

Especies forestales nativas patagónicas

Programa de Conservación y Utilización de los Recursos Genéticos

La conservación de los recursos genéticos forestales es la base que sostiene la evolución y el uso prolongado de los beneficios directos e indirectos de los bosques en el tiempo. Hace 10 años, el INTA inició un programa de conservación y utilización de los recursos genéticos de especies forestales nativas patagónicas que pretende protegerlas adecuadamente y llevarlas al cultivo

● Dr. Leonardo Gallo ,
Dra. Paula Marchelli,
Dr. Mario Pastorino,
Téc. Ftal. Fernanda
Izquierdo
e Ing. Ftal. María
Marte Azpilicueta
INTA Bariloche, Río
Negro

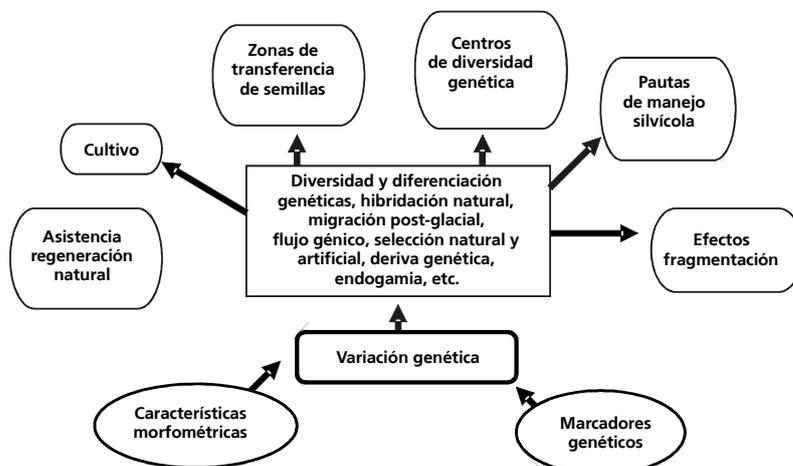
Los bosques constituyen el ecosistema terrestre más complejo. Los árboles son las especies centrales de ese ecosistema y los organismos que presentan la mayor diversidad genética. Estos poseen características particulares como longevidad, amplia y variada distribución geográfica, exposición a ambientes extremos y variables durante su vida, entre otras, que los define como el paradigma de la conservación.

Conservar la diversidad genética de las poblaciones forestales adquiere vital importancia para las mismas, ya que constituye el material base de la evolución en general y de la adaptabilidad a los cambios ambientales en particular. Ante las predicciones de cambios climáticos globales y su probable efecto sobre organismos tan longevos, la conservación de la diversidad genética adquiere particular relevancia. Por otro lado, mantener la diversidad genética resulta indispensable en el aprovechamiento productivo sustentable de los recursos genéticos, tanto en el manejo de bosques nativos como en el mantenimiento de programas

de mejoramiento estables en el largo plazo.

En el año 1993, la Unidad de Genética Forestal de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del INTA formuló el primer programa de conservación y utilización de los recursos genéticos forestales patagónicos. En estrecha colaboración con la Administración de Parques Nacionales (APN) y, en menor medida, con los servicios forestales provinciales y algunas comunidades aborígenes se comenzaron a desarrollar diferentes actividades. El primer paso fue conocer el grado y la distribución de la variación genética así como los principales procesos evolutivos que influyen sobre ella. Se trata de adquirir ese conocimiento analizando la variación de características fenotípicas medidas en las plantas en ensayos de campo de orígenes (descendencia de poblaciones naturales) y pruebas de progenie (familias) y la de marcadores genéticos bioquímicos y moleculares (isoenzimas, PCR-RFLP, Microsatélites, SNPs en ADN nuclear y de organelas). A través de la información integra-

● Figura 1. Esquema parcial de las herramientas, temas y objetivos del programa de conservación y utilización de los recursos genéticos forestales patagónicos.



da que brindan los conceptos teóricos y las herramientas analíticas de la genética evolutiva, poblacional, cuantitativa y molecular se pretende conocer mejor algunos procesos genéticos de importancia evolutiva y para la conservación y utilización sustentable del recurso.

Los bosques nordpatagónicos poseen una gran heterogeneidad ambiental, producto de un ambiente montañoso, dentro de uno de los gradientes pluviométricos más drásticos del mundo. A ello se suma la unidireccionalidad del viento en sentido Oeste-Este, durante el momento de la polinización, cuencas lacustres post-glaciarias orientadas en la misma dirección y gran fragmentación de las poblaciones arbóreas. Estas particularidades definen como de gran importancia no sólo el conocimiento de la diversidad y diferenciación genéticas de las poblaciones, sino también de algunos procesos genéticos de importancia evolutiva como el flujo génico, la deriva genética, la endogamia, la selección natural por estrés hídrico y la hibridación natural interespecífica.

La estructura fundiaria de estos bosques está caracterizada de modo particular por las grandes superficies de tierras fiscales provinciales y nacionales (Parques Nacionales) y por los minifundios. Ello determina que el aporte tecnológico del programa esté orientado, por un lado, a ubicar centros de alta diversidad genética priorizables como áreas de protección y a definir pautas de manejo silvícola que contemplen aspectos genéticos y, por otro, a seleccionar material de algunas de estas especies para su cultivo dentro o fuera de su área de distribución natural. Madera de alta calidad y de rápido crecimiento, como es la de algunas especies del género *Nothofagus*, constituiría un material ideal para integrar al sistema productivo de pequeños productores. Las plantaciones de pinos introducidos pueden ser utilizadas para brindar la media sombra que requiere la mayoría de las especies de nativas durante los primeros años de vida.

Las especies forestales nativas poseen en general buena calidad de madera. Aquellas con las que se

● *Figura 2. Zimograma del sistema IDH en embriones de semillas de *Austrocedrus chilensis* mostrando individuos homocigotas para ambos alelos (1 banda intensa) y heterocigotas (3 bandas).*



comenzó a trabajar, se seleccionaron sobre la base de las características de su estatus de conservación (explotación pasada, riesgo de extinción de poblaciones, características y tamaño de su área de distribución natural, etc.) o por su importancia socio-económica o velocidad de crecimiento. En una primera etapa, las especies elegidas fueron: *Nothofagus nervosa* (Raulí), *Nothofagus obliqua* (Roble ó Roble Pellín), *Austrocedrus chilensis* (Ciprés de la Cordillera) y *Araucaria araucana* (Pehuen). Recientemente se iniciaron trabajos de investigación y desarrollo tecnológico con *Nothofagus pumilio* (Lenga) y *N. antarctica* (Ñire).

CIPRÉS DE LA CORDILLERA

Entre las especies nativas de los bosques andino-patagónicos se destaca el Ciprés de la Cordillera (*Austrocedrus chilensis*) como la conífera de mayor potencialidad productiva. Con el fin de elaborar una estrategia de conservación y uso de sus recursos genéticos se comenzó el estudio de esta especie llevando a cabo una caracterización genética de las poblaciones naturales distribuidas en la Argentina. Se eligió para esto a las isoenzimas, por tratarse de marcadores genéticos correspondientes a genes funcionales y por tal motivo susceptibles de captar efectos de selección natural (Fig. 2). Un abrupto gradiente de precipitaciones, así como un extendido gradiente latitudinal, caracterizan el área de distribución argentina de esta especie. Conforme a este patrón, se muestrearon 15 poblaciones captando ambos gradientes. Se analizaron 12 marcadores isoenzimáticos previamente determinados, y se comprobó un nivel bajo de variación genética dentro y entre poblaciones.

Asimismo se encontró un patrón de distribución de la diversidad genética que no concuerda con el gradiente de precipitación, aunque sí con una tendencia a seguir el gradiente latitudinal, resultando más variables las poblaciones del norte. En contra de lo que se esperaba desde el punto de vista teórico, los mayores niveles de variación genética fueron encontrados en las poblaciones marginales esteparias. Se trata de pequeños bosques aislados en medio de la estepa patagónica, vegetando en forma natural bajo condiciones de gran aridez (hasta 330 mm de precipitación media anual) y lejos de las masas boscosas más conspicuas ubicadas hacia la Cordillera, entre las isoyetas de 800 a 1.500 mm (Figura 3). Estos resultados complementados con datos palinológicos de la región, permitieron formular la hipótesis de sobrevivencia de la especie durante las últimas glaciaciones, en varios pequeños refugios situados al

● *Figura 3 Población húmeda mixta de Ciprés de la Cordillera y Coihue (Nothofagus dombeyi) a orillas del Lago Puelo, Chubut.*



este de los Andes, mayormente hacia el norte de su distribución actual.

Las poblaciones esteparias fueron tomadas consecuentemente como objeto de un siguiente estudio, en el cual se llevó a cabo el relevamiento de una extensa área para detectar su ubicación. De los bosquetes hallados se seleccionaron 10 para probar diferencias entre ellos y a su vez conformar una población base para futuros programas de mejoramiento de la especie. A través de su caracterización genética con isoenzimas, se comprobó que bosquetes vecinos pueden diferir en sus estructuras genéticas tanto o más que en poblaciones separadas por grandes distancias, probablemente por efecto de la deriva genética y flujo génico restringido. Para estudiar la variación en caracteres adaptativos se estableció una red de ensayos de campo de ciprés (14 hasta la fecha)

● *Figura 4. Vivienda de poblador Mapuche en bosque de Araucaria araucana*



que incluye a unos 20 orígenes y más de 300 progenies. Estos ensayos se ubican en predios privados y públicos desde el norte de Neuquén hasta el norte de Chubut. Sobre ellos se miden caracteres morfométricos (desde la capacidad germinativa hasta el crecimiento en altura, haciendo un seguimiento anual).

PEHUEN

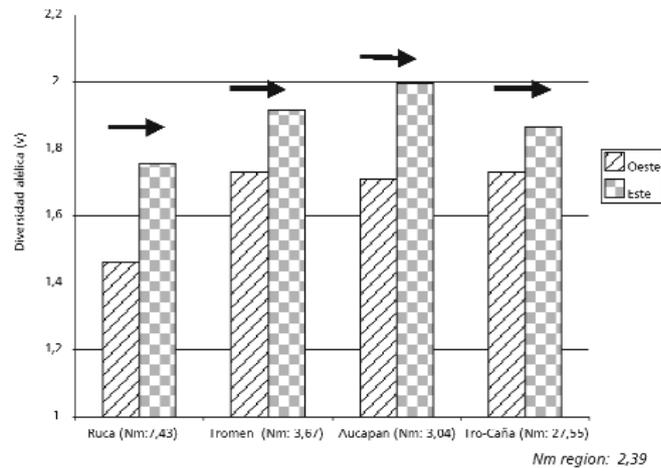
Esta especie posee un alto valor de conservación debido a su restringida distribución, lento crecimiento y particular susceptibilidad al impacto humano. Desde tiempos ancestrales los bosques de *Araucaria araucana* (Molina) K.Koch poseen un importante significado en el acervo cultural y socio-económico de los pueblos originarios que los habitan. Actualmente la ganadería extensiva, la recolección de leña y semillas de Pehuen (piñones) son las principales actividades en las que se basa la economía de algunas Comunidades Mapuches que viven dentro y del bosque (Fig. 4).

El piñon es un recurso importante ya que es utilizado tanto para consumo humano como para suplemento forrajero del ganado, y también es comercializado en algunos mercados locales. En general, esta especie se distribuye siguiendo un gradiente natural dado por las precipitaciones y la altitud. A esto se agregan otros factores que también influyen en dicha distribución tales como el fuego, la tala, el pastoreo, etc. En el oeste, la distribución se encuentra comúnmente asociada con distintas especies del género *Nothofagus* y hacia el este se distribuye en poblaciones puras, fragmentadas, en donde la regeneración por semillas es prácticamente inexistente. La fragmentación de sus poblaciones esteparias orientales, junto con el uso intensivo del que son objeto, han modificado la dinámica de regeneración y probablemente algunos procesos genéticos de importancia para la conservación, como el flujo génico (conectividad entre poblaciones). Asimismo, el marcado aislamiento genético podría haber generado una alta diferenciación entre poblaciones.

En esta especie se analizaron algunos procesos genéticos en 15 poblaciones con diferentes intensidades de uso y a lo largo de un gradiente medioambiental (precipitaciones). Una estimación indirecta del flujo génico en pares de poblaciones orientados según el sentido de los vientos predominantes (Oeste-Este) indica que las poblaciones orientales fragmentadas poseen una alta diversidad genética debido, probablemente, a este proceso (Fig. 5).

En este sentido, parte de la semilla analizada se

● Figura 5. Relación entre la diversidad alélica (v) y la estimación indirecta del flujo génico (Nm) en cuatro pares de poblaciones del área sur de la distribución natural de *Araucaria araucana* orientadas en sentido Oeste-Este



utilizó para la producción de plantines para ensayos de orígenes y pruebas de progenie (9 hasta la fecha) donde se evalúan características de importancia adaptativa. Este estudio forma parte de un amplio análisis integrado de aspectos genéticos, ecológicos y socioeconómicos desarrollado en tres comunidades Mapuches y con la participación de distintas instituciones provinciales, nacionales e internacionales. El enfoque sistémico de todos estos aspectos permitió comprender mejor las interacciones importantes para la sostenibilidad del sistema. La excesiva carga ganadera constituye el principal factor de degradación ambiental del ecosistema.

La alta diversidad genética del material seminal de las poblaciones esteparias lleva a recomendar planes de restauración ecológica que consideren la plantación con semilla del mismo sitio. En tal sentido, se comenzó con la plantación de una red de ensayos genéticos (progenies y procedencias) dentro y fuera de las Comunidades, tanto en bosquetes fragmentados como bajo forestaciones de pinos, que sirven a su vez de parcelas demostrativas de restauración en sitios con problemas de regeneración natural.

RAULÍ

El Raulí (*Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. Et Mil.) es una especie de gran valor ecológico y económico. Su madera de alta calidad es muy apreciada en el mercado lo que provocó un uso desmesurado en el pasado. Con el propósito de conservar la especie y promover su cultivo fuera del Parque Nacional se comenzó un programa para estudiar su diversidad genética. En el marco de dicho programa, y en conjunto con la APN, se recolectaron semillas de 29 poblaciones durante cuatro años

consecutivos en toda el área de distribución en la Argentina. Las características de la región sugieren una distribución de la variación genética en sentido latitudinal, con diferenciación entre cuencas lacustres tanto por el aislamiento geográfico como por la posibilidad de flujo génico unidireccional dentro de cada cuenca, que homogenice su variación. Las semillas cosechadas de cada población se utilizaron para estudios de germinación y producción de plantas en vivero, así como para análisis en laboratorio con marcadores genéticos.

En primer lugar se analizaron características seminales como producción, peso y daño ocasionado por insectos entre poblaciones y entre años. Se observó una gran variación en todas las características y también se encontró que la producción de semillas tiene una periodicidad bianual con años de producción extraordinaria. Estos resultados indicaron que los mejores años para estudios de genética poblacional como para producción en vivero, son aquellos en que la producción es abundante. Por otro lado, se analizó la variación genética con marcadores génicos isoenzimáticos, los cuales revelaron altos niveles de variación con las poblaciones más diversas situadas hacia el oeste de la distribución en la Argentina y el mayor porcentaje de hibridación con *N. obliqua* hacia el este. En tal sentido, las poblaciones del oeste presentaron una mayor cantidad de alelos raros y mayor heterocigosis. A su vez, la población más diferenciada fue la de Hua Hum, situada al oeste de la cuenca del lago Lácar. Con respecto a la hibridación interespecífica con Roble, mediante el empleo de marcadores genéticos fue posible monitorear este proceso evolutivo de importancia en todos los *Nothofagus*, determinándose la dirección de la hibridación, la tasa de autofecundación, la proporción de híbridos F1 y

● *Figura 6. Ensayo genético y plantación demostrativa de Araucaria araucana en una población fragmentada con problemas de regeneración natural. En sectores sin cobertura es necesario proteger las plántula de la insolación directa.*



retrocruzan en diferentes poblaciones, etc. Con toda esta información se formuló un modelo conceptual sobre la hibridación natural entre estas especies que puede ser extendido a otras especies latifoliadas montanas. Por último, también se analizó la variación con marcadores de ADN de cloroplasto, que por sus características (tasa de evolución altamente conservada y herencia uniparental (materna) y clonal) permiten estudiar la historia postglacial de las especies e inferir posibles refugios glaciares. Además, en este caso se estudiaron 15 poblaciones de Chile. Con estos marcadores se observaron diferencias entre las Cordilleras de la Costa y de los Andes y, en esta última, dos grandes grupos de poblaciones separadas en sentido norte-sur. La mayor variación se detectó en la misma población que con las isoenzimas (Hua Hum) (Fig. 7).

● *Figura 7. Patrón de bandas encontrado en diferentes poblaciones de Raulí en el fragmento amplificado con el primer FV y digerido con la enzima TaqI. Las calles de los extremos corresponden a marcadores de peso molecular conocido. Se puede observar el polimorfismo en la diferencia de migración en la segunda banda (contando desde arriba). Las calles 3, 4, 9 y 10, poseen bandas de mayor tamaño (menor migración) y corresponden al haplotipo Norte de la especie.*



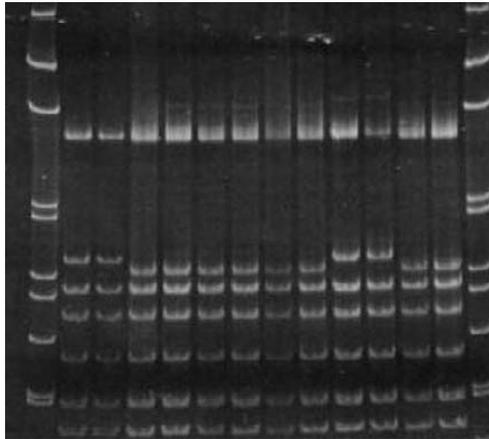
Estos resultados sugieren la existencia de refugios al este de la Cordillera de los Andes y destacan la importancia de esta población tan variable desde el punto de vista de su conservación. Dado que la misma se halla ubicada en un Área de Reserva del Parque Nacional Lanín, con aprovechamiento del recurso, autoridades de la APN elevaron una disposición para el cambio de estatus de esta zona que evita la corta de árboles. Este sería el primer caso en el país, y uno de los pocos en el mundo, en donde el estatus de protección de un área boscosa tiene en cuenta resultados de diversidad genética poblacional.

Las plantas obtenidas en vivero se instalaron en una red de ensayos de progenies y orígenes (12 hasta la fecha) en distintos sitios dentro y fuera del rango de distribución de la especie (Fig. 8).

ROBLE

La problemática que presenta la conservación y uso de *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst., Roble Pellín, se centra en la alta fragmentación natural que tienen las poblaciones de esta especie en el lado argentino. Su ocurrencia coincide generalmente con cuencas lacustres y fluviales separadas, en algunos casos, por más de 200 km (Fig. 9). Con el objetivo de determinar el patrón y nivel de variación genética de estos bosques se llevó a cabo un estudio de diversidad y diferenciación a través de marcadores isoenzimáticos en 14 poblaciones argentinas de la especie. Este fue el primer paso para la futura formulación de pautas de con-

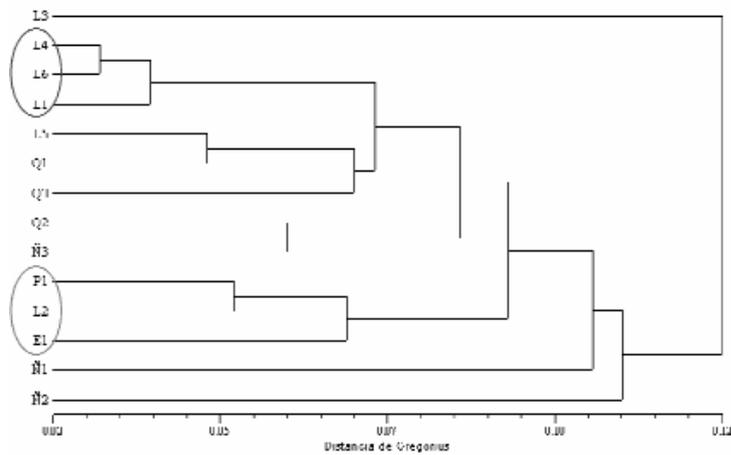
- *Figura 8. Ensayo de orígenes de Raulí de cuatro años de edad bajo plantación de Pino ponderosa*



- *Figura 9. Población oriental y aislada de Roble mezclada con Ciprés de la Cordillera en la localidad de Pilo-li, a orillas del Río Aluminé*



- *Figura 10. Diferenciación de las poblaciones argentinas de Roble de acuerdo al análisis de agrupamiento utilizando una matriz de distancias genéticas.*



servación y manejo de los mismos. Como complemento, y con el objetivo particular de inferir la localización de posibles refugios glaciares y rutas de recolonización de la especie, se realizó un análisis de ADN de cloroplasto.

Los resultados arrojaron que, en contraste con lo esperado, las poblaciones no mostraron un patrón latitudinal relacionado con su distribución fragmentada. Las del este de la distribución presentaron la mayor diversidad genética y conformaron un grupo definido (Fig. 10) (P1, L2, E1) así como tres poblaciones de la cuenca Lácar (L1, L4, L6). Los dos únicos alelos raros hallados en el estudio se encontraron en la población de la cabecera Este del Lago Quillén, lo que refuerza el resultado anterior.

La variación encontrada en ADN de cloroplasto por medio de la técnica PCR-RFLP, en un muestreo realizado en toda el área de distribución natural de la especie (Chile y Argentina), mostró tres haplotipos distintos en el sector chileno y dos de ellos en el lado argentino. Mientras los bosques de Roble

en el lado argentino presentaron una definida estructura latitudinal norte - sur, en el sector chileno, y posiblemente en relación con su más amplia y continua distribución, el patrón estructural resultó más complejo. Estos resultados permiten inferir la existencia de refugios glaciares múltiples para la especie, incluso al Este de la Cordillera de los Andes. Hasta el momento, en el lado argentino, las poblaciones de la especie prioritarias para la conservación serían las ubicadas al Este, debido a sus elevados niveles de variación genética. La conectividad y flujo génico entre y dentro de esas poblaciones podrán estudiarse con los nuevos marcadores hipervariables (microsatélites), que han sido determinados para ésta y otras especies del género *Nothofagus* por investigadores del grupo.

De manera reciente, se ha comenzado a instalar ensayos de progenies y orígenes de la especie a campo (cuatro hasta la fecha), con el fin de evaluar características de tipo adaptativas y de interés económico inmediato, como información complementaria a la obtenida en laboratorio.

Bibliografía

- Gallo L. 2004.- Modelo conceptual sobre la hibridación natural interespecífica entre *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua*. Variación intraespecífica en especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Donoso C., Premoli A., Gallo L. Ipinza R Eds. Editorial Universitaria, Chile. Pp: 397-408.
- Marchelli, P and Gallo, L.A 2004: The combined role of glaciation and hybridization in shaping the distribution of the genetic variation in a Patagonian southern beech. *J. of Biogeography* 31 (3), 451-460.
- Marchelli, P. and Gallo, L. 2001: Genetic diversity and differentiation in a southern beech subjected to introgressive hybridization. *Heredity* 87 (2001), 284-293.
- Pastorino MJ & Gallo LA, 2002: Quaternary evolutionary history of *Austrocedrus chilensis*, a cypress native to the Andean-Patagonian Forest. *J. Biogeogr.* 29: 1167-1178.
- Young A., Boshier D. and Boyle, T. (eds.) 2000: Forest conservation genetics. Principle and practice. CSIRO Publishing-CABI Publishing. 352 pp.