación genética de dominancia. En definitiva, los efectos de la variación genética de dominancia se destruyen y recrean en nuevas y diferentes combinaciones en cada generación.

La variación genética epistática es el componente genético debido a la interacción de alelos entre diversos loci; dicho de otra manera, es la interacción de un alelo con otros alelos de un gen-locus distinto. La variación genética epistática es una mezcla de variación heredable y no heredable. La interacción que se registra entre los alelos incluidos en un gameto es heredable, pero no lo es la interacción entre alelos que se han dividido y se han integrado en diferentes gametas. El porcentaje de variación genética epistática varía de un gameto a otro, a causa del sobrecruzamiento y de la distribución independiente. Estos procesos perturban en gran medida la variación genética epistática durante la meiosis, de manera que sólo una pequeña muestra al azar se transmite de uno de los padres a la descendencia y, por ende, sólo es heredable una pequeña parte de la variación genética epistática.

La variación genética aditiva y la variación genética de dominancia son conceptos radicalmente opuestos, puesto que la primera está determinada por los alelos

y, por tanto, por la condición haploide, mientras que la segunda está producida por los pares de alelos y, por consiguiente, por la condición diploide. Un progenitor produce gametos haploides, de manera que puede transmitir sus efectos genéticos aditivos a la descendencia, pero no puede transmitir sus efectos de dominancia, que son eliminados durante la meiosis. Los efectos de dominancia aparecen en cada cigoto después de la fecundación. Así pues, los efectos aditivos dependen de cada progenitor, mientras que los efectos de dominancia se manifiestan como consecuencia de apareamientos específicos. Dado que los efectos aditivos se transmiten de uno de los padres a su progenie, la variación genética aditiva se expresa con frecuencia como la “variación de los valores reproductivos”.

Un concepto definido para evaluar la herencia en caracteres cuantitativos es el de la heredabilidad. En su definición simple la heredabilidad es la proporción de la varianza fenotípica total de una población explicada por la varianza familiar entre los individuos de la misma. (Frankham y col. 2002). La heredabilidad es usada como una medición de la variación genética de una población en un rasgo cuantitativo. Se definen la heredabilidad en sentido amplio y la heredabilidad en sentido estricto. La primera se define como la razón entre la varianza genética total (incluida la varianza aditiva, dominante y epistática) y la varianza fenotípica. La segunda se refiere a la varianza genética aditiva sobre la varianza fenotípica (Falconer 1986).

La heredabilidad es un concepto de gran significancia en la evolución y mejoramiento genético de las especies económicamente relevantes, que depende tanto de los individuos probados como de las condiciones ambientales durante la prueba, y es un parámetro que caracteriza a la población ensayada. Las heredabilidades varían en un rango de 0 a 1, con el valor mínimo en el caso hipotético de que la totalidad de la varianza fenotípica sea explicada por la varianza ambiental, y con el máximo en la situación contraria. El primer caso se encuentra en poblaciones altamente endogámicas, sin variación genética, mientras que el segundo se espera para una población sin variación ambiental (toda la variación es genética aditiva) (Frankham 2002).

Entre los métodos más comunes para estimar heredabilidad se encuentran la comparación de varianzas entre familias de medios hermanos (*half-sibs*) y hermanos completos (*full-sibs*). La fórmula de cálculo contempla generalmente la utilización de 1/4 de la varianza aditiva (factor 4), lo que indica la inclusión de medios hermanos dentro de cada familia, mientras que la utilización de 1/2 de la varianza aditiva (factor 2) indica la inclusión de hermanos completos en las familias (Falconer y MacKay 1996). Sin embargo, Squillace (1974) afirma que es muy factible que haya hermanos completos y al menos algo de endogamia en la descendencia de un rodal natural de polinización abierta. Por lo tanto, se deben realizar ajustes en el cálculo de la heredabilidad de los datos obtenidos de familias de polinización abierta, y en tal sentido Squillace (1974) recomienda la utilización de 1/3 de la varianza aditiva (factor 3) para evitar la sobreestimación de la heredabilidad. Así, en la presente tesis, la ecuación utilizada para el cálculo de la heredabilidad de cualquier carácter fue:

$$h^2 = \frac{3 * Var_f}{Var_p}$$

donde:

V_f = varianza entre familias, estimada a través del cálculo de los componentes de la varianza con un modelo estadístico que incluya al factor familia

V_p = varianza fenotípica total, estimada como la suma de todos los componentes de varianza calculados, incluyendo a los residuales.

La heredabilidad en sentido estricto, es una de las medidas más comúnmente utilizadas para realizar inferencias tanto sobre la capacidad de evolucionar de los caracteres evaluados como para comprender los procesos evolutivos que operan y mantienen la variabilidad genética.

En asociación directa con las heredabilidades se encuentran los coeficientes de variación genética aditiva (CV_A), empleado para conocer la cuota porcentual de la variabilidad respecto a la media de cada variable mediante la siguiente fórmula (Falconer y MacKay 1996):

$$CVGA = \frac{100 * \sqrt{V_A}}{x}$$

Los CV_A ofrecen una herramienta importante para la toma de decisiones tanto en la selección de los caracteres con mayores posibilidades de ser heredables como de la elección de poblaciones con probabilidades más altas de adaptación. Así, si el valor de CV_A es alto significa que la variabilidad se debe a efectos genéticos, lo que indicaría que dicho carácter sería altamente heredable (Frankham et ál. 2002). Hay dos diferentes razones para hacer comparaciones de variación genética para caracteres cuantitativos, la primera es comparar la habilidad para responder a la selección y la segunda es hacer inferencias acerca de las fuerzas que mantienen la variabilidad genética. En tal sentido, el CV_A es apropiado para ambos propósitos (Houle 1992). La fórmula para el cálculo del CV se detalla a continuación (Frankham 2002):

$$CVa = \frac{100 * \sqrt{VA}}{x}$$

donde:

V_A = varianza aditiva

x = promedio de la población

y la varianza aditiva se calcula como tres veces la varianza familiar, la que es estimada con el modelo estadístico y el análisis de la varianza..

Las medidas relativas de variación genética se utilizan para medir el grado de variación genética de una población (variación intra-poblacional), pero también, y en particular el CV_A , para estimar la capacidad evolutiva (*evolvability*) de una población (Houle 1992).

Así como los parámetros h^2 y CV_A , se utilizan para caracterizar las poblaciones (parámetros intrapoblacionales), la diversidad genética entre poblaciones basada en caracteres cuantitativos puede medirse a través del coeficiente Q_{ST} (Spitze 1993). Dado que los rasgos cuantitativos que están bajo selección natural direccional varían en dirección y magnitud de una población a otra, este coeficiente es apropiado para

detectar poblaciones sometidas a presión de selección diferencial (Merilä y Crnokrak 2001).

En esta tesis calculamos el parámetro de diferenciación genética entre poblaciones para caracteres cuantitativos (Q_{ST}) como:

$$Q_{ST} = \frac{V_{pop}}{V_{pop} + 2V_A}$$

donde: V_{pop} es la componente poblacional de la varianza total, estimada en un modelo que considera a las poblaciones como un factor de efectos aleatorios, y V_A es la varianza aditiva, que en nuestro caso hemos definido como tres veces la varianza familiar.

De manera similar, es posible calcular la variación genética neutral de una población es la diversidad genética. Esta es calculada como:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Donde p_i es la frecuencia de un alelo en un locus dado en una población, y n se refiere al número de alelos en esos locus. La fórmula puede ser interpretada como la probabilidad de muestrear dos genes diferentes de una población. La diversidad genética H_e es usualmente calculada por locus y y subsecuentemente promedia sobre varios loci.

La diferenciación genética entre poblaciones más comúnmente utilizada es el F-estadístico (F_{st}) de Wright (Wright 1951, Conner y Hartl 2004):

$$F_{st} = 1 - \frac{H_s}{H_t}$$

Donde H_t es el promedio de diversidad de genes calculada para el mismo set de datos (de acuerdo a la fórmula H_e definida anteriormente) de varias poblaciones ($N > 2$), y H_s es la media de los promedios de diversidad de genes calculada para cada una de esas poblaciones. F_{st} estima la cantidad de variación genética hallada entre poblaciones y se refiere a la diferenciación de la estructura genética entre esas poblaciones. Si F_{st} es igual a uno, toda la variación hallada entre poblaciones es genética (i.e. se hallaron diferentes alelos en las diferentes poblaciones) y si F_{st} es cero, las poblaciones no se diferencian entre ellas (i.e. se hallaron los mismos alelos en las mismas frecuencias en todas las poblaciones).

La comparación entre diferenciación genética entre poblaciones para marcadores neutros y para genes que codifican caracteres cuantitativos, es posible dado que el grado de diferenciación medido con el Q_{ST} para caracteres cuantitativos, es directamente comparable a la diferenciación medida a través del índice F_{ST} , estimado a partir de marcadores bioquímicos o moleculares selectivamente neutrales (revisado en Merilä y Crnokrak 2001). Esta comparación pueden ser de importancia para inferir acerca del papel relativo de procesos de variación genética como la selección y la deriva génica, esto es: si $Q_{ST} > F_{ST}$, es probable que la diferenciación estimada para un carácter métrico funcional, sea el resultado de un proceso de selección direccional, mientras que si $F_{ST} \geq Q_{ST}$, la deriva genética es la explicación más plausible para el grado de diferenciación observado (Merilä y Crnokrak 2001).

En este trabajo se efectuaron solamente estimaciones del Q_{ST} , y aunque los marcadores bioquímicos o moleculares no son herramientas del mismo, se utilizó información preexistente generada a partir de dichos tipos de marcadores para la especie hallados en bibliografía (Premoli 2003, Mathiasen y col. 2010, Soliani 2012), a los fines de efectuar comparaciones e inferencias sobre los resultados obtenidos aquí para la variación cuantitativa.

3 VARIACIÓN EN EL GRADIENTE DE PRECIPITACIONES Y LATITUDINAL



3.1 Introducción

La variación geográfica puede dividirse en dos clases según su origen (Thorpe 1987): 1) originada por procesos ecológicos actuales, y 2) originada por procesos históricos. Los procesos ecológicos actuales resultan del balance de fuerzas tendientes a producir diferenciación genética local y fuerzas tendientes a producir homogeneidad genética. La mutación, la deriva genética y la selección natural contribuyen a la diferenciación entre las poblaciones, mientras que el flujo génico tiende a limitar esa diferenciación (Slatkin 1987). Los procesos históricos, en cambio, pueden haber dejado muy arraigados distintos patrones de variación geográfica modelados por fuerzas que han actuado en el pasado. En este sentido, los análisis retrospectivos sobre la base de datos fósiles y genéticos han mejorado la comprensión acerca de la colonización, adaptación y extinción de especies arbóreas en respuesta a cambios climáticos pasados (Petit y col. 2008, Kremer y col. 2012, Burrows 1965, Markgraf 1983, Wardle 1988, Heads 1998, Villagran 1998, Winkworth y col. 2005, Withlock y col. 2006, Jaramillo y col. 2009).

Una situación particular, determinante de la variación entre poblaciones de una especie, es la marginalidad, entendiéndose por poblaciones marginales a aquellas que habitan en los bordes de su distribución (Donoso 1998). Las áreas marginales en la distribución natural de una especie, pueden jugar un rol central en la adaptación al cambio climático (Hampe y Petit 2005). Específicamente, poblaciones relictas que se han mantenido como refugios glaciarios conservando la biodiversidad durante el cuaternario, pueden representar las reservas genéticas a largo plazo contribuyendo a las respuestas adaptativas a futuros cambios. En particular, estudios filogeográficos muestran que el amplio rango de patrones de diversidad genética son usualmente conducidos por la dinámica pasada de cambios climáticos (Hewit 2000, 2004) antes que por la dinámica demo-genética estocástica, como es propuesta en el modelo centro-periferia (Hampe y Petit 2005). Las poblaciones marginales que se desarrollan aisladas, a cierta distancia de la parte principal de la distribución de la especie, constituyen a menudo parches boscosos de pequeño tamaño, del tipo de islas dentro de una matriz de otra especie o incluso de otro tipo vegetacional. Muchas veces estas poblaciones están sometidas a altas intensidades de selección, produciéndose un proceso de selección direccional, la que conduce hacia la cada vez mejor adaptación de estas poblaciones a las condiciones extremas, contribuyendo así a una disminución de la variabilidad genética dentro de estas poblaciones (Stern y Roche 1974). Alternativamente, la existencia de mayor variabilidad genética en poblaciones marginales que en poblaciones centrales, podría ser un indicio de posibles poblaciones relictas, que pueden haber constituido refugios para la especie en la época de la última glaciación (Pastorino y Gallo 2002, Pastorino y col. 2004, Hampe y Petit 2005).

El gradiente latitudinal de *Nothofagus pumilio* en Argentina cubre más de 18 grados. Este amplísimo rango implica fuertes variaciones en el fotoperíodo y también en la temperatura, aunque en este último caso se da presumiblemente un efecto de compensación con la altitud (las mayores latitudes se compensan con menores altitudes). Esto se verifica claramente con la variación de la altitud de la *treeline*. Lara y colaboradores (2005) describen una variación en este límite abarcando de los 1.600 m snm en el extremo norte (35° 40' S) hasta los 400 m snm en el extremo sur (55° S), con una tasa promedio de 60 metros de disminución en altitud por grado de latitud.

En relación directa con la historia glaciaria en la región y los procesos de extinciones y recolonizaciones locales, se han hallado evidencias de una tendencia

latitudinal en la variación genética neutral (con marcadores genéticos), descrita por primera vez en especies del género *Nothofagus* para la lenga [Premoli 2004 y reconfirmada con marcadores alternativos por Mathiasen y Premoli (2010) y por Soliani y col. (2011)], y luego para *N. nervosa* (Marchelli y Gallo 2006), *N. obliqua* (Azpilicueta y col. 2009) y *N. antarctica* (Pastorino y col. 2009). Puntualmente para la lenga, avalando la hipótesis de la presencia de una barrera glaciaria entre los 48° y 52° S, Premoli (2004) describe la distribución y la variabilidad isoenzimática de 17 poblaciones agrupadas como poblaciones del norte (provincias de Neuquén y Río Negro), poblaciones intermedias (Provincia de Santa Cruz) y poblaciones del sur (Provincia de Tierra del Fuego), hallando una mayor diversidad genética total de las poblaciones intermedias con respecto a las poblaciones del norte y del sur. Posteriormente, y mediante el uso de marcadores más específicos para estudios filogenéticos como es el ADN de cloroplasto, Mathiasen y colaboradores (2010) y Soliani y colaboradores (2011), sugieren que la actual estructura genética de *N. pumilio* es el resultado de procesos regionales que ocurrieron durante el Terciario y que fueron reforzados por los efectos locales contemporáneos de la deriva y el aislamiento en respuesta a las condiciones climáticas del Cuaternario. Estos autores han hallado una división norte - sur en la distribución de haplotipos en regiones de ADN de cloroplasto, alrededor de los 42° y 42° 30' S, reflejando la presencia de dos linajes diferentes y geográficamente segregados. También se observó un clinal en la distribución de la diversidad genética, con una disminución de norte a sur, y con variantes únicas en la zona de transición (42° - 44° S) (Soliani y col. 2011).

Como antecedente en el género *Nothofagus* en caracteres adaptativos, se ha comprobado la existencia de variación clinal o continua en el peso de semilla en *N. obliqua*, que disminuye gradualmente de norte a sur (Donoso 1979 a y b). Baker (1972) ha presentado evidencias de que en una especie las semillas de sitios xéricos tienden a ser más pesadas, lo que explicaría la variación reportada en *N. obliqua*. En las especies *N. nervosa* y *N. dombeyi* también se ha demostrado una variación clinal en el número de semillas por kilogramo (Donoso 1987, Marchelli y Gallo 1999).

Otra de las variables seminales observada por Donoso (1979 a y b) en *N. obliqua* se refiere a la ruptura de la dormición, para la que probó la existencia de un efecto diferencial de pretratamientos germinativos de distintos tiempos de estratificación en frío húmedo entre las poblaciones de distintas latitudes. Así, esta variable muestra tendencia a una variación ecotípica en su rango latitudinal, estando asociada esta respuesta a una mayor variabilidad ambiental (temperaturas extremas y precipitaciones en forma de nieve). Esta situación también es observable en *N. dombeyi* (Ordóñez 1986, Donoso 1987) y *N. nervosa* (Donoso 1987).

Se ha reportado que la semilla de lenga presenta latencia (Nuñez 1993, González y col. 2007) y que esta varía entre procedencias (INFOR 2000). Otro estudio presenta evidencias de que la temperatura es la variable más importante que conduce el proceso de germinación, igualándose prácticamente la capacidad y energía germinativa si la germinación se realiza a la temperatura óptima de 19° C (Escobar 2007). También se señala en dicho trabajo que semillas sometidas a temperaturas variables durante el proceso de germinación, se comportan como si tuvieran latencia.

Los ensayos de ambiente común reportados en el género *Nothofagus* son escasos. Como referencia se citan los estudios pioneros tanto a nivel de vivero como a campo en Nueva Zelanda (Wilcox y Ledgard 1987) en las siguientes especies: *N. menziesii* (silver beech), *N. fusca* (red beech), *N. truncata* (hard beech), *N. solandri* var. *solandri* (black

beech) y *N. solandri* var. *cliffortioides* (mountain beech). Los patrones de variación geográfica hallados difirieron notablemente entre especies: mientras *N. menziesii* presentó la más amplia variación genética con fuerte diferenciación en ecotipos regionales y posiblemente variación clinal en el gradiente altitudinal, *N. fusca* se mostró como una especie relativamente uniforme, con escasa variación genética en tasa de crecimiento y morfología de plantas. Las otras especies presentaron amplia variación, tanto en morfología y arquitectura de plantas como en ritmo de crecimiento.

Como antecedentes de estudios con caracteres cuantitativos de especies del género *Nothofagus* de Patagonia, Raffaele y col. (1998) describieron y compararon la morfología y crecimiento de los brotes anuales de *N. nervosa*, *N. antarctica*, *N. obliqua*, *N. dombeyi* y lenga. El mismo corresponde a un estudio de variación natural, en el que se caracterizaron morfológicamente los diferentes brotes de plantines de 1 a 3 años creciendo en el ambiente boscoso, y correspondientes a un solo sitio de muestreo por especie. Los plantines de lenga se caracterizaron por su menor longitud de brote anual, menor número de entrenudos por año y por presentar, junto con *N. obliqua*, el mayor porcentaje de plantines con ápices muertos al finalizar la primera temporada de crecimiento (100% de los ápices muertos). Arbetman y col. (2008) han presentado evidencias preliminares con respecto a la variabilidad en fenología entre poblaciones de lenga con condiciones de precipitación contrastantes, aunque este ensayo de ambiente común en vivero fue realizado con plantines transplantados del bosque, o sea con un proceso de selección natural ya cumplido. En *N. nervosa* se halló variación latitudinal en caracteres fisiológicos, en 8 procedencias de Chile, disminuyendo de Norte a Sur la resistencia plasmática en hojas (Tajan 1989, Donoso 1998). Asimismo, en 23 procedencias de Argentina se halló una alta variación en sobrevivencia y crecimientos iniciales, aunque no estuvo asociada a ningún gradiente ambiental conocido (Gallo y col. 2000). En lenga sólo ha sido reportado un estudio basado en ensayos de ambiente común con plantas producidas desde la siembra (Mondino y col. 2008), incluyendo poblaciones de Chubut, el cual está incluido en la presente tesis.

El objetivo de este capítulo es analizar la variación genética y fenotípica en caracteres métricos juveniles de la lenga entre poblaciones naturales de diversos ambientes correspondientes a los gradientes de precipitación y latitudinal. Se evaluaron caracteres en tres estadios ontogénicos: seminal, de plantín en vivero y de plantas en ensayos de campo.

Las preguntas específicas abordadas en este capítulo son: a) ¿Existe variación clinal en el gradiente de precipitaciones en caracteres adaptativos en los tres niveles ontogénicos analizados? b) ¿El patrón de variación en el gradiente de precipitaciones se repite a distintas latitudes? c) ¿Es posible inferir procesos de adaptación local en el gradiente de precipitaciones?

3.2 Variación natural en caracteres seminales

3.2.1 Materiales y Métodos

Se llevaron a cabo tres experimentos, dos de ellos con semillas y uno sobre cotiledones de plántulas. Se evaluó variación en tamaño y forma de semilla, capacidad germinativa bajo distintos tratamientos pregerminativos y tamaño de cotiledón.

Peso y forma de semillas

Para el análisis de variación en peso y forma se utilizaron semillas de 14 poblaciones cosechadas en el año 2005 correspondientes a tres transectas latitudinales de dirección Este – Oeste, captando así en cada una de ellas el gradiente de precipitaciones: Transecta Norte (~ 42° 55' S), Transecta Central (~ 43° 55' S) y Transecta Sur (~ 44° 50' S). Las transectas fueron transversales a la dirección general de los cordones montañosos cordilleranos, y cada una tuvo un ancho de unos 15' y estuvo separada de la siguiente aproximadamente 1° de latitud. Cada una de las transectas abarca el rango de precipitaciones en el cual se distribuye la especie, por lo que las poblaciones también pueden agruparse según su régimen de precipitaciones en: Secas (poblaciones AG, LHb, NPb, NPM, SM y LFe, con una precipitación media anual de unos 400 mm), Méxicas o Semihúmedas (H, RP, LFo y RU, con un rango de precipitaciones de 500 a 700 mm anuales) y Húmedas (T, LG, LE y AP, con 800 a 1.000 mm). Las características generales y la ubicación de cada población pueden verse en la Tabla 2-1 y en el mapa de la Figura 2-1.

Las variables seminales evaluadas fueron peso de 100 semillas (P), largo de semilla (L), ancho de semilla (A), la relación largo sobre ancho de semilla (L/A), y semillas llenas, tal como fue en el capítulo de metodología general.

Dado el alto porcentaje de semillas vanas que normalmente ocurren en frutos de *Nothofagus*, se realizó un análisis para obtener un parámetro de la partición del peso de la semilla en dos componentes: peso del embrión más endosperma (*EE*) y peso de la cubierta del fruto (*Cub*). Para ello se procedió a partir 300 semillas de tres poblaciones (Lago Baquilt, Arroyo Guanacos bajo y Arroyo Guanacos alto), en tres repeticiones de 100 semillas cada una. Así se obtuvo el peso de 100 *EE* y de 100 *Cub* para cada población. Se calculó el aporte porcentual de cada uno de estos componentes en el peso total, como una manera de estandarización. Para probar la significancia del efecto fijo población se realizó un ANOVA.

Para probar la diferencia entre las medias para las variables peso de 100 semillas y tamaño y forma de cada transecta y de cada régimen de precipitación y para evaluar la variabilidad entre poblaciones se llevó a cabo un ANOVA para cada variable con el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + T_j + S_i * T_j + P_k + e_{ijkl}$$

donde: Y_{ijkl} es la $ijkl$ -ésima observación de la variable, μ es la media general, S_i representa el efecto fijo del i -ésimo régimen de precipitación, T_j representa el efecto fijo de la j -ésima transecta, $S_i * T_j$ representa el efecto fijo de la interacción del i -ésimo régimen de precipitación y la j -ésima transecta, P_k representa el efecto aleatorio de la k -ésima población y e_{ijkl} es el error aleatorio NID (0, σ^2_e).

Se testearon los supuestos de normalidad de los datos. Las estimaciones de los parámetros se efectuaron mediante REML. Para poner a prueba la significancia del efecto del factor “población” (aleatorio), se utilizó una prueba de razón de verosimilitud (LTR).

Para la determinación de la significancia en los factores de efectos fijos, se aplicó una estimación MCMC.

A fin de hallar la relación entre tamaño de semilla, porcentaje de semillas llenas y peso de 100 semillas se realizó un análisis de correlación entre estas variables,

utilizando el método de Pearson, utilizando para el análisis el programa estadístico Infostat (Di Rienzo y col. 2012).

Tamaño de cotiledones

Para este análisis se utilizó semilla de 11 poblaciones de las tres transectas latitudinales descritas, cosechadas en el año 2003. Estas fueron sembradas en bandejas almacigueras, previa estratificación en frío húmedo durante 45 días. Las plántulas que emergieron fueron repicadas a contenedores individuales de 80 cm³. Al finalizar la primera temporada de crecimiento (los plantines mantienen los cotiledones aún más allá de la primera temporada), se cosechó un cotiledón de cada plantín muestreado. El diseño experimental utilizado fue en 3 bloques completamente aleatorizado, con 8 plantines por parcela, utilizándose un total de 264 plantas (11 poblaciones, 3 bloques, 8 plantines por parcela). Cada cotiledón fue escaneado, y posteriormente analizado con el software (UTHSCSA, Image Tool 2002), de donde se calcularon las siguientes variables: el área foliar de cotiledón, longitud del eje mayor y longitud del eje menor.

Para poner a prueba la variabilidad entre las poblaciones se llevó a cabo un ANOVA con el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + B_j + Sb_k + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la ijk -ésima observación de la variable, μ es la media general, P_i representa el efecto aleatorio de la i -ésima población, B_j representa el efecto aleatorio del j -ésimo bloque, Sb_m representa el error de subparcela y e_{ijk} es el error aleatorio NID $(0, \sigma^2 e)$.

La significancia del factor “población” en el modelo se puso a prueba con un LRT, y en el caso de resultar significativo, se realizaron análisis de regresión lineal simple (dos por cada variable), utilizando como variables dependientes el promedio de cada población de cada una de las variables analizadas, y como regresoras la latitud y las precipitaciones medias anuales de cada sitio de muestreo (obtenidas a partir de las isohietas). La validación de los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los datos fueron probados.

Se realizó un análisis de correlación utilizando el método de Spearman, entre el área cotiledonar y la altura al finalizar la primera temporada de crecimiento, de manera de poder dimensionar la importancia de este carácter en el posterior desenvolvimiento del plantín.

Ensayo de germinación

Para este ensayo se utilizó semilla cosechada en 2008 de tres poblaciones de una misma latitud (43° S aproximadamente) y altitud (1.000 a 1.100 m snm) pero con régimen pluviométrico contrastante: Cerro La Hoya bajo (LHb) de régimen pluviométrico Seco, Huemules bajo (Hb) de régimen Mésico y Trevelin (T) de régimen Húmedo.

Para analizar la variación en latencia entre estas poblaciones, se probaron 4 tratamientos pregerminativos según tiempo de estratificación:

- 1: testigo, 2 días de remojo sin estratificar.
- 2: 30 días de estratificación.
- 3: 45 días de estratificación

4: 60 días de estratificación

La semilla estuvo sumergida en agua fría durante 48 horas, cambiándose el agua a las 24 hs. Posteriormente la semilla fue escurrida y puesta en bolsas de nylon en cámara de frío (temperaturas entre 2 y 4° C) durante el periodo que duró la estratificación.

Se sembraron 100 semillas por parcela, con tres repeticiones al azar por tratamiento combinado. La siembra se realizó en bandejas plásticas transparentes, con tapa, sobre algodón y papel tissue embebidos en agua. Se mantuvo la humedad entre el 90 y 100%, y un rango de temperatura de 10 a 27°C. Se registraron valores de temperatura y humedad cada hora con un sensor Ibooton, con una precisión de 0,1°C para la temperatura y 0,1% para la humedad. La temperatura media del ensayo fue de 18,2°C (máxima absoluta = 27,7°C; mínima absoluta = 10,2 °C). La humedad relativa promedio fue de 91,2% (máxima absoluta 100%; mínima absoluta 83,1%).

Se consideró que una semilla estaba germinada cuando el extremo de la radícula había roto la testa de la semilla. Las bandejas se revisaron cada 2 días. Las variables evaluadas fueron: inicio de germinación (IG, o sea el tiempo transcurrido en días hasta la germinación de la primera semilla de la parcela) y porcentaje de germinación a los 28 días (G28%).

El diseño estadístico corresponde a un ensayo factorial de dos factores: 1) tiempo de estratificación, con 4 niveles, y 2) población, con 3 niveles, lo que totaliza 12 tratamientos combinados (36 parcelas en total). Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza y comparaciones múltiples, previa transformación arcoseno de los datos de germinación (Steel y Torrie 1992) a fin de cumplir con el supuesto de homogeneidad de la varianza. El modelo lineal utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + T_j + P_iT_j + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} representa el valor observado de la muestra ijk en la i -ésima población y j -ésimo tiempo de estratificación, μ es la constante general, P_i representa el efecto fijo de la i -ésima población, T_j representa el efecto fijo del j -ésimo tiempo de estratificación, P_iT_j representa el efecto fijo de la interacción entre la población i -ésima y el tiempo de estratificación j -ésimo; e_{ijk} representa el efecto residual $NID(0, \sigma^2_e)$.

Variación interanual del poder germinativo

Adicionalmente se consideró el efecto de la variación interanual en las características seminales, ligada tanto a procesos de variación ambiental (esencialmente variación del tiempo climático) como biológicos (e.g. apareamientos efectivamente realizados en cada año). Para indagar acerca de este aspecto, se examinaron datos de cosecha de las estas 3 poblaciones en una serie de 7 años, cosechadas en forma no continua.

Para poner a prueba la hipótesis se realizó un ANOVA, utilizando para ello el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + T_j + P_iT_j + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} representa el valor observado de la muestra ijk en la i -ésima población y j -ésimo año de cosecha, μ es la constante general, P_i representa el efecto fijo de la i -ésima población, T_j representa el efecto fijo del j -ésimo años de cosecha, P_iT_j

representa el efecto fijo de la interacción entre la población i -ésima y el año de cosecha j -ésimo; e_{ijk} representa el efecto residual $NID(0, \sigma^2_e)$.

3.2.2 Resultados

Peso y forma de semillas:

El valor medio general del peso de 100 semillas fue de 1,36 g, con un coeficiente de variación de 15,16%, con un mínimo absoluto de 1,00 g y un máximo absoluto de 2,00 g. Los valores medios para cada población pueden verse en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1: Caracteres seminales de lenga: peso de 100 semillas, largo y ancho de semilla, relación largo de semilla / ancho de semilla (L/A), promedios poblacionales y entre paréntesis sus respectivos coeficientes de variación en %.

Tran.	Población		Peso [g]	Largo [mm]	Ancho [mm]	L / A
Norte	AG	A° Guanacos	1,30 (4)	7,8 (11)	5,2 (17)	1,54 (15)
	LHb	C° La Hoya bajo	1,47 (8)	7,3 (8)	4,7 (18)	1,58 (15)
	Hb	Huemules bajo	1,47 (6)	7,7 (14)	4,8 (15)	1,63 (17)
	NPb	Nahuel Pan bajo	1,40 (0)	7,9 (12)	5,3 (15)	1,53 (17)
	NPm	Nahuel Pan medio	1,30 (0)	7,3 (13)	4,8 (15)	1,55 (15)
	T	Trevelin	1,67 (7)	7,8 (11)	5,7 (13)	1,39 (8)
Central	LG	Lago Guacho	1,07 (5)	7,6 (9)	4,6 (17)	1,67 (16)
	LE	Lago del Engaño	1,20 (0)	8,7 (15)	4,9 (16)	1,81 (16)
	RP	Río Pico	1,13 (5)	7,5 (10)	4,6 (18)	1,64 (14)
	SM	San Martín	1,37 (11)	7,5 (10)	4,7 (9)	1,60 (15)
Sur	LFe	L° Fontana Este	1,70 (0)	7,8 (12)	5,3 (17)	1,50 (13)
	LFo	L° Fontana Oeste	1,57 (4)	8,0 (14)	5,3 (14)	1,51 (14)
	RU	Río Unión	1,30 (0)	7,7 (13)	5,1 (19)	1,55 (18)
	AP	A° Perdido	1,07 (5)	7,3 (13)	4,7 (12)	1,55 (11)

Se probó que la interacción régimen de precipitación por transecta tiene un efecto significativo ($p= 0,0048$). Las semillas provenientes de la transecta norte no difirieron en su peso entre regímenes de precipitación, aunque se observa una tendencia creciente (no significativa) en el sentido E-O. En la transecta centro, la población de régimen de precipitaciones mésico tuvo semillas de un peso significativamente menor que las de los sitios húmedo y seco, y la tendencia de incremento fue inversa (aumento de P de Oeste a Este). En la transecta sur, la población húmeda fue significativamente de menor P que los otros dos regímenes de precipitación, con una tendencia creciente de Oeste a Este, similar a la observada en la transecta centro.

Dada la relación encontrada entre latitud, precipitaciones y peso, se puso a prueba la hipótesis de variación clinal del peso, a través de una regresión lineal. No se halló relación entre estas, dado que el modelo ajustado no resultó significativo (Tabla 3-2).

Tabla 3-2: Análisis de la varianza de la regresión lineal para la variable peso de 100 semillas y Latitud y Precipitaciones.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.02	2	0.01	0.27	0.7718
lat	1.40E-05	1	1.40E-05	2.90E-04	0.9867
precip	0.02	1	0.02	0.5	0.4922
Error	0.51	11	0.05		
Total	0.54	13			

A su vez, se hallaron diferencias significativas entre poblaciones ($p < 0,05$). El cálculo de los componentes de la varianza indica que la variación aportada por las poblaciones en la variación total del peso de 100 semillas fue del 80,56 %.

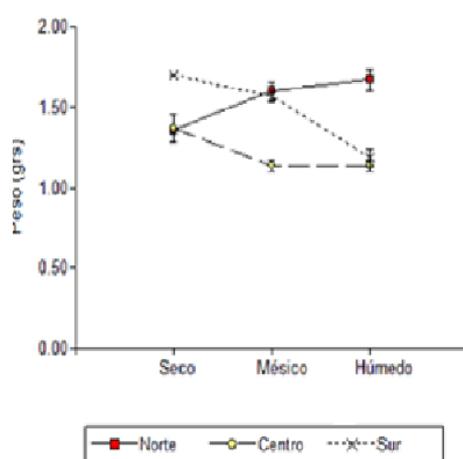


Figura 3-1: Interacción entre transectas Norte, Central y Sur y regímenes de precipitación seco, mésico y húmedo para el peso de 100 semillas.

El valor medio general del largo y ancho de semillas fue de 7,7 mm y 5,0 mm respectivamente, con un coeficiente de variación promedio de 14% (mínimo absoluto 8,5 %, máximo absoluto 19,7 %). Los valores medios poblacionales se muestran en la Tabla 3-1.

Al analizar la variación del tamaño de semilla entre transectas y regímenes de precipitación las interacciones fueron significativas para las variables ancho y relación largo sobre ancho ($p = 0,008$; $p = 0,003$ y $p = 0,030$ respectivamente). En el ancho de semilla, las relaciones entre los regímen de precipitación y transectas resultaron similares a las observadas para la variable P, mientras que en la razón L/A, la relación entre régimen de precipitación y transectas adquirió otra forma (Figura 3-2).

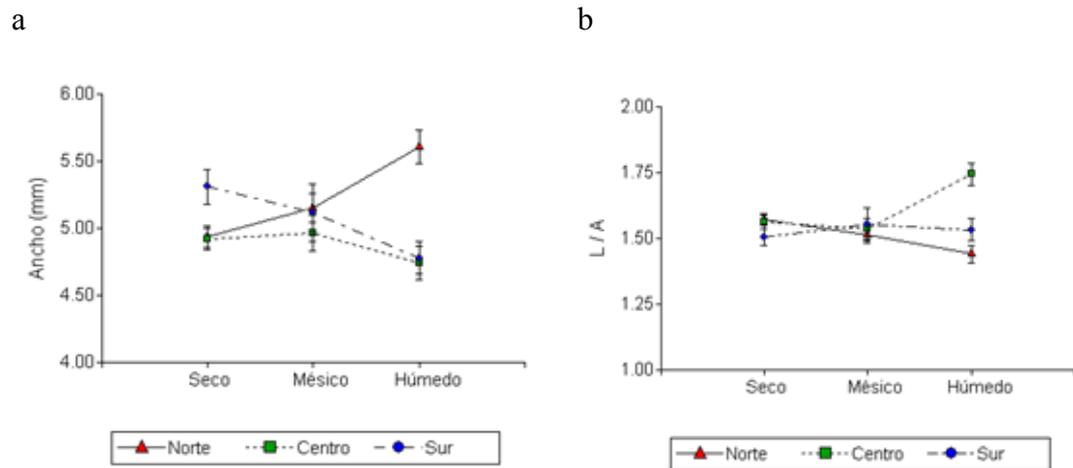


Figura 3-2: Interacciones régimen de precipitación y transecta latitudinal para las variables a) ancho de semilla b) relación largo sobre ancho de semilla ($p < 0,05$).

Para la variable largo no se halló interacción entre régimen de precipitaciones y transecta latitudinal, ni tampoco resultaron significativos los efectos de los factores simples analizados.

Al igual que para peso de semilla, se hallaron diferencias significativas entre poblaciones para las tres variables de forma analizadas ($p_1 < 0,001$; $p_a < 0,001$ y $p_{1/a} = 0,001$). El análisis de los componentes de la varianza mostró el aporte de las poblaciones en la variación total, representando el 9,23% de la variación observada en largo de semilla, el 11,24% en ancho de semilla y el 6,78% en la relación largo sobre ancho de semilla.

Con respecto a la variable proporción de semillas llenas, no se hallaron interacciones entre sitios de precipitaciones y transecta latitudinal ($p = 0,32$). Si se hallaron diferencias entre sitios de precipitación ($p = 0,00013$) y entre transectas latitudinales ($p = 0,0155$). Las poblaciones de sitio seco, tuvieron más semillas llenas que las correspondientes a los sitios mésico y húmedo, y las poblaciones Sur, tuvieron más semillas llenas que las poblaciones de las transectas norte y centro (Figura 3-3 a y b).

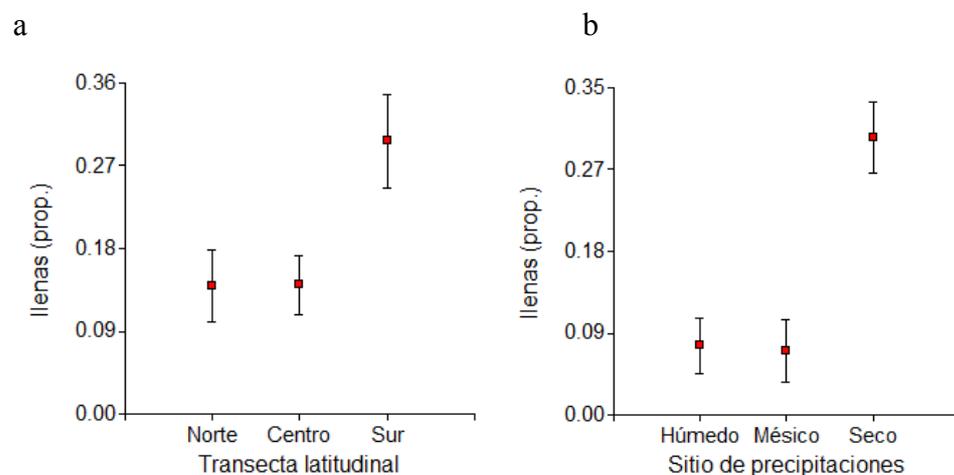


Figura 3-3: Proporción de semillas llenas a) entre transectas latitudinales b) entre sitios de precipitación.

Se halló una correlación positiva y significativa entre el ancho del fruto y el peso del fruto, no siendo significativa entre el peso y el largo de semilla ni entre las semillas llenas y alguna de las variables de forma y peso (Tabla 3-6).

Tabla 3-3: Correlación de Pearson entre caracteres seminales: Peso de 100 semillas, Largo, Ancho y porcentaje de semillas llenas (*Ll*). Por debajo de la diagonal coeficientes de correlación y sobre la diagonal probabilidad asociada.

	<i>Peso</i>	<i>Largo</i>	<i>Ancho</i>	<i>Ll</i>
<i>Peso</i>	1	0.28	3.50E-05	0.07
<i>largo</i>	0.31	1	0.18	0.94
<i>ancho</i>	0.88	0.38	1	0.32
<i>Ll</i>	0.49	0.02	0.29	1

Del análisis de la partición del peso del fruto entre peso del endosperma más embrión (*EE*) y cubierta del fruto (*Cub*), se puede comprobar que no hubo variación entre poblaciones para estos componentes del peso, y que el porcentaje de la contribución del endosperma más el embrión varió entre el 31% y el 43% del peso total en las poblaciones analizadas (Tabla 3-4).

Tabla 3-4: Partición del peso de semillas en los componentes peso de 100 embriones + endosperma (*EE*) y peso de la cubierta del fruto (*Cub*)

Población	EE [%]	Cub [%]
LB	43	57
Gb	36	64
Ga	31	69

Tamaño de cotiledones

Los promedios poblacionales del área, la longitud del eje mayor y la longitud del eje menor de los cotiledones con sus respectivos coeficientes de variación (CV) pueden verse en la Tabla 3-5.

El factor “población” no tuvo un efecto significativo sobre la variación tanto para el área como para la longitud del eje mayor y la del eje menor de cotiledón. El análisis de regresión permitió probar que existe una asociación significativa entre las tres variables de tamaño del cotiledón y la latitud de las poblaciones (área foliar de cotiledón: $R^2 = 0,43$, $p = 0,028$; eje mayor: $R^2 = 0,46$, $p = 0,0219$; eje menor: $R^2 = 0,45$, $p = 0,0241$) (Figura 3-4, Figura 3-5 y Figura 3-6), aumentando el tamaño de cotiledón hacia el norte. En cambio, no se halló relación alguna de estas variables con la precipitación anual.

Tabla 3-5: Promedios poblacionales del área, longitud del eje mayor y longitud del eje menor de los cotiledones de las poblaciones ensayadas (CV en %).

Población		Área [mm ²]	Eje Mayor [mm]	Eje Menor [mm]
LV	Lago Villarino	97,9 (23)	14,0 (12)	9,2 (14)
LH	C° La Hoya alto	72,6 (21)	11,7 (11)	8,3 (12)
AG	A° Guanacos	71,9 (32)	11,8 (18)	7,9 (17)
Hb	Huemules bajo	78,6 (46)	12,3 (24)	8,4 (21)
LZ	L ^{gna} La Zeta	78,5 (37)	12,4 (20)	8,3 (21)
T	Trevelin	88,1 (34)	13,2 (20)	8,6 (15)
SC	Sierra Colorada	66,7 (25)	11,2 (13)	7,5 (14)
Ba	Lago Baguilt	77,7 (22)	12,0 (11)	8,6 (14)
LG	Lago Guacho	70,2 (42)	11,5 (21)	7,9 (21)
Me	Las Mulass este	70,2 (22)	11,7 (10)	7,9 (13)
Mo	Las mulas oeste	53,4 (34)	10,0 (18)	7,1 (20)

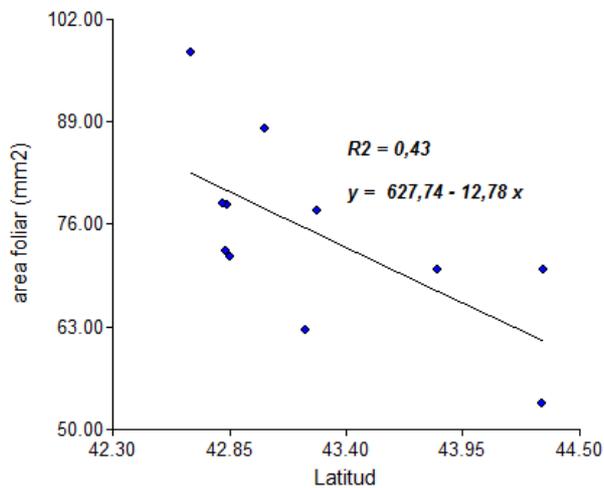


Figura 3-4: Variación del área foliar de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.

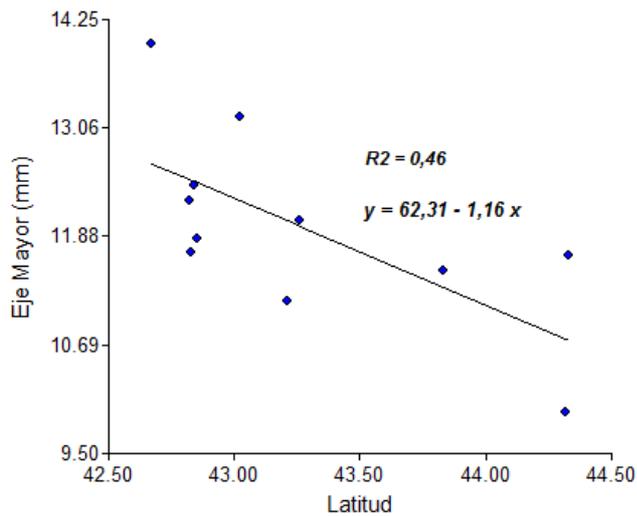


Figura 3-5: Variación de la longitud del eje mayor de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.

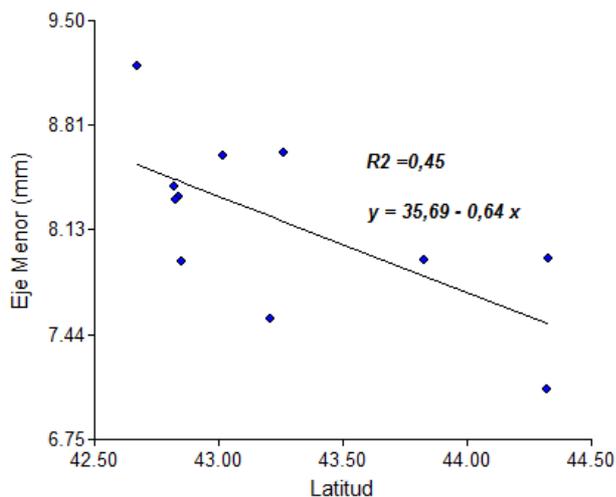


Figura 3-6: Variación de la longitud del eje menor de cotiledones en función de la variación en latitud del sitio de origen.

Se halló una correlación positiva de 0,31 y significativa ($p = 2.2E-07$) entre el área foliar del cotiledón y la altura inicial del plantín.

Ensayo de germinación

Para el inicio de germinación (*IG*) se verificaron diferencias significativas entre poblaciones y entre tiempos de estratificación ($p = 0,004$ y $p < 0,001$ respectivamente), y en cambio la interacción entre ambos factores no resultó significativa (Tabla 3-6).

El análisis de la varianza para la variable arcoseno del porcentaje de germinación a los 28 días ($G28\%$) pudo probar diferencias significativas entre tratamientos pre-germinativos ($p < 0,001$) y entre poblaciones ($p < 0,001$) (Tabla 3-6), y

en cambio no se verificó un efecto significativo de la interacción entre ambos tratamientos.

Tabla 3-6: Medias del porcentaje de germinación a los 28 días y tiempo de inicio de germinación (IG) para las 3 poblaciones y para los cuatro tratamientos pregerminativos utilizados en el ensayo de germinación de lenga (letras diferentes indican diferencias significativas $p < 0,05$).

Población		G28 [%]	Inicio [días]	P100 [g]
Hb	Huemules bajo	4,1 a	17,25 b	2,67
T	Trevelin	4,5 a	16,42 b	1,79
LHb	La Hoya bajo	15,6 b	12,17 a	1,71

Tratamiento	G28 [%]	Inicio [días]
Testigo	3,3 a	17,33 b
30 días	7,1 a b	18,89 b
45 días	12,0 b	10,33 a
60 días	11,7 b	13,56 a

Para ambas variables registradas, se encontraron diferencias significativas entre la semilla sin estratificar (tratamiento testigo) y los tratamientos de estratificación de 45 y 60 días, y diferencias significativas entre la población seca (LHb) con las otras dos, la cual presentó mayor G28 y menor IG, por lo que puede inferirse mayor energía germinativa.

Variación interanual del poder germinativo

En el análisis de la variación debida a la variación interanual del poder germinativo, no se halló variación entre sitios pero sí entre años de cosecha ($p < 0,05$) (Tabla 3-7).

Tabla 3-7: Media, desvíos estándares (entre paréntesis) máximo y mínimo de la variable peso de 100 semillas para semillas cosechada en reiterados años en 3 poblaciones en la transecta latitudinal norte (2003-2009).

Poblacion	Sitio	Años (n)	Peso (100)	Max-Min
La Hoya bajo	Seco	5	1,77 (0,61)	2,67-1,30
Huemules	Mésico	2	1,52 (0,13)	1,70-1,36
Trevelin	Húmedo	4	1,44 (0,11)	1,59-1,35

3.3 Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero

3.3.1 Materiales y Métodos

Se produjeron plantines con semillas correspondientes a 11 poblaciones cosechadas en 2005 (Tabla 2-1), representativas de las mismas transectas latitudinales y regímenes de precipitación de los análisis seminales. Se analizó la variación en rasgos morfológicos y de crecimiento en plantines de dos años de edad. Los plantines fueron producidos en ambiente común, tal como fue en el capítulo 2. Las plantas se dispusieron con un diseño experimental de bloques completos aleatorizados, con 3 repeticiones, con 9 plantas por parcela (parcelas lineales), sumando 297 plantas en total.

A partir del receso invernal previo al segundo período vegetativo de las plantas, se midió la altura total de cada una de ellas en forma periódica como ya fue en el Capítulo 2. Para modelizar el proceso de crecimiento del segundo año, con estos valores se ajustaron funciones sigmoideas (utilizando el algoritmo de Boltzmann) individuales para cada uno de los plantines. De cada curva se extrajeron las variables altura inicial (H_0), altura final (H_f), tiempo medio (T_{50}) y pendiente (S). Adicionalmente, se estimaron las variables tiempo de inicio (T_{10}) y tiempo de finalización (T_{90}) de crecimiento como el tiempo necesario para alcanzar el 10% y el 90% de la altura final, la duración del periodo de crecimiento (Dur) como la diferencia entre T_{90} y T_{10} , y la pendiente máxima correspondiente a la máxima tasa de crecimiento ($Tasa$), que al ser una función simétrica corresponde al punto de inflexión (Notivol y col. 2007), tal como ya fue previamente. Cabe recordar que la variable Dur es una combinación lineal de S , por lo que los resultados relativos de una y otra serán exactamente iguales.

Al terminar la segunda temporada de crecimiento y luego de producido el cierre de yemas vegetativas, se evaluaron las siguientes variables arquitecturales en cada plantín: longitud del vástago principal (L), diámetro del tallo a la altura del cuello (D), número de yemas en el eje principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de rama más larga (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de rama de segundo orden más larga ($LR2$), pérdida de ápice (AS), y se derivaron las siguientes relaciones: índice de esbeltez (L/D), longitud de entrenudo (L/NY), índice de ramosidad ($L/NR1$) e índice de dominancia (L/LRI).

Para la comparación de las medias de los tratamientos de las distintas variables evaluadas se utilizó un modelo anidado mixto. Las poblaciones fueron clasificadas en regímenes de precipitación y transectas latitudinales, como fue en el subcapítulo de semillas. El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + S_i + T_j + S_i T_j + P_k + B_l + S b_m + e_{ijklm}$$

Donde: Y_{ijklm} es la $ijklm$ -ésima observación de la variable, μ es la media general, S_i representa el efecto fijo del i -ésimo régimen de precipitación, T_j representa el efecto fijo de la j -ésima transecta, $S_i T_j$ representa el efecto fijo de la interacción de ambos factores, P_k representa el efecto aleatorio de la k -ésima población anidada en la j -ésima transecta y el i -ésimo sitio, B_l representa el efecto aleatorio del l -ésimo bloque, $S b_m$ representa el error de subparcela y e_{ijklm} es el error aleatorio NID ($0, \sigma^2 e$).

Luego de testear los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los datos, se realizó un ANOVA para evaluar la significancia de las diferencias entre los efectos

fijos, y un test de Tukey con un nivel $\alpha=0,05$ de significancia, para discriminar los niveles de los efectos fijos que diferían entre sí. La significancia del factor aleatorio “población” se probó por medio de un LRT.

Para el cálculo de las correlaciones fenotípicas (r_p) entre los caracteres del ritmo anual de crecimiento, se usó el coeficiente de correlación de Pearson.

3.3.2 Resultados

Modelación del crecimiento en altura

A pesar de la limitación de ser simétrica alrededor del punto de inflexión, la ecuación de Boltzmann demostró ser flexible, fácil de interpretar, y ajustó los datos con precisión (R^2 promedio = 0,9936). (Figura 3-6) Si bien el ajuste de las curvas fue preciso, es de destacar la alta variabilidad dentro de cada parcela. La media y el coeficiente de variación (CV) para cada parámetro estimado por el modelo de regresión puede verse en la Tabla 3-8. Puede observarse que los parámetros relacionados específicamente con la fenología (T_{50}, T_{10}, T_{90} y Dur) tuvieron menor dispersión (17% promedio de CV) que los relacionados a forma y pendiente de la curva (S y $Tasa$), con 26% promedio CV, y altura inicial y final de los plantines (H_0 y H_f), con 39 % promedio de CV.

No se hallaron efectos significativos de la interacción entre transectas latitudinales y regímenes de precipitación para ninguna de las variables de crecimiento analizadas. Tampoco se detectaron diferencias significativas entre regímenes de precipitación para ninguna de estas variables. Sin embargo, sí se hallaron diferencias significativas entre transectas latitudinales, para las variables S ($p < 0,001$) y T_{90} ($p = 0,006$) (y por supuesto también para Dur que es una combinación lineal de S). Puede observarse que las poblaciones de la transecta Norte presentaron una curva promedio más achatada (mayor S), con el cierre del periodo de crecimiento más tardío y una mayor duración del periodo de crecimiento.

A fin de poner a prueba la hipótesis de variación clinal para las variables relacionadas a crecimiento, se realizaron análisis de regresión lineal simple (dos por cada variable S , T_{90} y Dur), utilizando como variables dependientes el promedio de cada población de cada una de las variables analizadas, y como regresoras la latitud y las precipitaciones medias anuales de cada sitio de muestreo (obtenidas a partir de las isohietas). Se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los datos. No pudo hallarse relación alguna entre los variables dependiente y las regresoras, ya que los modelos resultaron no ser significativos para las tres variables evaluadas (Tabla 3-8, Tabla 3-9 y Tabla 3-10)

Tabla 3-8: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal de la pendiente de la curva de crecimiento (S) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5.1	2	2.55	1.63	0.2556
Precip	2.7	1	2.7	1.72	0.2259
Lat	2.43	1	2.43	1.55	0.2487
Error	12.56	8	1.57		
Total	17.67	10			

Tabla 3-9: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal del tiempo para la finalización de crecimiento ($T90$) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26.46	2	13.23	1.02	0.4046
Precip	7.12	1	7.12	0.55	0.4809
Lat	19.47	1	19.47	1.49	0.2563
Error	104.23	8	13.03		
Total	130.7	10			

Tabla 3-10: Cuadro de análisis de la varianza para la regresión lineal de la duración del período de crecimiento (Dur) para las variables regresoras Latitud y Precipitaciones.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	98.67	2	49.34	1.63	0.2546
Precip	52.27	1	52.27	1.73	0.2251
Lat	46.95	1	46.95	1.55	0.248
Error	241.97	8	30.25		
Total	340.64	10			

Tabla 3-8: Medias y CV para las poblaciones ensayadas para las variables obtenidas a través del modelo de crecimiento: H_0 = altura inicial, H_f = altura final, T_{50} = tiempo medio, S = pendiente, $Tasa$ = tasamxima de crecimiento, T_{10} = inicio de crecimiento, T_{90} = cesación de crecimiento, Dur = duración del crecimiento.

Tran.	Poblaciones		H_0 [mm]	H_f [mm]	T_{50} [días]	S	$Tasa$ [mm/día]	T_{10} [días]	T_{90} [días]	Dur [días]
Norte	AG	A Guanacos	65 (58)	346 (27)	105 (7)	14,4 (15)	4,9 (26)	74 (9)	137 (7)	63 (16)
	LHb	La Hoya bajo	35 (34)	335 (26)	100 (10)	15,4 (29)	5,2 (42)	67 (12)	135 (10)	68 (19)
	Hb	Huemules bajo	43 (56)	316 (24)	101 (8)	16,1 (19)	4,2 (33)	65 (14)	136 (10)	71 (21)
	T	Trevelin	43 (58)	284 (32)	105 (9)	16,5 (17)	3,8 (31)	68 (16)	141 (9)	73 (16)
Centro	LG	L Guacho	33 (73)	306 (30)	102 (9)	13,7 (33)	5,2 (31)	72 (14)	132 (12)	60 (33)
	RP	Río Pico	32 (63)	273 (21)	101 (7)	13,6 (31)	4,7 (25)	71 (13)	130 (12)	59 (37)
	SM	San Martín	45 (64)	273 (36)	104 (8)	12,5 (19)	4,6 (34)	77 (12)	132 (8)	55 (20)
Sur	LFe	L Fontana este	41 (63)	307 (27)	103 (9)	12,8 (26)	4,8 (31)	71 (13)	134 (9)	63 (19)
	LFo	L Fontana oeste	39 (46)	278 (29)	100 (7)	14,2 (18)	4,7 (27)	72 (11)	128 (10)	56 (27)
	RU	Río Unión	35 (20)	327 (19)	102 (5)	14,2 (15)	5,2 (21)	70 (9)	133 (5)	62 (14)
	AP	A Perdido	27 (19)	268 (24)	101 (7)	12,8 (15)	4,8 (24)	73 (8)	128 (8)	55 (16)

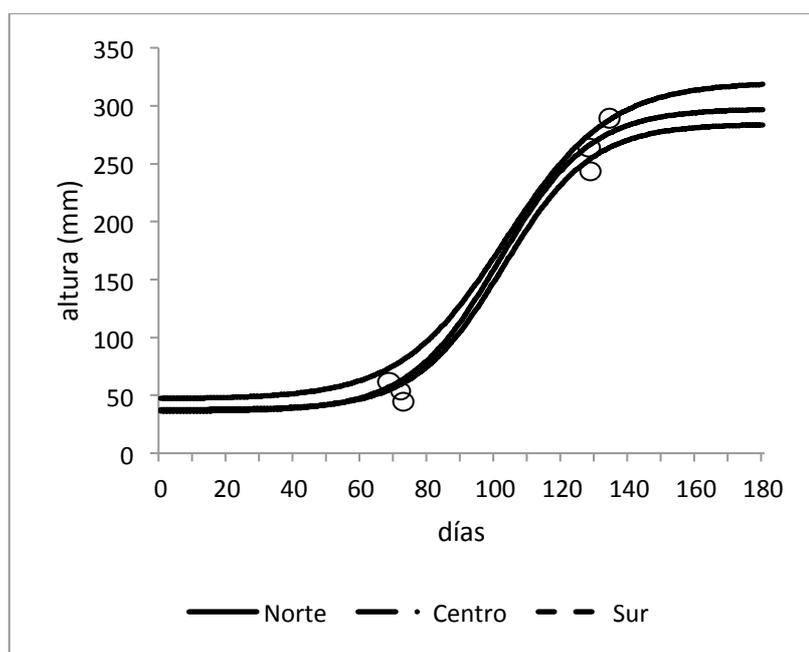


Figura 3-7: Curvas medias por transecta (Norte, Centro y Sur) del crecimiento del segundo año de plantines de lenga, modeladas por regresión no lineal según ecuación de Boltzmann.

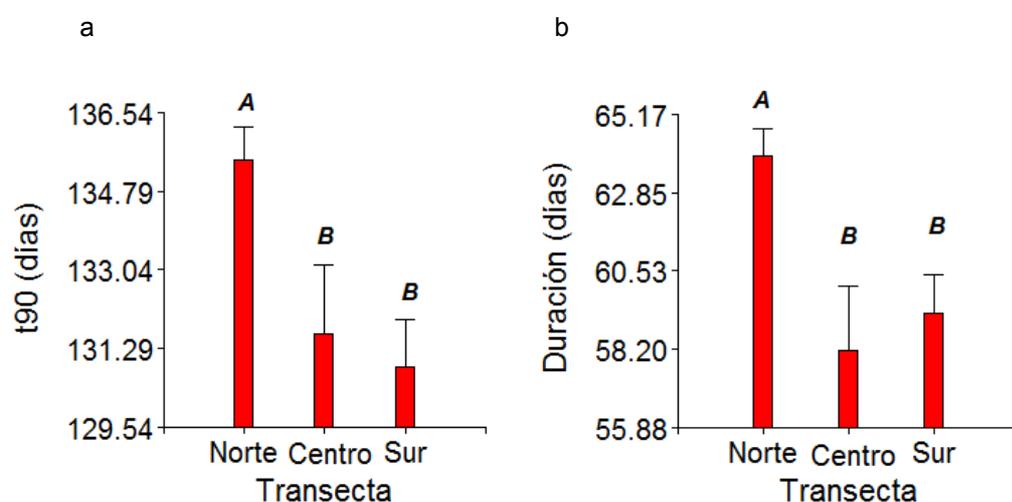


Figura 3-8: Medias y desvío estándar Por transecta latitudinal, para las variables finalización del período de crecimiento (T_{90}) (a) y duración del período de crecimiento (b) correspondiente a plantines de lenga en su segundo período vegetativo.

Utilizando el test de razón de verosimilitud, no se hallaron diferencias significativas entre poblaciones para ninguna de las variables de crecimiento analizadas.

Se halló una alta correlación significativa entre la altura final y la tasa máxima de crecimiento, entre el tiempo medio y los tiempos de inicio y de finalización del crecimiento, y entre la duración del crecimiento y el tiempo de finalización del

crecimiento. Por supuesto la correlación entre las variables *S* y *Dur* tuvo un valor de 1, lo que refleja que la variable *Dur* es una combinación lineal de *S* (Tabla 3-9).

Tabla 3-9: Coeficiente de correlación de Pearson entre variables analizadas. Por debajo de la diagonal principal se presentan los coeficientes de correlación y por encima su significancia estadística (* = significativo, ns = no significativo).

	H0	Hf	T₅₀	S	Tasa	T₁₀	T₉₀	Dur
H0	1	*	*	ns	ns	*	*	ns
Hf	0,33	1	*	*	*	ns	*	*
T₅₀	0,25	0,32	1	*	ns	*	*	*
S	-0,06	0,26	0,33	1	*	*	*	*
Tasa	0,09	0,73	0,03	-0,34	1	*	*	*
T₁₀	0,28	0,09	0,66	-0,49	0,30	1	*	*
T₉₀	0,13	0,36	0,84	0,78	-0,17	0,15	1	*
Dur	-0,06	0,26	0,33	1,00	-0,34	-0,49	0,78	1

Arquitectura de plantas

En la Tabla 3-10 pueden observarse las medias poblacionales de las características arquitecturales de los plantines de lenga de dos temporadas de crecimiento. Se observa una amplia dispersión de los datos para las variables relacionadas a características de las ramas, evidenciada en los CV calculados (Tabla 3-10). Las menos variables fueron las relacionadas al vigor de la planta (*L*, *D*, *NY*, *L/T*), que en promedio entre las poblaciones analizadas presentaron un 24,8% de CV (Tabla 3-10). Las variables relacionadas a características de ramas de primer orden (*NR1* y *LR1*) presentaron un CV promedio del 67,9%. Las variables que presentaron la más alta dispersión fueron las relacionadas a las características de ramas de segundo orden (*NR2* y *LR2*), cuyo CV fue más de 4 veces superior a la media. Esto se debe a que más de la mitad de las poblaciones no presentaron ramas de segundo orden al finalizar la segunda temporada de crecimiento, por lo cual gran parte de los datos fueron nulos (Tabla 3-10). No se hallaron diferencias significativas entre los regímenes de precipitación ni latitudinales para ninguna de las variables arquitecturales.

Aplicando la prueba de razón de verosimilitud para todas las variables analizadas en las poblaciones ensayadas, la variación interpoblacional fue significativa sólo para la longitud de entrenudo, con un aporte del 7% de la varianza total (el 28 % fue controlado por el diseño del ensayo y el restante 35 % quedó comprendido dentro del error experimental).

Tabla 3-10: Medias poblacionales y CV (entre paréntesis) para las principales variables arquitecturales de los plantines de lenga ensayados: Longitud del vástago principal (L), diámetro (D), número de yemas del vástago principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primera orden ($LR1$), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de esbeltez (L/D), longitud promedio del entrenudo (L/NY), índice de ramosidad ($L/NR1$).

Tran	Población		L [mm]	D [mm]	NY	$NR1$	$LR1$ [mm]	$NR2$	$LR2$ [mm]	L/D	L/NY	$L/NR1$
Norte	AG	A° Guanacos	342,8 (27)	6,0 (20)	19,3 (28)	5,0 (55)	169,6 (42)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	57,5 (19)	18,3 (26)	91,1 (63)
	LHb	La Hoya bajo	335,0 (28)	5,3 (20)	16,7 (35)	3,7 (68)	141,0 (48)	0,4 (321)	6,5 (320)	63,1 (23)	22,1 (36)	115,6 (66)
	Hb	Huemul bajo	302,4 (28)	5,4 (21)	14,9 (29)	4,3 (60)	126,9 (49)	0,1 (520)	0,1 (520)	55,6 (18)	20,9 (23)	93,4 (63)
	T	Trevelin	277,8 (31)	5,1 (20)	16,5 (33)	3,3 (79)	110,2 (61)	0,1 (381)	0,1 (520)	54,4 (25)	21,6 (20)	100,7 (67)
Centro	LG	L° Guacho	300,2 (29)	5,1 (19)	14,3 (33)	3,5 (89)	132,2 (61)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	59,1 (21)	21,6 (20)	124,7 (78)
	RP	Río Pico	273,0 (22)	5,1 (16)	14,4 (17)	3,1 (54)	126,0 (47)	0,1 (360)	2,2 (520)	54,1 (23)	19,2 (23)	117,3 (65)
	SM	San Martín	268,0 (37)	4,7 (24)	15,0 (35)	3,7 (70)	105,4 (70)	0,3 (520)	0,0 (0,0)	56,3 (28)	18,0 (19)	98,2 (66)
Sur	LFe	L° Fontana e	274,4 (30)	5,4 (17)	14,6 (25)	3,2 (54)	119,9 (55)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	51,1 (24)	18,8 (13)	127,2 (82)
	LFo	L° Fontana o	311,1 (26)	5,3 (21)	17,3 (24)	4,0 (58)	122,7 (54)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	60,1 (28)	18,4 (23)	106,9 (74)
	RU	Río Unión	322,1 (19)	5,7 (14)	16,0 (17)	2,9 (85)	139,7 (44)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	56,9 (19)	20,6 (21)	163,1 (61)
	AP	A° Perdido	266,9 (20)	5,2 (22)	13,3 (15)	2,4 (65)	126,5 (63)	0,2 (308)	2,0 (321)	52,3 (20)	20,1 (17)	126,5 (63)

3.4 Variación en caracteres de vigor en plantas al año de su instalación en el campo

3.4.1 Materiales y Métodos

Se estableció un ensayo de procedencias en el campo con un diseño en bloques completos de parcelas monoárbol, con 24 parcelas por procedencia. Se representaron 11 poblaciones correspondientes a las transectas latitudinales y los regímenes de precipitación ya s en los subtítulos anteriores. Una de las 11 poblaciones corresponde a la procedencia local (Trevelin), o sea la misma procedencia que el sitio de ensayo. Se utilizaron plantas a raíz desnuda viverizadas durante dos años (1 año en contenedor y un año en almácigo) obtenidas a partir de semillas de polinización abierta cosechadas en el año 2003. Un resumen de los parámetros más relevantes de los plantines antes de ser llevados a campo puede observarse en la Tabla 3-11.

Tabla 3-11: Valores medios poblacionales de altura y diámetro al cuello con sus respectivos desvíos estándares (entre paréntesis) de las plantas ensayadas en el campo.

Tran.	Población	Altura [mm]	Diámetro [mm]
Norte	LV L ^o Villarino	621,9 (166,6)	7,0 (0,9)
	LHa C ^o La Hoya alto	389,6 (165,3)	5,5 (0,7)
	AG A ^o Guanacos	474,8 (160,2)	6,5 (1,1)
	H? Huemules bajo	550,6 (171,5)	6,1 (0,8)
	LZ L ^{gna} La Zeta	471,3 (120,6)	5,8 (0,7)
	T Trevelin	455,4 (181,9)	5,8 (0,9)
Centro	SC Sierra Colorada	543,9 (171,0)	6,2 (0,8)
	Ba Lago Baguilt	457,1 (149,8)	6,1(0,6)
	LG Lago Guacho	374,5 (124,1)	5,7(1,0)
Sur	Me Las Mulas Este	384,7 (142,6)	5,6 (1,1)
	Mo Las Mulas Oeste	396,7 (258,4)	5,4 (1,4)

El ensayo fue instalado en el Campo Experimental Trevelin de INTA EEA Esquel, sobre la vertiente este del Cordón Situación, a 1.100 m snm, colindante con el Parque Nacional Los Alerces por el oeste. El sitio corresponde a un ecosistema de bosque alto de lenga, afectado por dos incendios relativamente recientes (el último en el año 1987, y el primero posiblemente en la década del '50). Posteriormente al último incendio, el sitio fue ocupado casi en su totalidad por un denso matorral de caña colihue, acompañado en los claros por especies herbáceas y algunas arbustivas (*Ribes maguellanica*, *Berberis buxifolia*, *Senecio* sp., entre otras). La plantación se realizó en claros entre matorral de caña. El distanciamiento entre plantas fue de un metro por un metro. Al finalizar el primer año de crecimiento se evaluó la sobrevivencia, presencia de ápices secos, ramoneo por liebres y crecimiento del año como diferencia entre las alturas final e inicial.

Se compararon medias de tratamientos y se analizaron los componentes de la varianza por medio de ANOVA para las cuatro variables. Con el siguiente modelo de efectos fijos y aleatorios:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + P_k + B_l + e_{ijkl}$$

donde: Y_{ijkl} es la $ijkl$ -ésima observación de la variable, μ es la media general, T_i , representa el efecto fijo de la i -ésima transecta, S_j representa el efecto fijo del j -ésimo régimen de precipitación, P_k representa el efecto aleatorio de la k -ésima población anidada en la i -ésima transecta y el j -ésimo régimen de precipitación, B_l representa el efecto aleatorio del l -ésimo bloque y e_{ijkl} es el error aleatorio.

Las variables sobrevivencia ápice seco y ramoneo por liebres son binarias (presencia / ausencia) con distribución binomial, y fueron analizadas como tales. Se consideró una planta muerta cuando las yemas de todo el tallo estaban muertas, al igual que el tallo. Cabe aclarar, que lenga no tiene la capacidad de rebrote, a diferencia de algunas sp. de *Nothofagus* como *N. antarctica*, *N. alpina* y *N. obliqua*. La presencia de ápice seco se consideró cuando una porción (superior) de tallo con sus yemas se halló seca al finalizar la primera temporada de crecimiento, es decir quedaban yemas inferiores con la capacidad de producir nuevos brotes la temporada de crecimiento siguiente. Por último, se consideró una planta ramoneada por liebre cuando hubo algún tipo de daño por este. Si bien el análisis de estas variables binomiales considera presencia / ausencia, los porcentajes de plantas con ápice seco y ramoneadas, referidos en las tablas resúmenes se consideran con respecto al total de plantas sobrevivientes.

3.4.2 Resultados.

La sobrevivencia general del ensayo al primer año fue del 82%. , el porcentaje general de ápices secos en base a las plantas vivas fue del 12,6% y el daño por ramoneo fue nulo, pese a que es habitual el ataque por liebres en la zona. El crecimiento del primer año fue de 6,3 cm de promedio general, con un valor mínimo absoluto de 0 cm y uno máximo absoluto de 25 cm. Los valores medios poblacionales de todas las variables pueden verse en la Tabla 3-12.

A través del ANOVA pudieron comprobarse diferencias significativas entre regímenes de precipitación para “ápice seco” ($p = 0,024$). Para “sobrevivencia”, “crecimiento anual” no se verificaron diferencias significativas ni entre regímenes de precipitación ni entre transectas latitudinales. El factor “población” de efectos aleatorios no fue significativo para ninguna de las variables evaluadas. Al año de plantación no se registraron plantas afectadas por ramoneo.

Considerando específicamente a la procedencia local, sólo se verificaron diferencias significativas con las procedencias exóticas para la variable “sobrevivencia” (74 % para Trevelin y 91 % para el promedio de las restantes).

Tabla 3-12: Medias poblacionales (y CV) para las variables sobrevivencia, crecimiento, ápice seco (AS) y ramoneo en el ensayo de procedencias de lenga en el campo.

Tran	Población	Sobrev. [%]	Crecim. [cm]	AS [%]	Ramoneo [%]
Norte	LV L ^o Villarino	92 (30)	6,7 (80)	17 (223)	0 (0)
	LHa C ^o La Hoya alto	91 (32)	6,6 (47)	10 (316)	0 (0)
	AG A ^o Guanacos	88 (39)	7,4 (67)	10 (316)	0 (0)
	H Huemules bajo	88 (37)	6,4 (51)	9 (331)	0 (0)
	LZ L ^{gna} La Zeta	79 (52)	6,1 (48)	0 (0)	0 (0)
	T Trevelin	74 (31)	5,6 (41)	24 (186)	0 (0)
Centro	SC Sierra Colorada	92 (30)	6,0 (64)	9 (331)	0 (0)
	Ba Lago Baguilt	100 (0)	5,3 (52)	33 (145)	0 (0)
	LG Lago Guacho	96 (21)	5,8 (47)	10 (316)	0 (0)
Sur	Me Las Mulas Este	83 (46)	5,4 (60)	5 (447)	0 (0)
	Mo Las Mulas Oeste	100 (0)	7,5 (30)	20 (204)	0 (0)

Tabla 3-13: Medias de cada régimen de precipitación en los porcentajes de sobrevivencia y de ápices secos (AS) en el ensayo de procedencias de lenga en el campo y contrastes de a pares por test de Tukey ($p < 0,05$).

Reg. Precip.	Sobrev [%]	AS [%]
Seco	84,2 a	5,2 a
Mésico	92,9 b	13,1 b
Húmedo	90,2 a b	19,6 a b

3.5 Discusión

Un primer aspecto a destacar es la notable diferencia entre los resultados obtenidos del análisis de variación natural y los provenientes de los ensayos en ambiente común.

En los análisis de variación natural, específicamente en los ensayos seminales de tamaño y peso de semillas, se destacan dos aspectos principalmente: la presencia de interacciones entre los gradientes ambientales analizados y la diferencia de la contribución de la variación poblacional en el peso respecto de las variables de forma.

Así, se hallaron diferencias entre semillas de poblaciones secas con respecto a aquellas de poblaciones húmedas en las tres transectas analizadas, aunque el patrón de variación no fue fijo entre las distintas transectas. Las transectas central y sur presentaron un patrón de variación clinal en función del gradiente de precipitaciones, lo que coincide con las observaciones hechas en *N. obliqua* (Donoso 1979, Ipinza 2000, Donoso y col. 2004) especie en la que se observó una disminución clinal en el tamaño de la semilla en el gradiente N-S, pero asociado a variaciones en las condiciones hídricas en el área de distribución de la especie. Según estos autores, dicha variación en el peso o tamaño de semilla puede explicarse fisiológicamente por efectos combinados de las altas temperaturas y condiciones de humedad. En el área de estudio, las temperaturas disminuyen gradualmente hacia el sur lo mismo que las condiciones de aridez. Como adaptación a estas condiciones, el tamaño de las semillas constituye una característica adaptativa que confiere una ventaja de sobrevivencia a las especies bajo condiciones de sequía (Daubenmire 1979, Donoso 1979 a y b, Donoso y col. 2004). En el caso de *N. pumilio* en el área bajo estudio, dichos gradientes de temperatura y humedad estarían asociados más a la variación longitudinal, en donde las poblaciones del este claramente presentan menores precipitaciones y mayores temperaturas que las poblaciones occidentales. La adaptación fisiológica estaría relacionada con la ocurrencia de altas temperaturas y condiciones de menor humedad en las poblaciones de ambientes secos, en las cuales el aumento del tamaño de la semilla aseguraría la disponibilidad de reservas en el endosperma que posibilitarían un rápido crecimiento radicular para explorar los horizontes más húmedos, evitando así la sequía de los horizontes superiores (Wright 1976, Donoso 1979 a y b, Donoso y col. 2004). Sin embargo, este patrón no pudo ser confirmado en la transecta norte, en donde por lo contrario se invirtió este patrón, presentando mayor peso y tamaño las semillas de las poblaciones húmedas (Tabla 3-1). Por otro lado, ya que se trata de variación natural, para la interpretación de estos resultados no podemos dejar de tener en cuenta el efecto materno (de carácter ambiental) (Roach y Wulff, 1987; Gutterman 2000) sobre la modelación de estas variables, el que no es posible remover de los análisis (o ponderar) en los ensayos realizados.

Además de la variación clinal y la ecotípica, tanto para la variación por sitio de precipitaciones y por transectas latitudinales, se puede probar como hipótesis alternativa la variación aleatoria (Wright, 1976, Pastorino y Gallo 2000, Manel y col. 2003). Una forma de estudiar esa variación puede ser a través del cálculo de interacciones sitio de precipitaciones por transectas latitudinales. La presencia de interacciones, podría indicar la presencia de variación aleatoria. Se plantea la existencia de interacciones para probar una posible variación ecotípica, no detectable a través del planteo del gradiente para los dos efectos fijos planteados originalmente, variación latitudinal y pluviométrica.

Esta hipótesis de interacción entre los dos gradientes no ha sido ensayada para las distintas especies de *Nothofagus* en el continente. En líneas generales, las semillas de mayor PS correspondieron a las semillas más anchas (coeficiente de correlación 0,88 y altamente significativa), no así con el largo de semilla, donde no se halló una correlación significativa, con alguna excepción las semillas de las poblaciones clasificadas latitudinalmente en el centro y oeste, las cuales fueron semillas largas pero relativamente angostas, por lo tanto con una relación L/A alta, que podrían describirse como semillas “alargadas”. Dado que los rasgos de los frutos relacionados a la dispersión (por ej. Tipo, tamaño, color) probablemente resultan del compromiso entre la filogenia, ambiente abiótico y presión de selección de los agentes de dispersión (Hoffman y Armesto 1995). En semillas de dispersión anemófila el tamaño y el peso de la semilla están relacionados con la distancia de dispersión (Matlack 1987). Por lo tanto, semillas de pesos similares, pero con mayor superficie alar, implican distancias de dispersión mayores, con importantes consecuencias ecológicas y genéticas para la población ya que influye en el tamaño de parches o núcleos de individuos genéticamente emparentados (Linhart y Grant, 1996, Willson y Traveset 2006).

Otro aspecto que surge es la incidencia notoriamente diferenciada del aporte poblacional a la variación total: más del 80% de la variación del peso de la semilla estuvo explicada por el efecto aleatorio población, y mucho menos remarcada en las variables de forma (largo, ancho y su relación) también significativas, pero su contribución promedio fue de un 10% aproximadamente. A manera de verificar la influencia del llenado de la semilla en esta variación se ensayó una regresión del peso de la semilla en función del porcentaje de germinación obtenido efectivamente luego de la siembra, siendo el modelo no significativo, por lo que no es posible esta asociación.

Es decir que cuando se analiza el peso de la semilla, es importante considerar el hecho del porcentaje de semillas llenas en el lote. Un aspecto relevante en este análisis está referido a la biología de la especie. Poole (1950) en el estudio de especies del género *Nothofagus* en Nueva Zelanda, describe que es normal el desarrollo de frutos partenocárpicos en temporadas de pobre floración y fecundación, produciéndose el desarrollo y maduración del fruto aún luego del aborto de los óvulos no fecundados, similarmente a lo reportado por Rivero y colaboradores (1995) para tres especies del género en sudamérica en los cuales las flores producen una alta proporción de frutos y baja proporción de semillas. Esta particularidad en el desarrollo del fruto, explica la posibilidad de hallar un alto porcentaje de frutos “vanos”, sin desarrollo del embrión, y estarían en relación a la periodicidad en la formación de flores, y a los eventos climáticos que ocurren durante la polinización. La alta variación del clima en alta montaña, generaría un amplio espectro de escenarios, en los que la conjugación de estos factores (floración + clima) componen un complejo patrón de variación. El componente tamaño de semilla, por otro lado, estaría menos influenciado por estos factores enunciados, aunque adquiere mayor preponderancia el efecto materno.

En el ensayo de tamaño de cotiledones, se halló una relación inversa entre las variables del tamaño de cotiledón y la latitud, independientemente del régimen de precipitación, dicha variable explicó aproximadamente un 45% de la variación total, de manera significativa, así la población más septentrional casi duplicó, por ejemplo, el área de cotiledón de la población más austral. El tamaño del cotiledón, al igual que el del endosperma en la semilla, les confieren a las plántulas reservas de fundamental importancia para el éxito durante establecimiento, posibilitando un rápido crecimiento de la plántula indispensable antes de que inicie la temporada estival seca que caracteriza a la región. En especies epigeas, como *Nothofagus*, además de la función de

almacenamiento, los cotiledones que se expanden luego de la germinación contienen clorofila, poseen estomas y son unos eficientes órganos fotosintetizadores (Ampofo y col. 1976). Así, el rol del cotiledón en las especies cambia en función del estadio de desarrollo de la plántula: antes de la emergencia la función del cotiledón radica en la descomposición del material de almacenamiento, su movilización y la transferencia de los productos al eje embrionario. Este proceso puede continuar después de la emergencia de las plántulas, pero en este momento, la fotosíntesis del cotiledón también constituye una fuente de recursos importante para el desarrollo del plantín (Ampofo y col. 1976). En este trabajo se pudo verificar una correlación positiva y significativa entre el tamaño del cotiledón (área cotiledonar) y la altura al finalizar la primera temporada de crecimiento. Es más, aunque no se calculó área foliar específica, por lo cual no es posible inferir la eficiencia del sistema ni cantidad de reservas acumuladas en los cotiledones, sabemos que a mayor superficie cotiledonar hubo una mayor superficie fotosintética que se correspondió con un mayor crecimiento inicial. Estos rasgos, al igual que el tamaño seminal, tienen un gran componente ambiental combinado con un fuerte efecto materno, efectos que no es posible aislar en un ensayo de variación natural como el planteado. La fuerte tendencia clinal de la disminución de la superficie cotiledonar al aumentar el gradiente latitudinal podría indicar que dicho carácter está bajo una fuerte presión de selección.

Prosiguiendo este correlato de eventos que contribuyen al éxito reproductivo, una considerable mortalidad de individuos ocurre durante la germinación, establecimiento del plantín y crecimiento temprano en poblaciones silvestres (Antonovich 1986) y ocurriría una importante presión de selección en estos estadios. La germinación y energía germinativa se relacionan directamente con el número de propágulos que efectivamente podrán establecerse. Por esto, el resultado más importante del ensayo de germinación es que se hallaron diferencias significativas entre poblaciones, tanto en capacidad germinativa como con velocidad de germinación, y esa diferencia se mantuvo bajo todos los tratamientos pre-germinativos, ya que no hubo interacción. En este estudio se observó una relación positiva entre tiempo de emergencia y tamaño de semilla, es decir las semillas de mayor tamaño germinaron antes. Este aspecto es controversial, y no se ha verificado en otras especies forestales obteniéndose relaciones inversas entre tamaño de semilla y tiempo de emergencia (Seiwa 2000). Así, este autor, halló para *Quercus mongolica var. grosseserrata* que el crecimiento y sobrevivencia de la especie estuvo fuertemente relacionado con el tamaño de la semilla pero menos con el tiempo de emergencia; de manera contrastante en *Junglans ailanthifolia*, el crecimiento fue fuertemente afectado por el tiempo de emergencia pero menos por el tamaño de la semilla. Asimismo, también reportó en *Quercus*, que los plantines que primero emergieron provinieron de semillas grandes, en cambio en *Junglans*, lo hicieron aquellos plantines derivados de semillas pequeñas. Guttermann (2000) describe ampliamente el efecto del ambiente materno en el desarrollo y fisiología de las semillas en numerosas especies, hallándose diferencias en la capacidad de germinación en semillas de la misma especie y aún en la misma planta debido a factores ambientales, y hallándose en algunas especies que los últimos 5-15 días de maduración de la semilla son críticos. Sin embargo, la persistencia de las especies en sus respectivos ambientes implica que existe adaptación de la planta a sus condiciones de hábitat, lo cual significa que la germinación es probable que ocurra en la estación correcta y en el lugar correcto.

En los ensayos de ambiente común en vivero, las poblaciones de la transecta norte, independientemente de su régimen de precipitaciones, se diferenciaron de las

poblaciones provenientes de las transecta centro y sur. Los plantines procedentes de poblaciones de la transecta norte tienen una curva de crecimiento más achatada, y una duración y un tiempo de finalización del crecimiento significativamente mayores a las provenientes de las otras transectas. Adicionalmente, en estas variables las transectas centro y sur no difieren entre sí.

En este estudio no se hallaron diferencias entre transectas para el inicio de crecimiento pero sí se hallaron evidencias de variación en el cese de crecimiento (similarmente a lo reportado en otra especie forestal patagónica: *Austrocedrus chilensis*, Aparicio y col. 2012), duración del periodo de crecimiento y tasa de crecimiento. La fenología en la cesación del crecimiento es un rasgo que confiere resistencia al frío en ambientes limitantes por esta característica (Partanen and Beuker 1999) al posibilitar el escape a las heladas tempranas que ocurren en estas regiones frías donde se desarrolla la lenga. La cesación del crecimiento ha sido reportada como más variable que la iniciación del crecimiento entre poblaciones de coníferas (Oleksyn y col. 1998). A su vez, la duración del periodo de crecimiento es generalmente más una función de la finalización del periodo de crecimiento que del inicio de crecimiento (Howe y col. 2003, Green 2005). La duración del periodo de crecimiento y el promedio de la tasa de crecimiento son la llave que determina la capacidad competitiva. El efecto combinado de la cesación del crecimiento y la tasa de crecimiento, son por lo tanto de gran importancia en la respuesta adaptativa de las distintas especies (Green 2005).

Las poblaciones de la transecta norte cierran más tardíamente y están durante más tiempo creciendo que las plántulas provenientes de las otras dos transectas latitudinales. Una primera interpretación podría suponer una variación clinal de estas tres variables acompañando al gradiente latitudinal, disminuyendo sus valores con el aumento de la latitud. Podría existir un vínculo entre el crecimiento y la temperatura media del ambiente natural en el cual se desarrolla cada población, tal como sugieren Chuine y colaboradores (2005). Esto supondría el efecto de procesos de selección. Sin embargo, los resultados del ensayo analizados en su totalidad no apoyan esta hipótesis, ya que las dos transectas restantes no difirieron entre sí como se esperaría. Más aún, en el análisis de regresión de los rasgos que mostraron variación latitudinal (S , forma de la curva, $T90$ y Dur) y la latitud, no se halló relación entre éstos (modelo no significativo) es decir que se descartaría la variación clinal para estos caracteres. Esto nos lleva a interpretar el patrón de variación hallado como evidencias de una variación ecotípica.

Las variables relacionadas a arquitectura de plantín han sido menos adecuadas para diferenciar poblaciones que las variables relacionadas a ritmo de crecimiento. Posiblemente las diferencias fenotípicas que pueden observarse en poblaciones naturales, se deben a plasticidad fenotípica en estos caracteres no a variaciones microambientales relacionadas a la historia de vida de cada planta (e.g. calidad de sitio, daños producidos en algún estadio de vida, competencia).

El desarrollo de la lenga en los primeros años desde la germinación involucra notables variaciones morfológicas y arquitecturales vinculadas con la transición entre la fase de establecimiento de la plántula y la fase de inicio de formación del tallo (Puntieri y col. 2006). Al igual que en otras especies del género, como en *N. obliqua* (Puntieri y col. 2006), el tamaño de los primeros dos brotes anuales con el desarrollo de ramas tanto de primero como de segundo orden, es notablemente mayor para las plantas medidas en el presente estudio que para plantas de edad equivalente observadas a campo, dentro del área de distribución natural de esta especie (Raffaeley col.1998). Esto sugiere que el crecimiento de la lenga en la fase de establecimiento puede incrementarse

notablemente en condiciones de vivero. Dado el período de sequía que suele presentarse en el norte de la Patagonia argentina durante el verano, es probable que el suministro de agua en vivero sea la causa principal de esta diferencia. Nuestros resultados muestran que la mayoría de tales variaciones no han estado relacionadas con el sitio de procedencia de las semillas de las que derivaron las plantas.

Por lo tanto, dicha variación observada es debida a la variación genética más la interacción genotipo más ambiente, la cual no es posible desdoblar con este análisis, ya que no se ensayó el efecto ambiente en el modelo. La exigua variación interpoblacional hallada y el alto valor residual en la varianza, podría deberse a una alta variación intrapoblacional más el efecto ambiental. Esta hipótesis la pondremos a prueba en el capítulo de variación intra-poblacional, cuando consideremos las relaciones familiares al interior de cada población.

La alta dispersión de datos para las distintas variables arquitecturales analizadas, evidenciada en los altos valores de desvíos observados en relación a la media de la respectiva variable (Tabla 3-10) podría ser la causa de no haber hallado diferencias significativas entre los efectos fijos analizados ni variación interpoblacional.

En el ensayo de campo se comprobaron diferencias significativas entre regímenes de precipitación en la presencia de ápices secos, con menor sobrevivencia en las poblaciones de menor precipitación. Otro resultado llamativo es el observado por la menor sobrevivencia de las plantas de origen local respecto de las poblaciones exóticas.

En algunos casos las diferencias observadas entre procedencias en ensayos de ambiente común en vivero se mantienen a largo plazo en ensayos de ambiente común a campo, como ha sido reportado en *Picea mariana* (Johnsen y Seiler 1996) y *Pinus ponderosa* (Rehfeldt 1992). La evaluación de ensayos de ambiente común de rasgos en estadios tempranos y su correlación posterior con rasgos de importancia a edades más tardías, como por ejemplo la mitad del turno (Zobel y Talbert 1994) posibilita la selección a edades tempranas, lo que representa un importante beneficio tanto en programas de mejoramiento genético como en estudios ecológicos.

Está ampliamente difundido que las poblaciones locales están comúnmente más adaptadas al nicho ecológico, incluyendo la fluctuación climática (Zobel y Talbet 1994, Morgenstern y Mullin 1990). El contraste entre los requerimientos para un buen crecimiento (longitud del fotoperiodo y temperatura) y sobrevivencia (adecuada longitud de la estación de crecimiento), ha sido observada por Morgenstern y Mullin (1990). Un balance entre crecimiento y sobrevivencia o daño suele favorecer a la procedencia local, a pesar de resultados tempranos reportados en contrario (Morgenstern y Mullin 1990). Sin embargo en el presente estudio no se ha podido demostrar tal ventaja competitiva de la población local sobre las foráneas. Los valores de sobrevivencia inicial obtenidos en el presente ensayo han sido relativamente altos. Las diferencias entre procedencias en sobrevivencia usualmente aparecen gradualmente y requieren por lo tanto un periodo de prueba de varios años en experimentos de campo. Inicialmente se pueden confundir estos efectos con otros como el shock de transplante y competencia de malezas, que puede afectar la performance por varios años (Morgenstern y Mullin 1990). Sin embargo, ha sido posible detectar diferencias entre poblaciones, posiblemente debido al diseño experimental con parcelas monoárbol, que posibilita aumentar el número de grados de libertad disminuyendo la variabilidad intra parcela y el tamaño del ensayo al mínimo posible.

Muchas veces las diferencias observadas en experimentos de vivero de corta duración no son observadas con el mismo material en el campo (Morgenstern y Mullin

1990), debido a la complejización del ambiente físico y biológico y la disminución del control sobre estas variables (Rehfeldt 1984). En este estudio, al comparar los resultados de crecimiento en ensayos de ambiente común en vivero y campo, coincidieron en no hallar diferencias significativas en el crecimiento inicial, ligado a los factores ambientales analizados. Sería menester proseguir con la evaluación de los ensayos de procedencia a campo, de tal manera de poder detectar problemas de adaptación que ocurren por estímulos ambientales de baja frecuencia temporal pero importantes para el desarrollo normal de los árboles.

4 VARIACIÓN EN EL GRADIENTE ALTITUDINAL



4.1 Introducción

La altitud es un factor ambiental que tiene probado efecto en distintas especies forestales sobre la variación genética entre sus poblaciones naturales. Estudios en este gradiente constituyen relevantes “experimentos naturales” para probar respuestas ecológicas y evolutivas de la biota a influencias geofísica de importante efecto en los procesos de selección natural. En estos experimentos están involucradas dos categorías de gradientes ambientales: una que incluye aquellas características físicas ligadas directamente con la altitud, como temperatura, presión atmosférica o concentración de gases, y otra que involucra factores no ligados directamente con la altitud, como humedad atmosférica, horas de luz, velocidad del viento, duración de las estaciones o uso del suelo (Körner 2007). Así, por efecto de adaptación, la variación en las condiciones físicas del ambiente a lo largo de un gradiente altitudinal comúnmente determina patrones de variación genética en las poblaciones (Read 1980, Rehfeldt 1986, 1987, 1991, Zobel 1994, Cordell y col. 1998, Hovenden y VanderSchoor 2003, Fabbro y Körner 2004, Premoli y col. 2007). Las poblaciones de especies forestales con distribución natural a través de un gradiente altitudinal tienden a diferenciarse genéticamente en caracteres cuantitativos de valor adaptativo como el patrón de elongación de la yema apical o la resistencia a sequía o heladas (Campbell 1979, Rehfeldt 1993).

Como antecedente en especies del género *Nothofagus*, los trabajos pioneros han sido abordados por Wilcow y Ledgard (1987), quienes han reportado variación clinal o ecotípica en gradientes altitudinales. Por ejemplo, *N. solandri* var. *Cliffortioides* mostró variación clinal en el gradiente altitudinal, reportándose un morfotipo intermedio en algunas características a *N. solandri* var. *solandri* y *N. solandri* var. *cliffortioides*. En *N. obliqua* Donoso halló una variación clinal en el peso de semilla y el número de estambres en función del gradiente altitudinal, disminuyendo estos parámetros con la altitud (Donoso 1987).

En lenga la variación fenotípica en este gradiente ha sido la más estudiada. Se han reportado diferencias en el tamaño, cantidad, forma y sanidad de las semillas en relación con la variación altitudinal (Martínez Pastur y col. 1997, Cuevas 2000, Premoli 2004), también en el inicio y cierre de brotación, y duración del período vegetativo (Rusch 1993, Barrera y col. 2000), y en caracteres arquitecturales (Raffaele y col. 1998, Puntieri y col. 1999, 2003). Sin embargo, estos estudios corresponden a evaluaciones en plantas creciendo en condiciones naturales, por lo que no es posible discriminar el efecto genético del ambiental.

Los primeros estudios de plantines creciendo en ambiente común provenientes del gradiente altitudinal en la especie los han realizado Premoli y colaboradores (2007) literalmente transplantando plantines desde bosques de diferentes altitudes a un ensayo de ambiente común en vivero, a partir del cual reportaron variación en características arquitecturales entre distintos pisos altitudinales. Sin embargo, debido a la selección que ha operado en cada ambiente en forma previa a la remoción de las plantas del bosque, y también al efecto estresante del trasplante en sí mismo, la variación hallada no puede atribuirse exclusivamente a diferencias entre los acervos genéticos de los distintos pisos altitudinales.

El objetivo de este capítulo fue determinar la posible existencia de patrones de variación natural peso de semilla, y de variación genética en crecimiento, sobrevivencia y resistencia a heladas entre poblaciones de *N. pumilio* dispuestas a lo largo de un

gradiente altitudinal. Los objetivos específicos de este capítulo fueron determinar la posible existencia de un patrón de variación genética en tamaño y peso de semilla, crecimiento, sobrevivencia entre poblaciones de *N. pumilio*, recolectadas a lo largo de un gradiente altitudinal.

Las preguntas específicas abordadas en este capítulo son: a) ¿Existe variación clinal en el gradiente altitudinal en peso de semilla? b) ¿Se verifica un compromiso entre longitud del período de crecimiento y altitud de origen de semilla? c) ¿Es posible inferir procesos de adaptación local en los ensayos de transferencia recíproca?

4.2 Variación natural en caracteres seminales

4.2.1 Materiales y métodos

En el año 2005 se cosechó semilla en 6 sitios de muestreo sobre dos laderas (de ahora en más “poblaciones” La Hoya y Huemules) en el gradiente natural altitudinal en el que se desarrolla la especie, entre los 1.000 y los 1.500 m snm.

Los tres sitios de muestreo del Cerro La Hoya corresponden a un ambiente seco (500 mm anuales aproximadamente) del Cordón Esquel. La exposición de la ladera de los tres sitios de muestreo es sur-suroeste con pendiente moderada a fuerte. Los suelos son someros, presentando un alto porcentaje de pedregosidad. El relieve es quebrado atravesado por numerosos cañadones que drenan temporariamente en la época lluviosa y de deshielo y numerosos afloramientos rocosos (Figura 4-1a). Estos bosques pueden considerarse ecotonales y presentan una distribución fragmentada en el paisaje. Los árboles tienen un desarrollo máximo de unos 15 m, disminuyendo en altura hasta el límite superior de la de la distribución altitudinal del bosque donde el bosque se vuelve achaparrado o rastrero (1,5 a 2 m de altura).

Los tres sitios de muestreo correspondientes a la población Huemules se encuentran sobre una ladera del Cordón Rivadavia, y corresponden a un ambiente mésico (700 mm anuales aproximadamente). La exposición de esta ladera es este, y tiene pendiente moderada. Los suelos son más profundos, con textura franco arenosa-arenosa, con depósitos de arena volcánica. Los arroyos que discurren por esta ladera son permanentes, aunque el paisaje comparativamente con las poblaciones secas es menos quebrado y accidentado. La distribución del bosque de lenga es continua, presentando el aspecto de bosque compacto que cubre la ladera desde los 1.000 m snm hasta los 1.500 m snm (Figura 4-1b). La altura de los árboles alcanza los 20 m en el piso altitudinal inferior, disminuyendo hasta el límite superior de la distribución altitudinal, como fue en los bosques secos.

a



b



Figura 4-1: a) Laderas de bosque seco en el Cordón Esquel (población del Cerro La Hoya), b) Laderas de bosque mésico en el Cordón Rivadavia (población Huemules)

Cada sitio de muestreo estuvo representado por una mezcla de semillas de al menos 15 árboles (50 semillas de cada individuo), separados entre sí 30 metros. Las

variables evaluadas fueron: peso de 100 semillas (P), largo de semilla (L), ancho de semilla (A) y la relación largo sobre ancho de semilla (L/A). Para determinar el peso de 100 semillas, 300 semillas fueron tomadas al azar y divididas en 3 réplicas. Para medir el tamaño de la semilla, se tomó una muestra de 20 semillas de cada sitio de muestreo y se midió la longitud y el diámetro de las semillas con calibre, tal como ya fue descrito en el capítulo anterior.

Para el análisis de los datos del experimento se realizó un ANOVA utilizando el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la ijk -ésima observación de la variable, μ es la media general, A_i representa el efecto fijo de la altitud de la población, P_j representa el efecto fijo de la j -ésima población (La Hoya o Huemules) y e_{ijk} es el error aleatorio NID ($0, \sigma^2e$). El análisis se realizó con el software infostat (Di Rienzo y col. 2012).

4.2.2 Resultados

Para la variable peso de 100 semillas se verificó interacción entre los factores población y piso altitudinal ($p < 0,05$). En la transecta Huemules la población del piso altitudinal inferior presentó el mayor valor de P , mientras que en la transecta La Hoya se encontró lo contrario (Tabla 4-1).

Tabla 4-1: Peso medio (y su error estándar) de 100 semillas en cada uno de los pisos altitudinales muestreados de cada población analizada.

Población		Peso	E.E.
La Hoya bajo	LHb	1,30	0,04
La Hoya medio	LHm	1,43	0,04
La Hoya alto	LHa	1,47	0,04
Huemules bajo	Hb	1,60	0,04
Huemules medio	Hm	1,43	0,04
Huemules alto	Ha	1,47	0,04

Para las variables relacionadas con el tamaño de la semilla, no se verificaron interacciones entre las poblaciones y la altitud. En cambio sí se pudieron probar diferencias significativas entre pisos altitudinales tanto para el ancho de las semillas como para la relación L/A ($p = 0,0048$ y $p = 0,0203$ respectivamente). La semilla del piso altitudinal superior fue significativamente más angosta que la de los otros dos pisos, y con una relación largo sobre ancho mayor con respecto al piso intermedio. El resultado del test de Tukey puede verse en la Tabla 4-1.

Tabla 4-2: Valores medios de ancho de semilla y relación largo sobre ancho para los tres pisos altitudinales. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Piso altitudinal	<i>Ancho</i>	<i>L / A</i>
Inferior	5,22 a	1,49 a b
Medio	5,30 a	1,48 a
Superior	4,76 b	1,60 b

4.3 Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero

4.3.1 Materiales y métodos

Se analizó variación en rasgos morfológicos y de crecimiento en plantines de dos años de edad correspondientes a las 2 poblaciones y los tres pisos altitudinales del subtítulo anterior. Los plantines fueron producidos en ambiente común, tal como fue expuesto en el Capítulo 2.

Se instaló un ensayo de ambiente común en invernáculo con un total de 162 plantas, repartidas en 3 parcelas lineales de 9 plantas por sitio de muestreo, disponiéndose según el diseño experimental de bloques completamente aleatorizados,.

Como fue en el capítulo de metodología general, durante la segunda temporada de crecimiento se midió repetidamente la altura total de cada individuo con una precisión de 1 mm, desde el cuello hasta la yema terminal del vástago principal. Las mediciones se realizaron a partir del 23 de agosto de 2006 (considerado día 0 en el modelo) cada una o dos semanas durante 5 meses, realizándose una medición final pasados los 6 meses de la primera medición, para verificar la finalización del crecimiento. Se registraron las alturas los días 0, 14, 28, 42, 48, 57, 71, 78, 89, 96, 114, 127, 142 y 183. Con estos datos de altura se realizó el ajuste de una curva sigmoideal para cada planta utilizando la ecuación de Boltzmann a fin de modelar el crecimiento individual de cada plantín. Para este ajuste se utilizó el software GraphPad Prism 6.0 (GraphPad 1 Software, San Diego CA, USA). De cada curva se estimaron los parámetros asíntota inicial (altura inicial H_0), asíntota final (altura final H_f), tiempo medio (T_{50}) y pendiente (S). Adicionalmente, se extrajeron de la curva los valores tiempo de inicio (T_{10}) y tiempo de finalización (T_{90}) de crecimiento, definidos como el tiempo necesario para alcanzar el 10% y el 90% de la altura final, la duración del periodo de crecimiento (Dur) como la diferencia entre T_{90} y T_{10} y la pendiente máxima correspondiente a la máxima tasa de crecimiento ($Tasa$), que al ser una función simétrica corresponde al punto de inflexión (Notivol y col. 2007).

Al terminar la segunda temporada de crecimiento y luego de producido el cierre de yemas vegetativas, se evaluaron las siguientes variables arquitecturales en cada plantín: altura del vástago principal (L), diámetro del tallo a la altura del cuello (D), número de yemas en el eje principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de rama de mayor dimensión (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de rama de segundo orden más larga ($LR2$), presencia o ausencia de bifurcaciones (B) y pérdida de ápice (AS), además de las variables secundarias previamente definidas en el capítulo 2, índice de esbeltez (L/D), longitud de entrenudo (L/NY), índice de ramosidad ($L/NR1$) e índice de dominancia (L/LRI).

El análisis de componentes de la varianza se realizó para las variables que presentan distribución continua. Se utilizó un modelo lineal mixto, empleándose para su análisis el paquete *lme4* para modelos generalizados lineares mixtos (Bates, 2007) en R 2.11.1 (R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010), para el siguiente modelo de efectos fijos y aleatorios:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + A_iP_j + B_k + Sb_{ijk} + e_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijkl} es la $ijkl$ -ésima observación de la variable, μ es la media general, A_i representa el efecto fijo del i -ésimo piso altitudinal de la población, P_j representa el efecto fijo de la j -ésima población, A_iP_j representa el efecto fijo de la interacción del i -ésimo piso altitudinal y la j -ésima población, B_k representa el efecto aleatorio del k -ésimo bloque, S_{bijk} representa el efecto del error principal distribuido normalmente y con varianza 0 y e_{ijkl} es el efecto aleatorio del error de subparcela, también NID $(0, \sigma^2_e)$.

Para la determinación de la significancia en los factores de efectos fijos, se aplicó una estimación MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*) utilizando para ello el paquete estadístico *rlanguage* del programa de uso libre R (R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010) a posteriori del modelo MLM (modelo lineal mixto) para los parámetros con distribución normal (Baayen y col. 2008), tal como se explicó en el capítulo 2.

Las variables de presencia – ausencia, de distribución binomial, se analizaron en forma diferenciada. El estudio de la misma se realizó con el paquete *lme4* (Bates, 2007) de R 2.11.1 (R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010).

4.3.2 Resultados

Los valores medios para las variables de crecimiento pueden observarse en la Tabla 4-3. Las variables fenológicas presentan menos dispersión que las de forma de curva y de crecimiento propiamente dichas.

Tabla 4-3: Medias (y CV en %) para los sitios altitudinales ensayados para las variables obtenidas a través del modelo: H_0 = altura inicial, H_f = altura final, T_{50} = tiempo medio, S = pendiente, $Tasa$ = tasa máxima de crecimiento, T_{10} = inicio de crecimiento, T_{90} = cesación de crecimiento, Dur = duración.

Sitio	H_0 [mm]	H_f [mm]	T_{50} [días]	S	$Tasa$ [mm/d]	T_{10} [días]	T_{90} [días]	Dur [días]
LH	65 (58)	346 (27)	105 (6)	14,4 (15)	4,9 (26)	74 (9)	137 (7)	63 (15)
LH	35 (36)	335 (26)	101 (10)	15,4 (19)	4,9 (25)	67 (13)	135 (10)	67 (19)
LH	46 (62)	268 (39)	107 (10)	13,0 (23)	4,4 (43)	78 (14)	136 (10)	57 (23)
Hb	43 (56)	316 (24)	101 (8)	16,2 (21)	4,4 (31)	65 (14)	136 (10)	71 (21)
Hm	41 (41)	320 (34)	101 (9)	14,6 (15)	4,9 (42)	69 (18)	133 (7)	64 (15)
Ha	37 (33)	290 (27)	107 (6)	12,8 (12)	4,9 (27)	79 (10)	135 (4)	56 (12)

No se hallaron interacciones entre poblaciones y pisos altitudinales para ninguna de las variables de crecimiento analizadas. Tampoco se hallaron diferencias significativas entre poblaciones para ninguna de las variables analizadas. En cambio, sí pudieron probarse diferencias significativas debido al efecto de la variación altitudinal para las variables tiempo medio (T_{50}), pendiente (S), tiempo de inicio de crecimiento (T_{10}) y duración del período de crecimiento (Dur), siendo el piso altitudinal superior el que difirió del resto de las altitudes ensayadas. Así, en ambas poblaciones, los árboles del piso superior iniciaron más tarde el crecimiento, tuvieron un T_{50} posterior, una menor Dur y una menor S (curva más empinada) que los otros dos pisos altitudinales (Figura 4-2 **Error! Reference source not found.**).

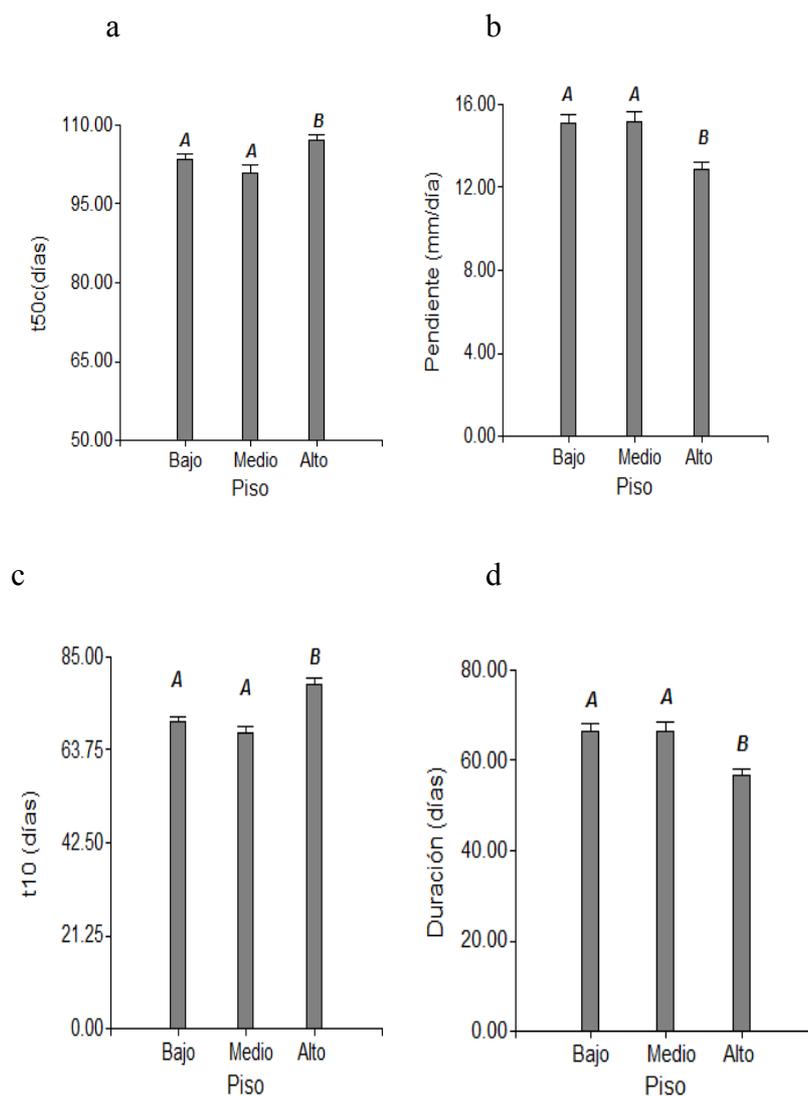


Figura 4-2: Efecto de la altitud de origen para las variables derivadas de las curvas de crecimiento: a) tiempo medio (T_{50}), b) Pendiente (S), c) tiempo de inicio de crecimiento (T_{10}) y d) duración del período de crecimiento (Dur). Letras diferentes indican diferencias significativas con una $p < 0,05$.

El resumen de las variables arquitecturales analizadas puede observarse en la Tabla 4-4 y Tabla 4-5. Para mayor claridad se separaron las variables arquitecturales relacionadas a vigor en la primera tabla y las relacionadas a forma en la segunda.

Las plantas provenientes del piso altitudinal superior fueron en promedio y significativamente menos vigorosas que las plantas provenientes de los pisos altitudinales inferiores, en ambas poblaciones.

Tabla 4-4: Medias (y CVen %) para las variables arquitecturales relacionadas a vigor para los sitios altitudinales ensayados: Altura (L), diámetro (D), número de yemas del vástago principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primer orden (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de esbeltez (L/D), longitud promedio del entrenudo (L/NY), índice de ramosidad ($L/NR1$).

Sitio	L [mm]	D [mm]	NY	L/D	L/NY	AS [%]
LHb	335,0 (28)	5,3 (20)	16,7 (35)	63,1 (23)	22,1 (36)	19 (214)
LHm	342,8 (27)	6,0 (20)	19,3 (28)	57,5 (19)	18,3 (26)	7 (360)
LHa	258,2 (35)	5,0 (14)	15,2 (42)	51,3 (32)	18,0 (37)	8 (353)
Hb	302,4 (28)	5,4 (21)	14,9 (29)	55,6 (18)	20,9 (23)	26 (172)
Hm	332,2 (31)	5,5 (30)	16,5 (36)	61,3 (23)	21,3 (44)	0(0)
Ha	289,3 (27)	5,4 (14)	16,0 (23)	53,7 (23)	18,1 (18)	0 (0)

Tabla 4-5: Medias (y CV en %) para las variables arquitecturales relacionadas a forma para los sitios altitudinales ensayados: número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama más larga de primer orden (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de la rama más larga de segundo orden ($LR2$), índice de ramosidad ($L/NR1$), bifurcaciones (B).

Població	$NR1$	LRI [mm]	$NR2$	$LR2$ [mm]	$L/NR1$	B [%]
LHb	3,7 (68)	141,0 (48)	0,4 (321)	6,5 (320)	115,6 (66)	4 (520)
LHm	5,0 (55)	169,6 (42)	0,0 (0)	0,0 (0)	91,1 (63)	7 (360)
LHa	4,0 (68)	108,6 (58)	0,0 (0)	0,0 (0)	76,6 (41)	8 (353)
Hb	4,3 (60)	126,9 (49)	0,1 (520)	0,1 (520)	93,4 (63)	4 (520)
Hm	4,0 (94)	158,8 (53)	0,3 (387)	9,4 (387)	120,6 (79)	0 (0)
Ha	3,6 (48)	137,4 (47)	0,0 (0)	0,0 (0)	105,3 (76)	0 (0)

El análisis para las variables de distribución continua se realizó en dos etapas. En primera instancia se utilizó un MLM a fin de verificar el modelo y la significancia del aporte de los efectos considerados fijos (población y altitud), testeando previamente si existía la interacción entre ambos. En las variables longitud de vástago (L) y la relación L/D se probó la significancia del efecto fijo piso altitudinal ($p = 0,0022$ y $p = 0,0010$), mientras que para el resto de las variables (D , L/NY , LRI y $LR2$) no fue significativo. Posteriormente, para las variables en que se determinó significancia de los efectos fijos en el modelo correspondiente, se efectuó un muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo *a posteriori* del MLM ajustado al *set* de datos completo del modelo a fin de estimar por aproximaciones bayesianas la significancia entre los efectos fijos (Baayen y col. 2008). De esta manera se halló que las plantas del piso altitudinal alto, en ambas poblaciones, fueron de menor altura que las de bajas altitudes, y que las plantas del piso altitudinal medio tuvieron una relación L/D mayor, o sea las plantas fueron más esbeltas (más altas y de menor diámetro de cuello proporcionalmente) y

mayor longitud de entrenado que las plantas de los otros dos pisos altitudinales. Los resultados del análisis a posteriori pueden observarse en las tablas Tabla 4-6, Tabla 4-7 y Tabla 4-8.

Tabla 4-6: Estimación de efectos fijos para la altura de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (MLM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) *a posteriori* del MLM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros, *pMCMC* es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula. * denota diferencias significativas ($p < 0,05$).

	Estimado	pMCMC
Intercepto	319.891	0.0010
pop La Hoya	5.404	0.7454
piso medio	8.932	0.6948
piso alto	-48.889	0.0042*

Tabla 4-7: Estimación de efectos fijos para la altura de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (LMM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) *a posteriori* del LMM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros, *pMCMC* es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula. * denota diferencias significativas ($p < 0,05$).

	Estimado	pMCMC
Intercepto	56.349	0.0006
pop La Hoya	0.34	0.8812
piso medio	5.84	0.0314*
piso alto	-4.067	0.1082

Tabla 4-8: Estimación de efectos fijos para la longitud de entrenado (L/Y) de plántulas de lenga de tres pisos altitudinales mediante un modelo lineal mixto (LMM) y mediante muestreo de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) *a posteriori* del LMM; HPD.95 son los límites inferiores y superiores del 95% de las distribuciones MCMC de los parámetros, *pMCMC* es la probabilidad asociada al modelo si se acepta Hipótesis nula. * denota diferencias significativas ($p < 0,05$).

	Estimado	pMCMC
Intercepto	22.3637	0.0008
pop La Hoya	-0.8446	0.7034
piso bajo	-2.354	0.0344*
piso alto	-3.9319	0.0001*

Las variables arquitecturales de forma presentaron una amplia dispersión evidenciada en los altos coeficientes de variación (CV). De entre estas variables solamente resultó significativa la interacción entre poblaciones y piso altitudinal para LR1 ($p = 0,014$). La población la Hoya mostró una disminución de la longitud de las ramas con el aumento de la altitud, siendo las ramas del piso altitudinal superior significativamente más cortas que las del piso altitudinal inferior, tendencia que no se

repitió en plantines de la población Huemules (Figura 4-3). Para el resto de las variables de forma analizadas (*NR1*, *NR2*, *LR2*, *L/NR1*, *AS* y *B*) no se hallaron diferencias significativas para los efectos fijos poblaciones y pisos altitudinales.

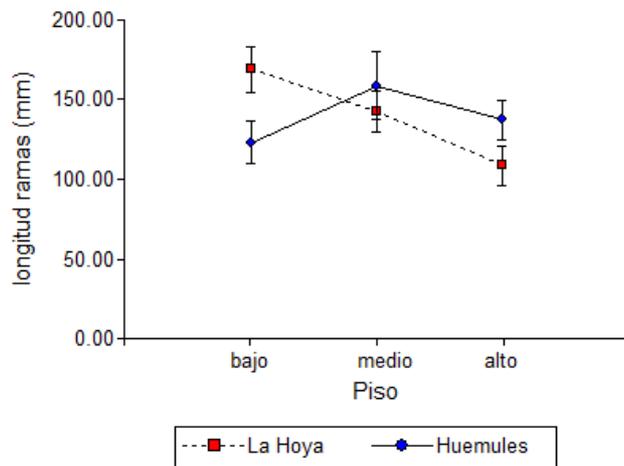


Figura 4-3: Interacción entre población y piso altitudinal para la longitud de ramas de primer orden.

4.4 Variación en caracteres de vigor en plantas al año de su instalación en el campo

4.4.1 Materiales y métodos

Se instalaron dos ensayos a campo, en un gradiente altitudinal. Se utilizaron plantines de dos años de edad producidos en contenedores de 264 cm³ con un procedimiento similar al descrito en el Capítulo 2, a partir de semillas cosechadas en el año 2004 de dos pisos altitudinales del origen Cerro La Hoya (500 mm de precipitación media anual): uno próximo al límite altitudinal inferior de la especie en el área (Guanacos, 1.100 m snm), y el otro correspondiente al límite altitudinal superior (La Hoya, 1.450 m snm). Cada piso altitudinal estuvo representado por una mezcla desemillas provenientes de 20 individuos (50 semillas de cada uno) separados por al menos 30 metros entre sí (Callaham, 1964) a fin de reducir las probabilidades de muestrear individuos emparentados.

En octubre del año 2006 se instaló un ensayo de transplantes recíprocos, con una parcela en las inmediaciones del sitio de muestreo bajo (Guanacos) y otra en las inmediaciones del sitio de muestreo alto (La Hoya). En ambas parcelas, además de los pisos altitudinales de origen de la semilla, se puso a prueba la plantación con y sin cobertura de bosque. Este segundo factor incluido en el ensayo obedeció a la situación marginal de estos bosques, los que se caracterizan justamente por parches boscosos separados por pastizales sin árboles. El diseño experimental fue completamente al azar, con 2 repeticiones por piso altitudinal de origen y por tipo de cobertura. La unidad muestral fueron parcelas lineales de 7 plantas cada una, con un distanciamiento entre plantas de 1 m. Aunque las plantas utilizadas para cada ensayo fueron extraídas al azar, hubo una diferencia significativa entre las alturas iniciales de las mismas en cada sitio, en ambas poblaciones, los plantines de las dos poblaciones utilizados en el sitio bajo fueron de mayor vigor.

En marzo de 2007 se registraron y midieron las siguientes variables: sobrevivencia (*Sob*) y presencia de ápice seco (*AS*), ambas variables tratadas como datos binomiales, altura final (*Hf*) y crecimiento anual (*Crec*). El crecimiento de cada planta se calculó sustrayendo la altura inicial a la altura medida al cierre de crecimiento luego del primer año de ensayo ($Crec = Hf - H_0$). La precisión de las mediciones de altura fue de 0,5 cm. El porcentaje de ápices secos (*AS*) se refiere a las plantas vivas y no a la totalidad de las plantas ensayadas.

Se realizó un análisis para cada sitio de ensayo, utilizándose para ello un modelo lineal mixto con la siguiente estructura:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + P_j + C_iP_j + \varepsilon_{ij} + e_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} es la ijk -ésima observación de la variable, μ es la media general, C_i , representa el efecto fijo del i -ésimo tipo de cobertura (con y sin cobertura de árboles), P_j representa el efecto fijo del j -ésimo piso altitudinal de origen (alto y bajo), C_iP_j representa el efecto fijo de la jk -ésima interacción cobertura población, ε_{ij} representa el efecto del error principal distribuido normalmente y con varianza 0 y e_{ijk} es el efecto aleatorio del error de subparcela, también distribuido normalmente y con varianza 0.

Para el análisis se utilizó el paquete *lme4* de R (Bates 2007). La significancia de las interacciones fue testada mediante un LTR, tal como fue descrito en el Capítulo 2.

Para estimar en el modelo mixto las diferencias entre efectos fijos de variables con distribución normal, se utilizó el paquete estadístico de R, *languageR* (Baayen y col. 2008, Baayen 2012).

En cada ensayo se evaluaron las temperaturas mínimas al finalizar el periodo estival y comienzos de otoño, entre fines de enero y mayo con sensores (*ibutton*®) colocados a 30 cm sobre el nivel del suelo, a fin de observar su incidencia en la sobrevivencia.

4.4.2 Resultados

Los datos de los sensores al finalizar la primera temporada de crecimiento en los dos ensayos, se pueden observar en la Figura 4-4.

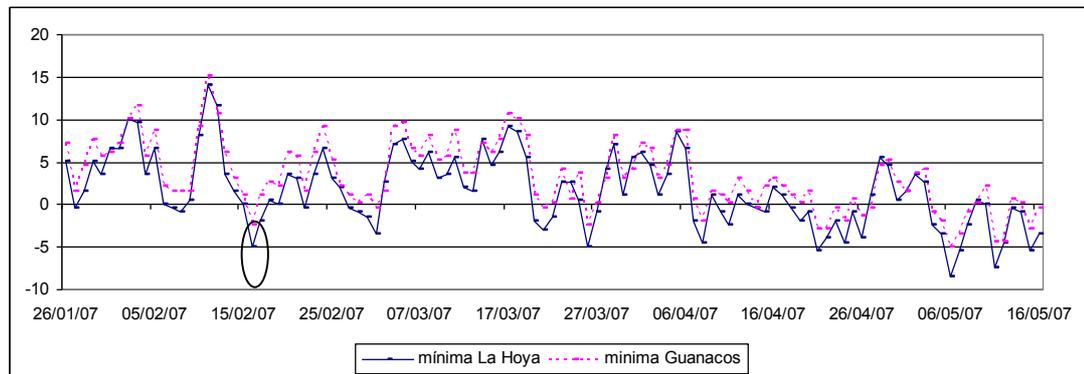


Figura 4-4: Temperaturas mínimas para el período 26 de enero al 16 de mayo de 2007 para los dos pisos altitudinales en el ensayo de transferencia recíproca. Se resalta la temperatura mínima ocurrida el 15 de febrero de 2007.

Ensayo Sitio 1 (parcela baja – Guanacos): La sobrevivencia general de esta parcela del ensayo al finalizar la primera temporada de crecimiento fue del 75%. Asimismo, no se verificaron diferencias en *Sob* para el factor población, pero sí para cobertura. El porcentaje de ápices secos (*AS*) fue del 5%, afectando en forma significativa a las plantas de la población foránea en el sitio sin cobertura (0% población local y bajo dosel, y 10% foránea y sin cobertura). La altura final (*Hf*) de las plantas fue de 15,4 cm en promedio general, sin efecto significativo ni de poblaciones ni de cobertura en esta variable. En cambio, para la variable *Crec*, el origen local creció significativamente más que el foráneo, con 4,35 cm en promedio (EE = 0,58) el primero y 2,28 cm (EE = 0,55) el segundo. En la Tabla 4-9 se presentan los valores medios de las variables consideradas para cada población y condición de cobertura.

Tabla 4-9: Promedios por piso altitudinal de origen y tipo de cobertura de las variables consideradas en la parcela baja de un ensayo de transferencias recíprocas (*Hf*: altura final, *Crec*: crecimiento, *Sob*: sobrevivencia, *AS*: ápice seco). Coberturas (sin cobertura (SC) y bajo dosel (BD)).

Origen	Cobertura	Sob [%]	Hf [cm]	Crec [cm]	AS [%]
Guanacos	BD	64	19,56	4,50	0
	SC	86	18,88	4,10	0
La Hoya	BD	86	17,04	3,33	0
	SC	75	18,00	1,28	33

Ensayo Sitio 2 (parcela alta – La Hoya): En el sitio alto La Hoya hubo diferencias significativas en la sobrevivencia debido al efecto de la cobertura: sobrevivieron el 89% de las plantas establecidas bajo dosel arbóreo y sólo el 7% de las implantadas sin cobertura. Con respecto al efecto del origen, este incidió en la presencia y ausencia de ápices secos. El origen altitudinal local, mostró significativamente una menor presencia de ápices secos ($p < 0,05$), con 15 % versus 50 % del origen foráneo. En la Tabla 4-10 se presentan los valores medios para cada población y condiciones de cobertura para las variables consideradas. No hubo diferencias significativas entre los distintos orígenes para las variables *Hf* y *Crec*.

Tabla 4-10: Promedios por piso altitudinal de origen y sitio de ensayo de las variables consideradas en un ensayo de transferencias recíprocas (*Hf*: altura final, *Crec*: crecimiento, *Sob*: sobrevivencia, *AS*: ápice seco). Coberturas (sin cobertura (SC) y bajo dosel (BD)).

Origen	Cobertura	Sob[%]	Hf [cm]	Crec [cm]	AS [%]
Guanacos	BD	86	10,79	1,75	78
	SC	14	9,50	3,50	0
La Hoya	BD	93	13,42	3,50	15
	SC	0	0,00	0,00	0

4.5 DISCUSIÓN

Estudios previos en lenga han descripto una disminución del peso de la semilla con el aumento de la altitud. Esta relación se halló tanto en el Parque Nacional Nahuel Huapi, en un gradiente altitudinal de 1.100 a 1.540 m snm, (Soares, trabajo inédito, citado en Prémoli 2004) como en Tierra del Fuego, en un gradiente entre 250 y 500 m snm (Martínez Pastur y col. 1997). Esto contrasta con lo hallado en *Nothofagus obliqua* (Donoso, 1979), quien reporta un aumento del peso de la semilla con el aumento de la altitud, para lo que se ha sugerido como explicación un efecto de sequedad en el suelo a mayor altitud derivado de características intrínsecas del suelo, precipitaciones en forma de nieve y muy bajas temperaturas (Donoso y col. 2004). También en *Nothofagus nervosa* se halló un significativo aumento del peso de la semilla con el aumento de la altitud (Marchelli y Gallo 1997). Agregando diversidad a este resultado, en especies del género en Nueva Zelanda no se halló relación entre el peso de la semilla y la altitud (Ledgard y Cath 1983).

En nuestro estudio encontramos para lenga un resultado heterogéneo, con mayor y menor peso de semilla en el piso inferior de muestreo según la población analizada. El efecto de la variación de este carácter con la altura puede ser trascendente en la dinámica del bosque. Cuevas (2000) argumenta que la disminución con la altura en el peso de semillas, así como en su número, viabilidad y capacidad germinativa, resultarían en una reducción en la capacidad reproductiva de estos bosques de altura. Rusch (1993) en cambio, trabajando con lenga en cercanías de San Carlos de Bariloche, concluye que los bosques de altas elevaciones están en desventaja en término de productividad, pero no necesariamente en lo referido a la capacidad reproductiva. Argumenta que en el nordeste de la Patagonia el déficit hídrico estival puede limitar la sobrevivencia de la regeneración, y aquí los bosques de mayores altitudes podrían beneficiarse con mayores precipitaciones y menor evapotranspiración. Esto podría significar menor tasa de mortalidad en los plantines, que compensaría la menor productividad.

Con respecto a la forma de las semillas, no se hallaron diferencias significativas en su largo entre los pisos altitudinales analizados, pero sí en el ancho de semilla al igual que la relación largo sobre ancho. A mayor altitud la relación fue mayor, es decir la semilla fue más angosta, con menor desarrollo alar. Esta relación puede tener consecuencias microevolutivas directas, ya que podría ocasionar la disminución en la distancia de dispersión. La dinámica espacial de las poblaciones vegetales está determinada en gran medida por el movimiento de las semillas (Ougborg y col. 1999). La dispersión de las semillas determina la tasa potencial de reclutamiento, invasión, rango de expansión y flujo génico en poblaciones de plantas (Clark y col. 1999, Cain y col. 2000). Una consecuencia esperable de nuestro resultado es que las cohortes familiares sean más estrechas a medida que aumenta la altitud, o sea que la probabilidad de parentesco de los individuos cercanos sea mayor a mayores altitudes, y que en definitiva ocurra una menor diversidad en los bosques de altura. Esto coincide con lo reportado también para lenga por Mathiasen y Prémoli (2013), quienes encontraron por medio del uso de marcadores genéticos que los pisos altitudinales superiores (incluyendo la *timberline*) son genéticamente más homogéneos. Si bien los CV de las variables analizadas fueron bajos (13-15%), será necesario aumentar el número de semillas analizadas de tal manera de poder confirmar los resultados reportados en este trabajo.

Muy notorias han sido las diferencias evidenciadas entre plantines de los distintos pisos altitudinales en ensayos de vivero, tanto en variables fenológicas como arquitecturales. Las variables más sensibles para detectar este patrón de variación han sido aquellas referidas al crecimiento y vigor de los distintos plantines. Claramente están relacionadas estas variables, ya que el crecimiento de cada individuo está definido por variables fenológicas (duración y tasa de crecimiento) que afectan variables arquitecturales como altura al finalizar el período de crecimiento y diámetro de cuello.

Se ha reportado reiteradamente en la bibliografía que las poblaciones de bajas elevaciones exhiben un alto crecimiento potencial, el cual está asociado con una mayor duración de crecimiento y con una cesación del crecimiento más tardía (Rehfeldt 1986, Howe y col. 2003). Las poblaciones de mayores altitudes, en cambio, expresan un bajo crecimiento potencial debido a que los eventos de desarrollo deben ser completados en un corto período libre de heladas. Esta característica se manifiesta, con distinta intensidad, en especies como *Pseudotsuga menziesii* (Rehfeldt 1979a, 1983b, 1983c), *Larix occidentalis* (Rehfeldt 1982), *Pinus contorta* (Rehfeldt 1983a), *Pinus ponderosa* (Rehfeldt 1986) y otras del hemisferio norte (Rehfeldt 1993, Howe y col. 2003, Aitken 2004). En general el cese de crecimiento precoz se asocia con el incremento a la resistencia a las heladas tempranas, (Howe y col. 2003). Sin embargo en nuestro ensayo no encontramos diferencias respecto al cierre del crecimiento sino al comienzo del crecimiento, para el cual la amenaza no son las heladas tempranas (las de otoño) sino las tardías (las de primavera). Al respecto, Rusch (1993) analizando la variación natural en fenología de lenga en el gradiente altitudinal, halló que la floración es simultánea con la brotación foliar, por lo cual al producirse un retraso en la brotación y floración debido al incremento de altitud, se produce una reducción tanto del periodo de crecimiento como de la formación y el llenado del fruto. Así, las heladas tardías producirían un impacto directo sobre la aptitud reproductiva de las plantas, ya que aquellas dañadas no sólo verían afectado su crecimiento (y consecuentemente su capacidad competitiva) sino también su capacidad de producción seminal, o sea que sufrirían una merma en su descendencia, constituyendo esta variable ambiental un factor de fuerte peso selectivo.

También Prémoli y colaboradores (2007) comprobaron con plantines transplantados del bosque a un ensayo de ambiente común que el inicio del crecimiento se retrasaba en los plantines del piso altitudinal superior. Ya que la diferenciación fue hallada en el material proveniente del piso altitudinal superior respecto a los otros dos pisos altitudinales, no se puede hablar de variación clinal, pero en cambio sí ecotípica. Es decir existiría un umbral de temperatura para el tiempo de inicio de brotación por sobre el cual se produciría una variación fenológica detectable en el ensayo. Dichos umbrales térmicos serían diferentes para los distintos pisos altitudinales, y estarían relacionados a la adaptación a la resistencia al daño por heladas. Modelos de daños por heladas sugieren que las heladas de primavera representan un mayor riesgo que las otoñales en la mayoría de las localidades (Timmis y col. 1994). Las lesiones en pleno invierno son probablemente el resultado de la sequía por congelación más que el de la lesión por el propio frío (Sakai y Larcher 1987). En la misma línea confluyen los datos aportados por el estudio ecofisiológico llevado a cabo por Alberdi (1987), en el cual se detallan las temperaturas mínimas de susceptibilidad para la especie y para los distintos órganos en las distintas estaciones del año (Tabla 4-11). Se puede observar que las hojas, que constituyen el órgano involucrado en la brotación, son más susceptibles al frío en primavera que en el resto del año.

Como ya mencionamos, se ha reportado una variación fenotípica de la fenología de brotación del tipo clinal (Rusch 1993), o sea, en el bosque natural se observa un

continuo de fenofases en respuesta al gradiente altitudinal. Sin embargo, la variación genética en el inicio del crecimiento (estimada en un ensayo de ambiente común) responde más bien a una variación ecotípica (la altitud intermedia no siempre exhibió una fenofase intermedia entre la altitud superior y la inferior, sino que en muchas variables no pudo distinguirse de la inferior). Esto puede interpretarse como que el control genético se da sobre una respuesta categórica que se dispararía al superarse un nivel umbral de frío a partir del cual la resistencia de la planta es superada y se producen daños. Asimismo, no observamos en nuestro estudio variación de la respuesta entre poblaciones para estos caracteres, lo que implica que la variación ambiental que opera en el proceso de selección se mantiene tanto en bosques desarrollados en ambientes húmedos como en aquellos desarrollados en ambientes secos.

En el ensayo de trasplantes recíprocos, es notable la diferencia entre ambos sitios de ensayo en la variación observada en la sobrevivencia entre las parcelas instaladas con y sin cobertura. En la parcela del piso altitudinal inferior no hubo diferencias en sobrevivencia entre las dos coberturas ensayadas, mientras que claramente sí las hubo en el piso altitudinal superior. Evidentemente el ambiente nemoroso bajo el dosel del bosque resulta determinante en el sitio más riguroso, probablemente porque actúa morigerando las temperaturas absolutas y tal vez también condiciones de estrés hídrico.

En el periodo evaluado, a mediados de febrero se registró una temperatura mínima en el piso altitudinal superior de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, y de $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el piso inferior (Figura 4-4). No se puede asegurar que dicha helada haya ocasionado la mortalidad del 93% de las plantas del ensayo, pero es evidente que dicha temperatura es inferior a los -3 y $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ reportadas como temperaturas letales (TL) para hojas y cambium respectivamente (Tabla 4-11 extraído de Alberdi 1987), por lo que aunque se haya iniciado la etapa de senescencia antes de esta fecha, es posible que dicha temperatura, inferior a la TL de $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, haya producido la mortalidad de las plántulas por efecto sobre el cambium en el tallo. De todos modos, esta línea sigue siendo una hipótesis, dado que no se cuenta con datos de sobrevivencia en el mes de enero, por ejemplo, que podría dar indicios más concretos para responder esta pregunta.

Tabla 4-11: Temperaturas letales para los diferentes órganos vegetativos de *Nothofagus pumilio* en las distintas estaciones del año. Extraído de Alberdi 1987.

Estación	Hojas	Tallo
Primavera	$-2,5^{\circ}\text{C}$	$-3,0^{\circ}\text{C}$
Verano	$-3,0^{\circ}\text{C}$	$-2,0^{\circ}\text{C}$
Otoño	caducifolia	sin datos
Invierno	$-18,0^{\circ}\text{C}$ (yemas)	$-18,0^{\circ}\text{C}$

La interacción entre piso altitudinal de origen y sitio de ensayo fue verificada para el crecimiento y la altura final de las plantas. Los orígenes “locales” fueron los que tuvieron mejor desempeño en ambos ensayos, lo que resulta evidencia de procesos de adaptación local.

La pérdida del ápice ha sido reportada en numerosas especies del género *Nothofagus* (Philipson 1988, Puntieri y col. 1998), sobre todo cuando la planta es joven. Este daño implica el necrosamiento de la yema distal de los brotes hacia el final del

período de alargamiento, afectando en forma descendente el brote y provocando la muerte de un número variable de nudos, entrenudos y yemas. Cuando esto ocurre, la dominancia apical es tomada por uno de los brotes laterales, a partir de yemas pseudoterminales, próximas a la porción del tallo necrosado (Puntieri 2006), formándose una ramificación simpodial (Philipson 1988). La morfología de las plantas jóvenes se ve notablemente afectada, tomando un hábito espeso, muy ramificado. A su vez, la filotaxis cambia de espiral a dística, pudiendo en brotes vigorosos retomar a filotaxis espiral en algunas especies del género (Philipson 1988). Esta característica es compartida por *N. obliqua* y *N. pumilio*, quienes en un estudio de desarrollo de plantines en poblaciones naturales se destacaron en este aspecto sobre el resto de las especies analizadas, presentando porcentajes del 100% de ocurrencia en la segunda temporada de crecimiento. La mortalidad del ápice y pérdida de crecimiento han sido observadas también en *N. obliqua*, tanto en ensayos de campo (Rafaelle y col. 1998) como en ensayos de vivero en ambiente común (Puntieri y col. 2006, Puntieri y col. 2007). La observación de este proceso en ensayos de vivero, en donde las condiciones de humedad están controladas de tal manera de evitar déficits hídricos, indica que la muerte del ápice a edades tempranas no se vincularía necesariamente con la disponibilidad de agua (Puntieri y col. 2006). Los autores formulan como hipótesis para esta especie, la sensibilidad del brote a las heladas tanto tempranas (en otoño) como tardías. La lenga, si bien es una especie que por su distribución geográfica se presume como poco sensible a las bajas temperaturas, es reemplazada en sitios de concentración de frío (como en los bajos topográficos del terreno donde ocurren procesos de inversión térmica) por *Nothofagus antarctica* (Donoso, 1998). Este fenómeno podría deberse a una mayor resistencia de este último *Nothofagus* a los fenómenos de heladas tempranas y tardías, o sea que la lenga adolecería de una cierta susceptibilidad, la que al menos le provocaría una desventaja competitiva. Una hipótesis alternativa es postulada por Varela y colaboradores (2010), quienes realizaron un estudio manipulativo poniendo a prueba la resistencia a la sequía en plantines de dos años de edad de *Nothofagus obliqua* y *Nothofagus nervosa*, midiendo entre otras variables fisiológicas la presencia de ápices muertos. Los autores hallaron que los plantines de ambas especies sólo presentaron mortalidad apical en condiciones de estrés hídrico: 23% en *N. nervosa* y 35% *N. obliqua*. En el presente trabajo se halló una variación clinal en el porcentaje de ápices muertos en el gradiente altitudinal, produciéndose una disminución en este daño con el incremento de la altitud de origen de la semilla. Lamentablemente, debido al tamaño diferencial de las plantas al inicio del ensayo, no fue posible realizar un análisis en forma conjunta (análisis combinado), ya que si se encontrasen diferencias entre sitios para las variables analizadas, no podría separarse el efecto sitio del efecto tamaño inicial del plantín.

5 VARIACIÓN MORFOTÍPICA



5.1 Introducción

Como ya lo mencionamos, los estudios de variación geográfica buscan discernir cuánto de la variación inter-poblacional observada se debe a verdaderas diferencias genéticas y cuánto a diferencias ambientales. Comúnmente estos estudios involucran poblaciones separadas por grandes distancias de tal modo que el flujo génico efectivo entre ellas es nulo o al menos muy restringido, lo que da lugar a los procesos de diferenciación que acarrearían las diferencias genéticas presuntas.

Sin embargo, existen casos de grupos de individuos que a pesar de estar separados por pocos metros, dando posibilidad en consecuencia a un fuerte flujo génico entre ellos, mantienen evidentes diferencias fenotípicas (diferencias de clase, no de grado). Esto sugiere la posibilidad de que las diferencias fenotípicas resulten de una fuerte selección diferencial provocada por condiciones ambientales que varían abruptamente (Linhart y Grant 1996) conjugada con algún tipo de barrera biológica (no geográfica) al flujo génico entre los grupos diferenciales (por ejemplo barreras fenológicas). Alternativamente, la diferencia observada entre estos grupos puede ser resultante de respuestas plásticas de las plantas a factores ambientales, tal vez conjugada con algún grado de diferenciación genética (Fang y col. 2006).

El límite superior del bosque en el ecotono bosque – prados alto-andinos, comúnmente denominado “*treeline*”, es el límite de vegetación más reconocido en todos los continentes (Hertel y col. 2008), siendo empleado por lo tanto en sentido amplio como el límite entre el estrato leñoso, sea este arbóreo o arbustivo, y el pastizal de altura (Körner, 1998). Otro concepto relacionado que suele hallarse en la bibliografía es el de “*timberline*”, definida como la mayor elevación a la cual los árboles ocurren con una estatura característica de árboles hallados dentro de bosques subalpinos (Daubenmire 1979). Entre la *timberline* y la *treeline* se extiende una franja de ecotono de ancho variable, que depende del gradiente de factores biofísico y fisicoquímicos (Smith y col. 2003). A altas altitudes, la transición entre esas dos comunidades incluye los bosques “*krummholtz*”, conformados por árboles de baja estatura y fustes deformados y decumbentes (Daubenmire 1954, Wardle 1971, Tranquillini 1979). En cualquier caso, los árboles que crecen en el área comprendida entre la *timberline* y la *treeline* están típicamente distorsionados en cuanto a su estructura (matas de *krummholtz*, árboles bandera y formas arbóreas achaparradas) y ocurren a baja densidad a través de un área de transición desde el bosque a la tundra alpina (Tranquillini 1979, Stevens y Fox 1991, Körner 1998, Sveinbjornsson 2000). En el ambiente dominado por el estrato *krummholtz*, se han hallado diferencias entre poblaciones tanto genéticas (Grant y Mitton 1977, Rogers y col. 1999) como plásticas (Stöcking y col. 2009). Sin embargo este tipo de estudios se han concentrado en especies coníferas y del hemisferio norte (Paulsen y col. 2000).

Nothofagus pumilio es la especie que ocupa esta posición en el bosque andino patagónico. En la mayor parte de su distribución, la lenga crece en las laderas a lo largo de un gradiente altitudinal que abarca varios cientos de metros (Dimitri 1972, Bava 1999, Prémoli 2004, Stecconi 2005). La forma de crecimiento de las plantas a lo largo de este gradiente va cambiando de arbórea alta en las zonas de menor altitud hasta achaparrada en las zonas más altas, en el límite altitudinal superior del bosque, con formas intermedias entre los dos extremos (Dimitri 1972, Prémoli 2004, Stecconi 2006, Stecconi y col. 2010).

Stecconi (2006) describe nueve formas arquitecturales para la especie, que

ocurren en el gradiente altitudinal: a) achaparrada baja, b) achaparrada alta, c) decumbente, d) arbórea multitrongo, e) arbórea baja, f) arbórea alta en bosque cerrado, g) arbórea baja bajo dosel cerrado de bosque puro (individuos oprimidos), h) arbórea alta en claros de bosques puros, e i) arbórea alta en bosque abierto. Estas formas podrían ser agrupadas básicamente en tres morfotipos, arbóreo, achaparrado y rastrero (Figura 5-1). Los morfotipos achaparrado y rastrero están asociados a las mayores altitudes, en el límite del estrato arbóreo, y el morfotipo arbóreo a menores altitudes (Steconci 2006, Steconci y col. 2010). Las lengas achaparradas crecen en masas compactas limitando con la vegetación altoandina. Son descritas como individuos de entre 0,5 a 1 m de altura, compuestos por varios ejes, los cuales pueden adoptar un desarrollo vertical u oblicuo. Debido a la frecuencia de la pérdida apical y de las quebraduras ocasionadas por agentes exógenos (i.e. nieve, rocas, piedras, viento) las ramas laterales se orientan verticalmente formando varios ejes codominantes similares entre sí, reemplazando al eje principal perdido (Steconci 2006). Las lengas decumbentes o rastreras, se encuentran a gran altitud, en abruptas pendientes, expuestas a fuertes vientos y a gran acumulación de nieve. Estos individuos presentan un tronco principal tendido sobre la superficie del suelo, del cual se diferencian ejes que se desarrollan inicialmente en forma horizontal, para luego tomar orientación vertical. Cada rama en su extremo proximal horizontal puede desarrollar raíces adventicias. Suelen estar asociados a individuos arbóreos altos, por lo cual se especula que serían individuos de esta forma que han caído (Steconci 2006). Las lengas arbóreas crecen en sitios protegidos y con mayor desarrollo del perfil edáfico. Presentan como principal característica un tronco principal libre de ramas y la presencia de una copa relativamente pequeña, en comparación a la altura del árbol. La copa está formada por cuatro categorías principales de ejes: un eje principal, ramas primarias, ramas secundarias y brotes cortos sobre las anteriores (Steconci 2006, Steconci y col. 2010). El patrón de crecimiento de una copa está dado por la relación en el crecimiento del vástago principal y las ramas de distinto orden. El término “control apical”, introducido por Brown, McAlpine y Kormanik (1967), es aplicado a las plantas leñosas y se refiere a la inhibición del crecimiento de ramas laterales por la presencia de yemas por encima de ella (Wilson 2000). Con respecto a la ramificación de las especies arbóreas se diferencian aquellas originadas debido al crecimiento proléptico o al crecimiento siléptico. El primero se refiere a la formación de los distintos brotes a partir de yemas axilares, luego de una temporada de receso, en cambio el crecimiento siléptico ocurre en la misma temporada que el eje principal, originándose del mismo meristema apical (Cline y Harrington 2007). El número, la longitud y la posición de los brotes silépticos influencia la forma o arquitectura del árbol (De Wit y col. 2002).

La ocurrencia de bosques de individuos achaparrados muchas veces es condicionada por el sitio, siendo posible hallar individuos de muy bajo porte no solamente a elevadas altitudes sino también en lomas pedregosas con escaso desarrollo edáfico, o bajos arcillosos anegadizos. Una característica notable en individuos de lenga con el incremento de la altitud y de la pendiente de la ladera son los fustes típicamente torcidos pendiente abajo, en forma de J, posiblemente por el peso de la nieve acumulada en los estadios juveniles, fenómeno también descrito para otras especies. Los individuos achaparrados ocurren en la *treeline*, como ya fue mencionado, pero también en laderas de pendientes elevadas donde ocurren habitualmente avalanchas de nieve.

Nothofagus antarctica (ñire) es una especie caducifolia de los bosques antinopagónicos, se caracteriza por ser una de las especies del género con mayor tolerancia ecológica. Al igual que la lenga, esta especie posee una amplia distribución junto con la variada gama de ambientes diferentes en los que se encuentra (Donoso

1987) explican la gran diferenciación intraespecífica observada en esta especie. De esta manera se pueden reconocer tres grupos poblacionales: un morfotipo arbóreo óptimo, otro arbustivo achaparrado y un tercero camefítico de turbera, los cuales estarían representando adaptaciones diferentes a distintas condiciones ambientales (Ramírez, 1985). Además, se ha planteado la posibilidad de existencia de híbridos entre lenga y ñire (Donoso 1987, Quiroga y col. 2005). En experiencias de producción de plantines de ñire en vivero, una alta proporción de individuos presentan un hábito de crecimiento decumbente (Schinelli Casares, comunicación personal).

En lenga, en la franja ecotonal entre la *treeline* y la *timberline* ocupada por la lenga coexisten las tres formas descritas (morfotipos arbóreo, achaparrado y decumbente o rastrero) ocupando sitios colindantes entre sí, posibilitando por lo tanto el flujo génico entre los tres.

a



b



c



Figura 5-1: Morfotipos consociados en el estrato de la *timberline* altitudinal de lenga. a) arbóreo, b) achaparrado, c) rastrero.

El objetivo central de este capítulo es determinar si la variación fenotípica evidente entre los tres morfotipos es causada por efectos de diferenciación genética, o si alternativamente debe ser atribuida a plasticidad fenotípica. Los objetivos específicos de este capítulo fueron determinar la posible existencia de variación genética en tamaño y peso de semilla, crecimiento, hábito de crecimiento, variación arquitectural entre, entre los distintos morfotipos de *N. pumilio*, presentes entre el límite del *timberline* y el *treeline* de la especie.

Las preguntas específicas abordadas en este capítulo son: a) ¿Existe variación fenotípica en caracteres seminales entre los distintos morfotipos?, b) ¿Los tres morfotipos poseen un patrón de crecimiento similar?, y c) ¿La variación arquitectural evidente entre los distintos morfotipos está controlada genéticamente o es un carácter plástico?

5.2 Variación seminal

5.2.1 Materiales y métodos

El muestreo se llevó a cabo en dos poblaciones marginales secas (aproximadamente 500 mm de precipitación media anual) en el área de la *timberline*, colindantes con la estepa patagónica hacia abajo y con las praderas altoandinas hacia arriba, las que fueron denominadas “La Hoya alto” y “Ao. Rodeo”. En ambos casos se trata de bosques de ecotono que bordean cursos de agua sin cubrir toda la ladera, siendo abrupto el límite con la vegetación esteparia. La altura del estrato arbóreo alcanza los 12-15 m en el centro de los parches boscosos, disminuyendo hacia los bordes. La arquitectura también es bastante variable, con ejemplares de mucha ramosidad y ramas bajas en el borde de las manchas, y en el interior del parche boscoso árboles con fuste monopódico hasta unos 4-5 m de altura, donde inicia la copa. La estructura del bosque es irregular, con ejemplares añosos y de grandes diámetros dispersos, rodeados de individuos de menores edades y diámetros, y regeneración en los claros y bordes de las manchas boscosas. Suelen hallarse restos de troncos calcinados de antigüedad incierta, tanto en el interior como en los claros boscosos.

La población la Hoya alto se encuentra sobre la ladera occidental del cordón Esquel, dentro del área de precordillera (42° 49' S, 71° 15' W). En este caso las manchas boscosas bordean la cuenca del arroyo Esquel y sus afluentes, desde los 950 m snm hasta el límite altitudinal superior, a los 1.550 m snm. El área pertenece al ejército argentino y se halla libre de pastoreo, excepto por un ramoneo de baja intensidad de guanaco. Los sitios con suelos más someros, con afloramientos rocosos y mucha pedregosidad, son ocupados por *Nothofagus antarctica* de forma achaparrada, y los sitios de menor altitud se hallan ocupados por un bosque mixto de lenga y *Austrocedrus chilensis*. El área de cosecha fue en las nacientes del arroyo Esquel, en cercanías del centro de esquí La Hoya. La pendiente es de unos 30° y la exposición oeste (Figura 5-2).

La Población Ao. Rodeo se halla en la ladera oriental del cordón Esquel (42° 50' S, 71° 13' W). En este caso la *timberline* se encuentra por encima de los 1.600 m snm. El área pertenece a un campo privado, y es usado como campo de veranada alta con presencia de ganado vacuno y equino. El sitio presenta exposición este, con fuertes pendientes de más de 30° (hasta 45°), que modelan profundos cañadones por los cuales discurren cursos de agua permanentes que constituyen las nacientes del arroyo Rodeo.



Figura 5-2: Timberline en la población La Hoya

En el año 2005 se cosecharon en cada población 20 individuos por morfotipo (arbóreo, achaparrado y rastreo), 50 semillas por cada individuo separados entre sí al menos 30 metros (Callaham, 1964). En La Hoya alto la cosecha se realizó entre los 1.450 y los 1.500 m snm, mientras que en Ao Rodeo entre los 1.550 y los 1.600 m snm.

Las variables seminales evaluadas fueron: peso de 100 semillas (P), largo de semilla (L), ancho de semilla (A) y la relación largo sobre ancho de semilla (L/A). Para determinar el peso de 100 semillas, 300 semillas de cada morfotipo y población fueron tomadas al azar y divididas en 3 réplicas. Para medir el tamaño de la semilla, se tomó una muestra de 20 semillas de cada morfotipo y población y se midieron la longitud y el diámetro de cada semilla con un calibre, tal como fue descrito en el Capítulo 2.

El análisis de los componentes de la varianza se realizó para las variables peso de 100 semillas, ancho, largo y relación largo sobre ancho de semilla, utilizándose el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + P_j + M_iP_j + e_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} es la ijk -ésima observación de la variable, μ es la media general, M_i representa el efecto fijo del i -ésimo morfotipo, P_j representa el efecto fijo de la j -ésima población, M_iP_j es el efecto fijo de la interacción entre el i -ésimo morfotipo y la j -ésima población y e_{ijk} es el error aleatorio con varianza 0 y normalmente distribuido. Se chequeó la homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuales a partir de gráfico de ploteo de residuales y un gráfico de probabilidad de distribución normal.

Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y col. 2011). Se realizó un ANOVA y un test de Tuckey para evaluar la significancia de las diferencias entre los efectos fijos.

5.2.2 Resultados

Para la variable peso de 100 semillas (P) se probó un efecto de interacción entre poblaciones y morfotipos ($p < 0,05$, Figura 5-3 **Error! Reference source not found.**). El morfotipo achaparrado resultó ser el de mayor peso en la población Ao. Rodeo, pero de peso intermedio en La Hoya. Sin embargo, en las dos poblaciones el morfotipo rastrero fue el de menor peso, difiriendo significativamente de los otros morfotipos, independientemente de la población.

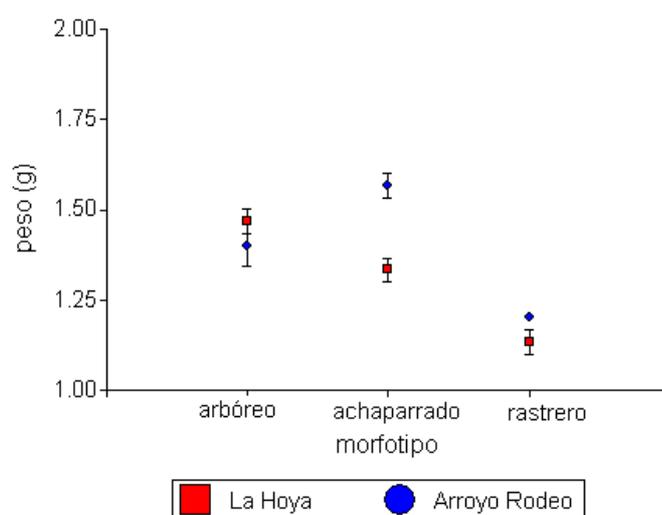


Figura 5-3: Efecto de la interacción del origen de la semilla y el morfotipo, para el peso de 100 semillas.

Para las variables mórficas de semilla, no hubo interacción entre poblaciones y morfotipos, ni diferencias entre poblaciones, para ninguna variable. Para el factor morfotipo hubo diferencias significativas tanto para el largo como en ancho de semillas. El morfotipo achaparrado resultó tener semillas significativamente más largas que los otros dos tratamientos, mientras que el morfotipo rastrero produjo semillas significativamente más angostas que el morfotipo achaparrado como puede observarse en la Tabla 5-1. No hubo diferencias entre los distintos morfotipos para la variable largo sobre ancho.

Tabla 5-1: Test de Tukey para $p < 0,05$. Medias y diferencias significativas de largo, ancho y relación largo sobre ancho de semilla entre los morfotipos evaluados. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Morfotipo	Largo [mm]	Ancho [mm]	L/A
Rastrero	6,82 A	4,24 A	1,61 A
Arbóreo	7,18 A	4,53 A B	1,58 A
Achaparrado	7,61 B	4,77 B	1,60 A

5.3 Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero

5.3.1 Materiales y métodos

Se analizó variación en rasgos de crecimiento y morfológicos en plantines de dos años de edad correspondientes a las 2 poblaciones y los tres morfotipos del subtítulo anterior. Los plantines fueron producidos en ambiente común, tal como fue para los ensayos del Capítulo 2, utilizando semilla del muestreo en el subtítulo anterior.

Se instaló un ensayo de ambiente común en invernáculo con un total de 162 plantas, repartidas en 3 bloques completos al azar, donde la unidad experimental estuvo constituida por una parcela lineal de 9 plantas. Durante la segunda temporada de crecimiento se midió la altura de cada planta a intervalos de 10 a 15 días, desde el inicio de brotación hasta el cierre de yemas, por un lapso de aproximadamente 6 meses a partir de la medición inicial (14 mediciones en total, al igual que lo descrito en los capítulos anteriores). Posteriormente se modelizó el crecimiento en altura de cada plantín, nuevamente ajustando para cada individuo la curva de Boltzmann por regresión, de la que se extrajeron (como en los capítulos 3 y 4): en forma directa las variables altura final (H_f), altura inicial (H_0), tiempo medio (T_{50}) y pendiente (S), y se derivaron las variables tiempo de inicio (T_{10}), tiempo final (T_{90}), duración del período de crecimiento (Dur) y pendiente máxima ($Tasa$). Para el ajuste de las curvas se utilizó el software GraphPad Prism 6.0 (GraphPad 1 Software, San Diego CA, USA).

Al finalizar la segunda temporada de crecimiento, y luego de producido el cierre de las yemas vegetativas, se midió en cada plantín la altura total (H), diámetro a la altura del cuello (D), número de yemas en el eje principal (NY), número de ramas de primer orden ($NR1$), longitud de la rama de primer orden de mayor longitud (LRI), número de ramas de segundo orden ($NR2$), longitud de rama de segundo orden de mayor longitud ($LR2$), pérdida de ápice (AS), presencia de bifurcaciones (B) y tipo de hábito del plantín (Th), erguido o decumbente. Posteriormente, tal como ya fue descrito, se calcularon las variables longitud media del internodo (L/NY), índice de esbeltez (L/D) y relación longitud del eje principal y longitud de la rama de primer orden más larga (L/LRI).

Para las variables de distribución continua, la comparación entre medias de los efectos fijos y entre varianzas de los efectos aleatorios se realizó a través de un modelo mixto, utilizando como ya se dijo anteriormente el paquete *lme4* de R (R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010), para el siguiente modelo de efectos fijos y aleatorios:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + P_j + M_iP_j + B_k + \varepsilon_{ijk} + e_{ijkl}$$

donde: Y_{ijkl} es la $ijkl$ -ésima observación de la variable, μ es la media general, M_i representa el efecto fijo del i -ésimo morfotipo, P_j , representa el efecto fijo de la j -ésima población, M_iP_j es el efecto fijo de la interacción entre el i -ésimo morfotipo y la j -ésima población, B_k representa el efecto aleatorio del k -ésimo bloque, ε_{ijk} representa el efecto del error principal distribuido normalmente y con varianza 0, y e_{ijkl} es el efecto aleatorio del error de subparcela, también distribuido normalmente y con varianza 0.

Posteriormente se revisaron los supuestos de distribución normal de los errores con la prueba de Shapiro-Wilk para cada variable analizada.

5.3.2 Resultados

Las medias por morfotipo de los parámetros evaluados de las curvas de crecimiento para las dos poblaciones ensayadas pueden observarse en la Tabla 5-2.

Tabla 5-2: Medias (y CV, en %) de los parámetros estimados de las curvas de crecimiento para los morfotipos ensayados en cada población.

	Morfotipo	H_0 [mm]	H_f [mm]	T_{50} [días]	S	Tasa	T_{10} [días]	T_{90} [días]	Dur [días]
La Hoya alto	Arbóreo	32,2 (97)	180,5 (84)	71,7 (72)	9,0 (69)	3,0 (83)	51,9 (75)	91,5 (70)	39,6 (69)
	achaparr.	42,6 (65)	308,5 (30)	104,3 (8)	12,9 (22)	5,1 (19)	76,0 (9)	132,7 (9)	56,6 (22)
	Rastrero	37,9 (76)	326,0 (30)	106,3 (5)	14,1 (15)	5,1 (32)	72,5 (21)	132,2 (21)	59,7 (25)
Ao Rodeo	Arbóreo	25,1 (118)	139,4 (84)	66,1 (76)	8,4 (74)	2,4 (85)	47,7 (80)	84,6 (75)	36,9 (74)
	achaparr.	43,6 (70)	263,8 (34)	105,3 (8)	13,8 (30)	4,2 (36)	72,2 (24)	130,6 (23)	58,4 (36)
	Rastrero	26,1 (96)	210,2 (75)	69,2 (71)	9,0 (68)	3,7 (68)	49,4 (74)	89,0 (70)	39,6 (68)

De las variables relacionadas al crecimiento, se hallaron diferencias significativas entre morfotipos para altura final y pendiente máxima. Los plantines provenientes del morfotipo rastrero crecieron significativamente más y más rápidamente que los del morfotipo arbóreo, no diferenciándose de los plantines del morfotipo achaparrado. No se halló interacción entre población y morfotipo para ninguno de los caracteres evaluados. El resultado de las comparaciones estimados a partir de *MCMC* puede observarse en la Tabla 5-3 y Tabla 5-5.

Tabla 5-3: Variación entre morfotipos para altura final ajustada del modelo de crecimiento. Salidas de modelo mixto, simulación Método de Marcov (MCMC), letras diferentes denotan diferencias significativas (p de MCMC < 0,05).

	Estimado	pMCMC
Intercepto	226.73	0.004
pop La Hoya	35.09	0.0304*
Morfach	41.31	0.0506
Morfrast	72.92	0.0008*

Tabla 5-4: Variación entre morfotipos para pendiente máxima ajustada del modelo de crecimiento. Salidas de modelo mixto, simulación Método de Markov (MCMC), letras diferentes denotan diferencias significativas (p de MCMC < 0,05).

	Estimado	pMCMC
Intercepto	226.73	0.004
pop La		
Hoya	35.09	0.0304*
Morfach	41.31	0.0506
Morfrast	72.92	0.0008*

El resumen de las variables arquitecturales analizadas puede verse en la Tabla 5-5.

Tabla 5-5: Medias y CV de las variables arquitecturales evaluadas: altura (H), diámetro (D), número de ramas de primer orden (R1), longitud de la rama más larga (LR1), relación altura sobre diámetro (LD), longitud de entrenudos (ent), relación altura sobre longitud de rama (lr).

	Arboreo		Achaparrado		Rastrero	
	Media	CV	Media	CV	Media	CV
H [mm]	237.5	34	283.8	34	323.5	32
D [mm]	4.8	20	5.1	17	5.4	22
NY	13.7	41	17.1	38	20.0	122
NR1	3.7	96	3.9	71	3.2	61
LR1 [mm]	92.3	66	120.5	56	138.7	48
NR2	0.1	693	0.0	0	0.0	0
LR2 [mm]	2.0	693	0.0	0	0.0	0
AS [%]	0.1	267	0.1	324	0.0	505
B	0.1	335	0.1	286	0.0	721
Hd	0	0	0	0	0	0
L/D	49.2	29	55.7	31	59.7	20
L/NY	18.1	31	17.0	21	19.5	36
L/NR1	0.0	81	0.0	56	0.0	61
L/LR1	0.4	58	0.4	52	0.5	56

En todas las variables analizadas, el morfotipo rastrero presentó los plantines más vigorosos, y el morfotipo arbóreo por el contrario, los de menor desarrollo. No se halló interacciones entre los efectos fijos población y morfotipo para ninguna de las variables analizadas. El aporte del efecto fijo morfotipo en el modelo fue significativo para las variables H , D , L/NY y L/D . Las salidas de la prueba Mcmc, informan que los plantines del morfotipo arbóreo fueron de menor H que los otros dos morfotipos ($p_{ach} = 0,0102$; $p_r = 0,0001$), menor D que el morfotipo rastrero ($p = 0,002$), menor LR1 que el rastrero ($p = 0,006$) y mayor relación $L//H$ que los otros dos morfotipos ($p_{ach} = 0,0312$; $p_r = 0,0004$). No se hallaron diferencias significativas entre morfotipos para el resto de las variables analizadas ($NR1$, $NR2$, $LR2$, L/NY , $L/NR1$, B y $L/LR1$). Se puntualiza que tampoco se hallaron diferencias entre morfotipos para la variable Th , destacándose que no se identificó ningún plantín con hábito de crecimiento decumbente para ningún morfotipo.

5.4 Discusión

En el presente capítulo se halló variación en el tamaño de semillas de los tres morfotipos presentes en el piso altitudinal superior de lenga. Las semillas del morfotipo rastrero fueron de menor tamaño, principalmente de menor ancho que el morfotipo achaparrado, lo que implica un menor desarrollo alar y, presumiblemente, una distancia de dispersión menor, siendo consistente este resultado en las dos poblaciones analizadas. Esto podría tener consecuencias ecológicas y microevolutivas (Linhart y Grant 1996, Galloway y Fenster 2007). Desde un punto de vista ecológico, semillas de menor superficie de ala tendrían más probabilidades de caer en las proximidades de la planta madre, la cual actuaría como planta nodriza, teniendo un efecto de facilitación para las plántulas (Callaway y col. 2002, Montesinos 2007). En el ambiente alpino las bajas temperaturas, peso de la nieve, intensidad del viento e inestabilidad del suelo pueden limitar el crecimiento más que la disponibilidad de recursos. Una mejora de estos severos estreses por cercanía a las plantas nodrizas puede favorecer el crecimiento a pesar de la competencia por recursos que se establece con la misma nodriza (Callaway y col. 2002). Tras la germinación, la sombra que proporcionan las plantas nodrizas protege a las plántulas de la sequía estival, mejorando el balance hídrico del suelo (Callaway 1995, Verdú y García-Fayos 1996, 2003). Bajo las plantas nodrizas se halla mayor proporción de materia orgánica y mayor contenido en nitrógeno que en espacios abiertos (Callaway 1995, Callaway y col. 2002, Joy y Young 2002, Verdú y García Fayos 2003, Verdú y col. 2004). Posteriormente las mismas plantas nodrizas proporcionan protección a los renuevos del efecto erosivo del hielo, manteniendo protegidas las plántulas de las temperaturas extremas gracias al efecto aislante de la capa de nieve y protegiéndolas del viento (Callaway y col. 2002, Smith y col. 2003, Lueberd y Pliscoff 2006, Batllori y col. 2009). El patrón de dispersión de las semillas contribuye a la estructura genética de las poblaciones (Willson y Traveset 2000). Un movimiento de genes limitado dentro de una población puede conducir a una estructura de "vecindades" de individuos más o menos relacionados (Levin 1981, Gibson y Wheelwright 1995). La microdiferenciación de las poblaciones locales puede ocurrir en una escala espacial muy pequeña, en respuesta a la selección localizada y/o a un flujo de genes muy restringido (Linhart y Grant 1996, Chung y col. 2003, Galloway y Fenster 2007). Un tamaño diferencial de semillas entre los distintos morfotipos de lenga puede entonces conducir a una estructuración genética diferencial entre los morfotipos, al menos distinguiendo al morfotipo achaparrado de los otros dos.

Premoli (1991) estudió en *N. antarctica* (ñire) la variación natural intraespecífica en caracteres morfológicos y seminales, asociando la variabilidad en estos caracteres con la calidad de sitio. Así agrupó por un lado aquellos sitios de muestreo con semillas más pesadas, con hojas alargadas y pertenecientes al morfotipo arbóreo, que a su vez puede relacionarse con condiciones óptimas de desarrollo (Ramírez, 1985) y un segundo grupo a los sitios con semillas más livianas, hojas redondeadas y pertenecientes al morfotipo achaparrado, que se corresponde con características extremas del ambiente físico (Premoli 1991). Es decir, la autora pudo relacionar estos caracteres seminales (peso de semilla) con calidad de sitio y morfotipos. Sin embargo, en dicho trabajo el muestreo incluye sitios de cosecha en un gradiente también altitudinal (800 – 1300 m snm), obteniendo la semilla más pesada del morfotipo arbóreo de dos sitios de muestreo entre los 900 y 950 m snm. En nuestro caso, la semilla fue colectada de morfotipos que coexisten en sitios aledaños, de la misma altitud, con una posible variación microambiental.

Analizando los parámetros de los modelos de crecimiento resulta evidente que los tres morfotipos tuvieron crecimientos indiferenciados, con excepción de la altura final alcanzada luego del segundo período vegetativo y pendiente máxima, siendo el morfotipo rastrero el que desarrolló mayor altura en las dos poblaciones y más rápidamente. Es decir que la mayor longitud del morfotipo rastrero fue debida a una mayor pendiente de la curva de crecimiento y no a un mayor período de crecimiento. De la mano con este resultado, también se diferenciaron los plantines en características arquitecturales entre los morfotipos rastrero y arbóreo. Al finalizar la segunda temporada de crecimiento las plántulas del morfotipo rastrero fueron las de mayor vigor, en contraste con las plántulas del morfotipo arbóreo que constituyeron el morfotipo de menor vigor, tanto en altura como en diámetro, relación altura diámetro y longitud de entrenudo.

Las evidencias del ensayo de ambiente común ponen de manifiesto una componente genética en la variación de los morfotipos en el desarrollo y arquitectura de plantines. Stevens y Fox (1991) en una revisión acerca de las causas del *treeline*, propone, entre otras, una hipótesis de dominancia apical, estipulando que si las poblaciones *treeline* se han adaptado a las condiciones locales, las plantas individuales del *treeline* deben tolerar la pérdida frecuente de sus ápices dando como resultado el aumento de la frecuencia con la que estas se dividen a través de la formación de raíces adventicias o a través de desprendimiento repetido de algunos de sus tallos múltiples. Sin embargo, esta diferencia en la estrategia de crecimiento tendría que ser de origen genético y no sólo por motivos medio ambientales. El alargamiento significativamente mayor de los brotes siléptico sería la consecuencia del control apical. Entendemos que el control apical tiende a ser débil cuando los brotes siléptico crecen largos y con un ángulo menor (más fastigiados). Por lo tanto, un mayor desarrollo de las ramas de primer orden en el morfotipo rastrero en el ensayo de ambiente común, puede ser un indicador de un menor control apical de estas plantas, en concordancia con la hipótesis de control apical propuesta por Steven y Fox (1991).

No se verificó la hipótesis de variación en el tipo de hábito (erguido o decumbente) entre los diferentes morfotipos, a diferencia de lo reportado en *N. antarctica*. Por lo tanto, los procesos de deformación que evidencian los individuos rastreros en el krummholtz estarían ligados a efectos del ambiente en donde se desarrollan, tal como ha sido postulado en numerosos trabajos (Dimitri 1972, Donoso 1981, Gutierrez y col. 1991, Luebert y Pliscoff 2004), pero la mayor tendencia a ramificar y el más débil control apical en el morfotipo rastrero, podría inferirse adaptación local, ya que una mayor tendencia a ramificar favorecería la ocupación de sitios en ausencia de competencia. Sin embargo la diferenciación en el potencial de crecimiento en condiciones favorables (sin competencia), diferenciaría los individuos provenientes del morfotipo rastrero por sobre los otros dos morfotipos, fundamentalmente el morfotipo arbóreo.

A la luz de estos resultados (i.e. morfotipo rastrero produce plántulas más vigorosas en ambientes sin limitantes) surge el interrogante de por qué no se evidencia un proceso de avance en las masas boscosas de este morfotipo sobre el resto. Creciendo en condiciones de menor presión ambiental el morfotipo rastrero produciría plantines que morfológicamente se diferenciarían del resto sólo en la longitud de sus ramas. En cambio, en condiciones de estrés ambiental se produciría una selección direccional favoreciendo un morfotipo sobre otro. Igualmente en la posible zona de contacto de ambos morfotipos se produciría un mayor flujo génico, tanto polínico como de dispersión de semillas.

6 VARIACIÓN GENÉTICA EN LENGA (Intrapoblacional)



6.1 INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios de variación genética con caracteres cuantitativos se pueden encontrar en la bibliografía forestal. Sin embargo, una minoría de ellos explora la variación genética intra-poblacional además de la inter-poblacional. Son necesarios muchos recursos y mayor tiempo que el requerido por otras metodologías de abordaje (básicamente marcadores genéticos) para poder conducir un ensayo en ambiente común que incluya tanto poblaciones como familias para poder estimar parámetros de variación genética entre y dentro de las poblaciones. La mayoría de los ejemplos más desarrollados en la literatura corresponden a especies bien estudiadas del hemisferio norte como *Pseudotsuga menziesii* (Rehfeldt 1978, Campbell 1986), *Picea glauca* (Li y col. 1993, Jaramillo-Correa y col. 2001), *Pinus contorta ssp. latifolia* (Yang y col. 1996), *Quercus petrae* (Kremer y col. 1997) y *Pinus pinaster* (González Martínez y col. 2002). En especies del hemisferio sur las posibles referencias son mucho menos frecuentes, pudiéndose citar para Argentina Aparicio y col. 2010, 2012; Pastorino y col. 2010, 2012), *Araucaria araucana* (Izquierdo 2009), y *Nothofagus nervosa* (Gallo y col. 2000).

La amplia mayoría de los trabajos en *Nothofagus* encontrados en la literatura han estimado diversidad genética utilizando marcadores genéticos, con pocos antecedentes en el uso de caracteres cuantitativos para poner a prueba hipótesis de adaptación. La excepción son los trabajos ya citados en lengua sobre variación geográfica en el gradiente altitudinal (Premoli y col. 2007) y en el gradiente de precipitaciones (Arbetman y col. 2008), en *N. antarctica* (Steinke y col. 2008) sobre variación natural *in situ* en distintos ambientes (sin el uso de ensayos de ambiente común) y sobre *N. nervosa* (Gallo y col. 2000) sobre sobrevivencia y crecimiento inicial. Pero en ninguno de ellos se avanza en la estimación de variación intra-poblacional. El abordaje de la variación genética con las herramientas cuantitativas permite poner a prueba hipótesis sobre adaptación local y plasticidad fenotípica, y la importancia evolutiva de las distintas variables ambientales que modelan la estructura genética de la especie.

Hasta el presente capítulo, han sido presentados los resultados de ensayos en los que se pusieron a prueba distintas poblaciones naturales de lenga sin representación de relaciones familiares. Esto permitió analizar la variación genética geográfica, o sea la variación existente entre las poblaciones. Sin embargo, es sabido que gran parte (comúnmente la mayor parte) de la variación genética de una especie está contenida dentro de sus poblaciones naturales. Para analizar el nivel intra-poblacional es indispensable conocer las relaciones de parentesco entre los individuos analizados, siendo la “familia de polinización abierta” la más simple y comúnmente utilizada en estudios de genética ecológica.

Para complementar los estudios de variación geográfica hasta aquí presentados, incluimos en este capítulo el análisis de ensayos en los que se ha tenido en cuenta la representación familiar. Los objetivos específicos del capítulo son:

- Estimar la partición de la varianza fenotípica en caracteres cuantitativos de plantines en vivero.
- Estimar y comparar heredabilidades para distintos caracteres en poblaciones mésicas y secas.
- Estimar y comparar heredabilidades entre caracteres adaptativos (“fitnesstraits”) y no adaptativos (“non-fitnessstraits”) en las distintas poblaciones.

- Estimar parámetros de diferenciación genética en caracteres cuantitativos Q_{ST} (Spitze 1993).

6.2 Variación en caracteres seminales

6.2.1 Materiales y métodos

En el año 2009 se cosecharon semillas de 63 árboles correspondientes a cuatro poblaciones de un mismo rango altitudinal pero distintos regímenes de precipitación [una seca (LHb), una métrica (Hb) y dos húmedas (T y LE)]. Las semillas de cada árbol (unas 500) se mantuvieron separadas y conformaron una familia de polinización abierta.

Para cada familia cosechada se midió el peso de 100 semillas según fue descrito en el Capítulo 2. Sólo este rasgo seminal fue considerado.

Para analizar variación en peso de semillas entre y dentro de las poblaciones se realizó un ANOVA con el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + F_j + e_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} es la ijk -ésima observación de la variable, μ es la media general, P_i representa el efecto fijo de la i -ésima población, F_j representa el efecto aleatorio de la j -ésima familia anidada dentro de población y e_{ijk} es el error aleatorio NID (0, σ^2_e).

6.2.2 Resultados

Los valores medios y desvíos estándares para cada población analizada pueden verse en la **Error! Reference source not found.** Se puede observar una amplia variación entre las distintas poblaciones.

Tabla 6-1: Media y desvío estándar del peso de 100 semillas para las cuatro poblaciones estudiadas (N es el número de familias de cada población).

Población		Media	Desvío	N
LHb	Co. La Hoya bajo	2,90	0,62	12
Hb	Huemules bajo	1,82	0,47	27
T	Trevelin	1,66	0,38	6
LE	Lo. del Engaño	1,69	0,29	18

El ANOVA permitió probar diferencias significativas entre poblaciones ($p < 0,0001$) y el efecto significativo de las familias ($p < 0,05$) dentro de poblaciones. El cálculo de los componentes de la varianza reveló que el 93,4 % de la varianza total fue aportado por las familias, y el 6,6 % restante correspondió al error.

6.3 Variación en caracteres morfológicos y de crecimiento en plantines en vivero

6.3.1 Materiales y Métodos

En el año 2008 se cosecharon semillas de 68 árboles correspondientes a tres poblaciones marginales (LHb, LHa y SM) y una mésica (Hb) de dos rangos altitudinales contrastantes (1.000 m snm y 1.450 m snm).

Luego de su estratificación en frío por sesenta días las semillas, se sembraron sobre algodón envuelto en papel tissue dentro de bandejas plásticas transparentes, en una sala de germinación. Se reguló la temperatura en 19° C (temperatura óptima de geminación en lenga, Escobar 2007), y la germinación comenzó al 7° día de la siembra. A medida que germinaban, las plántulas fueron repicadas a contenedores de 250 cm³ y colocadas en un invernáculo con un diseño de bloques completos aleatorizados, con 8 plantas por parcela (3 repeticiones). Se utilizaron bandejas de 24 tubetes, por lo que cada bandeja tuvo 3 parcelas de 8 plantas cada una. Debido a la heterogeneidad en la germinación, no pudieron completarse las 3 repeticiones de 8 plantas cada una en cada familia, por lo que el diseño quedó desbalanceado. Sin embargo, cada una de las 68 familias estuvo representada por al menos 2 repeticiones, y cada repetición con al menos 4 plantas. Así, incluyendo una mortalidad inferior al 5 %, el total de plantas del ensayo al finalizar la temporada de crecimiento fue 897.

Para modelizar el crecimiento de cada plantín durante su primera temporada de desarrollo, se siguió el mismo procedimiento de los capítulos anteriores (aunque en este caso se modeló el crecimiento del primer año y no del segundo), con mediciones periódicas de la altura total y el ajuste por regresión de una curva sigmoideal (algoritmo de Boltzmann). El primer registro se realizó a los 30 días de la siembra, momento en el que el 60% de la semilla había germinado y había sido colocada en su respectivo contenedor. Las siguientes evaluaciones de altura se hicieron luego de la aparición del primer par de hojas verdaderas del 80% de las plántulas (día 91) y posteriormente cada aproximadamente 15 días, puntualmente en los días 105, 120, 132, 147, 162, 175, 189 y 196. La última medición fue posterior a la formación de yemas y quedó definida cuando no difirió de la medición anterior. Como en los capítulos anteriores, de las curvas ajustadas se derivaron los parámetros altura final (H_f), tiempo medio (T_{50}) y pendiente (S), y se derivaron las variables tiempo de inicio (T_{10}), tiempo final (T_{90}), duración del período de crecimiento (Dur) y pendiente máxima ($Tasa$).

Al finalizar el crecimiento del primer año, en el mes de abril, se caracterizó cada plantín arquitecturalmente a través de: altura total (L), diámetro a la altura de cuello (D), número de yemas en el vástago principal (NY), número de ramas de primer orden (NRI), longitud de la rama más larga de primero (LRI) y presencia/ausencia de bifurcaciones. Posteriormente se calcularon las siguientes variables secundarias: índice de esbeltez (L/D), longitud de entrenudo (L/NY), ramosidad (NRI/L), índice de dominancia (LRI/L).

Para analizar la variación de los caracteres se llevó a cabo un ANOVA con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + F_j + \varepsilon_{ij} + e_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} representa el valor observado de la variable, μ es la constante general, P_i representa el efecto fijo de la i -ésima población, F_j representa el efecto aleatorio de la j -ésima familia anidada dentro de la i -ésima población, ε_{ij} representa el efecto del error principal distribuido normalmente y con varianza 0, ye_{ijk} es el efecto aleatorio del error de subparcela, también distribuido normalmente y con varianza 0.

Luego de testear el cumplimiento de los supuestos requeridos, se aplicó ANOVA para probar diferencias significativas entre poblaciones y variabilidad de las familias. Para el análisis se utilizó el paquete lme4 del programa estadístico R (Bates 2010, 2011), tanto para variables con distribución continua como variables con distribución binomial, que permite analizar dicha distribución utilizando la aproximación de Laplace (Bates 2011). Los algoritmos utilizados en este paquete son los de máxima verosimilitud restringida (REML), que son los más convenientes para manejar datos desbalanceados.

6.3.2 Resultados

De todas las plantas evaluadas inicialmente, se eliminaron aquellas cuyo error estándar en alguno de los parámetros estimados del ajuste en las curvas fue superior al 10%. Así, se descartaron 99 plantas que no ajustaron convenientemente con la función de Boltzmann. La eliminación de estas plantas implicó perder una representación aceptable de algunas familias (el criterio de representación fue al menos 2 repeticiones con al menos 4 plantas por parcela), las que por consiguiente fueron desechadas del análisis. Este raleo de familias provocó incluso que la población Huemules quedara representada por sólo 3 familias, que se juzgaron insuficientes para una representación aceptable, por lo que se prefirió desechar la población en forma completa. De esta manera se incluyeron finalmente en el ANOVA 627 plantas correspondientes a 36 familias de tres poblaciones. De las plantas utilizadas para el ensayo de crecimiento, el R^2 promedio fue de 0,99, con un máximo de 1 y un mínimo de 0,77. En la Tabla 6-2 se presentan los valores medios y coeficientes de variación de las poblaciones estudiadas.

Tabla 6-2: Medias (y CV en %) de los parámetros estimados para las curvas de crecimiento para las tres poblaciones analizadas. N es el número de familias analizadas por población. Letras diferentes denotan diferencias significativas, utilizando MCMC.

Parámetro	La Hoya	La Hoya	San Martín
N	7	16	13
H_f	319,4(36) A	264,3 (46) B	190,7 (46) C
T_{50}	121,3 (11) A	116,5 (15) AB	112,5 (14) B
S	17,2 (24)	18,3 (34)	17,8 (36)
$Tasa$	4,8 (34) A	4,0 (49) B	3,1 (58) C
T_{10}	83,5 (16) A	76,3(24) B	73,2 (27) B
T_{90}	159,2 (11)	156,7 (16)	151,8 (15)
Dur	75,7 (24)	80,5 (34)	78,6 (36)

Se hallaron diferencias significativas entre poblaciones para H_f , T_{50} , $Tasa$ y T_{10} ($p < 0,0001$; $0,0094$; $<0,0001$ y $0,0271$ respectivamente). En la Tabla 6.2 se presenta el resultado de las comparaciones apareadas entre poblaciones, utilizando el método MCMC, como fue descrito en el Capítulo 2. Las poblaciones La Hoya bajo y San Martín difirieron entre sí para estas cuatro variables, las poblaciones La Hoya alto y San Martín difirieron para H_f y $Tasa$ y finalmente las poblaciones La Hoya bajo y La Hoya alto se diferenciaron para H_f , $Tasa$ y T_{10} . Esta diferencia se puede apreciar claramente en la **Error! Reference source not found.**, en donde se ve que las plantas de la población San Martín alcanzaron menor desarrollo que el resto de las poblaciones, debido a una menor tasa de crecimiento.

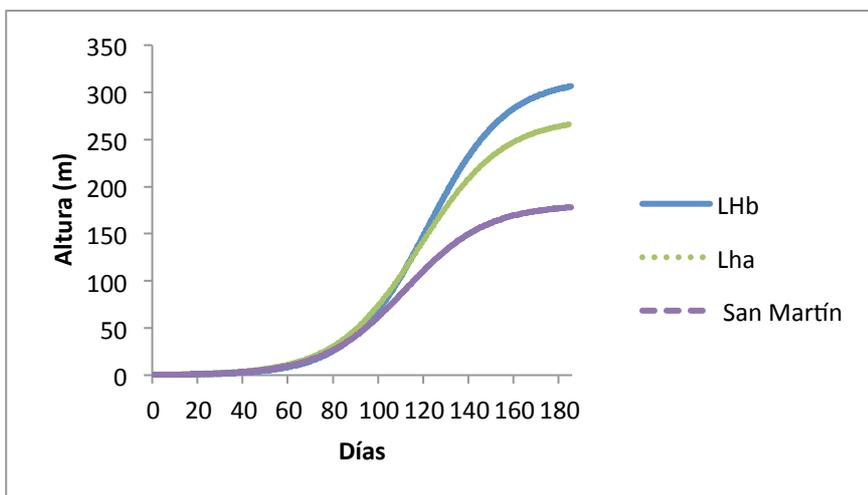


Figura 6-1: Simulación de curvas de crecimiento promedio para las tres poblaciones ensayadas, obtenidas a partir de los parámetros generados por la función Boltzmann.

A través de los tests de razón de verosimilitud (LRT) se probó la significancia del factor aleatorio “familia” para 4 de las variables de crecimiento (H_f , T_{50} , $Tasa$ y T_{10}), explicando el 7,9%, 7,4%, 8,9% y 10,8% de la variación fenotípica observada, respectivamente.

El cálculo de heredabilidades solamente se realizó para la población San Martín para las variables H_f , T_{50} , $Tasa$ y T_{10} , con valores de heredabilidad 0,45; 0,40; 0,47 y 0,48 respectivamente y $p < 0,05$ (**Error! Reference source not found.**). Para el resto de las variables en dicha población y para todas las variables en el resto de las poblaciones, las heredabilidades y coeficientes de variación genética aditiva no fueron calculadas, ya que no fue significativa la varianza familiar ($p < 0,05$) en el modelo.

La diferenciación genética entre poblaciones para H_f tuvo un valor moderado de ($Q_{ST} = 0,32$), mientras que para T_{50} , $Tasa$ y T_{10} fue más baja ($Q_{ST} = 0,18$; 0,19 y 0,12 respectivamente) (**Error! Reference source not found.**). Para T_{90} y Dur , no pudieron probarse diferencias significativas entre poblaciones, y por lo tanto no se calcularon los Q_{ST} .

Para la evaluación de los caracteres arquitecturales, se utilizaron las 897 plantas instaladas en vivero. La dispersión de los datos fue alta, y sus valores juntamente con las medias poblacionales se pueden observar en la **Error! Reference source not found.3**.

Por medio de ANOVA se probaron diferencias significativas entre poblaciones para altura y para todas las variables secundarias calculadas (excepto la relación longitud de rama sobre altura), en donde la población de San Martín difirió significativamente del resto, que conformó un grupo homogéneo (**Error! Reference source not found.**). No se observaron diferencias significativas para la variable diámetro.

La variabilidad entre familias fue significativa para todas las variables evaluadas, excepto para presencia de bifurcaciones. Los componentes de la varianza familiares fueron del 16% para L , 12% para D , 14% para la relación L/D , 9% para longitud de entrenudos y 5% para la relación LR/L .

Tabla 6-3: Medias de parámetros arquitecturales (CV) estimados para cada población. N es el número de familias incluidas en cada población.

Parámetro	La Hoya bajo	Huemules	La Hoya alto	San Martín
N	12	15	26	15
<i>L</i> [mm]	294,75 (36)	286,69 (35)	263,90 (47)	181,50 (46)
<i>D</i> [mm]	4,76 (20)	4,95 (18)	4,73 (21)	4,58 (22)
<i>NY</i>	21,05 (26)	21,14 (24)	19,81 (33)	16,72 (31)
<i>NRI</i>	1,12 (140)	1,31 (127)	1,03 (127)	1,11 (106)
<i>LRI</i> [mm]	3,19 (157)	3,35 (152)	2,78 (172)	2,68 (152)
<i>B</i> [%]	0,03 (576)	0,05 (433)	0,06 (380)	0,08 (332)
<i>L/D</i>	62,13 (34)	58,06 (32)	54,90 (42)	40,03 (44)
<i>L/NY</i>	13,71 (20)	13,33 (22)	12,85 (35)	10,62 (29)
<i>NRI/L</i>	0,005 (168)	0,01 (140)	0,01 (150)	0,01 (161)

Si consideramos a la ramificación como una variable binaria (presencia / ausencia), comprobamos que no tuvo efecto el factor población pero sí el factor familia, representando el 6,3% de la variación total. Así, el 63% de los plantines presentaron al menos una rama de primer orden, con un máximo de 9 ramas y un promedio de 1,15.

En el caso de las variables en las que no pudo comprobarse un efecto familiar significativo, no se estimó el parámetro de heredabilidad, ya que se consideró que su valor no sería significativamente distinto de 0.

Similarmente, la diferenciación expresada por el parámetro Q_{ST} no fue calculada para aquellas variables en las que no pudieron probarse diferencias significativas entre poblaciones. Los valores de los parámetros de variación genética intra e inter-poblacional calculados pueden observarse en la Tabla 6-4.

Tabla 6-4: Varianza genética aditiva (σ_A), coeficiente de variación genética aditiva ($CV_A\%$) y heredabilidad (h^2) para cinco variables medidas en plantines de lenga en cuatro poblaciones naturales. Coeficientes de diferenciación genética entre poblaciones (Q_{ST}) están indicados para cada variable en la columna a la derecha.

	Parámetro	La Hoya bajo	Huemules	La Hoya alto	San Martín	Q_{ST}
<i>L</i>	σ_A	0	0	790,74	544,83	0,15
	CV_A	0	0	55,23	44,31	
	h^2	0	0	0,57	0,40	
<i>D</i>	σ_A	0	0,12	0,49	0	-
	CV_A	0	5,74	14,25	0	
	h^2	0	0,15	0,54	0	
<i>L/D</i>	σ_A	0	0	226,35	146,59	0,16
	CV_A	0	0	35,56	39,27	
	h^2	0	0	0,43	0,48	
<i>L/Y</i>	σ_A	0	0	5,18	3,97	0,17
	CV_A	0	0	18,43	19,67	
	h^2	0	0	0,54	0,43	
<i>LRI/L</i>	σ_A	0,001	0	0	0	-
	CV_A	114,67	0	0	0	
	h^2	1,16	0	0	0	

6.4 DISCUSION

En nuestro ensayo de peso de semillas comprobamos que un altísimo componente (93 %) de la variabilidad se encuentra entre las familias dentro de cada población. De manera similar Pastorino y Gallo (2000) determinaron para peso de semilla de *Austrocedrus chilensis* que el 85% del total de la varianza se debía a la variación dentro de cada población. Este componente de varianza entre familias incluye dentro de sí la varianza entre individuos y la varianza entre semillas dentro de la misma planta. Se ha hallado que este último componente de variación no es despreciable (Michaels y col. 1988, 1998, Garrido y col. 2005) y que depende de numerosos factores, como la posición de frutos y semillas sobre la planta, o la disponibilidad de recursos al momento del llenado de semillas. Este último factor puede ocasionar un compromiso entre el tamaño y el número de semillas formadas contribuyendo a la variación entre y dentro de plantas en una población (Michaels y col. 1988, Silvestown y Lovett-Doust 1993, Vaughton y Ramsey 1998).

La variación del tamaño de semilla entre individuos está constituida por la variación genética y la plasticidad fenotípica (Vaughton y Ramsey 1998). La variación genética puede a su vez comprender dos orígenes o causas diferentes (Antonovics y Schmitt 1986; Mazer 1987; Silvertown y Lovett-Doust 1993, Castro 1999): por un lado el genotipo de la nueva planta incluida en la semilla, y por otro la herencia materna de algunos caracteres seminales relacionados en particular con la nutrición del nuevo propágulo. Así, tanto factores genéticos como microambientales tienen una importante influencia en el tamaño de la semilla producida (Roach y Wolf 1987). Muchos factores exógenos, ligados al ambiente en el que se desarrolla la planta madre, influyen en el tamaño de la semilla tales como la disponibilidad de agua durante el período de llenado de la semilla, la temperatura, longitud de la duración del día (efecto latitudinal) afectando tanto la tasa como el tiempo de crecimiento; que afectan procesos endógenos, tal como el contenido hormonal en semillas (Gutterman 2000).

La varianza entre familias estimada incluye toda esta variación intrapoblacional, tanto la genética como la ambiental, y por ende no es posible calcular su heredabilidad al no poder aislarse el componente de varianza aditiva del resto. Para poder discriminar los componentes ambientales y genéticos debería contarse con clones creciendo en condiciones de ambiente común a los cuales se les cosechase la semilla (por ej. Castro y col. 1999, Chaisurisri y col. 1992).

Las poblaciones de menor altitud, una mélica y otra xérica, crecieron significativamente más que las poblaciones de mayor altitud, pero difirieron entre sí en la forma de alcanzar dicho desarrollo. Es decir, la altitud podría explicar parte de la variabilidad observada (poblaciones La Hoya bajo y La Hoya alto), pero existen otras como las observadas entre La Hoya y San Martín que no parecen estar relacionadas con esta variable, lo que podría estar vinculado con la variación latitudinal. Se han constatado diferencias significativas entre la población San Martín tanto para variables arquitecturales como de crecimiento.

Tal como se había planteado en la hipótesis, los niveles de heredabilidad y varianza aditiva fueron bajos para todas las variables derivadas de la función de crecimiento, a excepción de las plantas de la población San Martín. En muchas de las variables ni siquiera se pudo comprobar un efecto significativo familiar. Esto podría interpretarse como evidencia de una alta presión de selección para estos caracteres en

todos los ambientes (Mérila y Sheldon 1999). La única población que se diferencia es San Martín, la cual presenta valores medios a altos de heredabilidad y varianza genética aditiva (entre 0,40 y 0,48) para tiempo medio, altura final, pendiente y tiempo de inicio de crecimiento. Las variables tiempo de finalización de crecimiento y duración del período de crecimiento presentan en cambio valores nulos de heredabilidad y varianza genética aditiva. Desde el punto de vista de los mecanismos que actualmente están operando en esta población, se evidencia una baja presión de selección direccional en los caracteres en los cuales la heredabilidad fue alta y en cambio una alta presión para aquellas variables en las cuales los valores de heredabilidad y varianza genética aditiva fueron nulos (Mérila y Sheldon, 1999, Frankham 2002). La marcada diferenciación de esta población marginal podría deberse a una adaptación a sus condiciones tan particulares, en especial su régimen pluviométrico xérico (se trata del extremo seco de la especie) pero también a efectos de procesos de deriva génica, ya que su dimensión es muy reducida. Sobre estos dos factores estaría también influyendo su alto grado de aislamiento, lo que la preservaría de recibir variantes genéticas de las poblaciones occidentales de mayor desarrollo.

Las plantas durante la primera temporada de crecimiento alcanzaron una altura media de 256,3 mm, un diámetro promedio de 4,9 mm y 19,3 entrenudos por vástago principal, 63% de las plantas con ramas de primer orden y 1,15 ramas de primer orden por planta. El tamaño de las plantas logradas fue muy superior a la evaluada en condiciones naturales en donde durante el primer año los plantines alcanzan apenas los 7,8 mm, 2,8 entrenudos en el vástago principal y carecen de ramas de primer orden (Raffaëlle y col. 1998). Si se analiza, indistintamente de la población, el tamaño medio de las plantas con y sin ramas, las plantas con ramas resultaron no diferenciarse por altura, pero sí resultaron ser más vigorosas diferenciándose significativamente en el diámetro a la altura del cuello. Es posible por lo tanto que la característica de ramosidad esté relacionada con el vigor de las plantas.

Los resultados hallados sobre las cuatro poblaciones de lenga muestran a la población San Martín diferenciándose en las variables altura, índice de esbeltez y longitud de entrenudos del resto de las poblaciones evaluadas. Las plantas tuvieron menor desarrollo en altura, mayor proporción de bifurcaciones, menor relación altura sobre diámetro (plantas más bajas pero no de menor diámetro) y menor longitud de entrenudos. Tal como se detalló anteriormente, parte de esta variación puede estar explicada por la altitud donde se halla enclavada la población (1.400 -1.450 m snm), pero esto no se condice con las diferencias con la población de La Hoya alto, que se haya entre los 1.400 y 1.500 m snm. De todos modos, la explicación de las diferencias entre poblaciones por sus características ambientales queda en el terreno de la especulación, ya que el muestreo logrado no permitió someter a prueba estas hipótesis.

Para todas las variables arquitecturales evaluadas, excepto la presencia de bifurcaciones, tuvo significancia la varianza familiar, variando su aporte entre 5% y 16%, con un promedio de 11%.

En la mayoría de las variables arquitecturales no se probaron diferencias significativas entre poblaciones. En las que sí se probaron diferencias, los coeficientes de diferenciación fueron moderados, entre 0,15 y 0,17. Esto sería evidencia de una moderada presión de selección en los caracteres altura, relación altura sobre diámetro y longitud de entrenudo. La diferenciación hallada implica que la altura a edades tempranas (primera temporada de crecimiento) es un factor bajo presión de selección, al igual que las otras dos variables, que también están relacionadas con el crecimiento o

vigor inicial. La relevancia adaptativa de la variable altura sobre diámetro puede estar relacionada con la estabilidad de las plántulas al finalizar la temporada de crecimiento, tomando en cuenta que un lapso prolongado durante la primera temporada invernal dichas plántulas se hallarán bajo una cubierta de nieve de espesor y peso considerables.

Los mayores componentes de la varianza aditiva y heredabilidad correspondieron a la población La Hoya alta, luego a San Martín, La Hoya baja y el menor correspondió a Huemules. Las poblaciones con mayores heredabilidades correspondieron a las poblaciones secas de altura, que según estos resultados significaría que habría menor presión de selección sobre estas poblaciones en estos caracteres. Una explicación podría estar dada en el hecho de que en este caso, la competencia por luz sería menor que en bosques de condiciones húmedas con doseles más cerrados, posiblemente menor acumulación névea debido a la disminución en el monto de las precipitaciones.

En La Hoya las heredabilidades fueron medias a altas, con un promedio de 0,52 para las cuatro variables: altura, diámetro, relación altura sobre diámetro y longitud de entrenudos. La mayor heredabilidad correspondió a la variable altura ($h^2=0,57$) y la menor a la relación altura sobre diámetro ($h^2=0,43$). Dichas variables estarían experimentando una limitada presión de selección, si estando sometida a esta las variables relacionadas a la ramosidad (número de ramas, longitud de ramas, relación largo de ramas y longitud de vástago) y la presencia de bifurcaciones. La población de San Martín mostró valores similares de heredabilidad. La Hoya bajo tuvo un comportamiento distinto al mostrado por las poblaciones de mayores altitudes, mostrando valores nulos de heredabilidad y varianza genética aditiva para todas las variables, excepto para la relación longitud de ramas sobre longitud de vástago, la que presentó una heredabilidad muy alta ($h^2>1$). Este valor inesperado puede estar determinado por una variabilidad ambiental muy baja y una muy amplia varianza aditiva, o puede deberse a una variación en los supuestos del modelo de apareamiento, por lo que el factor 3 utilizado para el cálculo de la varianza aditiva hubiera sido excesivo, es decir que las poblaciones presentan mayor endogamia y menor panmixia (Mëriila y Sheldon, 1999). Por último la población Huemules presentó los valores más bajos de heredabilidades y varianzas aditivas, pudiendo tener relación con estos valores hallados tanto características específicas de la población en cuanto a un alto grado de endogamia (Frankham 2002), una alta varianza ambiental, una baja varianza genética aditiva (podría tener mayor proporción de varianza por dominancia) y una alta presión de selección (Frankham 2002). El único carácter que presentó una heredabilidad baja, fue el diámetro, lo que puede indicar una menor presión de selección.

En contraste con reportes para especies del hemisferio norte, en donde se han hallado altos grados de diferenciación genética (Howe y col. 2004), en el presente trabajo se han hallado bajos coeficientes de diferenciación, similarmente a los resultados mostrados en *Austrocedrus chilensis* (Aparicio y col. 2009, Pastorino y col. 2010). El Q_{ST} promedio hallado para estas variables fue de 0,20 verificándose en los parámetros altura final, tiempo medio, pendiente máxima y tiempo de inicio de crecimiento.

La mayor diferenciación fue hallada para altura máxima ($Q_{ST} = 0,32$) y la menor para tiempo de inicio de crecimiento ($Q_{ST} = 0,12$). Aún este bajo coeficiente de diferenciación es mayor que el determinado para la cesación de crecimiento. Los caracteres fenológicos suelen estar relacionados con la resistencia al frío de las especies que se desarrollan en un clima templado frío (Howe y col. 2003), aunque en un amplio rango de variación en Q_{ST} . Este autor cita para *Picea glauca* valores muy altos de

diferenciación, de hasta $Q_{ST} = 1$ en cesación de crecimiento. Dentro del conjunto de datos fenológicos, el tiempo de inicio y fin de crecimiento son considerados los de mayor importancia. Para todas estas especies descritas en el hemisferio norte, los Q_{ST} calculados para finalización de crecimiento presentaron mayores valores que los correspondientes a inicio de crecimiento, por lo que este carácter estaría sujeto a mayor presión de selección. Los valores calculados en las poblaciones estudiadas no coinciden con este patrón, dado que el Q_{ST} para inicio de crecimiento si bien es bajo, es mayor que para finalización de crecimiento, que en este caso se asume que no difiere significativamente de 0. Esta característica se corresponde con los valores reportados para *Austrocedrus chilensis* (Aparicio y col. 2010), aunque en este caso el Q_{ST} calculado para inicio de crecimiento fue de 1, no reportándose para la finalización de crecimiento. Por lo tanto, el carácter estaría bajo una débil presión de selección, no así la finalización del período de crecimiento. La finalización de crecimiento no parecería estar relacionado con las heladas tempranas que ocurren a finalización del verano, ya que probablemente las plántulas hayan dejado de crecer debido al marcado déficit hídrico que se presenta en la temporada estival. Al no haber presión de selección para este carácter, este presentaría una amplia variación genética aditiva. La presión de selección operante en el inicio de crecimiento, sería débil para achicar en forma significativa dicha varianza genética aditiva. Dado que los caracteres fueron calculados para la primera temporada de crecimiento, el inicio de crecimiento puede estar influenciado por el tiempo de germinación. Por lo tanto, es posible que estos mismos coeficientes calculados para una segunda estación de crecimiento puedan presentar alguna variación para el inicio de crecimiento, no siendo esperable para la finalización de crecimiento.

Resumiendo, en la comparación de los parámetros genéticos generados para las variables relacionadas a fenología como a arquitectura de plantín, se hallaron mayores coeficientes de diferenciación Q_{ST} para los primeros, que para los segundos que presentaron por lo tanto una diferenciación entre poblaciones menor. Esto puede estar relacionado con la presión de selección para cada uno de estos caracteres, resultando mayor para los caracteres fenológicos. Las bajas y nulas heredabilidades y varianzas aditivas detectadas en casi todas las poblaciones, están relacionados con una alta varianza ambiental, y una alta presión de selección para dichos caracteres en estas poblaciones, excepto, como se explicó previamente, en la población San Martín. Los caracteres arquitecturales en cambio, presentaron una menor diferenciación y unos mayores valores de heredabilidad. Tomando en cuenta la definición a priori de caracteres fenológicos como caracteres adaptativos, con menores heredabilidades y mayores Q_{ST} (Mëřila y Sheldon 1999) y los ligados a arquitectura de plantín como no adaptativos, parece estar en cierto grado confirmado con los resultados obtenidos en las poblaciones comparadas. Al respecto Mëřila y Sheldon, explican que los caracteres adaptativos tienen mayor nivel de varianza genética aditiva que los caracteres no adaptativos. Sin embargo, en algunos casos se han reportado mayores heredabilidades en caracteres no adaptativos que en caracteres adaptativos, lo que se debería a mayores varianzas residuales en los primeros (Mëřila y Sheldon, 1999).

Si bien la discusión debe centrarse en las poblaciones ensayadas, los resultados alimentan la hipótesis de adaptación local.

7 CAPITULO VI: DISCUSIÓN GENERAL

7.1 CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Dos particularidades de las semillas de lenga resultaron determinantes en el desarrollo de esta tesis, dificultando en gran medida los planes iniciales. En primer lugar la producción incierta de semillas en cada bosque y en cada año. La intención fue en un solo año de cosecha lograr todo el material necesario para todos los ensayos. De ese modo las mismas poblaciones y las mismas familias de polinización abierta serían sometidas a los distintos ensayos. Esto habría facilitado enormemente todas las actividades, concentrando los esfuerzos de cosecha en una única oportunidad, así como también los de producción de plantas, y poner a prueba correlaciones entre distintos caracteres evaluados en distintos ensayos. Sin embargo rápidamente comprendimos que no todas las poblaciones producen semillas cada año, sino que cada población tiene una variabilidad interanual enorme en la productividad, con años en los que no es posible cosechar ni una sola semilla y años en los que todos los árboles producen en cantidad. Pero además, también hay una variabilidad muy grande entre poblaciones en un mismo año. Esto nos forzó a cosechar semillas en tres años consecutivos (2003 a 2005). Cosechamos en 25 poblaciones, aunque el número de bosques visitados fue mucho mayor, y más de una vez cada uno de ellos.

La segunda particularidad de las semillas de lenga que no nos facilitó el trabajo fue su recalcitrancia. Si bien es posible que las semillas germinen de un año al siguiente, el poder germinativo cae drásticamente. Esto impidió que hiciéramos un stock de semillas con la cosecha de varios años antes de largar los ensayos. Por el contrario, las semillas de cada año debieron ser viverizadas en el mismo año. Así, los ensayos debieron llevarse a cabo con la semilla disponible de cada año. Esto imposibilitó la representación de algunas poblaciones que eran de interés, y también implicó importantes desbalances en los diseños experimentales. Sin dudas estos aspectos, además de haber afectado claramente al desarrollo de la presente tesis, también tendrán un fuerte impacto en la intención de domesticar la especie para su cultivo comercial.

Otro aspecto metodológico a destacar es que al inicio del trabajo de tesis no se contaba con experiencia ni información suficiente para el cultivo de la especie. La experiencia ganada se refleja en los distintos capítulos, en los que se percibe un cambio en la forma de viverización de las plantas. Se comenzó con un sistema de producción plug+1 (1 año en invernáculo y 1 en almacigo), sin fertirrigación, hasta un sistema de producción en contenedores fertirrigados en una sola temporada de crecimiento (Tejera y col. 2008). En forma similar, la experiencia surgida de la evaluación de ensayos de campo, indicó la conveniencia del uso de nodrizas para mejorar la sobrevivencia de las plantas (Mondino y col. 2010).

7.2 VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN LENGA

Esta tesis hace foco en el estudio de los patrones ambientales más importantes referidos a la variación geográfica, esto es variación en los gradientes de precipitación, latitudinal y altitudinal. Específicamente en la timberline altitudinal, en donde coexisten tres variantes morfológicas, se plantea si dicha expresión de variación fenotípica obedece a variación genética o plasticidad fenotípica. En esta sección las poblaciones fueron representadas por un mix de semillas de polinización abierta de entre 15 y 20 individuos en cantidades homogéneas para cada uno de los morfotipos.

Una primera alternativa puesta a prueba se refirió a que si los patrones de variación estuviesen conducidos principalmente por las fuerzas de selección y el flujo

génico por sobre la deriva génica, el patrón general de variación sería clinal (White y col. 2007), caso contrario, de comprobarse diferenciación esta sería ecotípica. Esta última suele tener origen en factores históricos de las poblaciones, como han sido las glaciaciones, que implicaron un aislamiento reproductivo de las poblaciones y divergencia de linajes, causada posiblemente por efectos de cuello de botella y fundador (deriva génica) y también presumiblemente por adaptación a condiciones ecológicas pasadas (Thorpe, 1987).

7.2.1 Ensayos de variación natural

La variación en el gradiente de las precipitaciones mostró diferencias en cuanto al tipo de variables y ensayos analizados. En los ensayos sobre caracteres seminales se halló variación entre sitios, pero con distinta variación en función de la transecta en la cual se analizó. En la transecta centro y sur, la variación en peso de semilla siguió un patrón esperado según la hipótesis de variación adaptativa divergente, esto es un aumento del peso de la semilla con la disminución de las precipitaciones. La transecta norte, en cambio, presentó una variación en sentido inverso. Esto coincidiría con el comportamiento para otras especies del género en Sudamérica. En *Nothofagus obliqua* (Donoso 1979) y *Nothofagus dombeyi* (Ordoñez 1986 (en Donoso 1987) Chultz Oyarzun 2003) y en *Nothofagus antarctica* (Premoli 1991). En ambas especies se halló una disminución del peso de la semilla de norte a sur, y en el caso de *Nothofagus obliqua* también una disminución del peso con el aumento de la altitud. Los autores citados interpretan este efecto como un proceso adaptativo en el que a medida que aumenta la sequedad del ambiente, aumenta el peso de la semilla, lo que otorgaría una ventaja por tener mayor tejido embrionario para el desarrollo inicial de la plántula (Chultz Oyarzun, 2003). Si bien en el presente estudio, la lenga presentó un disminución latitudinal en el peso de la semilla, también se presentaron fuertes interacciones en el gradiente latitudinal y longitudinal, que imposibilitan confirmar la variación en uno de los dos gradientes por separado. La corroboración de esta interacción parece animar una hipótesis de variación discontinua, aunque teniendo en cuenta el rasgo analizado, y la influencia que ejerce sobre el peso de semilla el efecto materno, dicha hipótesis puede ser puesta en duda. Al respecto Silvertown (1989) no coincide con el enfoque de que el peso de semillas esté bajo una selección estabilizadora, sino que en poblaciones silvestres este carácter posee una marcada plasticidad fenotípica y baja heredabilidad, por lo que no estaría sujeta a dicha presión estabilizadora. Un aspecto relevante es la alta variabilidad aportada por las poblaciones en la característica peso de 100 semillas. En el modelo experimental en el que no se consideró variación intra-poblacional (o sea sin representación de familias), más del 80% de la variación hallada quedó explicada por el factor población, que incluía la variación entre y dentro de las poblaciones. A su vez, al considerar un modelo con representación de familias, comprobamos que más del 93% de la varianza fue a este nivel. Esto coincide con lo reportado para *Austrocedrus chilensis* (Pastorino y Gallo 2000), es decir la mayor variación se produce dentro de poblaciones entre familias. También Michaels y colaboradores (1988) reportaron que la variación entre individuos puede alcanzar niveles del 90%.

En el tamaño de cotiledones pudo comprobarse una variación clinal en el sentido Norte-Sur. Por lo tanto, se puede hipotetizar que dicho rasgo se halla bajo selección direccional. De este carácter, al igual que del peso de semillas, se ha llevado a cabo un estudio de variación natural, es decir que hemos analizado cómo varían estos caracteres in situ, en las poblaciones silvestres en las que se han producido las semillas (no se trata

de estudios de variación en ambiente común). Ambos caracteres, están relacionados con la capacidad de sobrevivencia de las plántulas. Hay dos características de las semillas que intervienen en dos procesos cruciales de su historia de vida: su forma en la dispersión, y su contenido nutricional (sus reservas) en el establecimiento de la nueva planta. Los cotiledones, una vez germinada la semilla, aportan reservas a las plántulas y dotan de órganos fotosintetizadores hasta que sean funcionales las hojas verdaderas. La semilla tiene una gran componente de efecto materno, tanto genético como ambiental. El cotiledón en menor medida, pero también tiene un efecto materno muy importante. Las diferencias en los patrones de variación, ecotípica y clinal, estarían relacionadas con la presión de selección diferencial para cada carácter: estabilizadora para cada ambiente en caracteres seminales y direccional para tamaño de cotiledones. Sin embargo, se hace especial énfasis, como ya se explicó en el Capítulo 3, que el carácter peso de semilla está particionado en diferentes componentes: el tamaño del fruto, la presencia o ausencia de endosperma y de embrión (esto en relación a la factibilidad de formación de frutos partenocárpico y el daño por herbivoría de insectos). Cada uno de estos componentes puede considerarse para un análisis como caracteres independientes.

7.2.2 Variación en ensayos de ambiente común

En los ensayos de vivero y de campo pudo evidenciarse una variación ecotípica en el gradiente latitudinal. En los primeros se diferenció la transecta norte del resto, mientras que en los ensayos de campo se diferenció la transecta norte de la central en sobrevivencia. En el gradiente de precipitaciones, sólo se pudo constatar la diferencia significativa entre regímenes de precipitación en ápices secos. La variación ecotípica en el gradiente latitudinal puede estar asociada en mayor medida a factores históricos, sumados a la presión de selección climática divergente que produce procesos de adaptación local (patrones similares se han en otras especies como *Pinus monticola*; Richardson y col. 2009). En el Capítulo 3 se constató la existencia de un patrón ecotípico latitudinal en variables relacionadas al crecimiento, que sería explicado por factores históricos como las glaciaciones (Thorpe, 1987). La confirmación de evidencias de interacción entre los dos factores involucrados, gradiente latitudinal y de precipitaciones, por lo tanto podría indicar la existencia de dos fuentes de variación, una debido a un factor histórico y otra a un factor de procesos de selección divergente. Una posible explicación para estas interacciones estaría referida a patrones de distribución geográfica de las poblaciones. Mientras las poblaciones occidentales se encuentran en una superficie que hasta hace 18.000 AP estaba cubierta por una capa de hielo de cientos de metros de espesor (Glasser y col. 2008), y presentan continuidad a lo largo del cordón montañoso en el que se hallan, las poblaciones xéricas, que mayormente se hallan en sitios libres de la última glaciación (excepto la población Nahuel Pan, la cual estuvo bajo un gran lóbulo glaciar, **Error! Reference source not found.**, Capítulo 4), se distribuyen a manera de parches. Por lo tanto se conjugarían dos factores: por un lado el factor glaciación, que conferiría la posibilidad de distintos orígenes para la recolonización de la especie luego de la retirada de los hielos. Así, las poblaciones occidentales habrían sido originadas por refugios glaciarios del Oeste de la Cordillera (Markgraff y col. 1996, Villagrán 1996), y posibles relictos glaciarios en el sector oriental habrían dado origen a las poblaciones orientales (e.g. Marchelli and Gallo 2006; Pastorino and Gallo 2002; Premoli y col. 2000, 2002). Y por otro lado el factor de la ocurrencia de distintas fuerzas evolutivas actuando sobre las poblaciones occidentales y orientales. En las poblaciones occidentales sería más probable hallar una variación clinal para alguno de los caracteres analizados, por efecto de selección y flujo génico,

mientras que en las poblaciones orientales, debido a su aislamiento y menor dimensión, es esperable un efecto importante de procesos de deriva génica. La población Nahuel Pan, posiblemente presente un patrón diferente al de los dos grupos aquí enunciados, ya que podría provenir de linajes de la cordillera de la Costa, pero sometida a procesos de deriva génica, ya que dicha población presenta el patrón típico de aislamiento descrito para las poblaciones orientales. La interacción de procesos de variación geográfica debido a procesos históricos conjuntamente con procesos de diferenciación debido a factores ecológicos actuales se pone de manifiesto en la variabilidad de respuesta en los distintos gradientes analizados. A la escala regional analizada queda claro que los procesos históricos han marcado la impronta en el mapa de variación genética en la especie.

El análisis realizado en el presente trabajo tuvo como eje en el diseño de los ensayos la variación debida a procesos adaptativos. Por ello al analizar variación en los gradientes propuestos, específicamente en los gradientes de precipitación y latitudinal, se han agrupado poblaciones en las distintas transectas, posiblemente provenientes de linajes diferentes, confundiendo por lo tanto los factores a analizar (histórico y adaptativo). Cobra así especial énfasis una posible variación genética asociada a procesos de recolonización postglaciarios a través de corredores de flujo de genes, orientados en el sentido O-E, ligado a estos eventos históricos dirigidos actualmente por fuerzas evolutivas.

La variación en el gradiente altitudinal confirmó procesos de adaptación local. Esto implica que poblaciones locales utilizan nichos ecológicos diferentes, desarrollando mecanismos de aislamiento reproductivo, que en este caso sería dado por el corrimiento fenológico en la floración (Rusch, 1993). Las diferencias más notables se evidenciaron en los parámetros de brotación y crecimiento. La disminución en los tiempos de finalización y duración del crecimiento fueron confirmados en las dos poblaciones ensayadas. Resulta evidente un fuerte efecto de selección estabilizadora en el gradiente altitudinal, sumado al efecto de aislamiento reproductivo por corrimiento fenológico en la floración (Rush, 1993), tal como sugiere Prémoli (2004), en forma similar a lo descrito en numerosas especies del género: *Nothofagus obliqua* (Donoso, 1979), *Nothofagus dombeyi* (Ordoñez, 1986) *Nothofagus menziesii* (Wilcow y Ledgard, 1987), *Nothofagus solandri* var. *solandri* (Wilcow y Ledgard, 1987).

La variación en el crecimiento inicial en el ensayo de trasplantes recíprocos indica la existencia de adaptación local. El ensayo básico de trasplante recíproco responde en su diseño al ideado por Clausen, Keck, y Heisey (Aitken 2004). La forma de respuesta en el patrón de variación analizada, con la detección de interacciones genotipo por ambiente, en donde el ranking de los orígenes varía en cada ensayo, confirma esta hipótesis (Aitken 2004, White y col. 2007). La alta tasa de mortalidad de las plantas por encima del límite de la treeline estaría en línea con la hipótesis de variación ecotípica altitudinal, y la explicación de variación en el límite de temperaturas óptimas para la finalización de crecimiento y por ende la duración del período de crecimiento.

Al observar en el piso altitudinal superior las distintas variantes morfotípicas de la lenga surgen varias aristas interesantes para el análisis. La significativa variación en caracteres seminales entre los tres morfotipos, si bien no puede discriminarse su origen genético o a plasticidad fenotípica, tiene importantes consecuencias desde un punto de vista ecológico para las poblaciones. Una disminución en el tamaño de la semilla trae aparejado variación en la distancia de dispersión. Esta diferenciación tendría

importantes consecuencias ecológicas y microevolutivas debidas a la distancia de dispersión (Linhart y Grant 1996, Galloway y Fenster 2007). A la vez se produciría un proceso de facilitación en el ambiente del morfotipo *krummholtz*, promoviendo el éxito de la instalación de la regeneración bajo la protección (Verdú y García-Fayos 1996, 2003) y la acumulación de materia orgánica que se produce bajo el dosel arbustivo (Callaway y col. 2002, Joy y Young 2002, Verdú y García Fayos 2003). Con respecto al patrón de elongación de brote, no se halló variación en el inicio, finalización ni duración en el período de crecimiento de los tres morfotipos, confirmando lo conservativo de este carácter y su estrecha relación con el régimen de temperaturas en el cual se desarrolla la timberline (Körner y Paulsen 2004). Dado que la selección de morfotipos fue realizada en el mismo piso altitudinal, por ende no varían los parámetros relacionados a brotación. Sin embargo se halló variación genética en la altura final del plantín. Por lo tanto esta variación estaría ligada a un componente de variación genética.

Cabe aclarar que no se reportan datos de ensayo de campo de variación morfotípica, si bien este fue instalado. Esto fue debido a que se produjo una pérdida importante de plántulas en la etapa de vivero que imposibilitó instalar el ensayo con la suficiente cantidad de repeticiones. Sin embargo, las plantas fueron implantadas en terreno, en un ensayo de ambiente común, localizado a 1.100 m snm. En el mismo no se manifestaron variaciones arquitecturales importantes entre las plantas de los distintos morfotipos, y a los 7 años de edad, considerados desde la siembra, no se presentaron tallos decumbentes en el morfotipo *rastrero*. Esto reafirma los resultados del ensayo de vivero, en los que la variación arquitectural observada en los morfotipos en origen estaría relacionada a plasticidad fenotípica.

Un enfoque particularmente útil para discernir acerca de patrones históricos de variación genética lo aportan los análisis a través de caracteres moleculares (Frankham y col. 2002, Eriksson y col. 2006, White et al. 2007). El patrón ecotípico en el gradiente latitudinal podría deberse a la presencia de diferentes orígenes de las poblaciones como resultado del efecto de la última gran glaciación con evidencias de refugios glaciarios en el área norte estudiada. Esto coincidiría con los reportes de variación genética realizados en el área de distribución de la especie en este gradiente latitudinal. Se han reportado estructuras de ADN de cloroplasto latitudinalmente divergentes, las cuales sugieren que en la amplia distribución de la lenga existen diferentes linajes en el norte y sur de su distribución, con profundas y separadas raíces que presentan distintas historias evolutivas. Bajo los escenarios de glaciares de grandes extensiones en el sur de América del Sur, de grandes distancias entre relictos, las poblaciones australes se habrían derivado de zonas más cálidas del norte (Mathiasen y col. 2010). Soliani y colaboradores (2011) han reportado una división en la distribución de haplotipos reflejando la presencia de dos linajes distintos separados geográficamente, al norte y al sur de una fuerte línea divisoria alrededor de los 42°S. Cada grupo habría sobrevivido en diferentes refugios glaciarios, acorde a la evidencia aportada por numerosos trabajos acerca de refugios múltiples durante la última gran glaciación (Premoli y col. 2000, 2002, Pastorino y Gallo 2002, Marchelli y Gallo 2006).

Rasgos paleogeográficos de la Patagonia pueden explicar estos patrones genéticos. Mathiasen y colaboradores (2010) han hipotetizado que la presencia en el Período Neógeno en el oeste de la actual Chubut de una paleo cuenca a los 43° S (Suárez y Márquez 2007) produjo un evento vicariante entre poblaciones de lenga al norte y al sur de dicha barrera. Una amplia concordancia geográfica de disyunción alrededor de los 43° S también se observó mediante polimorfismos de isoenzimas en el extenso antiguo linaje de la conífera *Podocarpus nubigena* (Quiroga y Premoli 2009).

En el presente estudio, la transecta definida como norte estuvo localizada alrededor de la faja de 42° 50'S, hasta los 43° 05'S (el límite coincidiría con el extremo sur del Cordón Situación), que coincidiría con la paleocuenca descrita en el trabajo antes citado. Puntualmente los autores sugieren un patrón de glaciación diferenciado para una zona central comprendida entre los 42° y 46° S, área que tuvo características climáticas diferenciales, a ambos lados de la cordillera (Mardones y col. 2011).

Otros factores que ha marcado una heterogeneidad ambiental en el gradiente latitudinal es la existencia de una asincronía climática y de dinámica de glaciares a escala regional durante el Pleistoceno – Holoceno Temprano, probablemente relacionada con la fuerza y la posición de los vientos del SO (Douglass y col. 2006) y variaciones regionales en la temperatura y precipitación atmosférica (Mardones y col. 2011). El momento de máxima extensión del hielo y el inicio de la deglaciación ocurrió en el Lago Buenos Aires, por citar ejemplos, 4.000 años más tarde que en la parte norte de la Región de los Lagos de Chile (41° S), pero fueron sincrónicos con avances de los glaciares en el Estrecho de Magallanes (52° S) (Glasser y col. 2008). Concordante con estas observaciones, se han determinado durante el Holoceno temprano avances y retrocesos glaciares registrados geomorfológicamente. Este resultado sugiere un patrón de comportamiento de los glaciares de Patagonia Central diferente a aquel observado por otros investigadores en la Región de Los Lagos (41°S) y en la Región de Magallanes (54°S), donde no se registran huellas de reavances glaciares durante el Holoceno Temprano (Mardones y col. 2011).

Otra explicación alternativa a la hipótesis de la paleocuenca son los datos que se tienen sobre los procesos glaciarios más recientes en la región. Observando el mapa elaborado por Glasser y col. 2008 (Figura 1-2) puede observarse en el UGM el ingreso en la dirección O-E de un gran lóbulo glaciario coincidiendo con en el actual valle del Río Grande (Futalefú), valle 16 de Octubre, y llegando hasta el este del cordón Esquel, por el portezuelo localizado al sur de dicho cordón, cercano a los 43° S. Por lo tanto dicha barrera glaciaria, y el desarrollo del ambiente periglacial característico que acompaña estos frentes glaciarios, puede haber constituido un impedimento al flujo génico entre las poblaciones al norte y al sur de esta barrera durante el periodo glaciario. El tiempo de aislamiento implícito en esta segunda hipótesis parece ser suficiente para provocar la diferenciación encontrada, volviéndose entonces la hipótesis más probable.

En Figura 7-1 puede observarse el resultado del agrupamiento obtenido mediante análisis bayesiano implementado en el programa BAPS (Bayesian Analysis of Population Structure). Los “clusters genéticos” se definen en función de las frecuencias alélicas poblacionales, ponderadas por la localización geográfica de los sitios muestreados (es por esta razón un agrupamiento genético-espacial). En este caso el agrupamiento se basa en un conjunto de marcadores nucleares neutros (SSRs) (Soliani 2012). En el mismo se puede observar la ocurrencia de cinco grupos distintos: un grupo correspondiente a poblaciones norte y centro (color marrón, poblaciones Huemules y Lago Guacho), un segundo grupo constituido por las poblaciones orientales del norte y centro de la distribución analizada en este trabajo (color amarillo, poblaciones La Hoya y José de San Martín), un tercer grupo formado por las poblaciones Trevelin – Nahuel Pan que habrían estado cubiertas por un gran lóbulo glaciario durante el UMG (color verde), el cuarto grupo formado por las poblaciones Sur, que se hallaron bajo la capa de la última gran glaciación (color azul, poblaciones Occidentales de Lago La Plata, Río Unión y Lago Fontana Oeste), y el quinto grupo representado por la población del Este del Lago Fontana, que corresponde a un área no cubierta por glaciares de la UGP (Glasser y col. 2008).

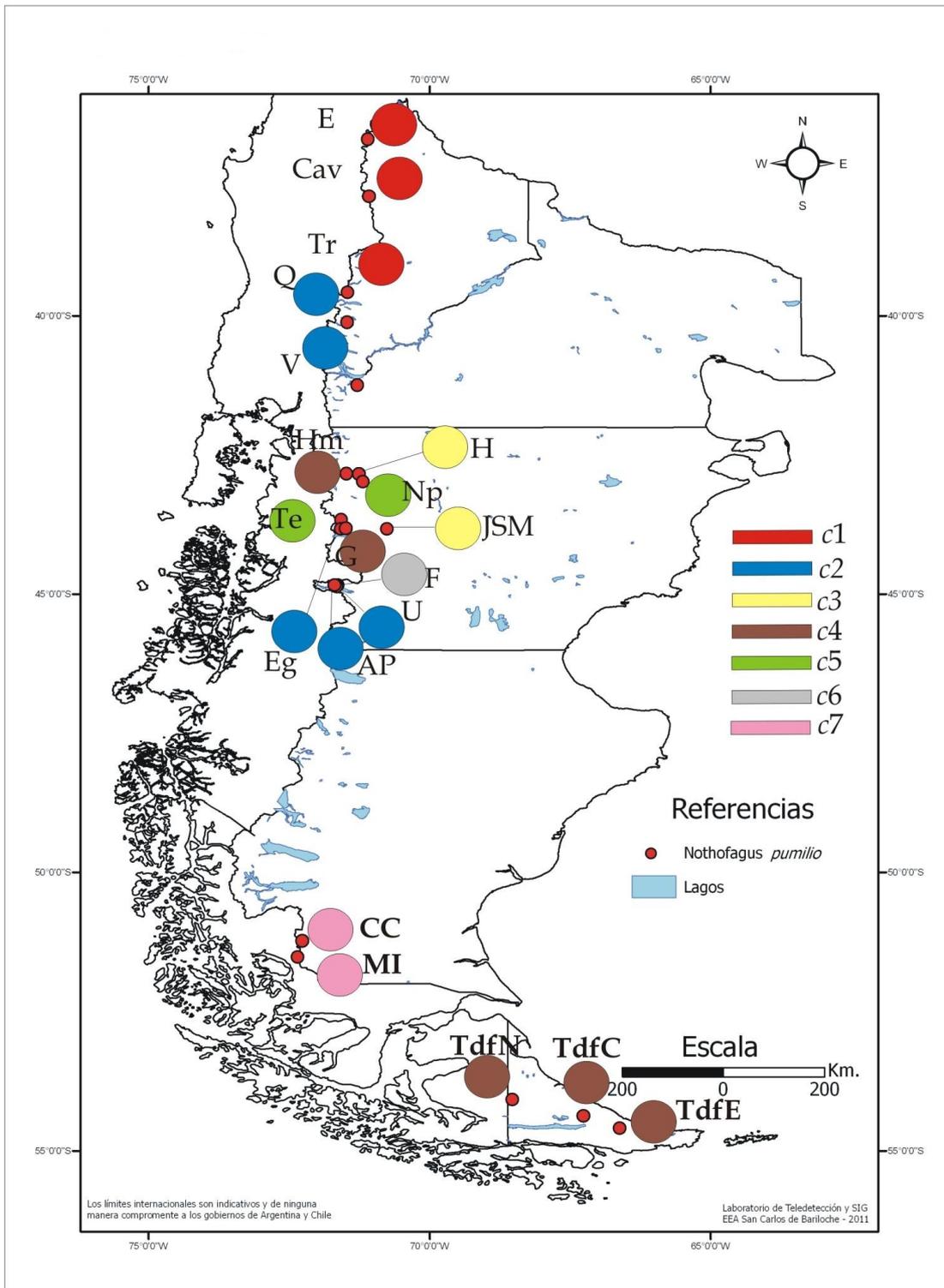


Figura 7-1: Distribución geográfica de los clusters inferidos mediante el análisis bayesiano de la estructura poblacional (BAPS). c1-c7: clusters genéticos. De Soliani (2012). (Los colores indican diferentes clusters). Poblaciones de la provincia de Chubut incluidas en el análisis: La Hoya (H), Huemules (Hm), Trevelin (Te), Nahuel Pan (NP), Lago Guacho (G), Lago del Engaño (Eg), José de San Martín (JSM), Lago Fontana (F), Río Unión (U), Arroyo Perdido (AP).

Por último, comparando el poder de discriminación de las variables de crecimiento versus las variables arquitecturales, para poder discernir patrones de variación genética, resultaron más sensibles las primeras, demostrando que para *Nothofagus pumilio* pueden ser consideradas variables adaptativas, a diferencia de las segundas que podrían ser caracterizadas como variables no adaptativas (Mërila y Sheldon, 1999). Este aspecto será nuevamente abordado con los datos de variación genética intrapoblacional.

7.3 VARIACIÓN GENÉTICA EN LENGA

7.3.1 Diversidad genética intrapoblacional

Al igual que lo descrito para la diferenciación entre poblaciones, la diferenciación intrapoblacional fue muy variable en función de los caracteres analizados.

Con respecto a peso de semilla, si bien no se estimó heredabilidad por no poder discriminar efectos maternos y efectos genéticos aditivos, el efecto familiar superó el 90 % de la varianza total. Sin embargo la relevancia evolutiva de este carácter ha sido cuestionada por algunos autores. En particular, retomando la discusión planteada por Silvertown (1989), este autor no coincide con el enfoque de que el peso de semillas esté bajo una selección estabilizadora, en cambio postula que en poblaciones silvestres este carácter posee una marcada plasticidad fenotípica y baja heredabilidad.

Los rasgos relacionados a fenología de crecimiento presentaron heredabilidades muy bajas, calculables únicamente para una población, y por consiguiente se diferencia del resto de las poblaciones muestreadas. En contraposición los caracteres arquitecturales, presentaron valores de heredabilidades más altos, en general para todas las poblaciones. Esta condición estaría mostrando el potencial adaptativo y evolutivo de los caracteres de historia de vida, respecto de aquellos arquitecturales, que podrían ser considerados como periféricos (Mousseau y Roff 1986, Mërila y Sheldon 1999, Frankham 2002). Una explicación tradicional para la baja heredabilidad de los caracteres adaptativos, es que una fuerte selección direccional tiende a reducir la varianza genética aditiva en un rasgo, debido a que los alelos que confieren alta aptitud serán fijados rápidamente por selección natural (Mërila y Sheldon, 1999). Una explicación alternativa de la baja heredabilidad de los caracteres adaptativos, es la alta varianza residual, factor que incluye también el aporte de la varianza genética no aditiva. Dado que la selección erosiona la varianza genética aditiva en forma relativamente rápida, por lo que mucha de la variación genética remanente en caracteres adaptativos debería ser atribuida a variación genética dominante (Mërila y Sheldon 1999). También es posible suponer por esto, que la contribución de la variación genética dominante debería ser mayor en caracteres adaptativos que en caracteres no adaptativos (Mërila y Sheldon 1999). En línea con esta hipótesis, Crnokrak y Roff (1995) hallaron mayor varianza dominante para caracteres ligados a historia de vida que para caracteres morfológicos. Por lo tanto, la disminución de las heredabilidades en caracteres adaptativos, puede obedecer a disminución de varianza genética aditiva debido a la presión de selección, que trae aparejado un incremento de la varianza residual, la cual incluye la varianza genética dominante.

Otro aspecto que merece destacarse es la diferenciación observada entre heredabilidades calculadas en ensayos de ambiente común, para poblaciones cercanas entre ellas, por lo que podría inferirse que existe flujo génico entre ellas. Particularmente las poblaciones La Hoya bajo y La Hoya alto, fueron contrastantes en muchos aspectos. Las curvas de crecimiento difieren entre sí, en particular en T_{10} , H_f y

Tasa. Estos resultados están en concordancia con lo reportado en el capítulo de variación altitudinal, en donde también se pudo verificar variación en T_{10} , S , T_{50} y Dur entre plantines provenientes de diferentes pisos altitudinales.

En el caso de las curvas de crecimiento, se analizaron plantines durante la segunda temporada de crecimiento en el Capítulo 4, y durante la primera temporada de crecimiento para el Capítulo 6. Esta diferencia podría afectar mayormente al carácter T_{10} , ya que el tiempo “0” en el caso de plantines de la primera temporada corresponde a la fecha de siembra y en el caso de plantines de la segunda temporada, se determinó arbitrariamente. Esta variación sólo puede trasladar la curva sobre el eje X, hacia la izquierda o derecha (antes o después) pero no afectaría la forma de la misma. Sin embargo el T_{10} en el caso de curvas correspondientes a la primera temporada de crecimiento, está ligado al inicio de germinación de cada población, y de cada semilla en particular, no siendo así en el caso de plantines de dos temporadas de crecimiento, donde este carácter está ligado a la brotación. Así es posible afirmar que los plantines de poblaciones de menor altitud brotaron antes, en forma significativa, de ahí su T_{10} inferior. En el caso de plantines de 1 año, como se explicó, hubo variación en el T_{10} , pero a diferencia del análisis de variación altitudinal, las plántulas de las poblaciones altas tuvieron un T_{10} significativamente menor que los plantines del piso altitudinal inferior (La Hoya bajo), es decir, germinaron antes. Este punto no se puede corroborar sin un ensayo de germinación llevado a cabo para tal fin, pero estaría indicando que las semillas del piso altitudinal superior ante los mismos estímulos de tiempo de estratificación en frío, humedad y temperatura durante este período, germinan anticipadamente. Hasta este punto las variaciones halladas entre las poblaciones contrastantes en altitud, serían las esperadas, y corresponden a una variación clinal en el gradiente altitudinal. Con respecto a las características arquitecturales, no adaptativas, se observó un contraste notable entre La Hoya bajo y La Hoya alto, para los caracteres en los que se halló variación familiar y aditiva. Las poblaciones “altas”, presentaron heredabilidades moderadas en caracteres ligados a vigor, como lo son L , D , L/D y longitud de entrenudo, pero nula o baja en caracteres de forma, contrariamente a lo observado en la población de bajas altitudes. Es decir que las poblaciones bajas, al tener bajas o nulas heredabilidades para los caracteres de vigor, indicaría que estos caracteres están bajo mayor presión de selección y el agente de selección sería la competencia, es decir mayor tasa de crecimiento, mayor competencia inter e intra específica.

La población San Martín merece un párrafo adicional. Los relativamente altos valores de heredabilidad calculados para caracteres tanto de crecimiento y forma, hablarían de por lo menos particularidades de su posible estructura genética. Al respecto, uno de los factores que pueden tener mayor influencia es su aislamiento genético, y el escaso aporte polínico de otras poblaciones. Si bien se han reportado distancias de dispersión de polen de cientos de kilómetros en *Nothofagus* (Paez y col. 2001), estos estudios se refieren al vuelo del polen y no a sucesos de polinización, que es lo que da lugar a hablar de flujo génico *efectivo*. A mayores distancias de dispersión, disminuye la frecuencia del evento y se vuelve remota la fusión entre polen y óvulo receptivo, de tal modo que la gran dispersión adquiere poca significancia en la modelación de las frecuencias genéticas de una población, puesto que aún en el caso de flujo efectivo los alelos nuevos serán incorporados a la población en muy bajas frecuencias, y de este modo tenderán a perderse rápidamente debido a la deriva genética. Por este motivo, la distancia geográfica entre las poblaciones es un factor determinante en los procesos de modelación de sus estructuras genéticas. Otra particularidad de esta población es que constituye una de las poblaciones del extremo árido de distribución de la especie. Si

bien no hay registros pluviométricos in situ, por extrapolación del mapa de isohietas (de Barros y col. 1979) y de registros climáticos de la Agencia de Extensión de INTA en Gobernador Costa, estas no superarían los 200 mm. de precipitación anuales. Este hecho permite suponer un efecto de fuerte presión de selección para este carácter, que debería ser constatado llevando a cabo ensayos particulares planificados para tal fin, (por ejemplo *QTL*, estudios ecofisiológicos).

Otro aspecto muy particular de esta población, es su éxito en la persistencia a largo plazo a pesar del tamaño bastante pequeños de las poblaciones, durante los períodos interglaciares, indica que la extinción debido a la estocasticidad demográfica ha jugado un papel relativamente menor (contradiendo el modelo centro-periferia). Sin embargo, su pequeño tamaño y el aislamiento prolongado se pueden haber traducido en reducción de la diversidad genética dentro de la población. Además, se esperarían niveles altos de diferenciación genética entre estas poblaciones, dando lugar a niveles excepcionalmente altos de diversidad genética regional. Esto último no ha podido ser verificado en estudios de variación genética utilizando marcadores moleculares (cpADN) en el que incluye esta población (Soliani 2012), apropiado para estudios filogenéticos. A la vez, observando la Figura 7-1 de distribución de clusters genéticos, se lo ve constituyendo un grupo genético exclusivo en la provincia, pero con la población “Huemules”, una población clasificada por nosotros como méscica, y que según los mapas de Glaser y colaboradores (2008) estuvo bajo una gruesa capa de hielo en la UGP, a diferencia de la población “San Martín” la cual se hallaba lejos de dicho límite.

7.3.2 Diferenciación entre poblaciones

La diversidad genética en marcadores selectivamente neutros de poblaciones forestales de climas templados ha demostrado estar afectada principalmente por la historia de la población y el patrón de migración postglacial (Petit y col. 2005). Esto se debe a que en ella intervienen procesos evolutivos ligados a la deriva genética durante el aislamiento reproductivo impuesto por la glaciación. La diferenciación así originada puede ser reforzada por efectos de la selección natural sobre rasgos adaptativos, si es que hubieran existido diferencias ecológicas importantes entre las áreas de refugio (Kremer y col. 2002). Durante la recolonización postglacial el flujo génico puede disminuir la diversidad genética neutra, mientras que la variación genética adaptativa entre poblaciones es más bien impulsada por la selección y la adaptación local (Savolainen y col. 2007). Poblaciones relictas y/o refugios que han determinado el mantenimiento de la biodiversidad durante el Cuaternario, probablemente contribuyen significativamente a las respuestas adaptativas de largo plazo (Hampe y Petit 2005). En Sudamérica, varios estudios paleo-ecológicos y filo-geográficos de árboles del bosque subantártico coinciden en la localización de múltiples refugios glaciales a ambos lados de los Andes, bordeando aproximadamente la línea de la capa de hielo del último máximo glacial (p. ej. Villagrán y col. 1996, Marchelli y col. 1998, Premoliy col. 2000, Pastorino y Gallo 2002). En el lado oriental de la Cordillera, algunos de esos refugios han dado origen a poblaciones que actualmente constituyen los límites xéricos de sus especies. Esos refugios habrían permanecido más o menos estables, en sitios ambientalmente apropiados para su persistencia durante ciclos fríos y secos del Cuaternario, y algunos habrían contribuido a la recolonización de zonas ecológicamente aptas durante los ciclos cálidos y húmedos. En el caso de lenga, no se ha podido comprobar la existencia de tales refugios.

Los primeros análisis de variación genética en especies del género *Nothofagus* han sido abordados a partir de la década del 90' a través del uso de isoenzimas, utilizándose para la clasificación taxonómica y para estudios filogenéticos (Haase 1992, Haase 1993) y posteriormente para estudios de diferenciación y diversidad genética (Prémoli 1996, 1997, 1998, 2003, Gallo y col. 1997, Marchelli y Gallo 2000 ab, 2001 a, 2004 ab, Azpilicueta y Gallo 2009, Torres y col. 2007, Steinke y col. 2008) y del impacto del uso silvícola (Godoy y Gallo 1998). Posteriormente se utilizaron diferentes marcadores moleculares (PCR-RFLP cpADN, ISSR, RAPDS, SSR (Azpilicueta y col. 2004, 2009, Gallo y col. 2006, Marchelli y Gallo 2006, Pastorino y col. 2009, Mathiasen y Premoli 2010, Soliani y col. 2011) tanto para estudios de diversidad y diferenciación genética como de procesos genéticos, i.e. hibridación interespecífica, migración postglacial, flujo polínico, impacto del uso silvícola, conservación.

La diferenciación entre poblaciones en caracteres cuantitativos fue moderada a moderadamente alta, comparado con los Q_{ST} calculados e informados para otras especies forestales (McKay y Latta 2002, Izquierdo 2009), dependiendo del tipo de caracteres analizados. Los caracteres relacionados a crecimiento presentaron comparativamente Q_{ST} más elevados, variando entre 0,32 y 0,12, mientras que los caracteres arquitecturales presentaron Q_{ST} más bajos (entre 0,19 y 0,12). Es decir, la presión de selección divergente es específica para cada rasgo analizado. Por lo tanto, las poblaciones analizadas y los rasgos estudiados, los caracteres ligados a la fenología durante el primer crecimiento vegetativo, estuvieron bajo mayor presión de selección que aquellos caracteres relacionados a arquitectura de planta. Por un lado, estos resultados fueron expuestos en la hipótesis propuesta, confirmando lo acontecido en otras especies (Merilä y Sheldon 1999). Sin embargo, algunos de los caracteres arquitecturales analizados, presentaron también coeficientes de diferenciación moderados, específicamente en los caracteres arquitecturales ligados al crecimiento (altura y longitud de entrenudo) y la forma de asignación de recursos (relación altura sobre diámetro), es decir que estos caracteres se hallan bajo una moderada presión de selección divergente, y que se están produciendo procesos de adaptación local.

7.3.2.1 Comparación entre Q_{ST} y F_{ST}

Existen numerosos trabajos en los que se concluye que en general los Q_{ST} obtenidos a partir de caracteres cuantitativos son mayores que los F_{ST} obtenidos a partir de marcadores adaptativamente neutros (White y col. 2007, McKay y Latta 2002, Latta 2003, Eriksson y col. 2006, Frankham y col. 2002). Latta (2002) en una revisión a través de 29 especies, concluye que los Q_{ST} obtenidos a partir de variables cuantitativas son normalmente más grande y están poco correlacionados con los F_{ST} . Dentro de las especies los Q_{ST} varían ampliamente entre los rasgos. Por lo tanto los Q_{ST} son de especial importancia para los esfuerzos de conservación y la preservación de la adaptación a los entornos locales existentes (Latta 2002).

La comparación de los coeficientes de diferenciación genética cuantitativa y neutral, Q_{ST} vs F_{ST} , permite inferir la importancia relativa de los procesos de deriva genética y selección natural.

Los antecedentes de reportes de F_{ST} para la especie abarcan estudios con isoenzimas (Prémoli 2003) para variación altitudinal e indicios de variación genética en el gradiente latitudinal (Mathiasen y Premoli 2010). En el primer trabajo la autora calcula la divergencia genética entre poblaciones (3 cadenas montañosas: Otto, Cerro López y Challhuaco) y entre pisos altitudinales en cada ladera, reportando una reducida

divergencia genética entre poblaciones, con valores de 2,8 % a 13,1 % para diferentes cadenas montañosas, y de sólo 1,9 % entre las cadenas montañosas. Estos resultados sugieren una divergencia relativamente más baja (y por lo tanto mayores tasas de flujo de genes) entre las cadenas montañosas en comparación con la divergencia entre las poblaciones altitudinales a lo largo de una ladera de cualquier montaña. El número de poblaciones utilizadas en el cálculo ha sido similar (3 en dicho trabajo y 4 en el presente). Mathiasen y Prémoli calcularon F_{ST} a través de isoenzimas, en dos áreas de distribución para la especie: Norte (46° S) y Sur. Se incluyeron 34 y 51 poblaciones en cada área respectivamente. Se hallaron valores promedios de 0,217 para la zona Sur y 0,059 para la Norte. Esta diferencia entre regiones fue vinculada a procesos históricos, y particularmente fuerzas de deriva genética predominantes entre poblaciones dispersas al sur de la distribución. Los significativos bajos valores de F_{ST} en la zona norte pueden reflejar relativamente el mayor flujo génico entre numerosas poblaciones que sobrevivieron en refugios en la última gran glaciación (20.000 AP). En la zona sur, por el contrario, dominarían la deriva genética por sobre el flujo génico, produciendo una mayor diferenciación entre poblaciones.

Comparando los valores de F_{ST} de los dos estudios con isoenzimas (0,019, 0,059 y 0,217) contra los valores de diferenciación estimados en el presente estudio, vemos que en muchos de los caracteres cuantitativos los valores de Q_{ST} son menores o del mismo orden de magnitud, mientras que en otros son claramente mayores. En estos casos, la comparación evidenciaría la predominancia de la selección por sobre la deriva genética dentro de los procesos que conducen la diferenciación genética entre poblaciones.

Un particular problema citado para estudios con Q_{ST} , es que el número de poblaciones estudiadas típicamente es bajo, produciendo estimaciones de Q_{ST} de baja precisión (O'Hara y Mèrilla, 2005). Sería menester ampliar el número de poblaciones muestreadas a fin de poder inferir con mayor precisión las diferentes fuerzas actuantes en los procesos que conducen la variación genética tanto dentro como entre poblaciones.

En forma más amplia, el balance entre selección y deriva genética es específico para cada rasgo analizado (McKay y Latta 2002). Comparando los Q_{ST} calculados en el presente trabajo, y los reportados por Soliani (2012), realizados en un muestreo perpetrado en forma paralela (mismo año de colecta de semillas y de yemas), se pudo verificar que los Q_{ST} fueron mayores a los F_{ST} , aunque la magnitud de la diferencia varía en función del tipo de carácter comparado. Así los Q_{ST} obtenidos en caracteres de los cuales tenemos indicios que se tratan de caracteres adaptativos "fitness traits" aquellos ligados a la fenología y al crecimiento, duplican a los calculados con marcadores neutros. Al respecto, McKay y Latta (2002), luego de revisar 29 trabajos en especies forestales en los que se compara Q_{ST} y F_{ST} , concluye que para caracteres bajo selección divergente, Q_{ST} se espera sea mayor que F_{ST} de loci marcadores, y que para rasgos aditivos neutros F_{ST} y Q_{ST} deberían ser iguales. En 24 de 29 especies analizadas, los Q_{ST} son mayores que los F_{ST} , y que los estudios empíricos revelan pocas evidencias que la diferenciación de marcadores moleculares neutros sean buenos predictores de diferenciación en caracteres adaptativos, coincidente con lo hallado por nosotros en lenga.

Resumiendo, se halló que los $Q_{ST} > F_{ST}$, es decir, que la mayor variación en caracteres adaptativos indicaría que las fuerzas de selección serían mayores a aquellas de deriva genética. Se halló que las heredabilidades en caracteres no adaptativos (i.e arquitectura de plantín) son mayores que aquellos ligados a caracteres adaptativos (i.e

ritmo de crecimiento), es decir que estos últimos estarían sometidos a mayor presión de selección, corroborado a su vez por mayores valores de *Qst* para estos últimos.

7.4 IMPLICANCIA PARA EL MANEJO Y LA CONSERVACIÓN.

Comparando las principales conclusiones enunciadas para la variación geográfica en lenga y los patrones de variación genética, por un lado se halló un patrón complejo de variación geográfica, no coincidente con un único patrón de variación ambiental, excepto para la variación altitudinal que presentó una fuerte variación clinal y por otro lado procesos moderados de adaptación local, evidenciados por los *Qst* calculados para las poblaciones y caracteres analizados. Es posible afirmar, que la variación geográfica actual operando en un gradiente ambiental muy heterogéneo está siendo conducida por un proceso de adaptación local, que se manifiesta en los patrones de variación tanto geográficos como genéticos analizados.

Los caracteres adaptativos de fenología de crecimiento, constituyeron una herramienta útil para el estudio de los patrones de variación estudiados, los cuales habría que complementarlos con estudios de variación en caracteres adaptativamente neutros, a fin de poder caracterizar tanto los procesos de selección, deriva genética y flujo génico actualmente operando.

La complementación de estudios que incluyan tanto caracteres cuantitativos adaptativos, marcadores adaptativamente neutros y estudios a campo a largo plazo, constituyen las herramientas esenciales para el correcto uso y manejo de recursos genéticos forestales. La heterogeneidad del área de estudio tanto ambiental como en factores históricos demográficos (por ej. Glaciaciones) resultó adecuada para poner a prueba hipótesis acerca de la variación geográfica y genética adaptativa. La ampliación de la red de ensayos a campo, permitirá mejorar la estimación de la interacción genotipo - ambiente. Para mejorar la precisión de los coeficientes de diferenciación inter e intra poblacional, sería necesario poder incluir más poblaciones y más familias dentro de poblaciones (Frankham 2002). La comparación de los patrones de diferenciación geográfica a partir de marcadores moleculares y marcadores adaptativos, ayudarán a generar áreas de transferencia segura de semillas para trabajos de restauración en la especie. Un aspecto relevante indicaría la existencia de dos áreas diferenciadas una al norte de los 43° S, aproximadamente y una al sur de ésta. Un aspecto relevante a tener en cuenta, puede ser el factor de marginalidad de las poblaciones que se presentan en disposición en parche en la vertiente oriental de distribución, particularmente casos como el citado de la población José de San Martín, y otras no relevadas en el presente estudio.

El otro gradiente de importancia adaptativa relevado es el altitudinal. Particularmente los orígenes de pisos altitudinales inferiores no deberían ser llevados al límite altitudinal superior, por problemas posibles de maladaptación, y viceversa, orígenes de altas elevaciones llevadas a menores altitudes, debido a que crecerían menos que el potencial para el sitio, siendo por lo tanto menos competitivos que los individuos provenientes de pisos altitudinales inferiores. Como consecuencia de los cálculos e hipótesis elaborados en párrafos anteriores se tiene que: en función de las variaciones en la heredabilidad a escala menor, por ejemplo pisos altitudinales, y el contraste entre heredabilidades de poblaciones bajas y altas, en pisos altitudinales bajos sería más eficiente la selección por forma (mayores heredabilidades), y en los pisos altitudinales superiores por crecimiento, siempre dentro de un rango altitudinal prefijado.

La comparación de los F_{ST} y Q_{ST} para poblaciones muestreadas en forma paralela permite más precisiones acerca del balance entre las fuerzas evolutivas de selección, deriva y flujo génico que actualmente están operando. Como ya se ha indicado, los Q_{ST} han sido moderados, aunque mayores que los F_{ST} reportados para la especie, en las variables cuantitativas evaluadas, particularmente más aún en aquellos caracteres ligados al de crecimiento. Estos rasgos claramente están determinados por características ambientales propias de cada población, tanto presentes como pasadas. Poder comprender qué fuerzas ambientales son las que están dirigiendo los procesos más importantes de selección actualmente operando, ayudará a crear un marco de referencia adecuado para poder ir modelando el impacto del cambio climático en las actuales poblaciones. Esto es de fundamental importancia en las plantas, y en ambientes con notables cambios climáticos a nivel micro en escala espacial, como a escala temporal, ya que la especie y el complejo genético *Nothofagus* ha sobrevivido números periodos de glaciación e interglaciares.

7.5 Conclusiones

Se puede afirmar que los distintos ensayos han contribuido a presentar patrones de variación geográfica desde diferentes perspectivas. Hubo una notable diferencia en la variación interpoblacional hallada en los ensayos de variación natural comparados con aquellos de ambiente común.

Los ensayos de variación natural reflejaron una muy alta variación interpoblacional, principalmente en el peso de semilla cuyo aporte a la variación total fue superior al 80%. La variación natural, en rasgos seminales, muy sensibles a características ligadas a la sobrevivencia en el medio en el que se desempeña, muestra la gran variabilidad ambiental a la que se halla sujeta la especie en el rango de estudio. Los otros caracteres seminales, también presentaron variación significativa entre poblaciones. Un gran efecto materno ha sido reportado en el tamaño de las semillas para numerosas especies (Roach y Wulff, 1987), los cuales pueden ser debidos tanto a efectos genéticos como ambientales (Antonovics y Schmitt, 1986; Roach y Wulff, 1987; Mazer, 1986; Silvertown y Lovett-Doust, 1993). En poblaciones naturales la variación del tamaño de la semilla depende de las condiciones ambientales bajo las cuales se ha desarrollado la progenie (como el ambiente competitivo o estrés hídrico) (Castro-Diez, 2003, Luzuriaga y col. 2006). Entre los efectos ambientales más importantes que afectan el tamaño de la semilla pueden citarse la disponibilidad del agua (Roach y Wulff, 1987; Luzuriaga y col., 2006), la temperatura y la disponibilidad de nutrientes (Roach y Wulff, 1987; Luzuriaga y col., 2006), entre otros. En los ensayos de variación natural, la variación poblacional fue la de mayor relevancia, por lo que el ambiente y el efecto materno, parecen ser los mayores modeladores de la variación hallada.

Los patrones de variación geográfica ensayados mostraron divergencias en función del gradiente analizado. En el gradiente de precipitaciones, se halló una variación ecotípica en caracteres seminales, pero no fue confirmada en los ensayos de ambiente común. En el gradiente latitudinal tanto los ensayos sobre caracteres seminales como los ensayos de ambiente común mostraron un patrón de variación ecotípica que sería explicado por factores históricos. El gradiente altitudinal mostró una variación ecotípica. Las semillas y plántulas del piso altitudinal superior difirieron de las correspondientes a los pisos altitudinales inferiores.

Los caracteres evaluados a través de ensayos de ambiente común, presentaron menor o nula variación entre poblaciones. A su vez, los rasgos relacionados con historia de vida (fenología y curvas de crecimiento) presentaron mayor variación entre poblaciones que los rasgos arquitecturales. Las formas de vida y sistema de cría tienen una muy significativa influencia en la diversidad genética y su distribución. Independientemente de otras características, las especies de polinización cruzada tienden a ser genéticamente más diversas y a tener menos diferenciación entre sus poblaciones. Similarmente, las plantas leñosas tienden a tener menor diferenciación entre poblaciones y mayor diversidad genética que especies no leñosas en similares rasgos de historia de vida (Hamrick y Godt, 1996). Además la diversidad genética es afectada por el tamaño de las poblaciones, la mutación, la endogamia y la distribución espacial de los individuos (Amos y Hardwood, 1998). Por lo tanto, los resultados hallados a través de marcadores cuantitativos coinciden con otros estudios, fundamentalmente llevados a cabo a través de marcadores selectivamente neutros, en donde se halló una gran variación genética intrapoblacional y una escasa variación genética interpoblacional.

8 BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Ackerly D, Dudley S, Sultan S, Schmitt J, Coleman J, Linder C R, Sandquist D, Geber M, Evans A, Dawson T y Lechowicz M, 2000. The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bio Science*, 50: 979-995.
- Aitken S N, 2004. *Genecology and Adaptation of Forest Trees*. Genetics and genetic resources. Elseviere. 197-204.
- Aitken S., Adams T., Schermann N., Fuchigami L.H, 1996. Family variation for fall cold hardiness of Coastal Douglas-Fire (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco). *Forest Ecology and management* 80: 187-195.
- Aitken S, Adams T, 1997. Spring cold hardiness under strong genetic control in Oregon populations of *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*. *Can. J. For. Res.* 27: 1773-1780.
- Alberdi M, Romero M, Ríos D y Wenzel H, 1985. Altitudinal gradients of seasonal frost resistance in *Nothofagus* communities of southern Chile. *Acta Oecol. Oecol. Plant.* 6:21-30.
- Alberdi M, 1987. Ecofisiología de especies chilenas del género *Nothofagus*. *Bosque* 8 (2): 77-84.
- Alberdi M, 1997. Ecofisiología de especies leñosas de los bosques hidrófilos templados de Chile: resistencia a la sequía y bajas temperaturas. *Monografías Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria. Segunda Edición: 279-300.
- Alía R, Moro-Serrano J, y Notivol E, 2001. Genetic Variability of Scots Pine (*Pinus sylvestris*) Provenances in Spain: Growth Traits and Survival. *Silva Fennica* 35(1): 27-38.
- Amos W y Hardwood J, 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*, 353, 177- 186.
- Ampofo S, Moore K, Lovell P, 1976. The role of the cotyledon in four *Acer* species and in *Fagus Sylvatica* during early seedling development. *New Phytol.* 76: 31-39.
- Antonovics J y Schmitt A, 1986. Paternal and maternal effects on propagule size in *Anthoxanthum odoratum*. *Oecología* 69: 277-282.
- Aparicio A.G., Pastorino M.J., Gallo L.A., 2010. Genetic variation of early height growth traits at the xeric limits of *Austrocedrus chilensis* (Cupressaceae). *Austral Ecol* 35, 825-836.
- Aparicio A, Zuki S, Pastorino M J, Martinez-Meier A, Gallo L A, 2012. Heritable variation in the survival of seedlings from Patagonian cypress marginal xeric populations coping with drought and extreme cold. *Tree Genetics & Genomes.* 8: 801-810.
- Arbetman M P, Garibaldi L, Premoli A C, 2008. Condiciones contrastantes de precipitaciones afectan diferencialmente la fenología foliar de *Nothofagus pumilio*. *Econothofagus*. Segunda Reunión sobre *Nothofagus* en Patagonia. P. 90. Esquel, Chubut, Argentina 2008.

- Arnau J, Balluerka N, 2004. Análisis de datos longitudinales y de curvas de crecimiento. Enfoque clásico y propuestas actuales. *Psicothema* 16 (1): 156-162.
- Ashworth A C, Hoganson J W, 1993 .The magnitude and rapidity of the climate change marking the end of the pleistocene in the midlatitudes of south-america. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, Vol. 101: 263-270.
- Azpilicueta M M, Caron H, Bodénes H, 2004. SSR Markers for Analysing South American *Nothofagus* Species. *Silvae Genetica* 53, 5–6.
- Azpilicueta M M, Marchelli P, Gallo L, 2009. The effects of Quaternary glaciations in Patagonia as evidenced by chloroplast DNA phylogeography of Southern beech *Nothofagus obliqua*. *Tree Genetics & Genomes* (2009) 5:561–571.
- Baayen R H, Davidson D J, Bates D.M, 2008. Mixed-effects modeling with crossed random effects for subjects and items. *Journal of Memory and Language* 59. 390–412.
- Baayen R H, 2012. Package ‘languageR’. Data sets and functions with “Analyzing Linguistic Data: A practical introduction to statistics”. En <http://cran.r-project.org/web/packages/languageR/languageR.pdf>.
- Barrera MD, Frangi JL, Richter LL, 2000. Structural and functional changes in *Nothofagus pumilio* forests along an altitudinal gradient in Tierra del Fuego, Argentina. *Journal of Vegetation Science* 11: 179-188.
- Barros V R, Scian B V y Matio H F, 1979. Campos de precipitación de la provincia de Chubut (período 1931-1960). *Geoacta* 10:175-192.
- Barthélémy D, Caraglio I, 2007. Plant Architecture: A Dynamic, Multilevel and Comprehensive Approach to Plant Form, Structure and Ontogeny. *Annals of Botany* 1–33.
- Basil G, 2007. Diversidad genética en poblaciones de *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae) en Costa Rica y Bolivia. Tesis para optar al grado de *Magister Scientiae* en Manejo y Conservación de Bosques Tropicales y Biodiversidad. Costa Rica.
- Bates D, 2007. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4 classes. R package version 0.99875–7.
- Bates ,2010. lme4: Mixed-effects modeling with R. Página disponible en R.
- Bates, 2011. Linear mixed model implementation in lme4. Página disponible en R. <http://mirrors.psu.ac.th/pub/cran/web/packages/lme4/vignettes/Implementation.pdf>
- Batllori E, Camarero J, Ninot J, Gutiérrez E, 2009. Seedling recruitment, survival and facilitation in alpine *Pinus uncinata* tree line ecotones. Implications and potential responses to climate warming. *Global Ecology and Biogeography*: 18, 460-472.
- Bava J O y Puig C J., 1992. Regeneración natural de lenga. Análisis de algunos factores involucrados. Actas Seminario Manejo Forestal de la Lenga y Aspectos Ecológicos Relacionados. Publicación Técnica N° 8, CIEFAP, Esquel.
- Bava J O, 1999a. Los bosques de lenga en Argentina (9): 273-296. En: Donoso, C.; Lara, A. *Silvicultura de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 421 p.

- Bava J O, 1999b. Aportes ecológicos y silviculturales a la transformación de bosques vírgenes de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp et Endl.) Krasser) en bosques manejados en el sector argentino de Tierra del Fuego. CIEFAP, Publicación Técnica N° 29. 138 p.
- Bava J O, Hlopec R, 1995. El manejo sustentable de la lenga en Tierra del Fuego. Actas IV Jornadas Forestales Patagónicas. San Martín de los Andes, Tomo 1: 81-96.
- Bava J O, Rechene C, 2004. Dinámica de la regeneración de lenga (*N. Pumilio* (Poepp. et Endl. Krasser)) como base para la aplicación de sistemas silvícolas. In Arturi M, J Frangi, J Goya eds. Ecología y manejo de los bosques de Argentina. La Plata, Argentina. Laboratorio de Investigaciones de Sistemas Ecológicos y Ambientales. Facultad de Cs. Agr. Y Forestales-Fac. de Cs. Nat. y Museo, Universidad Nacional de La Plata. p. 1-24.
- Beron F, Roo G A, Featherson S A, 2003. Los Bosques de Lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp et Endl.) Krasser). Patagonia Forestal. Año IX N° 2. 14-16.
- Bingham R T, 1967. International aspects of blister rust resistance in white pines. Proc. XIV IUFRO Congress, Munich, 3: 832-841.
- Bolaños R, Navarro C, 1999. Diagnóstico de la Caoba (*Swietenia macrophylla* King) en Mesoamérica. Costa Rica. Centro Científico Tropical. 25 p.
- Bower A D y Aitken S N, 2008. Ecological genetics and seed transfer guidelines for *Pinus albicaulis* (*Pinaceae*). Am. J. Bot. 95: 66–76.
- Brown C, McAlpine R y Kormanik P, 1967. Apical dominance and form in woody plants: a reappraisal. American Journal of Botany 24: 153-162.
- Burrows, C J, 1965: Some discontinuous distributions of plants within New Zealand and their ecological significance II: disjunctions between Otago-Southland and Nelson-Marlborough and related distribution patterns. Tuatara 13: 9-29.
- Brubaker L B, 1986. Responses of tree populations to climatic change. Vegetatio, 67: 119–130.
- Cain M, Milligan B, Strand A, 2000. Long distance seed dispersal in plant populations. American Journal of Botany 87(9): 1217–1227.
- Callahan R Z, 1964. Investigación de procedencias: estudio diversidad genética asociada a la geografía. Unasyuva - No. 73-74. Vol 18 (2-3).
- Callaway R, 1995. Positive interactions among plants. Botanical Review, 61, 306-349.
- Callaway R, Brooker R W, Choler P, Kikvidze Z, Lortiek C, Michalet R, Paolini L, Pugnaire F, Newingham B, Aschehoug E, Cristina Armasq, David Kikodze D y Cook B, 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. Nature 417: 844-848.
- Campbell R K, 1979. Geneecology of Douglas-fir in a watershed in the Oregon Cascades. Ecology, 60: 1036–1050.
- Cambell R K, 1986. Mapped genetic variation of Douglas-fir to guide seed transfer in southwest Oregon. Silvae Genetica 35, 85-96.
- Castro-Díez P, Monserrat-Martí G., Cornelissen J., 2003. Trade-offs between phenology, relative growth, life form and seed mass among 22 mediterranean woody species. Plant ecology 166: 117-129.

- Chaisurisri K, Edwards D G W, ElKassaby Y A, 1992. Genetic control of seed size and germination in Sitka Spruce. *Silvae Genetica* 41 (6): 348- 355.
- Chambel M, Climent J, Alía R, Valladares F, 2005. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. *Invest Agrar: Sist Recur For* 14(3), 334-344.
- Chang-Yi Xie y Cheng Ying, 2000. Adaptive Variation of Interior Lodgepole Pine. British Columbia Forest Service. Research Branco.
- Cheverud J, 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42: 958-968.
- Chuine I, Rehfeldt G E, Aitken S., 2006. Height growth determinants and adaptation to temperature in pines: a case study of *Pinus contorta* and *Pinus monticola*. *Can. J. For. Res.* 36: 1059–1066.
- Chultz Oyarzun F A, 2003. Evaluación del comportamiento geográfico en parámetros seminales y de crecimiento inicial de las plantas, en procedencias de *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. Trabajo de Titulación presentado como parte de los requisitos para optar al Título de Ingeniero Forestal. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
- Chung MY, Nason JD, Epperson BK, Chung MG. Temporal aspects of the fine-scale genetic structure in a population of *Cinnamomum insularimontanum* (Lauraceae). *Heredity* 90: 98–106.
- CIEFAP, Publicación Técnica N° 16, 1994.
- Christensen R, 2011. A tutorial on fitting cumulative link models with the ordinal package.
- Clark J, Silman M, Kern R, Mackine E, Lambers J, 1999. Seed dispersal near an far: patterns across temperate and tropical forest. *Ecology*, 80(5), 1475–1494.
- Cline M, 1997. Concepts and terminology of apical dominance. *American Journal of Botany* 84(9): 1064–1069.
- Cline M, Harrington C., 2007. Apical dominance and apical control in multiple flushing of temperate woody species. *Can. J. For. Res* 37: 74-83.
- Colombani E, Arbuñes R., 2008. Distribución de las precipitaciones en la provincia de Chubut. XII Reunión Argentina de Agrometeorología, 8 al 10 de octubre de 2008. San Salvador de Jujuy – Argentina.
- Cordell S, Goldstein G, Mueller – Dombois D, Webb D, Vitousek V.M, 1998. Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: the role of phenotypic plasticity. *Oecologia* (1998) 113:188±196.
- Coronato, A., Martínez, O and Rabassa, J, 2004. Glaciations in Argentine patagonia, Southern South America. In: Ehlers, J. and Gibbard, P. (eds), *Quaternary Glaciations: Extent and chronology. Part III: South America, Asia, Africa, Australia and Antarctica*. Elsevier, Amsterdam, *Developments in Quaternary Science* 2, 49–66.
- Coronato A, Coronato F, Mazzoni E y Vazquez M, 2008. The Physical Geography of Patagonia and Tierra del Fuego. En: *The late Cenozoic of Patagonia and Tierra del*

- Fuego. (ed. por Rabassa J.) p. 13-55. *Developments in Quaternary Sciences*. Series editor: Jaap J.M. van der Meer.
- Coronato A, Seppälä M, Ponce F, Rabassa J. 2009. Glacial geomorphology of the Pleistocene Lake Fagnano ice lobe, Tierra del Fuego, southern South America. *Geomorphology* 112: 67–81.
- Crnokrak P y Roff D, 1995. Dominance variance: associations with selection and fitness. *Heredity* 75: 530-540.
- Cuevas J A, 2000. Tree recruitment at the *Nothofagus pumilio* alpine timberline in tierra del Fuego, Chile. *Ecology* 88: 840-855.
- Cuevas J A, 2002. Episodic regeneration at the *Nothofagus pumilio* alpine timberline in Tierra del Fuego, Chile. *Ecology* 90, 52-60.
- Cunningham S C y Read J, 2003. Do temperate rainforest trees have a greater ability to acclimate to changing temperatures than tropical rainforest trees?. *New Phytologist* 157: 55–64.
- Daniel P W, Helms F S y Baker, 1982. *Principios de Silvicultura*. Editorial McGraw Hill. México. 492 p.
- Daubenmire R, 1979. *Ecología Vegetal. Tratado de Autoecología de Plantas.*, 3era edición versión autorizada en español de la tercera edición publicada en inglés por John Wiley & Sons. Versión española G. Berrondo de Benavides. Editorial Limusa. México.
- Davel Miguel, Urretavizcaya Florencia, Contardi Liliana, De María Gabriel, Lugano Lidia, Mondino Victor. 2003. Establecimiento de plantaciones de raulí y roble pellín en Chubut y Río Negro. *Patagonia Forestal*. CIEFAP. Año IX, N° 2, p 9-12.
- Davidson R H, Edwards D G W. Sziclai O, ElKassaby Y A, 1996. Genetic variation in germination parameters among populations of Pacific Silver Fir, *Silvae Genetica* 45 (2-3): 165-171.
- Del Valle H, Cambra H, 1978. Reconocimiento Geomorfológico de la Provincia del Chubut, mediante el empleo de imágenes satelitarias correlacionadas con fotografías aéreas Escala 1:500.000. Ministerio de Economía, Servicios y Obras Públicas. Subsecretaría de Obras Públicas. Dirección General de Recursos Hídricos. Rawson Chubut.
- D.G.B. y P. 1997. *Inventario del Bosque Nativo de la Provincia del Chubut*.
- De Wit I, Keulemans J y Cook N, 2002. Architectural analysis of 1-year-old apple seedlings according to main shoot growth and sylleptic branching characteristics. *Trees* 16: 473–478.
- Dickinson H y Antonovics J, 1973. The effects of environmental heterogeneity on the genetics of finite populations. *Genetics* 73:713-735.
- Dimitri M J, 1972. *La región de los bosques andinopatagónicos. Sinopsis general*, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires.
- Dirección General de Bosques y Parques, provincia de Chubut, 1996. *Inventario del Bosque Nativo de la Provincia del Chubut*. Inédito.
- Di Rienzo J A, Casanoves F, Balzarini M G, Gonzalez L, Tablada M, Robledo C W. *InfoStat versión 2012*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba,

- Argentina. Dobhansky T., 1956. What is an adaptive traits? American Naturalist N° 855, 337-347.
- Donoso C, 1979 a. Genecological differentiation in *Nothofagus obliqua* (Mirb.) oerst. in Chile. Forest Ecology and Management, 2: 53-66.
- Donoso C, 1979 b. Variación y tipos de diferenciación en poblaciones de Roble (*Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. Bosque 3 (1): 1-14.
- Donoso C, 1981. Tipos Forestales de los Bosques Nativos de Chile. Documento de Trabajo N° 38. Investigación y Desarrollo Forestal (CONAF, PNUD-FAO). Publicación FAO Chile.
- Donoso C, y Antienza J, 1983. Hibridación natural entre especies de *Nothofagus* siempreverdes en Chile. Bosque 5 (1): 21-34.
- Donoso C, 1987. Variación natural en especies de *Nothofagus* en Chile. Variation in *Nothofagus* species in Chile. Bosque: 8(2): 85-97.
- Donoso C, 1992. Ecología Forestal. El bosque y su medio ambiente. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 369 p.
- Donoso C, 1993. Bosques templados de Chile y Argentina. Variación, estructura y dinámica. Editorial Universitaria, Chile. 484 p.
- Donoso C, 1998. Bosques Templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. Cuarta edición. Santiago de Chile.
- Donoso C, 2006. Las Especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Marisa Cuneo ediciones. Primera Edición. Chile. 678 p.
- Donoso P, Donoso C y Sandoval V, 1993. Caracterización y crecimiento de renovales de Roble Pellín y Raulí en su distribución altitudinal en Chile. Bosque 14 (2): 37-56.
- Douglass D C, Singer B S, Kaplan M R, Mickleson D M y Caffee M W, 2006. Cosmogenic nuclide surface exposure dating of boulders on last-glacial and late-glacial moraines, Lago Buenos Aires, Argentina: interpretative strategies and paleoclimate implications. Quaternary Geochronology 1, 43-58.
- Dunne J A, Harte J y Taylor K J, 2003. Subalpine meadow flowering phenology responses to climate change: integrating experimental and gradient methods. Ecol. Monogr. 73: 69-86.
- Eriksson G, Ekberg I, Chapham D, 2006. An introducción to forest genetics. Segunda Edición. Department of Plant Biology and Forest Genetics, SLU. Uppsala. Suecia. 187 p.
- Escobar R, 1990. Análisis de algunos elementos básicos involucrados en la producción artificial de plantas de especies nativas. Bosque 11 (1): 3-9.
- Escobar R, 2007. Ecoforestar 2007. Conferencia.
- EUFORGEN. European Forest Genetic Resources Programm. Fernández-López Josefa; Aleta Neus, Alía Ricardo. 2003. Walnut (*Junglans regia*) genetics resources.
- Fabbro T y Körner C, 2004. Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation. Flora 199, 70-81.
- Falconer D S, 1986. Introducción a la genética cuantitativa. Segunda edición en español de la segunda en inglés. Compañía Editorial Continental S:A, México D.F. 383 p.

- Fang XW, Yuan JL, Wang G, Zhao ZG, 2006. Fruit production of shrub, *Caragana korshinskii*, following above-ground partial shoot removal: mechanisms underlying compensation. *Plant Ecol* 187: 213–225.
- FAO, 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Estudio FAO Montes. 20/2. Roma, Italia. [502 p].
- Faraway J, 2006. Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and non-parametric regression models. Chapman Hall, Florida, pp. 158.
- Farris M y Lechowicz M, 1990. Functional interactions among traits that determine reproductive success in a native annual plant. *Ecology* 71(2): 548-557.
- Fernandez Quiroga P, 2005. Estado del arte en modelación funcional-estructural de plantas. *Bosque* 26(2): 71-79.
- Flint R F, Fidalgo F, 1968. Drift Glacial al Este de los Andes entre Bariloche y Esquel. Boletín N° 119. Ministerio de Economía y Trabajo. Subsecretaría de Estado de Energía y Minería. Subsecretaría de Minería y Combustibles. Instituto Nacional de Geología y Minería. Buenos Aires.
- Folguera A, Ramos, V, 2002. Partición de la deformación durante el Neógeno en los Andes Patagónicos Septentrionales (37°- 46°S). *Revista de la Asociación Geológica de España* 15 (1-2): 81-94.
- Frangi J L y Richter, 1994. Balances hídricos de bosques de *Nothofagus* de Tierra del Fuego, Argentina. *Revista Facultad de Agronomía*. Tomo 70, 65-79. La Plata.
- Frankel O H, 1977. Natural variation and its conservation. In: Muhammed A, Aksel R & von Borstel RC (eds) *Genetic Diversity in Plants* (pp 21–44) Plenum Press, New York
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe D A, 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge, UK, United Kingdom at the University Press. 617 p.
- Frewen, B.E, Chen, Tony H.H, Howe, Glenn.T, Davies, Joel, Rohde, Antie, Boerjan, Wout, Bradsahw, Jr. 2000. Quantitative Trait Loci and Candidate Gene Mapping of Bud Set and Bud Flush in *Populus*. *Genetics* 154, 837-845.
- Fundación e Instituto Guido Di Tella, 2006. Comunicación Nacional de cambio climático: vulnerabilidad de la Patagonia y Sur de las provincias de Buenos Aires y La Pampa. Informe final.
- Fundación Vida Silvestre Argentina, 1999. Mapeo de la Eco-Región de los Bosques Valdivianos. Escala 1:500.000. Proyecto Binacional Chile-Argentina. INTA – APN – UACH – FVSA. Impreso en Buenos Aires.
- Futuyma D J, 2005. *Evolution*. Sinauer Associates. Inc. Publishers. Sunderland, Massachussets. Estados Unidos. 603 p.
- Gallo L A, Marchelli P y Breitenbücher A, 1997. Morphological and allozymic evidence of natural hybridization between two southern beeches (*Nothofagus* spp.) and its relation to heterozygosity and height growth. *Forest Genetics* 4 (1): 15-23.
- Gallo L A Marchelli P, Crego P, Oudkerk L, Izquierdo F, Breitenbücher A, González M, Chauchard L, Maresca L, Cuerpo de Guardaparques de los Parques Nacionales Lanín y Nahuel Huapi, y Mele U, 2000. Distribución y variación genética en características seminales y adaptativas de poblaciones y progenies de Raulí en Argentina. En R. Ipinza Carmona, B. Gutierrez Caro y V. Emhart Schmidt (Eds.),

- Domesticación y Mejora genética de Raulí y Roble (pp. 133-156). Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile-Instituto Forestal.
- Gallo L A, Marchelli P, Azpilicueta M M y Crego P, 2006. El uso de marcadores genéticos en el género *Nothofagus* con especial referencia a raulí y roble. *Bosque* 27(1): 3-15.
- Galloway L y Fenster C, 2007. Population differentiation in an annual legume: local adaptation. *Evolution*, 54(4): 1173–1181.
- Geber M y Griffen L, 2003. Inheritance and natural selection on functional traits. *Int. J. Plant Sci.* 164 (3 Suppl.): S21–S42.
- Gianoli E, 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas, en “Fisiología Ecológica en plantas. Mecanismos a Respuestas a Estrés en los Ecosistemas”. Editor Hernán Marino Cabrera 2004. Valparaíso (Chile): 13 - 25.
- Gibson, J.P. and Wheelwright, N.T, 1995. Genetic structure in a population of a tropical tree *Ocotea tenera* (Lauraceae): influence of avian seed dispersal. *Oecologia* 103, 49–54.
- Glasser N.F, Jansson K N, 2005. Fast-flowing outlet glaciers of the Last Glacial maximum Patagonian Icefield. *Quaternary Research* 63, 206–211.
- Glasser NF, Jansson KN, Harrison S y Kleman J, 2008: The glacial geomorphology and Pleistocene history of South America between 38°S and 56°S. *Quaternary Science Reviews* 27: 365-390.
- Godoy M, Gallo L, 2004. Determinación del control genético en *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser lenga y un estudio preliminar sobre la incidencia de la silvicultura sobre su estructura genética. Simposio IUFRO Internacional: “Raulí: Riqueza del Bosque Templado: silvicultura, genética e industria”.
- González-Martínez S, Gerber S, Cervera M, Martínez-Zapater J M, Gil L, Alía R, 2002. Seed gene flow and fine-scale structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.) using nuclear microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 104:1290–1297.
- González Rodríguez H, Cantú Silva I, 2001. Adaptación a la sequía de plantas arbustivas de matorral espinoso tamaulipeco. *Ciencia UANL Vol. IV. N° 4*: 454-461.
- Grant M y Mitton J, 1977. Genetic differentiation among growth forms of Engelmann spruce and subalpine fir at tree line. *Arctic and Alpine research* 9: 259-263.
- GraphPad Prism version 6.0 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.
- Green, S, 2005. Adaptive strategies in seedlings of three co-occurring, ecologically distinct northern coniferous tree species across an elevational gradient. *Can. J. For. Res.* 35: 910–917.
- Grossnickle S, 2000.. Seed Transfer of Douglas-fir in the Sub-Maritime Seed Zone. British Columbia Forest Service. Research Branco.
- Guerrero E M, 2004. Erosión genética en la biodiversidad agrícola. *Revista argentina de humanidades y ciencias sociales*. Vol 2 N° 1.
- Gutermann

- Gutierrez E, Vallejo R, Romaña J, Fons J, 1991. The subantarctic nothofagus forests of Tierra del Fuego: distribution, structure and production. *Oecologia aquatica* 10: 351-366.
- Haase P, 1992. Isozyme variability, and biogeography of *Nothofagus truncata* (Fagaceae). *New Zealand Journal of Botany*, Vol. 30:315-328.
- Haase P, 1993. Genetic variation, gene flow, and the “founder effect” in pioneer of *Nothofagus menziesii* (Fagaceae), south island New Zealand. *Journal of Biogeography* 20 79-85.
- Hamman A, Koshy M P, Namkoong G y Ying C.C., 2000. Genotype x environment interactions in *Alnus rubra*: developing seed zones and seed-transfer guidelines with spatial statistics and GIS. *Forest Ecology and Management* 136: 107-119.
- Hampe A, Pettit R, 2005. Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*, 8: 461–467.
- Hampton J G, Hill M J, 2002. Seed quality and New Zealand’s native plants: an unexplored relationship? *New Zealand Journal of Botany*, Vol. 40: 357–364.
- Hamrick J L, Godt M J W y Sherman-Broyles S L, 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95–124.
- Hamrick, J L Murawski D A y Nason JD, 1993. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio* 107/108, 281–297.
- Hamrick J, Godt J, 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 351: 1291-1298.
- Hartl D L y Clarjçke G, 1989. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Ass. M.A.
- Hartl D.L., 2000. *A Primer of Population Genetics*. Sinauer Associates Inc., Publishers, Sunderland, MA.
- Heads M, 1998. Biogeographic disjunction along the Alpine fault, New Zealand. *Biological Journal of the Linnean Society*, 63: 161–176.
- Herrero Sierra N, Benito Matías Luis F, Carrasco Manzano I, Peñuelas Rubira J. L, 2001. Nuevos pretratamientos para la germinación de *Fagus sylvatica* L. *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada. Mesa 3: 647-652.
- Hertel D, Therburg A, Villalva R, 2008. Above- and below-ground response by *Nothofagus pumilio* to climatic conditions at the transition from the steppe–forest boundary to the alpine treeline in southern Patagonia, Argentina. *Plant Ecology & Diversity* Vol. 1(1): 21–33.
- Hewitt G, 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405:907-913.
- Hoffman A, Armesto J, 1995. Modes of Seed Dispersal in the Mediterranean Regions in Chile, California, and Australia. *Ecological Studies* 108: 289-310.
- Hovenden M, Vander Schoor J., 2003. Nature vs nurture in the leaf morphology of Southern beech, *Nothofagus cunninghamii* (Nothofagaceae). *New Phytologist* 161: 585–594.
- Howe H F y Richter W M, 1982. Effects of seed size on seedling size in *Virola surinamensis*: a within and between tree analysis. *Oecologia*, 53: 347-351.

- Howe G, Aitken S, Neale D, Jermstad K, Wheeler N, Chen T, 2003. From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Can. J. Bot.* 81: 1247–1266.
- Hurme P, Repo T, Savolainen O V, y Pääkkönen T, 1997. Climatic adaptation of bud set and frost hardiness in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Can. J. For. Res.* 27: 716–723.
- INFOR, 2000. Técnicas para producir plantas de lenga en Aysén.
- Ipinza R, Gutiérrez B, Emhart S V, 1998. Curso Mejora genética forestal operativa. Organizado por Universidad Austral de Chile, Infor, CONAF, 16 al 21 de noviembre, Valdivia, Chile.
- Ipinza R, Gutiérrez B, Emhart S V, 1999. Estrategia de mejoramiento y ganancias genéticas esperadas de un programa de mejoramiento genético para *Nothofagus obliqua* (Mirb. et Oerst.) y *N. Alpina* (Poepp. Et Ende.) Oerst en Chile. *Revista virtual Lemu Chile*. Vol.2 N° 2.
- Ipinza R, Gutiérrez B, Medina A, 2000. Variación genética en peso y forma de semillas, y crecimiento inicial de procedencias naturales de *N. nervosa* (alpina) y *N. obliqua* en Chile. En: Ipinza, Gutierrez y Emhart (Editores). *Domesticación y Mejora Genética de Raulí y Roble*.
- Isik K, Kara N, 1997. Altitudinal Variation in *Pinus brutia* TEN. and its Implication in Genetic Conservation and Seed Transfers in Southern Turkey. *Silvae Genetica* 46, 2–3.
- Izquierdo F, 2009. Análisis de la diversidad y diferenciación genética del Pehuén (*Araucaria araucana*). Tesis para optar al grado de Magíster de la Universidad de Buenos Aires, área: Ecología y manejo de sistemas boscosos.
- Jaeger T, 2008. Categorical data analysis: away from ANOVAs (transformation or not) and towards logit mixed models. *J Mem Lang* 59:434–446
- Jaramillo-Correa J P, Beaulieu J, Bousquet J, 2001. Contrasting evolutionary forces driving population structure at expressed sequence tag polymorphisms, allozymes and quantitative traits in white spruce. *Molecular Ecology* 10: 2729 – 2740.
- Jaramillo-Correa J, Beaulieu J, Khasa D, Bousquet J, 2009. Inferring the past from the present phylogeographic structure of North American forest trees: seeing the forest for the genes. *Can. J. For. Res.* 39: 286-307.
- Jayasuriya G, Baskinand J, Baskin C, 2009. Sensitivity cycling and its ecological role in seeds with physical dormancy. *Seed Science Research* 19: 3 –13.
- Jobbágy E, Paruelo J y León J, 1995. Estimación del régimen de precipitación a partir de la distancia a la cordillera en el noroeste de la Patagonia. *Ecología Austral* 5: 47-53.
- Johnsen K H, Seiler J R y Mayor J E, 1996. Growth, shoot phenology and physiology of diverse seed sources of black spruce: II. 23-year-old field trees. *Tree Physiology* 16: 375—380.
- Joy D y Young D, 2002. Promotion of mid-successional seedling recruitment and establishment by *Juniperus virginiana* in a coastal environment. *Plant Ecology*, 160, 125-135.
- Kawecki T, Elbert D, 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7:

1225-1241.

- Kemp RH, 2000. Prospección, utilización y conservación de los recursos. Unasylva N° 119-120.
- Körner C, 1998. A re-assessment of high elevation treeline positions and their explanation. *Oecologia* 115:445-459.
- Körner C, 2007. The use of 'altitude' in ecological research. *TRENDS in Ecology and Evolution* Vol.22 No.11, 569-574.
- Körner C, Paulsen J, 2004. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *Journal of Biogeography (J. Biogeogr.)* 31, 713–732.
- Kremer A, Zanetto A, Ducouso A, 1997. Multilocus and multitrait measures of differentiation for gene markers and phenotypic traits. *Genetics* 145, 1229–1241.
- Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, Cundall E, Deans, J, Ducouso A, König A, Lowe A, Munro R, Petit R, Stephan R, 2002. Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks?. *Forest Ecology and Management* 156: 75–87.
- Kremer A, Ronce O, Robledo-Arnuncio J J, Guillaume R, Bohrer B, Nathan T, Bridge J R, Gomulkiewicz R, Klein E, Ritland K, Kyçuparinen A, Gerber S, Schueler S, 2012. Long distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology Letters*. 15: 378-392.
- Langlet O, 1971. Two hundred years of genecology. *Taxom* 20 (5/6): 653-722.
- Lara A, Villalba R, Wolodarsky-Franke A, Aravena J C, Luckman B, Cuq E, 2005. Spatial and temporal variation in *Nothofagus pumilio* growth at tree line along its latitudinal range (35 40°–55 S) in the Chilean Andes. *Journal of Biogeography (J. Biogeogr.)* 32, 879–893.
- Latta R, 2003. Research review. Gene flow, adaptive population divergence and comparative population structure across loci. *New Phytologist* 161 : 51–58.
- Lebed O, 1990. Reproducción de plantas nativas. Publicación Servicio Forestal Andino. Río Negro.
- Lechowicz M J, 1984. Why do temperate deciduous trees leaf out at different times? Adaptation and ecology of forest communities. *American Naturalist* 124: 821-842.
- Ledgard, N J, Cath P W, 1983. Seed of New Zealand *Nothofagus* species. *New Zealand Journal of Forestry* 28: 150-162.
- Ledgard N y Norton D, 1988. Shoot growth in 2-3 year old *Nothofagus* seedlings. *New Zealand Journal of Ecology* 11: 105-108.
- Lenormand T, 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* Vol. 17 N° 4: 183-189.
- Levin D A, 1981. Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68, 233–253.
- Li P, Beaulieu J, Corriveau A y Bousquet J, 1993. Genetic variation in a juvenile growth and phenology in a white spruce provenance-progeny test. *Silvae Genetica* 42,1: 52-60.
- Linhart Y y Grant M, 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in

- plants. *Annual Review Ecol. Syst.* 27: 237–277.
- Loehle C, 1998. Height growth rate tradeoffs determine northern and southern range limits for trees. *J. Biogeogr.* 25: 735–742.
- Loguercio G A, 1995. Crecimiento de la Regeneración de la Lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser), y su dependencia de las condiciones dominantes de radiación. En: *Regeneración Natural de la Lenga. Factores Ecológicos*. CIEFAP Publicación Técnica N° 21: 1-47, CIEFAP. Esquel.
- Lowell T V, Heusser C J, Andersen B G, Moreno P I, Hauser A, Heusser L E, Schlüchter C, Marchant DR, Denton G H, 1995. Interhemispheric correlation of Late Pleistocene glacial events. *Science* 269, 1541–1549.
- Luebert F y Pliscoff P, 2006. *Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Luzuriaga A, Escudero A, Pérez-García F, 2006. Environmental maternal effects on seed morphology and germination in *Sinapis arvensis* (Cruciferae). *Weed Research* 46: 163–174.
- Lynch M y Walsh B, 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Assoc., Sunderland, MA.
- Mancini V, 2002. Vegetation and climate during the Holocene in Southwest Patagonia, Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology* 122 101-115.
- Marchelli P, Gallo L A, Scholz F, Ziegenhagen B, 1998. Chloroplast DNA markers reveal a geographical divide across Argentinean southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. Et Mil. distribution area. *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 642–646.
- Marchelli P, Gallo L A, 1999. Annual and geographic variation in seed trait of Argentinean population of southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. *Forest Ecology and Management* 121: 239-250.
- Marchelli P, Gallo L A, 2006. Multiple ice-age refugia in a southern beech from southern South America as revealed by chloroplast DNA markers. *Conservation Genet* 7:591–603.
- Marchelli P, Baier C, Mengel C, Ziegenhagen B, Gallo LA, 2010. Biogeographic history of the threatened species *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch and implications for conservation: a case study with organelle DNA markers. *Conserv Genet* 11:951–963.
- Mardones M, González L, King R., Campos E., 2011. Variaciones glaciales durante el Holoceno en Patagonia Central, Aisén, Chile: evidencias geomorfológicas. *Andean Geology* 38 (2): 371-392.
- Markgraf V, 1983. Late and postglacial vegetational and paleoclimatic changes in subantarctic, temperate, and arid environments in Argentina. *Palynology*, 7: 43-70.
- Markgraf V, 1993. Paleoenvironments and paleoclimates in Tierra del Fuego and southernmost Patagonia, South America. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 102:53–68
- Markgraf V, McGlone M, Hope G , 1995. Neogene paleoenvironmental and paleoclimatic change in southern temperate ecosystems a southern perspective. *TREE* 10:143–147.

- Markgraf V, Romero EJ, Villagrán C, 1996. History and pleoecology of South American *Nothofagus* forests. In: Veblen TT (ed) The ecology and biogeography of *Nothofagus* forests. Yale University, New Haven and London, pp 354–386.
- Markgraf V, Webb RS, Anderson KH, Anderson L, 2002 Modern pollen/climate calibration for southern South America. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 181:375–397
- Markgraf V, Bradbury JP, Schwalb A, Burns SJ, Stern C, Ariztegui D, Gilli A, Anselmetti FS, Stine S, Maidana N, 2003. Holocene palaeoclimates of southern Patagonia: limnological and environmental history of Lago Cardiel, Argentina. *The Holocene* 13:581–591.
- Martínez O. 2002. Geomorfología y geología de los depósitos glaciares y periglaciares de la región comprendida entre los 43° y 44° lat. Sur y 70°30' y 72° long. Oeste, Chubut, República Argentina. Doctoral Thesis, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia and Esquel.
- Martínez Pastur G., Pinedo L., Fernández C., 1997. Germinación de semillas y sistemas de propagación clonal en bosques de Tierra del Fuego. *Actas II Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano. Tomo Bosques Nativos y Protección Ambiental*. Pp. 141-147. Posadas, Argentina.
- Martínez Pastur G, Peri P, Vukasovic R, Cellini J.M, Lencinas MV, Gallo L, 2004. Sistemas de regeneración con retención agregada en bosques de *Nothofagus pumilio*: una alternativa que combina parámetros económicos y ecológicos. En: *Dinámicas Mundiales, Integración Regional y Patrimonio en Espacios Periféricos* (Eds. Zárate R. y Artesi L.), pp.260-271. Universidad Nacional de la Patagonia Austral (UNPA), Río Gallegos.
- Martínez-Trinidad T, Vargas-Hernández J, Muñoz-Orozco A., López-Upton J, 2002. Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: consumo de agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia* 36: 365-376.
- Mathiasen P, Premoli A, 2010. Out in the cold: genetic variation of *Nothofagus pumilio* (*Nothofagaceae*) provides evidence for latitudinally distinct evolutionary histories in austral South America. *Mol Ecol* 19:371–385.
- Mathiasen P, Premoli A, 2013. Fine-scale genetic structure of *Nothofagus pumilio* (*lenga*) at contrasting elevations of the altitudinal gradient. *Genetica* 141: 95–105.
- Matlack G 1987. Diaspore size, shape and fall behavior in wind-dispersed plant species. *Amer. J. Bot.* 74 (8): 1150-1160.
- Matteucci S., Colma A., 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Serie de Biología. Monografía N° 22. Washington, D.C.
- Mazer S., Snow A. and Stanton M., 1986. Fertilization dynamics and parental effects upon fruit development in *Raphanus raphanistrum*: consequences for seed size variation. *Amer. J. Bot.* 73: 500-511.
- McCulloch, R.D., Bentley M.J., Purvesi R.S, Hulton N.R., Sugden D.E., Clapperton C.M., 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the

- last glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science* 15 (4) 409-417.
- McKay J. Latta R., 2002. Review. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *TRENDS in Ecology & Evolution* Vol.17 No.6: 285-291.
- Mercer J.H, 1976. Glacial History of Southernmost South America. *Quaternary Research* 6: 125-166.9
- Merilä J., Sheldon B., 1999. Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas. *Heredity* 83: 103-109.
- Merilä J y Crnokrak P, 2001. Mini Review. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 892– 903.
- Michaels H, Benner B, Hartgerink P, Lee T, Rice S, 1988. Seed size variation: magnitude, distribution and ecological correlates. *Evolutionary Ecology* 2: 157-166.
- Milberg P. y Lamont B, 1997. Seed / cotyledon size and nutrients content play a mayor role in early performance of species on nutrients-poor soils. *New Phytology* 137, 665-672.
- Milberg P., Pérez-Fernández M. y Lamont B., 1998. Seedling growth response to added nutrients depends on seed size in three woody genera. *Journal of Ecology* 86, 624-632.
- Moles A., Warton D. y Westoby M., 2003. Seed size and survival in the soil in arid Australia. *Austral Ecology* 28: 575–585.
- Moles A. y Westoby M., 2004. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *Journal of Ecology* 92: 372-383.
- Mondino, Víctor, Pastorino Mario, Gallo Leonardo. Variabilidad en caracteres morfométricos de plántulas de poblaciones naturales de lenga de la provincia de Chubut. *Econothofagus* 2008. Esquel, Argentina p. 60.
- Mondino 2010. Mondino, Tejera, Pastorino, Gallo. Establecimiento en *Nothofagus pumilio*: efecto de plantas nodrizas y procedencias. *Jornadas Forestales Patagónicas Sur*. Ushuaia, noviembre de 2010.
- Montesinos D, 2007. Efectos de la disponibilidad de recursos sobre la eficacia reproductiva de *Juniperus thurifera*. Tesis presentada para la opción al título de Doctor en Biología por la Universidad de Valencia.
- Moreno, P.I., 1997. Vegetation and climate near lago Llanquihue in the Chilean lake District between 20,200 and 9500 14C yr BP. *Journal of Quaternary Science* 12, 485–500.
- Morgenstern E K, 1968. Genetic Variation in seedling of *Picea mariana* (Mill.) BSP. I Correlation with ecological factors.
- Morgenstern E K, 1996. *Geographic Variation in Forest Trees*. UBC Press, Vancouver, BC.
- Mousseau T, Roff D, 1986. Natural selections and the heretability of fitness components. *Heredity* 59: 181-197.

- Mpodozis C, Ramos V, 2008. Tectónica jurásica en Argentina y Chile: extensión, subducción oblicua, rifting, deriva y colisiones? *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 63 (4): 481 – 497.
- Murray B, Brown A y Grace J, 2003. Geographic gradients in seed size among an within perennial Australian *Glicyne* species. *Australian Journal of Botany*, 51: 47-56.
- Nielsen C N, Jørgensen F V, 2003. Phenology and diameter increment in seedlings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) as affected by different soil water contents: variation between and within provenances. *Forest Ecology and Management* 174: 233–249.
- Notivol E, García-Gil M R, Alía R, Savolainen O. 2007. Genetic variation of growth rhythm traits in the limits of a latitudinal cline of Scots pine. *Can. J. For. Res.* 37: 540–551.
- Nuñez E, 1993. Actas de la II reunión de viveros forestales de la Patagonia. Centro de Investigaciones Forestales. Universidad Nacional de la Patagonia. Sede Esquel.
- Obeso J, 2002. Review. The cost of reproductions in plant. *New Phytologist* 155 : 321–348
- O’Hara, R y Merila J, 2005. Bias and Precision in QST Estimates: Problems and Some Solutions. *Genetics* 171: 1331–1339.
- Oleksyn J, Tjoelker M G, Reich P B, 1992. Growth and biomass partitioning of populations of European *Pinus sylvestris* L. under simulated 50° and 60° N daylengths evidence for photoperiodic ecotypes. *New Phytol.* 120: 561-574.
- Oleksyn J, Mordrzyński J, Tjoelker M G, Zytkowskiak R, Reich P B., y Karolweski P, 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Funct. Ecol.* 12: 573–590.
- O’Neill G .A, Aitken S, Adams T, 2000. Genetic selection for cold hardiness in coastal Douglas-fir seedlings and saplings. *Can. J. For. Res.* 30: 1799–1807.
- O’Neill G.A, I. Dawson, C. Sotelo-Montes, L. Guarino, and J.C. Weber. 2001. Strategies for genetic conservation of trees in the Peruvian Amazon. In: *Biodiversity and Conservation* 10: 837-850.
- O’Neill G.A, Adams T., Aitken S., 2001. Quantitative genetic of spring an fall cold hardines in seedlings from two Oregon population of Coastal-Douglas Fire. *Forest Ecology and Management* 149: 305-318.
- Ouborg N, Piquot Y, Van Groenendael J, 1999. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology* 87: 551-568.
- Ouédraogo, Abdou-Salam, 1997. La conservación y utilización de los recursos genéticos forestales. XI Congreso forestal mundial 13 a 22 de Octubre de 1997, Antalya, Turquía. Volumen 2 Tema 8.
- Paez M. M; Schäbitz F.; Stutz S.; 2001. Modern pollen-vegetation and isopoll mapas in southern Argentina. *Journal of Biogeography*, 28, 997-1021.
- Partanen J, y Beuker E, 1999. Effects of photoperiod and thermal time on the growth rhythm of *Pinus sylvestris* seedlings. *Scand. J. For. Res.* 14: 487–497.

- Paruelo J, Beltrán A, Jobbágy E, Sala O, Golluscio R, 1998. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic controls. *Ecología Austral* 8: 85-101.
- Palmberg-Lerche y S. Hald, 2000. La ordenación de los recursos genéticos forestales: situación y desafíos. *Unasyuva* 203 Vol 51 2000/4.
- Pastorino M J y Gallo L A, 2000. Variación geográfica en peso de semilla en poblaciones naturales argentinas de "Ciprés de la Cordillera". *Bosque* 21(2)- 95-109.
- Pastorino M J y Gallo L A , 2002. Quaternary evolutionary history of *Austrocedrus chilensis*, a ciprés native to the Andean–Patagonian forest. *Journal of Biogeography* 29, 1167–1178.
- Pastorino M A, Marchelli P, Milleron M, Soliani C, Gallo L A, 2009. The effect of different glaciation patterns over the current genetic structure of the southern beech *Nothofagus antarctica*. *Genetica* 136:79–88.
- Pastorino M , Ghirardi S , Grosfeld J, Gallo L, Puntieri J, 2010. Genetic variation in architectural seedling traits of Patagonian cypress natural populations from the extremes of a precipitation range. *Ann. For. Sci.* 67 508.
- Pastorino M, Aparicio A, Marchelli P, Gallo L, 2012. Genetic variation in seedling water-use efficiency of Patagonian Cypress populations from contrasting precipitation regimes assessed through carbon isotope discrimination. *INIA Forest Systems* 21(2): 189-198.
- Paulsen J, Wheber U, Körner C, 2000. Tree growth near treeline: abrupt or gradual reduction with altitude? *Artic, Antarctic and Alpine research* 32: 14-20.
- Petit R, Hu F S, Dick C, 2008. Forests of the Past: a window to future changes. *Science* 320, 1450.
- Petit RJ, Duminil J, Fineschi S, Hampe A, Salvini D, Vendramin GG , 2005. Comparative organisation of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Mol Ecol* 14:689–701
- Philipson R W, 1988. Seedling and shoot morphology of the New Zealand species of *Nothofagus* (Fagaceae). *New Zealand Journal of Botany*, Vol. 26:401-407.
- PIARFON, 2004. Proyectos de Investigación aplicada a los bosques nativos: región bosques andino patagónicos. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, Proyecto PNUD, ARG/99/011.
- Pigliucci M, 2001. Phenotypic Plasticity. Beyond Nature and Nurture. *Syntheses in Ecology and evolution*. Samuel M. Scheiner, Series Editor. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland. Estados Unidos. 328 p.
- Pollman W, Hildebran R, 2005. Structure and the composition of species in timberlines ecotones of the southern andes. In *Studies in treeline ecology*. Editors Mountains ecosystems.
- Premoli A C, 1991. Morfología y capacidad germinativa en poblaciones de *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst. del noroeste andino patagónico. *Bosque* 12 (2): 53-59.
- Premoli A C, Kitzberger T y Veblen T, 2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography*, 27: 251–260.

- Premoli A C, Kitzberger T, Veblen TT, 2000. Conservation genetics of the endangered conifer *Fitzroya cupressoides* in Chile and Argentina. *Conservation Genetics*, 1, 57–66.
- Premoli A C, Souto C, Rovere A, Allnut T, y Newton A, 2002. Patterns of isozyme variation as indicators of biogeographic history in *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin. *Diversity & Distributions* 8: 57-66.
- Premoli A C, 2003. Isozyme Polymorphisms Provide Evidence of clinal Variation with elevation in *Nothofagus pumilio*. *Heredity*, 94 (3): 218-226.
- Premoli A C, 2004. Variación en *Nothofagus pumilio* (Poepp. Et Endl.) Krasser (Lenga). En: Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. (eds Donoso C, Premoli AC, Gallo L, Iliniza R). pp. 145–166, Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile.
- Premoli A C, Raffaele E, Mathiasen P, 2007. Morphological and phenological differences in *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations: Evidence from a common garden. *Austral Ecology* 32: 515–523.
- Premoli A C, Mathiasen P, Kitzberger T, 2010. Southern-most *Nothofagus* trees enduring ice ages: Genetic evidence and ecological niche retrodiction reveal high latitude (54°S) glacial refugia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 298 (2010) 247–256.
- Puntieri J, Barthélémy D, Martinez P, Raffaele E, Brion C, 1998. Annual-shoot growth and branching patterns in *Nothofagus dombeyi* (Fagaceae), *Can. J. Bot.* 76 673–685.
- Puntieri J, Raffaele E, Martinez P, Barthélémy D y Brion C, 1999. Morphological and architectural features of young *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser (Fagaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 130: 395-410.
- Puntieri J, Stecconi M, y Barthélémy D, 2002. Preformation and neof ormation in shoots in *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. (Nothofagaceae) shrubs from northern Patagonia. *Annals of Botany* 89: 665-673.
- Puntieri J., Souza M.S., Brion C., Mazzini C., Barthélémy D., 2003. Axis differentiation in two South American *Nothofagus* species (Nothofagaceae). *Ann. Bot.* 92 589–599.
- Puntieri J, Grosfeld J, Stecconi M, Brion C, Azpilicueta M M, Gallo L A, 2006. Desarrollo temprano del roble (*Nothofagus obliqua*): un análisis arquitectural de procedencias de Argentina. *Bosque*, 27 (1) 44-51.
- Puntieri J, Grosfeld J, Stecconi M, Brion C, Azpilicueta M M, Gallo L A, Barthélémy D, 2007. Shoot development and dieback in progenies of *Nothofagus obliqua*. *Ann. For. Sci.* 64: 839–844.
- Quero J L, Villar R, Marañón T, Zamora R y Poorter L, 2007. Seed-mass effects in four mediterranean *Quercus* species (Fagaceae) growing in contrasting light environments. *American Journal of Botany* 94(11): 1795–1803.
- Quiroga MP, Premoli AC, 2009. Genetic structure of *Podocarpus nubigena* (Podocarpaceae) provides evidence of Quaternary and ancient historical events. *Palaeogeography*,
- R version 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing 2010.

- Rabassa J, Coronato A, Bujalesky, G, 2000. Quaternary of Tierra del Fuego, southernmost South America: an updated review. *Quaternary International* 68–71, 217–240.
- Rabassa J, 2008. The Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego. Copyright©_ 2008 Elsevier B.V. pp 513.
- Rabassa J, Coronato A. 2009. Glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego during the Ensenadan Stage/Age (Early Pleistocene–earliest Middle Pleistocene). *Quaternary International* 210: 18–36.
- Raffaele E, Puntieri J, Martinez P, Marino J., Brion C., Barthélémy D. 1998. Comparative morphology of annual shoots in seedlings of five *Nothofagus* species from Argentinian Patagonia. *C.R. Acad Sci. Paris. Sciences de la vie/ Life Sciences*. 321: 305-31.
- Ramanatha R V, Hodkin T, 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1-19.
- Ramirez C, Correa , M, Figueroa H y San Martín, J. 1985. Variación del hábito y hábitat de *Nothofagus antarctica* en el centro sur de Chile. *Bosque* 6: 55-73.
- Read R A, 1980. Genetic variation in seedling progeny of Ponderosa pine provenances. *Forest Science Monograph* 23: 1-59.
- Rehfeldt G E, 1978. Genetic differentiation of Douglas-fir populations from the northern Rocky mountains. *Ecology*, 59(6) : pp. 1264-1270.
- Rehfeldt G E, 1979, Variation in cold hardiness among populations of *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*. Res. Paper Int-233. Ogden UT: USDA Forest Service, Intermountain research Sta. 11 pp.
- Rehfeldt G E, 1981. Seed transfer guidelines for Douglas-fir in north Idaho. USDA Forest Service research note int. 300.
- Rehfeldt G, 1982a. Differentiation of *Larix occidentalis* from the northern Rocky Mountains. *Silvae Genetica* 31 (1): 13-19.
- Rehfeldt G E, 1983a. Adaptation of *Pinus contorta* populations to heterogeneous environments in northern Idaho. *CAN. J. FOR. RES.* 13 (3): 405-411.
- Rehfeldt G E, 1983b. Ecological adaptations in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var *glauca*) populations III. Central Idaho. *Can.J. Forest Res* 13 (3): 626-632.
- Rehfeldt G E, 1983c. Genetic variability within Douglas-fir populations: implications for tree improvement. *Silvae Genetica* 32: 9-14.
- Rehfeldt G E, 1984. Microevolution of conifers in the northern Rocky Mountains: a view from common gardens. *In* Proceedings of the 8th North American Forest Biology Workshop Symposium on Historical and Genetic Components of Geographic Variation Patterns, Logan, Utah, 30 July – 1 August 1984. *Edited by* R.N. Lanner. Utah State University, Department of Forest Resources, Logan, Utah. pp. 132–146.
- Rehfeldt G E, 1986. Adaptive Variation in *Pinus ponderosa* from Intermountain Regions. I. Snake and Salmon River Basin. *Forest Sci.* 32: 79-92.
- Rehfeldt G E, 1987. Adaptive variation and seed transfer for ponderosa pine in central Idaho. U.S.D.A forest Service. Intermountain research Station. Research Note INT-

373.

- Rehfeldt G E, 1991. A model of genetic variation for *Pinus ponderosa* in the Inland Northwest (U.S.A.): applications in gene resource management. *Can. J. For. Res.* 21: 1491-1500.
- Rehfeldt G E, 1992. Early Selection in *Pinus ponderosa*: Compromises Between Growth Potential and Growth Rhythm in Developing Breeding Strategies. *Forest Science* 38: 661-677.
- Rehfeldt G E, 1993 Genetic variation in the ponderosae of the southwest. *American Journal of Botany* 80: 300-343.
- Rehfeldt G E, 1994a. Evolutionary genetics, the biological species, and the ecology of the interior cedar-hemlock forests. In proceedings of Interior Cedar-Hemlock-White Pine Forests: Ecology and Management, 1993 March 2-4 at Spokane, Washington. Pullman (WA): Washington State University. p 91-100.
- Rehfeldt G E, 1994b. Genetic structure of western red cedar populations in the Interior West. *Canadian Journal of Forest Research*, 24(4): 670-680.
- Rehfeldt G. E, Ying C., Spittlehouse D., Hamilton D., 1999. Genetic responses to climates in *Pinus contorta*: niche breath, climate change, and reforestation. *Ecological Monographs* 69: 375-407.
- Rehfeldt G. E. and Gallo L, 2001. Introduction of ponderosa pine and Douglas-fir to Argentina. *New Forest* 21: 35-44.
- Richardson B. Rehfeldt G.y Kini M-S., 2009. Congruence climate-related genecological responses from molecular markers and quantitative traits for western shite pine (*Pinus monticola*). *Int. J. Plant Sci.* 170(9):1120-1131.
- Rieseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, M. A. & Burke, J. M. 2002 Directional selection is the primary cause of phenotypic diversification. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 12 242–12 245.
- Roach D. Wulf R., 1987. Maternal effects in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:209-235.
- Rogers, D.L., Stettler, R.F., Heilmann, P.E., 1989. Genetic variation and productivity of *Populus trichocarpa* and its hybrids. III. Structure and pattern of variation in a 3-year field test. *Canadian Journal of Forest Research* 19, 372-377.
- Rogers D, Millar C, Westfall R, 1999. Fine-scale genetic structure of whitebark pine (*Pinus albicaulis*): association with watershed and growth form. *Evolution* 53: 74-90.
- Roff D, Emerson K. , 2006. Epistasis and dominance: evidence for differential effects in life-history versus morphological traits. *Evolution*, 60(10): 1981–1990.
- Roveta R. 2004. Propuesta para mejorar el sistema de evaluación y fiscalización de planes de manejo en bosques de lenga de Chubut a partir de criterios e indicadores de sustentabilidad. Tesis de grado presentada a la Facultad de Ingenieria de la Universidad Nacional de la Patagonia “San Juan Bosco” para el otorgamiento al título de Ingeniero Forestal.
- Rusch V., 1987. Estudio sobre la regeneración de la lenga en la Cuenca del Río Manso Superior, Río Negro. Informe interno CONICET, 112pg.
- Rusch V., 1989. Determinación de las transiciones de estado en bosques de lenga

- (*Nothofagus pumilio*). En: Comunicación Técnica Area Forestal. Ecología forestal N° 6. INTA EEA Bariloche, 77 p.
- Rusch V., 1992. Principales limitantes para la regeneración de la lenga en la zona NE de su distribución. CIEFAP, Publicación Técnica N° 8: 61-73.
- Rusch V., 1993. Altitudinal variation in the phenology of *Nothofagus pumilio* in Argentina. *Rev Chile Hist Nat* 66: 131-141.
- Sakai A y Larcher W, 1987. Frost survival of plants: responses and adaptation to freezing stress. Springer-Verlag, Michigan. 321 p.
- Savolainen O, Pyhäjärvi T. y Knür T., 2007. Gene flow and local adaptation in trees. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 38:595–619
- Savolainen O, Bokma F, García-Gil R, Komulainen P, Repo T. 2004 Review. Genetic variation in cessation of growth and frost hardiness and consequences for adaptation of *Pinus sylvestris* to climatic changes. *Forest Ecology and Management* 197: 79–89.
- Schlichting, 2002. Phenotypic plasticity in plants. *Plant Species Biology* 17: 85–88.
- Schmidt, H. 1985. Tratamientos silviculturales para el manejo de los bosques nativos en las provincias patagónicas de la República Argentina. Proyecto de Cooperación Técnica para el Desarrollo de la Región Sur de Argentina. Org. de los Estados Americanos. 59 p.
- Schmidt J., Antonovics J., 1986. Experimental studies of the evolutionary significance of sexual reproduction. III. Maternal and paternal effects during seedlings establishment. *Evolution* 40: 817-829.
- Schmitt J, Dudley S, Pigliucci M, 1999. Manipulative approaches to testing adaptive plasticity: Phytochrome-mediated shade-avoidance responses in plants. *American Naturalist* 154: S43-S44.
- Schreiner E, 1968. Mejoramiento genético de especies forestales. *Unasylyva* N° 90.
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, 2007. Primer Inventario Nacional de Bosques Nativos. Proyecto Bosques Nativos y Areas Protegidas Préstamo BIRF 4085 – AR.
- Seibert P, 1982. Carta de vegetación de la región de El Bolsón, Río Negro y su aplicación a la planificación del uso de la tierra. Buenos Aires : Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. 120 p.
- Seiwa K. 2000. Effects of seed size and emergence time on tree seedling establishment: importance of developmental constraints. *Oecologia* (2000) 123:208–215.
- 205
- 210 Silvertown J. 1989. The paradox of seed size and adaptation. *Trends in Ecology and Evolution* 4 (1) : 24- 26.
- Silvertown J, and Lovett-Dust J, 1993. Introduction to plant populations biology. Blackwell Scientific publications. Oxford.
- Singer B, Ackert R.P. y Guillou H, 2004. $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ and K/Ar chronology of Pleistocene glaciations in Patagonia. *Geological Society America Bulletin* 116, 434–450.

- Slatkin M, 1987. Gene Flow and the Geographic structure of Natural Populations. *Science* 236, 787.
- Slatkin M., 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- Smith W, Germino M, Hancock T, Johnson D, 2003. Another perspective on altitudinal limits of alpine timberlines. *Tree Physiology* 23, 1101–1112.
- Soliani C, Gallo L A, Marchelli P, 2011. Phylogeography of two hybridizing southern beeches (*Nothofagus* spp.) with different adaptive abilities. *Tree Genetics & Genomes*.
- Soliani, C (2012) Historia evolutiva de *Nothofagus pumilio* y *Nothofagus antarctica*, especies forestales nativas de la Patagonia Argentina, y su relación con la conservación y manejo de sus recursos genéticos. Tesis Doctoral. 226 pp, Universidad Nacional de Córdoba.
- Souza, M.D., Puntieri, J.G., Barthélémy, D., Brion, C. 2000. Bud contents and its Relation to Shoot Size and Structure in *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser (Nothofagaceae). *Annals of Botany* 85: 547-555.
- Sorensen F, Campbell R, 1992. Seed weight - seedling size correlation in coastal Douglas-fir: genetic and environmental components. *Can. J. For. Res.* 23: 275-285.
- Sorensen F, 1994. Genetic Variation and Seed Transfer Guidelines for Ponderosa Pine in Central Oregon. United States Department of Agriculture. Forest Service. Pacific Northwest Research Station Research Paper PNW-RP-47.
- Souza M D, Puntieri J G., Barthélémy D, Brion C, 2000. Bud contents and its Relation to Shoot Size and Structure in *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser (Nothofagaceae). *Annals of Botany* 85: 547-555.
- Spitze K, 1993. Population structure in *Daphnia obtuse*: quantitative genetic and allozymic variation. *Genetics* 135: 367-374.
- Spurr S H y Barnes B V, 1980. *Forest Ecology*. John Wiley and Sons, Inc. Third Edition, New York.
- Squillace A, 1974. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. *Silvae Genetica* 23: 149-156.
- Steconni M, 2006. Variabilidad arquitectural de algunas especies nativas de *Nothofagus* de la Patagonia (*N. antarctica*, *N. pumilio*, *N. dombeyi*). Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche.
- Steconni M, Puntieri J, Barthélémy D, 2010. An architectural approach to the growth forms of *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae) along an altitudinal gradient (Report). *Canadian Journal of Botany* 88 (8): 699-709.
- Steinke L, Premoli A C, Souto C y Hedrén M, 2008. Adaptive and Neutral Variation of the Resprouter *Nothofagus Antarctica* Growing in Distinct Habitats in North-Western Patagonia. *Silva Fennica* 42(2).
- Stell R G, Torrie, James H, 1992 *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. Segunda edición (primera en español). McGraw-Hill. México. 622p.
- Stern K, Roche L, 1974. *Genetics of forest ecosystems*. Nueva York, Springer-Verlag. 330 p.

- Stettler R F, and Bradshaw H D, 1994. The choice of genetic material for mechanistic studies of adaptation in forest trees. *Tree Physiol.* 14: 781–796.
- Stevens G y Fox J, 1991. The causes of treeline. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22:177-91.
- Stöcklin J, Kuss P, Pluess A, 2009. Genetic diversity, phenotypic variation and local adaptation in the alpine landscape: case studies with alpine plant species. *Bot. Helv.* 119:125–133.
- Suárez M, Márquez M , 2007. A Toarcian retro-arc basin of Central Patagonia (Chubut), Argentina: Middle Jurassic closure, arc migration and tectonic setting. *Revista Geológica de Chile*, 34, 63–79.
- Sultan S, 2003. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution y development* 5:1, 25-33.
- Sun O J, Sweet G B, Whitehead D y Buchan G , 1995. Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. *Tree Physiology* 15: 629-638.
- Sveinbjornsson B, 2000. North American and European treelines: external forces and internal processes controlling position. *Ambio* 29: 388–395.
- Tajan P, 1989. Crecimiento y resistencia a la sequía de ocho procedencias de Raulí (*Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst.), durante el segundo período vegetativo de Valdivia. Tesis, Ingeniero Forestal, Fac. de Cs. Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- Taylor y Francis A S, part of the Taylor y Francis Group. 2003. Genetic Parameters of Wood, Fibre, Stem Quality and Growth Traits in a Clone Test with *Betula pendula*. *Scandinavian Journal of Forest Res.* 18: 103-110.
- Tejera L, Mondino V, Schinelli T, 2008. Producción de plantas de lenga en contenedores. *Econothofagus*. Segunda reunión sobre *Nothofagus* en la Patagonia. P 325.
- Thorpe R S, 1987. Geographic variation a synthesis of cause, data, patterns and congruence in relation to subspecies, multivariate analysis and phylogenesis. *Boll. Zool.* 54: 3-11.
- Till-Bottraud I, Fajardo A, Rioux D, 2012. Multi-stemmed trees of *Nothofagus pumilio* second-growth forest in Patagonia are formed by highly related individuals. *Ann Bot* 2012. 905-913.
- Timmis R, Flewelling J, Talbert C, 1994. Frost injury prediction model for Douglas-fire seedling in the Pacific Northwest. *Tree Physiol.* 14: 855-869.
- Ton-That T, Singer B, Mörner N.A y Rabassa J, 1999. Datación por el método $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ de lavas basálticas y geología del Cenozoico Superior en la región del Lago Buenos Aires, provincia de Santa Cruz, Argentina. *Asociación Geológica Argentina, Revista* 54, 333–352. Buenos Aires.
- Torres-Díaz C, Ruiz E, González F, Fuentes G, y Caviaras L, 2007. Genetic Diversity in *Nothofagus alessandrii* (Fagaceae), an Endangered Endemic Tree Species of the Coastal Maulino Forest of Central Chile. *Annals of Botany* 100: 75–82.
- Tortorelli L, 2009. Maderas y Bosques Argentinos. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires Argentina.

- Tranquillini W, 1979. Physiological ecology of the alpine timberline. Tree existence at high altitudes with special references to the European Alps, Ecological Studies 31. Springer, Berlin.
- Trombotto D 2000. Survey of Cryogenic Processes, Periglacial Forms and Permafrost Conditions in South America. Revista do Instituto Geológico, São Paulo, 21(1/2): 33-55.
- UTHSCSA, Image Tool for Windows versión 3.00, Development Team: Don Wilcox, Brent Dove, Doss McDavid Greer, Copyright 1995-2002, The University of Texas Health Science Center in San Antonio.
- Varela S, Fernández M E, Gyenge J, Aparicio A, Bruzzone O, y Schlichter T, 2010. Physiological and morphological short-term responses to light and temperature in two *Nothofagus* species of Patagonia, South America. *Photosynthetica* 50: 1-13.
- Vaughton G y Ramsey M, 1998. Sources and consequences of seed mass variation in *Banksia marginata* (Proteaceae). *Ecology* 86: 563-573.
- Verdú M. y García-Fayos, 1996. Nucleation processes in a Mediterranean bird-dispersed plant. *Functional Ecology* 10: 275–280.
- Verdú M. y García-Fayos P, 2003. Frugivorous birds mediate sex-biased facilitation in a dioecious nurse plant. *Journal of Vegetation Science* 14: 35–42.
- Verdú M, Villar-Salvador P y García-Fayos P, 2004. Gender effects on the post-facilitation performance of two dioecious *Juniperus* species. *Functional Ecology*, 18, 87-93.
- Vetaas O R, 2001. Realized and potential climate niches: a comparison of four *Rhododendron* tree species. *J. Biogeogr.* 29: 545–554.
- Villagran C, 1991. Historia de los bosques templados del sur de Chile durante el Tardiglacial y Postglacial. *Rev. Ch. Hist. Nat.*, 64: 447-460.
- Villagrán C y Armesto J J, 1993. Full and late glacial paleoenvironmental scenarios for the west coast of southern South America. *Earth System responses to Global Change. Contrasts Between North and South America* (ed. by H. A. Mooney, E. R. Fuentes and B. I. Kronberg), pp. 195-207. Academic Press, New York.
- Villagrán C, Moreno P, Villa R, 1996 Antecedentes palinológicos acerca de la historia cuaternaria de los bosques chilenos. *Ecología de Los Bosques Nativos de Chile* (ed. by J. J. Armesto, C. Villagrán and M. K. Arroyo), pp. 51-70. Editorial Universitaria, Santiago.
- Vittase Y, Delzon S, Bresson C, Michalet R y Kremer A, 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(7): 1259-1269.
- Walters M, y Reich P, 2000. Seed size, nitrogen supply, and growth rate affect tree seedling survival in deep shade. *Ecology* 81:1887–1901.
- Wardle P, 1971. An explanation for alpine timberline. *NZ J Bot.* 9: 371-402.
- Wardle, 1973. New Zealand timberline. *Arctic and Alpine Research*. 5 Proceedings of the Symposium of the International Geographical Union Commission on High altitude Geoecology: 127-135.

- Wardle P, 1988. Effects of glacial climates on floristic distribution in New Zealand 1. A review of the evidence. *New Zealand Journal of Botany* Vol. 26: 541-555.
- Wells O y Snyder EB, 1976. Longleaf pine half-sib progeny test. *Forest Science* 22, 404- 406.
- Wener J, 1986. Determinación de períodos óptimos de estratificación para semillas de diferentes procedencias de Raulí. Tesis, Fac. De Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile.
- Wheeler N C, Jech K S, Masters S A, O'Brien C J, Timmons D W, Stonecypher R, Lupkes A, 1995. Genetic variation and parameter estimates in *Taxus brevifolia* (Pacific yew). *Canadian Journal of Forest Research* 25, 1913-1927.
- Wenzens G, 1999. Fluctuations of Outlet and Valley Glaciers in the Southern Andes (Argentina) during the Past 13,000 Years. *Quaternary Research* 51, 238-247.
- Whitlock M, Phillips P 2001. Drift: Introduction, en *Encyclopedia of life sciences*. John Wiley y Sons.
- Whitlock C, Bianchi M M, Bartlein P, Markgraf V, Marlon J, Walsh M, McCoy N, 2006. Postglacial vegetation, climate, and fire history along the east side of the Andes (lat 41-42.5°S), Argentina. *Quaternary Research* 66: 187-201.
- White T, Adams T, Neale D, 2007. *Forest Genetics*. CAB International, USA.
- Wilcox M y Ledgrad J, 1987. Provenance variation in the New Zealand species of *Nothofagus*. *New Zealand Journal of Ecology* 6: 19-31.
- Willson MF, Traveset A, 2000. The ecology of seed dispersal. In: Fenner M (ed) *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, pp 85-110.
- Wilson B, 2000. Apical control of branch growth and angle in woody plants. *American Journal of Botany* 87: 601-607.
- Winchester V, Harrison S, 1996. Recent Oscillations of the San Quintin and San Rafael Glaciers, Patagonian Chile. *Geografiska Annaler* 78A, 35-49.
- Winkworth R, Steven J, Wagstaff S, Glenny D, Peter J y Lockhart P, 2005. Evolution of the New Zealand mountain flora: Origins, diversification and dispersal. *Organisms, Diversity & Evolution* 5: 237-247.
- Wisconsin Phenological Society. 2003. *Manual of Phenological Observers*.
- Wirght J W, 1976. *Introduction to forest genetics* New York, San Francisco, London: Ed. Academic Press, 463 pp.
- Yang R, Yeh F, y Yanchukt A, 1996. A comparison of isozyme and quantitative genetic variation in *Pinus contorta* ssp. *latifolia* by FsT. *Genetics* 142: 1045-1052.
- Young A.G., Brown A.H.D, Murray B.G, Thrall P.H, Miller C.H, 2000. Genetic erosion, restricted mating and reduced viability in fragmented populations of the endangered grassland herb *Rutidosia leptorrhynchoides*. Young A G, Clarke G.M. (Eds.), *Genetics, demography and viability of fragmented populations*, Cambridge University Press, Cambridge (2000), pp. 335-359
- Zobel B y Talbert , 1994. *Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales*. North Carolina State University. Editorial Limusa, 544 páginas.