



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE
CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO BARILOCHE

Genética de la conservación de cactáceas:
un análisis del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*
a distintas escalas espaciales y temporales

Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctor en Biología

Autora:

Lic. VILMA BEATRIZ QUIPILDOR

Directora:

Dra. Andrea C. Premoli

Co-director

Dr. Pablo Ortega-Baes

2017

Parao en la loma
Llenito de espinas
Así es el cardón

Fierito por fuera
Ternuras adentro
Lo mesno que yo

Cuando llega el tiempo
El cardón más pobre
Presenta una flor

Por eso i' venido
Domando caminos
Buscándote a vos

Guapeando a la nieve
Guapeando a los vientos
Así es el cardón

Solito y arisco
Rodeau de silencio
Lo mesmo que yo

Así es el cardón
Lo mesmo que yo

Atahualpa Yupanqui

Resumen

La historia geológica y climática del noroeste Argentino presenta fuertes cambios producto de los constantes procesos orogénicos y climáticos ocurridos durante el Neógeno y períodos glaciares e interglaciares del Cuaternario que afectaron la distribución de poblaciones de plantas y sus patrones de diversidad genética, como es el caso de *Echinopsis terscheckii*. El objetivo general de este estudio fue evaluar tanto los niveles y la distribución de la variabilidad genética en *E. terscheckii* a distintas escalas espaciales, utilizando distintos tipos de marcadores moleculares como así también evaluar su papel como especie indicadora de la diversidad taxonómica de las cactáceas del noroeste de Argentina. La hipótesis planteada es que los factores históricos y ecológicos se verán reflejados en la estructura genética a distintas escalas espaciales de las poblaciones de *E. terscheckii*, una especie de cactus columnar que caracteriza los ambientes áridos y semiáridos del sur de los Andes Centrales de Sudamérica, y cuyos patrones de diversidad genética pueden ser utilizados como sustituto de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae. A escala regional, se utilizaron polimorfismos genéticos de tres regiones no codificantes del ADN del cloroplasto y una región no codificante del ADN nuclear para evaluar el rol que tuvieron los eventos orogénicos y climáticos en modelar el acervo genético de *E. terscheckii*. También se exploraron los efectos regionales de las oscilaciones climáticas del Cuaternario en base a modelos de nicho ecológico (Último Máximo Glaciar, Holoceno-Medio y presente), y sobre el acervo genético de esta especie, utilizando 15 loci isoenzimáticos. A escala local fina, se analizó el impacto de la cobertura vegetal y variables climáticas en la estructura genética espacial de las poblaciones en base a muestreos espacialmente explícitos en diferentes climas y tipos de vegetación en cuatro sitios utilizando marcadores isoenzimáticos. Para identificar los sitios prioritarios para la conservación *in situ* de *E. terscheckii* y evaluar su rol como sustituto de la diversidad taxonómica de cactáceas, se utilizaron modelos de distribución y algoritmos de optimización. En relación con las actuales amenazas antrópicas, se analizaron los efectos del cambio en el uso del suelo mediante modelos de transición y la vulnerabilidad de la especie a tales cambios. Los análisis a escala regional mediante análisis filogeográficos muestran la presencia de dos variantes haplotídicas estructuradas latitudinalmente al norte-sur de los 27°S. Los modelos de nicho mostraron dos áreas con una mayor estabilidad en el sur de la distribución. Los patrones isoenzimáticos reflejan las oscilaciones climáticas del Cuaternario presentando las poblaciones de latitudes meridionales una mayor diversidad genética, lo cual refleja la persistencia en poblaciones de mayor tamaño durante el Último Máximo Glacial, mientras que las poblaciones septentrionales con menor diversidad genética sufrieron efectos de deriva y aislamiento. Estos resultados muestran la divergencia entre grupos norte y sur de las poblaciones de *E. terscheckii* como un reflejo de la persistencia a largo plazo en toda el área de distribución, a través de los ciclos climáticos, viéndose reforzada esta divergencia por la presencia de una barrera orográfica en las latitudes medias. A escala local, en ambientes más áridos la facilitación promueve el establecimiento debajo de la vegetación formando pequeños manchones que resulta en una estructura familiar de escala fina como en las localidades de Andalgala y Valle Fértil. En los bosques xerófilos climáticamente más benignos, la competencia por los recursos, por ejemplo la luz, resulta en individuos dispersos y, por tanto, en vecindarios de escala gruesa como en la localidad de Las Higuierillas. Los métodos de optimización establecieron un mínimo de seis poblaciones necesarias para conservar toda la diversidad genética conocida de *E. terscheckii* y una alta proporción de especies de la familia Cactaceae que estuvieron representadas en las reservas genéticas de *E. terscheckii*, siendo superior al 90 % para todas las metas fijadas *a priori*. Esto implica que la

diversidad genética de la especie focal tuvo un buen desempeño como sustituto de la diversidad taxonómica. El modelo más explicativo para el cambio del uso de la tierra, incluyó a las variables de elevación y distancia a caminos. El análisis de vulnerabilidad mostró que sólo un 1,8% del área de distribución de la especie en la provincia de Salta se encuentra sujeta a un alto riesgo de cambio de uso, siendo significativa la pérdida de diversidad genética en las poblaciones ubicadas en las tierras afectadas a la actividad productiva en relación a los potenciales de cambio de uso de suelo. En este estudio se encontró que tanto la diversidad como la estructura genética actual de *E. terscheckii* es el resultado complejo de la combinación de procesos actuantes a distintas escalas espaciales y temporales.

Abstract

The geological and climatic history of northwestern Argentina presents strong changes as a result of orogenic and climatic processes that occurred during the Neogene and glacial and interglacial periods of the Quaternary that affected the distribution of plant populations and their genetic diversity patterns, as is the case of *Echinopsis terscheckii*. The general objective of this study was to evaluate both the levels and distribution of genetic variability in *E. terscheckii* at different spatial and temporal scales using different types of molecular markers as well as to evaluate its role as a surrogate of the taxonomic diversity of other cacti from northwestern Argentina. The hypotheses tested is that historical and ecological factors will be reflected in the genetic structure at different spatial scales of the populations of *E. terscheckii*, a species of columnar cactus that characterizes the arid and semi-arid environments of the South Central Andes of South America and whose genetic diversity can be used as a substitute for the taxonomic diversity of the Cactaceae family. At the regional level, we used genetic polymorphisms from three non-coding regions of the chloroplast DNA and one region of nuclear DNA to evaluate the role of orogenic and climatic events modeling the gene pool of *E. terscheckii*. We also explored the regional effects of Quaternary climatic oscillations on the genetic pool of this species using fifteen isozyme loci. We modeled the potential past (Last Glacial Maximum and Mid-Holocene) and present distributions using ecological niche models. At the local level, we analyzed the impact of vegetation cover and climatic variables on the fine-scale genetic structure of populations based on spatially explicit sampling of individuals under different climates and vegetation types at four sites using isoenzymatic markers. To identify the priority sites for the *in situ* conservation of *E. terscheckii* and to evaluate the role of genetic diversity as a substitute for taxonomic diversity of cactaceae, we used distribution models and optimization algorithms. In consideration of the current anthropogenic threats, the effects of the change in the use of the soil through models of potential transition and the vulnerability of the species to such changes were analyzed. Regional analyzes using phylogeographic methods show the presence of two latitudinally structured haplotype variants north and south of 27 °S. The niche models showed two areas with greater stability in the south of the distribution. Isozyme patterns reflect the climatic oscillations of the Quaternary and southern populations had greater genetic diversity, which reflects a climatic stability during the Last Glacial Maximum, whereas northern populations with less genetic diversity suffered drift effects and isolation. These results show the divergence between northern and southern populations of *E. terscheckii* as a reflection of long-term persistence along the range, through the climatic cycles. This divergence was reinforced by the presence of a geographical barrier in mid-latitudes. At the local level, in more arid environments facilitation promotes establishment under the vegetation cover producing a fine-scale family structure as in the localities of Andalgalá and Valle Fértil. . Under climatically benign xerophilous forests, competition for resources, such as light, results in scattered individuals and therefore in large-scale neighborhoods such as at Las Higuierillas. The optimization methods established a minimum of six populations necessary to conserve all the known genetic diversity of *E. terscheckii* and a high proportion of species of the family Cactaceae were represented in the genetic pool of *E. terscheckii*, being superior to 90% for all the goals set *a priori*. This implies that the genetic diversity of the focal species performed well as a substitute for taxonomic diversity. The most explanatory model for land use change included the variables of elevation and distance to roads. The vulnerability analysis showed that only 1.8% of the range of distribution of the species in the Salta province is subjected to a high risk of change of use, being significant the loss of genetic diversity in the populations located in productive lands in relation to the potential change of land uses. In this study it was

found that both the diversity and current genetic structure of *E. terscheckii* is the complex result of the combination of processes that occurred at different spatial and temporal scales.

Índice

Resumen	1
Abstract	3
CAPÍTULO I.....	8
Introducción General.....	8
I.1 Evolución geológica y paleoclimática en los Andes Centrales.....	10
I.2 Características de los bosques secos Neotropicales	11
I.3 Origen y radiación de la familia Cactaceae.....	12
I.4 Marcadores Moleculares como herramientas en la reconstrucción de eventos históricos	14
I.5 Modelado de nicho ecológico en modelos climáticos globales pasados.....	16
I.6 Técnicas moleculares y su aplicación en conservación	17
I.7 Filogeografía en Cactáceas	18
I.8 Uso e importancia de la familia Cactaceae en acciones de Conservación	19
I.9 Sistema de estudio.....	20
I.10 Objetivos e Hipótesis generales	21
I.11 Objetivos e Hipótesis particulares.....	21
I.12 Figuras.....	23
CAPÍTULO II	28
Patrones genéticos del cactus columnar <i>Echinopsis terscheckii</i> revelan persistencia a largo plazo en las zonas áridas de los Andes subtropicales.....	28
II.1Resumen	29
II.2 Introducción.....	30
II.3 Objetivos e Hipótesis.....	31
II.4 Materiales y Métodos	32
II.5 Resultados.....	37
II.6 Discusión	40
II.7 Figuras y tablas	44
Apéndice II.1:.....	67
CAPÍTULO III	72

Efecto del clima y la cobertura vegetal en la estructura genética fina del cactus columnar <i>Echinopsis terscheckii</i>	72
III.1 Resumen.....	73
III.2 Introducción.....	74
III.3 Objetivos e Hipótesis.....	76
III.4 Materiales y Métodos.....	76
III.5 Resultados.....	82
III.6 Discusión.....	84
III.7 Figuras y tablas.....	87
CAPÍTULO IV.....	105
Áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de <i>Echinopsis terscheckii</i> y la importancia de las mismas para conservar la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae.....	105
IV.1 Resumen.....	106
IV.2 Introducción.....	107
IV.3 Objetivos e Hipótesis.....	109
IV.4 Materiales y Métodos.....	110
IV.5 Resultados.....	113
IV.6 Discusión.....	114
IV.7 Figuras y tablas.....	117
Apéndice IV.1:.....	124
CAPÍTULO V.....	127
Efectos del cambio del uso de la tierra sobre la diversidad genética del cactus columnar <i>Echinopsis terscheckii</i>	127
V.1 Resumen.....	128
V.2 Introducción.....	129
V.3 Objetivos e Hipótesis.....	130
V.4 Materiales y Métodos.....	130
V.5 Resultados.....	132
V.6 Discusión.....	133
V.7 Figuras y tablas.....	135

CAPÍTULO VI.....	138
Discusión general	138
VI.1 Discusión general.....	139
VI.2 Conclusiones Generales	142
VI.3 Implicancias para la conservación de <i>Echinopsis terscheckii</i> y aportes a la conservación de las cactáceas del Noroeste de Argentina.....	143
Agradecimientos.....	145
Bibliografía general.....	147
Trabajo de respaldo	166



La heterogeneidad ambiental, produce respuestas en los individuos, que pueden generar estructuración espacial de la variabilidad genética. En especies con distribuciones geográficas amplias, se puede predecir que dicha variabilidad ambiental podría resultar en una marcada diferenciación genética inter-poblacional en respuesta a variadas presiones de selección y/o restricciones al flujo génico debido al aislamiento de las poblaciones. Asimismo, procesos que ocurren a escalas espaciales reducidas, tales como condiciones particulares de micrositios y patrones locales de polinización y/o de establecimiento de semillas pueden afectar la demografía y generar una estructuración genética a escalas de cientos de metros (Hamrick y Nason 1996).

La estructura genética de las poblaciones está determinada por los niveles de diversidad dentro de las poblaciones y su distribución entre distintas poblaciones, la cual es el resultado de distintos procesos que han ocurrido a lo largo de la historia evolutiva de las especies (Loveless y Hamrick 1984, Hamrick et al. 1992). Entre éstos procesos se pueden mencionar los cambios climáticos ocurridos durante el Cuaternario, particularmente durante el último período glacial (Hewitt 2000, 2004). Los impactos de dichos cambios han sido estudiados en Europa, Norteamérica y Sudamérica (Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2001, Petit et al. 2002, Quiroga y Premoli 2007, Mathiasen y Premoli 2010) y en forma general se postula que las especies han respondido a las fluctuaciones climáticas dependiendo de sus características autoecológicas (Anderson et al. 2006, Premoli et al. 2010).

En los ambientes áridos y semáridos de América del Sur las fluctuaciones climáticas llevaron a proponer a Prado y Gibbs 1993 la teoría del arco pleistocénico (TAP). Estos autores explican la actual distribución fragmentada y disjunta de los Bosques Secos Estacionales Neotropicales (BSEN) como vestigios de una extensa formación boscosa y continua que puede haber alcanzado su máxima extensión durante un período climático seco-frío hace aproximadamente 18,000-12,000 BP (ver sección I.2).

Pocos trabajos han evaluado el impacto de los disturbios históricos y contemporáneos sobre el acervo genético de plantas que habitan regiones áridas y semiáridas. Las cactáceas son plantas características de estos ambientes, con poblaciones que se distribuyen en forma continua o aisladas. Las poblaciones aisladas de cactus columnares al este de Brazil han sido interpretados como fragmentos de una distribución más amplia como lo sugerido por Pennington et al. (2000).

Echinopsis terscheckii (Parmentier ex Pfeiff.) H.Friedrich & G.D.Rowley (= *Trichocereus terscheckii*), Hunt (2006), conocido vulgarmente como el "cardón del valle", es un cactus columnar endémico del noroeste de Argentina (según Hunt 2006). Se distribuye a lo

largo de amplios gradientes ambientales y altitudinales. Estas variaciones y el nivel de aislamiento geográfico tanto histórico como contemporáneo se espera hayan influido en sus características genéticas. De este modo el estudio de la variabilidad y estructura genética permitirán hacer distintos tipos de inferencias respecto a procesos que han operado a lo largo de la historia de esta especie.

I.1 Evolución geológica y paleoclimática en los Andes Centrales

La historia del levantamiento de los Andes resulta de importancia para los estudios climáticos. Autores como Broccoli y Manabe (1997), a través de modelos climáticos, indicaron que la existencia de climas áridos a latitudes medias, puede estar relacionada con la distribución moderna de la orografía. Se postula que las montañas actúan como barreras para la circulación de los vientos, conformando las llamadas “sombras de lluvias” (Raymo y Ruddiman 1992, Broccoli y Manabe 1997, Strecker et al. 2007, Garziona et al. 2008, Hoorn et al. 2010).

Si bien sedimentos de evaporitas dan cuenta de regiones con condiciones áridas en el desierto de Atacama al norte de Chile y sur del Perú a partir del Triásico tardío (Clarke 2006), se sugiere que los cambios más importantes que intensificaron la aridez preexistente fueron las elevaciones de los Andes en el Mioceno medio entre 14-11 Ma, donde se alcanzó la fase Quechua con una altura de 2.000 a 3.000 metros, generando la formación de la Puna y el desarrollo de climas secos en el lado este de los Andes. Datos sedimentológicos e isótopos de carbono sugieren que el Altiplano central se volvió más árido en los últimos 10 y 6 Ma (Garziona et al. 2008).

Durante el Plioceno tardío - Pleistoceno, conocida como fase Diaguita, se elevó la Cordillera Central de Argentina y Chile y las Sierras Pampeanas, generándose ambientes extremadamente xéricos en las laderas a sotavento (Alberdi et al. 1997, Kleinert y Strecker 2001, Ortiz-Jaureguizar y Cladera 2006). El levantamiento final de las Sierras Pampeanas es la barrera más importante que bloqueó el ingreso de los vientos húmedos provenientes del Atlántico (Alberdi et al. 1997).

Posteriormente las oscilaciones climáticas del Cuaternario contribuyeron a la expansión de las regiones áridas y semiáridas de Sudamérica (Hewitt 2000, Pennington et al. 2000). La vegetación del Cuaternario en el noroeste de Argentina analizada a través de isótopos de carbono muestran la dominancia de plantas C4 y los isótopos de oxígeno revelan una intensa evaporación del agua del suelo (Kleinert y Strecker 2001).

Se ha discutido exhaustivamente qué factores han promovido la formación de ambientes áridos en diferentes regiones de la Tierra. Particularmente el surgimiento de estos ambientes en América del Sur durante el Mioceno medio al Pleistoceno ha sido asociado con la interacción de otros factores como la separación de Sudamérica de la Antártida, la subsecuente glaciación del oeste de la Antártida y generación de la corriente circumpolar y Corriente de Humboldt (Hinojosa y Villagrán 1997, Villagrán y Hinojosa 1997, Fernández-Pacella 2015).

También se propuso que los efectos combinados de reajuste de relieve y topografía dentro de la Cordillera Oriental y el levantamiento del altiplano han provocado la desviación hacia el sur de los South American Low Level Jet (LLJ, por sus siglas en inglés) alrededor de 9-8Ma. Los LLJ determinan actualmente el control dominante sobre la estacionalidad y la cantidad de precipitación a lo largo de los flancos orientales de los Andes (Mulch et al. 2010).

Otro componente importante del sistema climático son los Westerlies (vientos del oeste del Hemisferio Sur). Las variaciones tanto en su intensidad como la posición latitudinal durante el Último Máximo Glacial (UMG) han sido propuestas como impulsores del cambio climático global debido a su influencia en la circulación del océano profundo y los cambios en el CO₂ atmosférico (Imbrie et al. 1992). Rojas et al. (2009) analizaron la circulación atmosférica mediante modelos de simulaciones de los vientos para el UMG, sugiriendo una disminución en la intensidad del viento producto de la caída de los gradientes de temperatura en la troposfera.

Estos eventos climáticos y geológicos dan cuenta de la influencia de los mismos, en el origen y distribución de las plantas de biomas áridos. Autores como Ortiz-Jaureguizar y Cladera (2006) han revisado los cambios paleoambientales en el sur de Sudamérica a través del Cenozoico, utilizando el registro fósil de los mamíferos terrestres como fuente de información. Estos autores determinaron un aumento progresivo de la aridez a partir de principios del Paleoceno al Pleistoceno tardío, donde las condiciones climáticas del sur de América del Sur han cambiado de caliente/húmedo y no estacional, a frío/seco y estacional. Durante el Cuaternario, y como consecuencia de los ciclos glaciales, las condiciones frías y secas fueron interrumpidas por periodos más cálidos y húmedos.

I.2 Características de los bosques secos Neotropicales

Los bosques secos han sido definidos de diferentes maneras (Sarmiento 1975, Murphy y Lugo 1986, Gentry 1995, Prado 2000 y Pennington et al. 2000). Según Murphy y Lugo (1986) los diversos tipos de bosques secos se determinan en su mayoría por la precipitación

anual y la estacionalidad de la distribución de las precipitaciones. Pennington et al. (2000), los describen como formaciones forestales con una precipitación anual inferior a 2.000 mm y una estación seca que varía entre 5 a 6 meses en donde las precipitaciones son menores a 100 mm.

De acuerdo con Linares-Palomino et al. (2004) y acuñando la definición de Pennington et al. 2000, se propuso la división de los bosques secos estacionales en el Neotrópico en cuatro grupos fitogeográficos (1) grupo Ecuatoriano-Peruano, (2) grupo Mesoamericano-Caribeño, (3) grupo Boliviano-Argentino y (4) Caatingas (Prado 1991). Las posibles causas de estas distribuciones disjuntas se deberían tanto al levantamiento de los Andes como a los eventos climáticos del Cuaternario (Linares- Palomino et al. 2003).

Los cambios climáticos del Cuaternario han sido propuestos como los grandes impulsores de los cambios en la distribución de los biomas de Sudamérica. De acuerdo con la Teoría Arco Pleistoceno (TAP) propuesto por Prado y Gibbs (1993), los actuales fragmentos disjuntos de los bosques secos neotropicales de Sudamérica central serían evidencia de una distribución más amplia y continua durante el Pleistoceno que han sido moldeados por períodos alternos húmedos y cálidos con ciclos fríos y secos (Pennington et al. 2000, 2009; Mayle 2004). Estos bosques secos estacionales Neotropicales (BSEN) son florística y ecológicamente diferentes de los bosques tropicales (Prado y Gibbs 1993, Prado 2000, Moggi et al. 2015). Este patrón común atraviesa el continente en forma de arco, extendiéndose desde el NE de Brasil (Caatinga) al NE Argentina y este de Paraguay, a través del Chiquitanía al NO de Argentina y SO de Bolivia y en los valles inter Andinos secos de Perú y Ecuador, con ingresos en el Gran Chaco (Fig. 1, Pág. 23). El concepto actual de los BSEN, en Sudamérica, abarca tipos de vegetación leñosa correlacionados con una fuerte estacionalidad climática, con una estación seca bien definida pero de duración muy variable.

La teoría (TAP) ha sido apoyada por la presencia de cinco especies de leguminosas leñosas (*Anadenanthera colubrina*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Pterogyne nitens*, *Amburana cearensis* y *Piptadenia viridiflora*). Sin embargo Moggi et al. (2015) mostraron la casi ausencia de *Anadenanthera colubrina* en el Chaco, mostrando así la falta de vínculos florísticos entre esta región, la Caatinga y los BSEN.

Existe un debate sobre qué proceso (vicarianza o dispersión a larga distancia) puede explicar el patrón de TAP (Pennington et al. 2000, Mayle 2004).

I.3 Origen y radiación de la familia Cactaceae

La familia Cactaceae es originaria del continente americano, siendo México y el suroeste de Estados Unidos los que albergan la mayor cantidad de especies de esta familia,

seguido por los Andes Centrales (Perú, Bolivia, sur de Ecuador, noreste de Chile y noroeste de Argentina) y este de Brasil (Hernández y Godínez 1994). Se distribuyen desde los desiertos extremos como el de Atacama hasta las selvas tropicales y desde el nivel del mar hasta aproximadamente los 5.200 m de altitud en los Andes. Se reconocen cuatro Subfamilias: Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae y Cactoideae (Anderson 2001) con aproximadamente 1.450 especies, distribuidas en 127 géneros (Hunt et al. 2006).

En la República Argentina se reconocen unos 36 géneros y alrededor de 300 especies de cactáceas siendo notables en las provincias fitogeográficas del Chaco, del Espinal, de la Prepuna y del Monte (Kiesling 1975). La subfamilia Cactoideae engloba cerca del 80% de las especies de la familia, incluyendo una amplia diversidad de formas de crecimiento y síndromes de polinización (Barthlott y Hunt 1993, Anderson 2001, Hunt et al. 2006, Hernández-Hernández 2011). El área de origen propuesto para esta subfamilia es la región andina central de Perú, Bolivia y el norte de Argentina (Edward et al. 2005).

Las características morfológicas que caracterizan a los miembros de la familia Cactaceae, son la presencia de brotes cortos modificados en areolas, los meristemas de las yemas apicales organizados en cuatro zonas, y ovarios ínferos cubiertos por las brácteas o areolas (Gibson y Nobel 1986, Nyffeler 2002). Esta familia refleja una de las radiaciones evolutivas más llamativas de los taxa de biomas áridos de América. La falta de evidencia fósil dificulta la calibración del reloj molecular para determinar los tiempos de divergencia en la misma, sin embargo la combinación de datos moleculares del ADN nuclear y del cloroplasto sugiere que las cactáceas tuvieron su origen hace aproximadamente 30 millones de años durante el período del Terciario medio (Hershkovitz y Zimmer 1997, Hernández-Hernández et al. 2014).

Las filogenias moleculares indican a este grupo como monofilético, con altas tasas de especiación y cuya radiación ocurrió recientemente durante la expansión de ambientes áridos, probablemente en el Mioceno/Plioceno (Arakaki et al. 2011). La radiación coincide también con la reducción en la concentración de CO₂ (Arakaki et al. 2011), y con eventos geológicos continentales, como la elevación de los cordones montañosos de Norteamérica y de Sudamérica que aislaron cuencas, intensificaron las condiciones de aridez y crearon una diversidad de hábitats que pudieron ser colonizados por las cactáceas (Hershkovitz y Zimmer 1997, Ritz et al. 2007, Arakaki et al. 2011).

I.4 Marcadores Moleculares como herramientas en la reconstrucción de eventos históricos

La diversidad genética puede presentarse espacialmente estructurada a diferentes escalas y su distribución está influenciada, por la acción de fuerzas evolutivas (selección natural, migración, mutación y deriva génica), por procesos demográficos, el sistema reproductivo y eventos históricos que afectaron el grado de expansión, contracción y fragmentación de las poblaciones, el aislamiento en refugios y la recolonización de las especies (Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998, Petit et al. 2002, Storz y Beaumontt 2002, Quiroga y Premoli 2007, Mathiasen y Premoli 2010).

El estudio del flujo génico constituye un componente importante en la estructuración de las poblaciones. El flujo génico es el movimiento de individuos o gametos entre las poblaciones, que promueve la mezcla de genes. Cuando es bajo las poblaciones empiezan a diverger, lo que puede contribuir al aislamiento reproductivo y a la estructuración poblacional que puede resultar en el establecimiento de linajes evolutivamente independientes (Slatkin, 1994). En las plantas, el flujo de genes ocurre a través del movimiento de polen y semillas (McCauley 1995).

Wright (1965) introdujo un método para analizar la estructuración poblacional a distintos niveles jerárquicos. El coeficiente de endogamia en una población subdividida, puede descomponerse en un componente debido a apareamientos no aleatorios dentro de poblaciones (F_{IS}) y otro componente debido a la subdivisión entre poblaciones (F_{ST}). F_{ST} mide la reducción en la heterocigocidad de las subpoblaciones debido a la deriva génica por el efecto de las divisiones de una población. Se relaciona con la migración ya que la tasa a la que un alelo se fija en una población es inversamente proporcional al tamaño efectivo de la misma, N_e . Esta tasa de fijación puede ser contrarrestada por el flujo génico que llega de otras poblaciones a una tasa m . Bajo este modelo, una tasa de migración >1 en cada generación es suficiente para contrarrestar la diferenciación genética debida a deriva génica. Si m es mucho menor que 1, la deriva actúa en forma casi independiente en cada población.

Los marcadores moleculares, cuyas características son neutras (Ver sección I.5) como las isoenzimas y secuencias de ADN del cloroplasto (ADNc), han permitido rastrear flujo génico tanto contemporáneo como histórico respectivamente. Las isoenzimas son marcadores nucleares de herencia biparental y codominantes, lo que significa que las frecuencias de genotipos y alelos pueden ser calculadas directamente. Markert y Moller (1959) acuñaron el término de isoenzimas para referirse a las diferentes formas moleculares de una enzima con

afinidad por un mismo sustrato. Las isoenzimas han mostrado un buen desempeño en el análisis de la diversidad y estructura genética en cactáceas (Hamrick et al. 2002, Nassar et al. 2003, Clark-Tapia y Molina Freaier 2003, Contreras-Negrete et al. 2014), permitiendo realizar generalizaciones sobre los niveles de variación genética existentes y de cómo pueden ser influenciados por otros factores, como la historia de vida, rango de distribución geográfica, y sistema reproductivo (Hamrick y Godt 1996). Además son relativamente de bajo costo, lo que permite analizar un gran número de individuos y poblaciones. En el presente trabajo, las isoenzimas se han utilizado para evaluar patrones relativamente actuales de flujo génico entre poblaciones, como lo ocurrido en el Último Máximo Glacial.

Al igual que las isoenzimas, el marcador nuclear ITS (del inglés Internal Transcribed Spacer), ofrece la posibilidad de registrar flujo génico a través de la dispersión del polen. Este marcador corresponde a la región no codificante (ITS1-2) del ARN ribosomal y tiene como ventajas la herencia biparental, y su carácter neutral. Por otro lado, los marcadores de secuencias del ADN del cloroplasto (ADNc), con herencia uniparental (en caso de angiospermas de herencia materna), sin recombinación y menores tasas de mutación y por lo tanto más conservados, permiten detectar patrones de migración/dispersión de las poblaciones mucho más antiguos. Estos marcadores han sido utilizados en estudios filogeográficos y en el presente estudio se utilizaron para evaluar los efectos de los procesos históricos de la orogenia andina previo al Pleistoceno.

El estudio de la estructura genética, puede ser útil en la determinación espacial de la variabilidad genética y su asociación con variables ambientales (Teich 2012). La estructura a escalas espaciales más reducidas (< a los 100 metros) está dada por la agrupación espacial de genotipos, es decir el apareamiento preferente entre individuos geográficamente próximos.

Esta estructura resulta de la combinación de varios procesos microevolutivos, como la dispersión de genes limitada, ya sea vía polen o semillas o presiones de selección diferenciales a nivel de micrositios (Loveless y Hamrick 1984, Linhart y Grant 1996), que provocan una estructura genética a escala fina (Wright 1953). Dadas las características de los ambientes en la cual se distribuye *E. terscheckii*, en el presente estudio se evaluó el rol de la vegetación circundante y de variables ambientales como la precipitación, en la distribución espacial de los genotipos a escala espacial fina utilizando datos de isoenzimas.

I.5 Modelado de nicho ecológico en modelos climáticos globales pasados

Los patrones espaciales de presencia de organismos pueden ser estudiados a través de modelos de distribución de especies. Estos modelos se basan en procedimientos estadísticos y cartográficos que parten de datos reales de presencia e infieren zonas potencialmente idóneas en función de sus características ambientales.

Los modelos de distribución se realizan bajo el concepto de nicho ecológico. La concepción de nicho más utilizada es la desarrollada por Hutchinson (1957), quién refiere al nicho como un espacio hipervolumen de n-dimensiones donde se encuentran las condiciones ambientales (factores) en las cuales la especie puede sobrevivir, es decir permite relacionar directamente el espacio geográfico a través de la noción de espacio multidimensional de n variables, donde una especie se encuentra habitando o potencialmente lo podría hacer.

Un modelo de distribución pasada, involucra la proyección actual de la especie analizada y su posterior proyección bajo un escenario de cambio climático. Para ello existen modelos climáticos globales, tanto para escenarios futuros, como pasados (Hijmans et al., 2005), que sirven como fuentes para crear conjuntos de variables descriptoras bajo diferentes ventanas de tiempo.

La proyección de la distribución en tiempos pasados, requiere considerar la estabilidad (posibilidad de que las especies/ecosistemas puedan mantener en el tiempo las condiciones climáticas en que persisten) y la conservación de nicho (posición de las especies dentro de su árbol filogenético, donde las especies que tienen más cercanía dentro del árbol deberían tener un espacio climático más similar) (Nogués-Bravo 2009) para definir los nichos o espacios climáticos.

Una de las técnicas de modelado de la distribución geográfica de las especies es la basada en el software Maxent (Phillips et al. 2006, Elith et al. 2011), el cual utiliza un algoritmo de máxima entropía, logrando resultados robustos en términos de la proyección espacial de la distribución, fundamentalmente cuando se cuenta con pocos datos de presencias.

La construcción de modelos de distribución de especies consiste en asociar estadísticamente los datos conocidos sobre la distribución del organismo de interés con diferentes variables independientes que describen las condiciones ambientales. De existir, esta relación se extrapola al resto del área de estudio y se obtiene un valor en cada lugar que suele interpretarse como la probabilidad de presencia de la especie en ese punto o valor de idoneidad para el desarrollo de la especie.

La distribución potencial de la especie *E. terscheckii* en escenarios actuales y pasados ha sido analizada utilizando el software Maxent.

I.6 Técnicas moleculares y su aplicación en conservación

La protección del medio ambiente, debe ser considerada un tema de gran interés social, así las acciones humanas bien dirigidas pueden proporcionar los medios para conservar la biodiversidad. En los últimos años se ha generado un cuerpo de conocimientos en una nueva disciplina llamada “Genética de la Conservación”, la cual otorga un peso importante al contexto evolutivo en la conservación de la diversidad biológica (Frankel y Soulé 1981). Según el Teorema Fundamental de la Selección Natural (Fisher 1930), la tasa de cambio evolutivo es directamente proporcional a la varianza genética aditiva del valor adaptativo de la población. Es decir, cuando se reduce la diversidad genética de una población, su potencial evolutivo disminuye, por lo tanto conservar la diversidad genética implica preservar la capacidad de respuesta de las especies ante futuros cambios ambientales.

Se distinguen dos tipos de variación genética: la variación adaptativa y la variación neutra. La variación genética adaptativa, es la variación bajo selección natural, la cual se analiza en base a caracteres genéticos cuantitativos bajo condiciones ambientales controladas como jardines comunes y/o transplantes recíprocos. Por el contrario, la variación neutra no tiene ningún efecto directo sobre la aptitud, es selectivamente neutra y no otorga información sobre el potencial adaptativo o evolutivo de una población o una especie (Holderegger et al. 2006). Esta variación puede estimarse mediante marcadores moleculares (isoenzimas y regiones del ADN) como lo descrito en la sección I.4. Así, las frecuencias de las diferentes variantes son consecuencia de procesos aleatorios o direccionales, como la migración entre poblaciones y la deriva genética, mientras que el mantenimiento de nuevos fenotipos surgidos por mutación depende de su valor selectivo.

Para determinar la cantidad y distribución de la diversidad genética en una especie, se precisa el análisis de ambos tipos de variación, debido a que la selección natural no actúa de igual modo en todas las partes del genoma, en cambio las tasas de migración son iguales para todos los genes, por lo que los marcadores neutrales no predicen necesariamente los patrones de variación de los rasgos sujetos a selección diferencial (Karhu et al, 1996, McKay y Latta 2002). Las características de los marcadores neutros, permiten estudiar procesos que configuran la estructura genética de una especie como deriva, endogamia, flujo de genes,

migración o dispersión a escala de paisaje (Holderegger et al. 2006), y la historia respecto a patrones geográficos y la importancia del aislamiento histórico (Moritz 1999).

Holderegger et al. (2006) consideraron estas diferencias en ambos tipos de marcadores, sugiriendo que los datos genéticos neutrales no pueden servir como un sustituto de los datos genéticos adaptativos. A pesar que los marcadores moleculares brindan información genética neutral, permiten el análisis de numerosos individuos y poblaciones a partir del cual puede inferirse procesos como el flujo génico o la ausencia de éste, que son relevantes en el contexto de la conectividad espacial y en el mantenimiento de unidades evolutivamente independientes.

Actualmente los desafíos de la Genética de la Conservación, se relacionan en determinar cuál es la conexión entre la variación molecular y la variación adaptativa, ya que la mayoría de los trabajos están basados en el conocimiento de la variación neutral. Las comparaciones de diversidad y diferenciación para marcadores moleculares y para caracteres cuantitativos muestran una correlación positiva significativa, pero débil y variable entre poblaciones, caracteres y estudios, siendo todavía una cuestión controvertida (McKay y Latta 2002).

I.7 Filogeografía en Cactáceas

En Norteamérica a lo largo del Plioceno y Pleistoceno los eventos biogeográficos y climáticos configuraron la distribución actual de los biomas áridos, de manera que tuvieron un fuerte impacto en la distribución de la variación genética de las cactáceas y su especiación (Cornejo Romero 2013).

La filogeografía analiza la distribución espacial de los linajes de genes, para comprender la influencia de procesos históricos y ecológicos sobre la evolución de poblaciones y especies (Avice 2000, 2009). Estos procesos pueden deducirse porque la variación en la distribución de las especies, responde a los cambios en las condiciones ambientales, dejando huellas en la composición genética de las poblaciones y especies (Byrne 2008). Así, los mecanismos como la dispersión y flujo génico, expansión y contracción, colonización y fragmentación producen asociaciones genético-espaciales, que pueden observarse mediante técnicas moleculares (Avice 2000, Byrne 2008).

Estudios con enfoque filogeográfico en cactáceas que ponen a prueba hipótesis biogeográficas pertenecen al Desierto de Sonora de Norteamérica. Las poblaciones de estas especies revelan linajes genéticos estructurados geográficamente a causa de la vicarianza y

dispersión, así como a los cambios climáticos del Pleistoceno (Nason et al. 2002, Cornejo Romero et al. 2014). Por otro lado, los trabajos en cactáceas Sudamericanas de Venezuela y Brasil coinciden en que las regiones áridas son hábitats remanentes, aislados espacialmente, que albergan información genética única y pueden funcionar como reservorios genéticos de la vegetación xerófila (Nassar et al. 2002, Moraes et al. 2005).

I.8 Uso e importancia de la familia Cactaceae en acciones de Conservación

A lo largo de la historia pre y pos-colombina, los cactus han representado elementos del paisaje de mucha importancia cultural. Esta familia tiene especies apreciadas por sus usos como plantas ornamentales, medicinales, de importancia alimenticia, forraje para el ganado, cercos vivos, fertilizantes orgánicos, pegamentos, hospedero para la cochinilla del carmín y materia prima para la elaboración de artesanías, entre otros (Anderson 2001, Nobel 2002) (Fig. 2, Pág. 24).

Todo esto remarca la importancia de la familia Cactaceae desde el punto de vista biológico, ecológico y fitogeográfico, en la elaboración de programas de manejo para la conservación de este recurso. El estado de conservación de las cactáceas es crítico debido principalmente a actividades humanas como alteración del hábitat, tráfico internacional y colecta ilegal que amenazan a las poblaciones (Boyle y Anderson 2002). Un gran número de cactáceas están incluidas en listas de especies amenazadas de varias organizaciones internacionales como la IUCN 2004 (Arias et al. 2005).

A nivel de establecimiento de las especies de cactáceas, existe variación en las tasas de germinación y en la supervivencia de plántulas (Valiente-Banuet et al. 1991, Godínez-Alvarez et al. 1999, Godínez-Alvarez et al. 2003). Se asume que estos procesos están afectados por la variación espacial y temporal en las precipitaciones (Pierson y Turner 1998) y por la disponibilidad de micrositios favorables, asociados a las plantas nodrizas (Valiente-Banuet et al. 1991, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991).

Estas características ecológicas de las cactáceas las hacen vulnerables a perturbaciones ambientales y pueden dificultar el mantenimiento de sus poblaciones (Godínez-Alvarez et al. 2003, Ortega-Baes y Godínez-Alvarez 2006).

I.9 Sistema de estudio

Para comprobar las posibles consecuencias genéticas de eventos históricos, tanto climáticos como orogénicos en los bosques secos subtropicales de Sudamérica, se utilizó como modelo de estudio la especie *Echinopsis terscheckii* (Parmentier ex Pfeiff.) H.Friedrich & G.D.Rowley (= *Trichocereus terscheckii*), Hunt (2006), (Fig. 3, Pág. 25), que al igual que otras especies de plantas constituye un recurso natural importante en zonas áridas y semiáridas, ya que establece diversas relaciones con otras plantas y animales, incluido el ser humano.

Echinopsis terscheckii es un cactus columnar gigante endémico de Argentina (Hunt 2006), distribuido en el Noroeste de Argentina y regiones de Cuyo dentro de un rango altitudinal que oscila entre los 700-2.200 m.s.n.m. (Kiesling 1978, Hunt 2006) (Fig. 4, Pág. 26). Habita en las laderas secas de las montañas mezcladas con vegetación xerófila de la Puna Andina Central y en las tierras bajas del ecotono con bosques transicionales como el Chaco seco, el Monte Alto y las Yungas (Brown y Pacheco 2006), donde el 80% de las precipitaciones caen en verano, desde noviembre hasta febrero (Fig. 5, Pág. 27). La especie se encuentra a lo largo de los valles y sierras, en laderas accidentadas, sobre afloramientos de rocas en suelos muy pedregosos, de tipo entisol, constituyendo poblaciones discontinuas. Al igual que muchas otras especies de cactáceas, los individuos se encuentran asociados a otras especies de plantas, las que se comportarían como plantas nodrizas (Ortega-Baes observación de campo).

Son plantas con muchas ramas que nacen del tercio inferior del tronco, con ramificaciones de segundo y tercer orden. Presentan tronco principal hasta 45 cm de diámetro y 15 m de altura, costillas 8-18 en los brazos, obtusas, entre 2-4 cm de alto, aréolas grandes, de 1-1,5 cm de diámetro, con tomento castaño denso y espinas 8-15 en aréolas jóvenes, amarillas, de 3-12 cm (Kiesling 1978).

La especie florece de noviembre a febrero con varios picos de floración, aunque dicha floración es variable entre sitios. Las flores tienen forma de embudo, anthesis nocturna, con un ciclo floral extendido a la mañana siguiente (Fig. 3, Pág. 25). La especie es autoincompatible, siendo sus visitantes florales abejas y mariposas nocturnas, siendo estas últimas los polinizadores principales (Ortega-Baes et al. 2010). Sin embargo, observaciones de campo sugieren que la contribución relativa de los visitantes nocturnos podría variar espacialmente.

Los frutos son carnosos con numerosas semillas y pequeñas con una masa media de $0,0172 \pm 0,0007$ g (Fig. 3, Pág. 25), no presentan dormición y son fotoblásticas positivas

(Ortega-Baes y Rojas-Aréchiga 2007, Ortega-Baes et al. 2010). Observaciones de campo sugieren la dispersión de las semillas por aves frugívoras. La germinación está afectada por temperaturas extremas, aunque no existe variación en la respuesta germinativa a la temperatura entre poblaciones (Ortega-Baes y Rojas-Aréchiga 2007).

La especie es diploide, con una dotación cromosómica de $2n=22$ (Diers 2008a).

Echinopsis terscheckii forma parte de la lista roja de especies de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) y está catalogada como especie vulnerable (Ortega-Baes y Lowry 2013 <http://www.iucnredlist.org/details/152300/0>).

I.10 Objetivos e Hipótesis generales

El **objetivo general** es analizar los patrones geográficos de variación genética de la cactácea columnar *Echinopsis terscheckii* a distintas escalas espaciales para establecer pautas de manejo y conservación.

La **hipótesis general** es que tanto el efecto de la cobertura vegetal como los factores históricos tanto climáticos como orogénicos restringen el flujo génico dentro y entre poblaciones resultando en una estructuración genética a distintas escalas espaciales.

I.11 Objetivos e Hipótesis particulares

Objetivo 1: Analizar la estructura genética de *Echinopsis terscheckii* intra- e inter-poblacional a lo largo de su distribución geográfica en el noroeste de Argentina y zonas de Cuyo, teniendo en cuenta las variaciones ambientales y de los hábitats donde la especie se distribuye.

Hipótesis 1: Las variaciones en las características ambientales entre poblaciones y el nivel de aislamiento geográfico histórico y contemporáneo de las mismas (natural o antrópico) afectarán las características genéticas de *Echinopsis terscheckii* a lo largo del rango geográfico de la especie.

Objetivo 2: Determinar la distribución espacial de la diversidad genética a escala espacial fina para guiar pautas de manejo y colecta de germoplasma de poblaciones naturales tendientes a su conservación.

Hipótesis 2: Las características de la vegetación acompañante y condiciones ambientales como la precipitación afectan la disposición espacial de los genotipos de *Echinopsis terscheckii*.

Objetivo 3: Seleccionar áreas prioritarias para la conservación de esta especie en base a la detección de centros de elevada diversidad genética y presencia de variantes genéticas únicas, evaluando la efectividad de las mismas para conservar la diversidad taxonómica de las cactáceas del noroeste de Argentina.

Hipótesis 3: Los niveles de variación geográfica en las características genéticas de *Echinopsis terscheckii* establecen un número mínimo de sitios para la conservación de esta especie siendo estos, efectivos en conservar la diversidad taxonómica de las cactáceas del noroeste de Argentina.

Objetivo 4: Determinar el nivel de amenaza en las poblaciones de *Echinopsis terscheckii* debido al cambio en el uso del suelo, principalmente en la provincia de Salta.

Hipótesis 4: El avance de la frontera agrícola tiene un efecto significativo en la pérdida de diversidad genética en las poblaciones de *Echinopsis terscheckii* localizadas en las tierras bajas.

I.12 Figuras

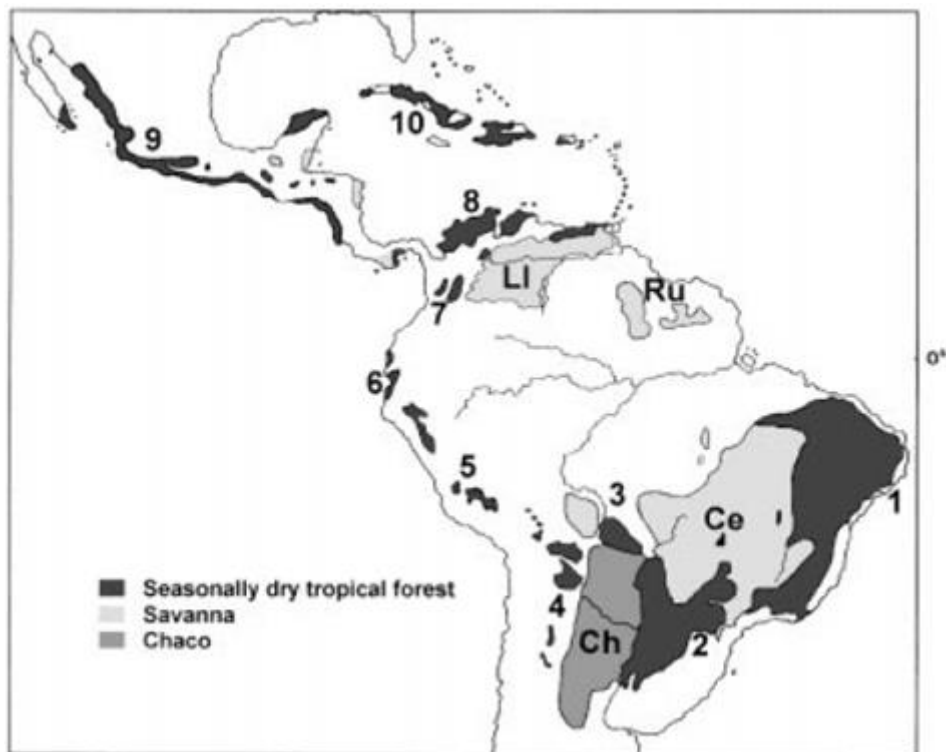


Fig.I.1: Esquema de los Bosques secos estacionales: 1. Caatinga. 2. Núcleo Misiones. 3. Región Boliviana de Chiquitania. 4. Núcleo Piedemonte. 5. Valles interandinos Boliviano y Peruanos. 6. Costa Pacífica Ecuatoriana. 7. Valles interandinos Colombianos. 8. Costas caribeña de Colombia y Venezuela. 9. Mesoamérica. 10. Antillas. Sabanas: Ce. Cerrado. Ll. Llanos Ru. Rupununi Ch: Chaco (Extraído de Pennington et al. 2000).



Fig.I.2: Diferentes usos de la familia Cactaceae. **A. B.** Artículos decorativos y **C. D.** Uso ornamental.

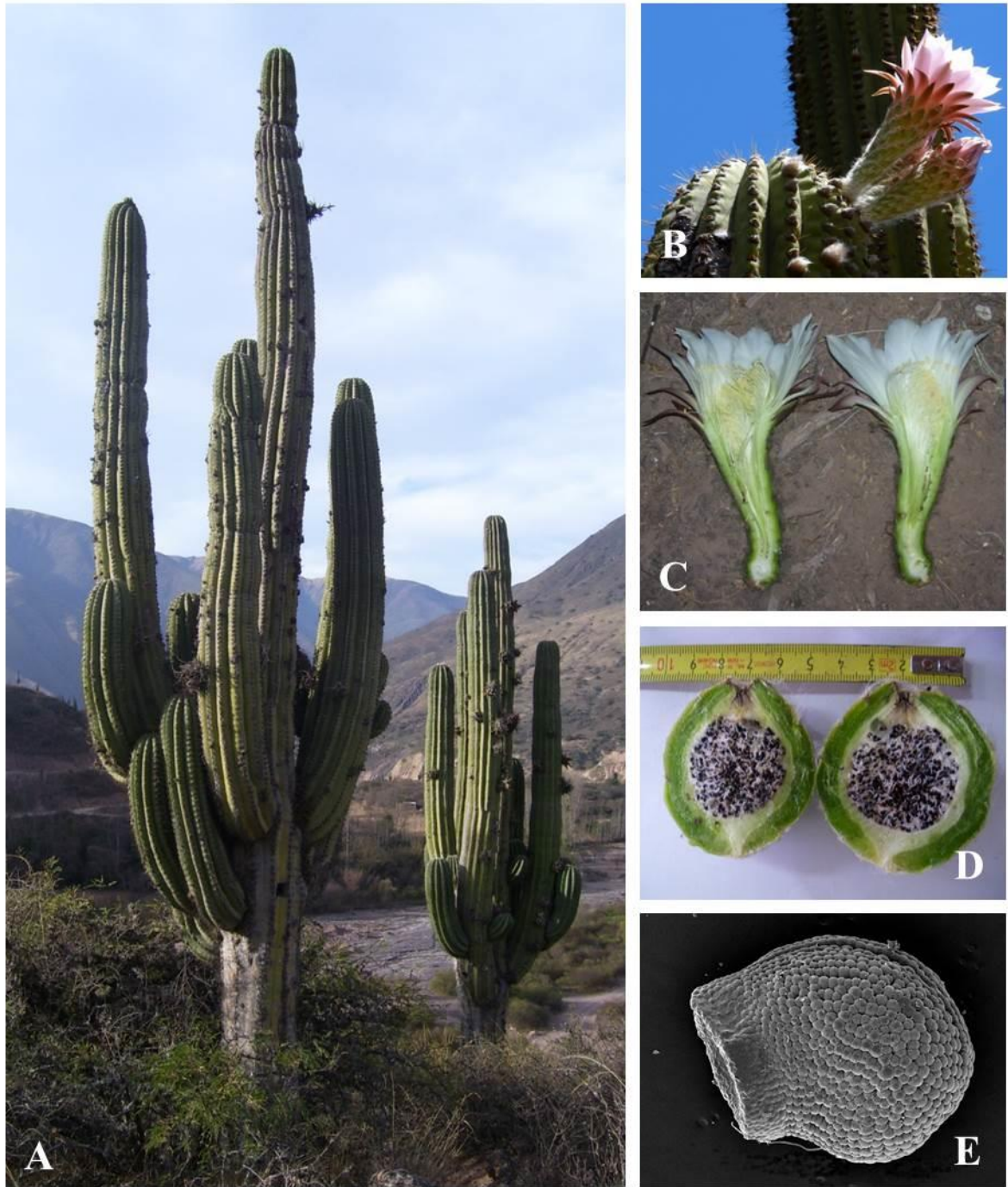


Fig.I.3: A. Individuos adultos B. C. Flores, D. Fruto, E. Semilla vista al microscopio electrónico de *Echinopsis tercheckii*.

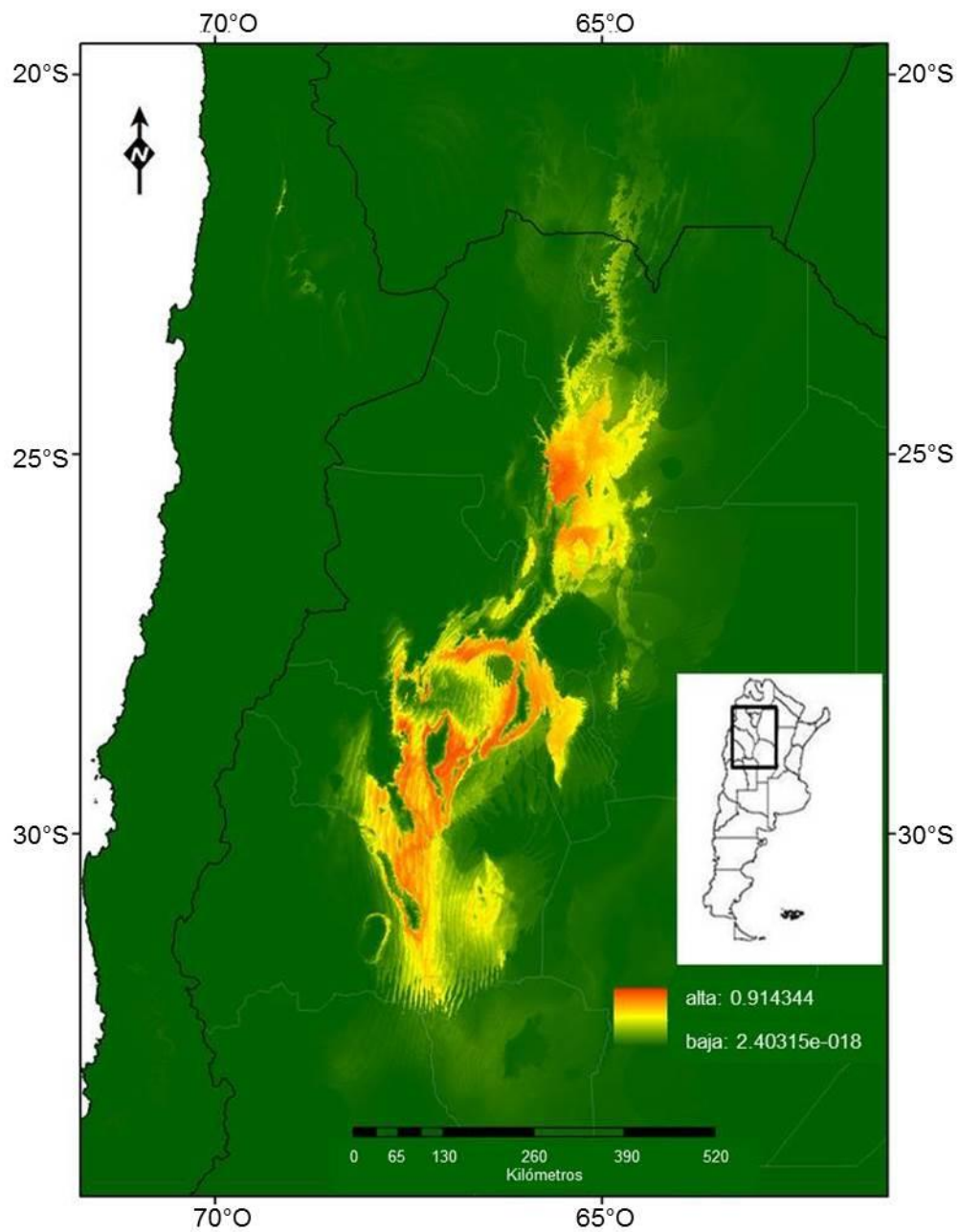


Fig.I.4: Área de distribución potencial de *Echinopsis terscheckii* en el noroeste de Argentina. En rojo se representan los sitios de alta probabilidad de ocurrencia, mientras que en verde los valores de baja o nula probabilidad pasando por amarillo de probabilidades intermedias. Alta: probabilidad de ocurrencia máxima. Baja: probabilidad de ocurrencia mínima.



Fig.I.5: Poblaciones de *Echinopsis terscheckii* en las dos principales Ecorregiones a lo largo de su distribución. **A.** Pcia. Del Chaco (Cabrera 1976) en Metán, Salta. **B.** Pcia. del Monte (Cabrera, 1976) en Valle Fértil, San Juan.



CAPÍTULO II

Patrones genéticos del cactus columnar *Echinopsis terscheckii* revelan persistencia a largo plazo en las zonas áridas de los Andes subtropicales

II.1 Resumen

El incremento de la aridificación en los ambientes de Sudamérica, asociado principalmente a la elevación de los cordones montañosos andinos a partir del Neógeno y las oscilaciones climáticas del Cuaternario con ciclos fríos-secos y húmedos-cálidos tuvieron una gran influencia en las especies que habitan en las zonas áridas de las montañas tropicales y subtropicales. Estos eventos históricos impactaron sobre la estructura genética y filogeográfica de las poblaciones, que pueden ser reveladas mediante marcadores moleculares.

Echinopsis terscheckii es un cactus columnar gigante dominante de la vegetación xerófila de los ambientes chaqueños y del monte del noroeste de Argentina. En este capítulo se describen los patrones de distribución presentes y pasados de la especie, combinando modelos de nicho ecológico, con polimorfismos moleculares de isoenzimas y secuencias de ADN para dilucidar señales actuales e históricas, respectivamente. La distribución potencial fue modelada usando 88 registros de entrenamiento de presencia de *E. terscheckii* y un conjunto reducido de 10 variables bioclimáticas modernas. Las distribuciones del Último Máximo Glaciar (UMG) y del Holoceno-Medio se obtuvieron mediante la proyección del modelo, sobre los datos bioclimáticos derivados de Modelos Climáticos Globales CCSM4 y MIROC-ESM.

Se muestrearon 24 poblaciones. Se resolvieron 15 loci isoenzimáticos, los que resultaron 100% polimórficos. El análisis de tres regiones del ADNc y una región nuclear ITS1-2, para 44 individuos secuenciados, mostró la presencia de 2 haplotipos estructurados latitudinalmente. Los patrones de variación geográfica mediante regresiones múltiples entre los parámetros de diversidad genética de loci isoenzimáticos y la latitud detectaron un aumento de la diversidad hacia el sur. El análisis multivariado de cluster mostró dos grupos de poblaciones que son geográficamente concordantes con los haplotipos del ADNc y ADN nuclear localizadas al norte y al sur de los 27°S. Los modelos de distribución mostraron expansión de rango durante el UMG en el sur, separadas por una zona de baja idoneidad a 27°S. Las áreas adecuadas en el sur fueron cercanas a las distribuciones de las poblaciones actuales, mientras que en el norte las poblaciones sobrevivieron en lugares más alejados, sufriendo posiblemente de efectos fundadores. En contraste, las condiciones bioclimáticas del Holoceno-Medio fueron relativamente inadecuadas en el sector sur.

Estos resultados aluden a que la divergencia entre grupos norte y sur de las poblaciones de *E. terscheckii* reflejan la persistencia a largo plazo, a través de los ciclos climáticos viéndose reforzada por la presencia de una barrera geográfica en las latitudes medias.

II.2 Introducción

Los fenómenos climáticos y geológicos del Neógeno han promovido la expansión de las regiones áridas (Arakaki et al. 2011). Las regiones áridas de las laderas orientales y occidental de los Andes de América del Sur constituyen uno de los principales centros de diversidad de cactáceas (Nyffeler 2002). Debido a la ausencia de registros fósiles, se hace difícil estimar los tiempos de divergencia en el grupo. Arakaki et al. (2011) postulan que la mayor parte de la diversidad existente en este grupo fue generado por las radiaciones significativas que ocurrieron en el Mioceno-medio al Plioceno-tardío coincidente con la expansión de la aridez (Garziona et al. 2008). La orogenia andina también se considera como una causa importante de la diversificación de otros linajes de plantas (Raven y Axelrod 1974, Burnham y Graham 1999).

Estudios filogeográficos han asociado los cambios de la geomorfología del Valle de Tehuacán en México y su incremento de la aridez, con la evolución de linajes independientes y la especiación de cactáceas, particularmente *Mammillaria pectinifera* y *Cephalocereus columna-trajani* (Cornejo Romero 2013). Otros estudios realizados en *Lophocereus schottii*, en los desiertos del norte de México, muestran patrones de variación genética y estructura consistentes con cambios en la distribución, debido tanto a eventos biogeográficos, como a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno (Nason et al. 2002).

Los biomas de vegetación abierta de América del Sur, se producen a través de una variedad de condiciones ambientales, rangos latitudinales y altitudinales (Sarmiento 1975, Pennington et al. 2006). Posiblemente la expansión de vegetación semiárida se vincula con el clima glacial seco y frío del UMG. Prado y Gibbs (1993) han sugerido estas condiciones climáticas más áridas para explicar la distribución disjunta actual de los bosques secos estacionales Neotropicales (BSEN), que sugiere que estos fragmentos constituyen refugios modernos, como resultado de vicarianza de una distribución anteriormente más extendida en el UMG (Pennington et al. 2004).

En contraparte a esto, autores como Werneck et al. (2011) utilizando modelos de paleodistribución, describieron la posible distribución histórica de los BSEN como una distribución restringida durante el UMG, seguida de una expansión que se inició en el Holoceno temprano, aludiendo a que estas disyunciones y endemismos pueden haberse originado tanto por eventos de dispersión antiguos como por un periodo de expansión en el Terciario seguido por una fragmentación previa al UMG.

Estudios filogeográficos del complejo *Pilosocereus aurisetus* en las sabanas neotropicales al este de América del Sur revelaron aislamiento en múltiples parches de

vegetación xerófila que parecen haber funcionado como microrefugios durante los períodos interglaciales del Pleistoceno (Bonatelli et al. 2014). Moraes et al. (2005) estudiaron poblaciones de cactus al este de Brasil y sus resultados apoyan la hipótesis de la fragmentación histórica en los períodos interglaciarios. La magnitud de la influencia de las fluctuaciones climáticas históricas y los cambios en la vegetación sobre la diversificación en el Neotrópico se encuentra aún en discusión (Werneck et al. 2011).

Echinopsis terscheckii, es una especie de cactus columnar dominante de áreas ecotonales secas tropicales y subtropicales, de las provincias biogeográficas del Chaco, Monte y Prepuna (Kiesling 1975) Su distribución fragmentaria actual también podría representar una reliquia de un rango previamente extendido durante las fases frías y secas del UMG. Las zonas habitadas por *E. terscheckii* en el sur de los Andes centrales han sido sometidos a variaciones importantes en el clima en escalas de tiempo de 10^3 a 10^5 años (Strecker et al. 2007).

Además, dada la complejidad de la zona habitada por *E. terscheckii* también se espera encontrar un efecto de la orogenia no sólo como una barrera directa para el flujo de genes, sino también como un efecto indirecto sobre los regímenes de precipitación a lo largo de su distribución actual e histórica.

II.3 Objetivos e Hipótesis

El objetivo de este capítulo fue reconstruir la historia biogeográfica de *Echinopsis terscheckii* a partir de patrones de distribución de la variación genética a lo largo de su rango de distribución geográfica, utilizando isoenzimas, ADNc y ADN nuclear como marcadores moleculares.

Se analiza la hipótesis que tanto factores orogénicos y los cambios climáticos como los ocurridos en el Último Máximo Glacial han influido en las características genéticas de la especie.

Se predice un rango más amplio durante el UMG y una contracción durante las fases más cálidas del Holoceno, y una correlación entre el grado de ocupación del área y la diversidad genética como una indicación de la persistencia de largo plazo a lo largo del rango.

II.4 Materiales y Métodos

II.4.1 Colección de muestras

Para el análisis genético, se seleccionaron 24 sitios, cubriendo un amplio rango de condiciones ambientales habitadas por la especie (Tabla II.1, Pág. 54). Los sitios de muestreo fueron seleccionados dentro de las áreas con probabilidades \geq a 0,55 basado en el modelo de distribución potencial realizado para esta especie por Sosa (2016). El umbral de corte de 0,55, que permitió transformar el mapa de probabilidades en un mapa de presencia-ausencia, fue obtenido a través de validación del modelo en terreno (Sosa 2016). En cada sitio se muestreó al azar en promedio 30 individuos. La distancia aproximada entre individuos muestreados fue mayor a los 8 m, para evitar recolectar individuos cercanamente emparentados. De cada individuo se tomó tejido fresco del tronco principal o las ramas secundarias. Las muestras consistieron de un cubo de aproximadamente 5cm de lado, las que fueron etiquetadas y almacenadas en un refrigerador portátil para el transporte hasta el laboratorio. En total se colectaron 748 individuos.

II.4.2 Electroforesis isoenzimática

La extracción de isoenzimas se realizó en un período menor a los 7 días de su recolección. Una vez llegadas las muestras al laboratorio, se tomó y se colocó 2 g de tejido fresco parenquimático en morteros de mano, posteriormente se adicionó nitrógeno líquido para la ruptura mecánica del tejido y luego se adicionó 1,5 ml de buffer de extracción (Mitton et al. 1979). Los homogeneizados de proteínas se almacenaron a -70 °C, como mechas de papel de cromatografía Whatman N°3 sumergidas en los homogenatos y en tubos Eppendorf de 0,5 ml como stock. Una combinación de tres buffer y nueve sistemas enzimáticos fueron utilizados para resolver 15 loci de isoenzimas. Además se revelaron otras enzimas que no fueron incluidas en el análisis final, debido a que no revelaron para todas las poblaciones (Tabla II. 2, Pág. 55).

Las enzimas incluidas fueron aldolasa (Ald), glicerato-2-deshidrogenasa (G2d), isocitrato deshidrogenasa (Idh), y malato deshidrogenasa (Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3) en el sistema de histidina (18) por King y Dancik (1983); menadiona reductasa (Mnr-1, Mnr-2), peroxidasa (Per), fosfoglucomutasa (Pgm-1, Pgm-2), y shikimato deshidrogenasa (Skdh) en el sistema de morfolina-citrato (MC) (Ranker et al. 1989), y fosfoglucoisomerasa (Pgi-1, Pgi-2 y Pgi-3) en el sistema B de Conkle et al. (1982). La electroforesis se realizó durante 6 horas utilizando geles de almidón al 12% P/V (Starch Art, Starch Art Corporation, Smithville, TX,

USA). Las bandas fueron teñidas para enzimas específicas cuyas tinciones se suspendieron en agar al 1% vertido individualmente sobre las rodajas de gel. Los patrones de bandas se visualizaron utilizando un transiluminador (Porta-Trace, Gagne Inc. NY, USA.). Los loci y alelos fueron anotados por su movilidad relativa asignando al más anódico (rápido) el número más bajo (Fig.II. 1, Pág. 44). Los loci se consideraron putativos dado que ningún control genético se realizó sobre las isoenzimas analizadas. Sin embargo, los patrones de bandas son similares para las mismas enzimas analizadas en otras especies de plantas para las que se realizaron análisis formales (Murphy et al. 1996).

II.4.3 Amplificación por PCR y secuenciación del ADN del cloroplasto e ITS

Se seleccionaron entre 2-5 individuos por población de las muestras colectadas a campo o a partir del extracto de isoenzimas cuando no se dispuso de material fresco. Aproximadamente 0,025 g de tejido parenquimático fresco se tomó de cada individuo, se adicionó nitrógeno líquido y se extrajo el ADN de las muestras utilizando el método de Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Doyle y Doyle 1990) modificado para plantas con alta concentración de polisacáridos (Apéndice II.1, Pág. 67-68). La extracción a partir del extracto de isoenzimas se realizó según el protocolo de Arbetman y Premoli (2011). Las concentraciones de ADN y el tamaño de los fragmentos fueron estimados por electroforesis en gel de agarosa al 1% y comparados con marcadores de peso molecular de 1 kb (Fermentas). Posteriormente el producto de ADN fue conservado en freezer -20°C hasta la realización de las PCR (reacciones en cadena de la polimerasa).

Se probó la optimización de reacciones de PCR de regiones no codificantes de ADNc e ITS, utilizando 14 pares de iniciadores universales (Tabla II.3, Pág. 56). Las regiones de los espaciadores intergénicos trnH-psbA (**HA**) (Hamilton 1999), trnS-trnG (**SG**) (Hamilton 1999) y psbM-trnD (**MD**) (Shaw et al. 2007) y la región nuclear ITS1-2 (Shaw et al. 2007), fueron las más variables y se seleccionaron para los posteriores análisis.

Las PCR se llevaron a cabo en el termociclador Mastercycler Personal (Eppendorf) en un volumen total de 25 µl que contenía 2µl ADN genómico (diluido 1:10), 2,5 µl de Buffer 10X, 0,25µM cada dNTP, 0,75 µl de cada iniciador, 1,5 mM de Mg Cl₂, 1µl DMSO, 1µl BSA (albúmina de suero bovino) y 0,1U de Taq polimerasa (Invitrogen), bajo las siguientes condiciones: **H-A**: desnaturalización inicial de 4 min. a 95°C, seguido por 30 ciclos de desnaturalización de 30seg. a 94°C, alineamiento 30seg. a 54°C, y extensión de 1min. a 72°C, y una extensión final de 10 min. a 72 °C, **S-G**: 4 min. en 95°C, seguido de 30 ciclos de 1min. a 95°C, 30 seg. a 51.5°C, y 1.5 min. a 72°C y 10 min. a 72°C, **M-D**: 4 min. a 95°C, seguido de

5 ciclos de 30 seg. a 94°C, 30 seg. a 48°C, 40 seg. a 72°C, 30 ciclos de 30 seg. a 94°C, 30 seg. a 50°C y 40 seg. a 72°C y 10 min. a 72°C, **ITS1-2**: 2 min. a 95°C, seguido de 5 ciclos de 1 min. a 95°C, 1 min. a 56°C, 2 min. a 72°C, 30 ciclos de 1 min. a 95°C, 1 min. a 48°C y 2 min. a 72°C y 10 min. a 72°C. Todos los productos fueron examinados en un gel de agarosa al 1% con buffer TAE usando un transiluminador (Fotodyne, Foto UV 26) (Fig. II. 2, Pág. 44). Las amplificaciones positivas fueron enviadas a Macrogen Inc., Corea del Sur, y los resultados de secuencias fueron corregidas manualmente usando el programa Aliview (Larsson 2014) y alineadas con MEGA 5.05 (Tamura et al. 2011).

Se secuenciaron dos individuos por población para los espaciadores intergénicos del cloroplasto y dos individuos por población para la región nuclear ITS1-2, excepto para las poblaciones (LP, MN, TRAN) donde se secuenciaron de 3 a 5 individuos.

II.4.4 Modelado de distribución de la especie

La distribución potencial de *E. terscheckii* fue modelada utilizando 88 registros de presencia localizados sobre toda el área de estudio. Estos datos de ocurrencia fueron obtenidos de las poblaciones muestreadas para los análisis genéticos (Tabla II. 1, Pág. 54), de información disponible en las bases de datos públicas, tales como la Global Biodiversity Information Facility (<http://www.gbif.org/>), datos de Documenta Florae Australis (www.darwin.edu.au/iris/), registros del Herbario del Instituto Miguel Lillo, datos de campo (Ortega-Baes datos no publicados) y datos de ejemplares de referencia de la flora Argentina (www.floraargentina.edu.ar). También, se utilizó la aplicación Street View de Google Earth para localizar la presencia real de los especímenes a lo largo de las rutas principales siguiendo la distribución documentada de la especie.

Para el conjunto de datos bioclimáticos modernos se descargaron las capas de datos de www.worldclim.org (Bio 1-19) con una resolución de 30 segundos (~1 km²) correspondiente al período 1.960-1.990 y las grillas para cubrir la extensión del área de estudio c. 60° - 76° W y 17° - 37°S. Los datos bioclimáticos de las condiciones climáticas del pasado se descargaron para dos Modelos Climáticos Globales (GCMs por sus siglas en inglés) CCSM4 y MIROC-ESM de la base de datos WordClim con una resolución de 30 segundos, para el Último Máximo Glacial (aproximadamente 22.000 años BP) y el Holoceno-Medio (aproximadamente 6.000 años BP).

Para modelar la distribución potencial de *E. terscheckii* se utilizó el enfoque de máxima entropía implementado en Maxent 3.0 (Phillips et al. 2006). Este programa requiere pocos datos de presencia, no así datos de ausencia, combina las variables continuas y

categorías, proporciona la contribución de cada variable al modelo, controla el ajuste excesivo de las distribuciones y la salida es una probabilidad de ocurrencia continua. Maxent genera modelos de distribución basados en los acontecimientos presentes y extrae las variables climáticas actuales y luego proyecta la relación de estas variables utilizando escenarios climáticos presentes y pasados para desarrollar potenciales rangos presentes y pasados, respectivamente. Por lo tanto, cada modelo utilizado en este estudio tiene rangos potenciales actuales y pasados de *E. terscheckii*. Para obtener un mejor ajuste y una medida de la dispersión del modelo, se realizaron 100 simulaciones utilizando los parámetros estándar de Maxent. El 30% de los datos de presencia se utilizó para la validación interna y los datos restantes (70%) se utilizaron para la construcción del modelo. La precisión del modelo fue evaluada de acuerdo al valor de AUC (área bajo la curva) de las curvas ROC (característica operativa del receptor). Estas curvas se obtienen a partir de los valores de sensibilidad (la tasa de verdaderos positivos) y de especificidad (la tasa de falsos positivos) del modelo (Fielding y Bell 1997, Phillips et al. 2006). Un valor superior a 0,75 se considera adecuado en los estudios orientados al manejo y conservación (Pearcy y Ferrier 2000). Para obtener un modelo con un conjunto reducido de variables se utilizaron las contribuciones relativas heurísticas y de Jackknife (Phillips et al. 2006, Phillips y Dudik 2008) para eliminar las variables redundantes altamente correlacionadas. El conjunto final de 10 variables bioclimáticas actuales que contribuyeron significativamente al modelo fueron: la temperatura media anual, la estacionalidad de la temperatura, la temperatura mínima del mes más frío, rango de temperatura anual, la temperatura media del trimestre más húmedo, la temperatura media del trimestre más frío, la precipitación anual, la precipitación del mes más seco, la estacionalidad de la precipitación, y la precipitación del trimestre más frío.

El modelo final fue re proyectado sobre las condiciones bioclimáticas al pasado para los dos Modelos Climáticos Globales, el UMG y Holoceno-Medio. Los valores de idoneidad pasados de *E. terscheckii* para cada intervalo de tiempo se promediaron entre los dos modelos. El cambio absoluto y relativo en la idoneidad entre cada intervalo de tiempo y el presente se calcularon sobre la base de los valores de idoneidad promedio en las 88 localizaciones de los sitios de entrenamientos.

II.4.5 Análisis de datos

Análisis de electroforesis de isoenzimas:

Los genotipos de las isoenzimas se utilizaron para calcular las medidas de diversidad genética, utilizando BIOSYS-1 (Swofford y Selander 1989) y POPGENE v. 1.32 (Yeh et al.,

1999); éstas fueron: el número medio de alelos por locus (N_A), el número medio efectivo de alelos por locus, que mide la equitatividad de las frecuencias alélicas (N_E), el número de alelos únicos como los que están presentes en una única población (A_{UP}) y/o grupos de poblaciones (A_{UG}), la proporción de loci polimórficos criterio *sensu stricto* (P) y la heterocigosis observada (H_O) y esperada (H_E) bajo las condiciones de equilibrio Hardy-Weinberg. La heterocigosis observada y esperada para cada locus polimórfico se compararon mediante el cálculo del índice de fijación de Wright (donde $F = 1 - H_O / H_E$) (Wright 1931) y para determinar las desviaciones esperadas de los apareamientos aleatorios (valores cero) se analizaron mediante pruebas de χ^2 (Li y Horvitz 1953). La variación de los parámetros de diversidad genética dentro de las poblaciones con la latitud, longitud y altitud se analizaron mediante regresión lineal múltiple usando STATISTICA v.7.0 (StatSoft. 2004).

La estructura genética fue analizada por la heterogeneidad en las frecuencias alélicas a través de las poblaciones mediante pruebas de χ^2 . Se realizó un AMOVA siguiendo Excoffier et al. (1992) utilizando Genalex (Peakall y Smouse 2006). Los estadísticos F jerárquicos de Wright (Wright 1965) como la endogamia promedio dentro (F_{IS}), entre las poblaciones (F_{ST}) y la total (F_{IT}), se calcularon mediante métodos de remuestreo de Weir y Cockerham (1984) que estiman los intervalos de confianza en FSTAT v2.9.3 mediante remuestreo (método de bootstrap) en base a los loci analizados (Goudet 2001). El aislamiento por distancia se analizó mediante la prueba de Mantel que correlaciona los valores de F_{ST} linealizados como $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ con las distancias geográficas entre todos los pares de las poblaciones. Se estimó indirectamente el flujo génico como $Nm = (1 - F_{ST}) / 4 F_{ST}$ (Wright 1951). Las medidas de endogamia dentro (F_{IS}) y entre las poblaciones (F_{ST}) de cada grupo de muestras norte y sur fueron comparadas por locus mediante una prueba pareada no paramétrica U de Mann-Whitney. Las relaciones genéticas entre poblaciones se estudiaron mediante análisis multivariado de cluster utilizando la distancia genética no sesgada de Nei (1978) siguiendo el método de agrupamiento en pares por la media aritmética no ponderada (UPGMA por sus siglas en inglés). El tiempo de divergencia entre los dos grupos de poblaciones producidas por las secuencias de ADN del cloroplasto y nuclear (norte y sur) se estimó utilizando los datos de isoenzimas por Approximate Bayesian Computation (ABC) del software DIYABC (Cornuet et al. 2014). Los cuellos de botella poblacionales se analizaron por el exceso de heterocigosis en relación con lo esperado bajo la condición de equilibrio mutación-deriva bajo el modelo de alelos infinitos (IAM) usando pruebas no paramétricas con el software BOTTLENECK (Cornuet y Luikart 1996).

Análisis de las secuencias de ADN:

Las secuencias corregidas y alineadas de 44 individuos (dos individuos por población), para las tres regiones del ADNc y nuclear fueron concatenadas manualmente en una única base de datos para los análisis posteriores. Los distintos haplotipos fueron determinados en base a las sustituciones nucleotídicas y a las inserciones-delecciones (indels). Se calcularon distintos parámetros de diversidad, como el número de haplotipos (H), contenido de C/G (%CG), número de sitios variables, número de transiciones (Ts), número de transversiones (Tv), número de inserciones/delecciones o indels (I), y la diversidad haplotípica (h) y nucleotídica (π). La diversidad haplotípica es la probabilidad de que dos secuencias de ADN tomadas al azar de una población sean diferentes mientras que la diversidad nucleotídica es el número de diferencias nucleotídicas entre dos pares de secuencias tomadas al azar.

Para estudiar la demografía histórica de *E. terscheckii*, se analizó la distribución de las frecuencias observadas del número de diferencias mutacionales entre pares de secuencias “distribución Mismatch” (Roger & Harpending 1992). Cuando existe un desajuste de la distribución observada con lo esperado bajo un modelo de expansión repentina, se espera distribuciones multimodales, que indica una población con tamaño estable o que está declinando, o caso contrario se espera una distribución unimodal en poblaciones que han experimentado una expansión poblacional reciente. Además, se utilizaron pruebas de neutralidad de Fu y Li (Fu y Li 1993) y *D* de Tajima (Tajima 1989). Si las poblaciones se han mantenido estables por largos periodos de tiempo, los estadísticos *F* y *D* son cercanos a cero (desviaciones significativas de cero permiten rechazar la hipótesis de estabilidad poblacional). Valores negativos (menores a -2), indican que las poblaciones experimentaron recientes procesos de expansión poblacional, debido a que los alelos raros son más numerosos de lo esperado; si los valores son positivos (mayores a 2), la población está atravesando un cuello de botella y por lo tanto los alelos raros son menos numerosos de lo esperado (Tajima 1989). Todos los análisis se realizaron con el programa DnaSP5 (Librado y Rozas, 2009).

II.5 Resultados

II.5.1 Variación y estructura genética de isoenzimas

A nivel de especie el 100% de los 15 loci isoenzimáticos analizados fueron polimórficos (Tabla II. 4, Pág. 57-58). Las frecuencias alélicas fueron heterogéneas en todas las poblaciones para todos los loci analizados (pruebas $\chi^2 p < 0,01$) (Tabla II. 5, Pág. 59). Las

regresiones lineales de los parámetros de diversidad genética N_A , N_E , H_E , y P produjeron un efecto significativo con la latitud creciente hacia el sur y de N_E , H_E disminuyendo con la altitud (Fig. II.3 a-f, Pág. 45).

De un total de 325 pruebas para las desviaciones de las condiciones de equilibrio 41,54% no fueron significativas, mientras que 40,61% arrojaron valores de índices de fijación positivos (déficit de heterocigotas) y 17,85% negativos (exceso de heterocigotas) (χ^2 , $p < 0,01$) (Tabla II. 6, Pág. 60-61). El promedio de déficit de heterocigotas produjo un valor de $F_{IS} = 0,11$ [IC -0,06 - 0,34], una divergencia entre poblaciones $F_{ST} = 0,12$ [IC 0,09 - 0,15] y $Nm = 1,83$ migrantes por generación. Estos parámetros indican que no hay endogamia significativa dentro de las poblaciones y que existe una divergencia moderada entre las poblaciones. Una diferenciación genética entre las distintas poblaciones también es evidente en el análisis de AMOVA que produjo un $\Phi_{PT} = 0,199$ $p < 0,001$ (Tabla II. 7, Pág. 62). La correlación significativa entre las distancias genéticas y geográficas por medio de la prueba de Mantel $r = 0,27$, $p < 0,05$ (Fig. II. 4, Pág. 46) sugiere que la estructura genética puede deberse en parte a las diferencias en las tasas de flujo de genes con respecto a la distancia.

El análisis multivariado de cluster produjo dos grupos estructurados latitudinalmente, ubicados al norte y al sur de una división a los 27°S (Fig. II. 5, Pág. 47). El número de alelos únicos difiere ampliamente entre estos grupos, 6 en el norte y 13 en el sur (Apéndice II.2, Pág. 69-71). Estos grupos también difieren significativamente para distintos parámetros de diversidad como N_A , N_E , H_E , y P (test no paramétrico U de Mann-Whitney, $p < 0,05$) con los mayores valores en el sur (Tabla II. 2, Pág. 55). La divergencia latitudinal entre estos grupos fue datado por inferencia de coalescencia, en aproximadamente 10.740 Ka BP [IC 1.536-28.080] utilizando un tiempo generacional de 30 años. Los tests para el exceso de heterocigotos como consecuencia de cuellos de botellas genéticos rechazaron la hipótesis de equilibrio mutación-deriva en 15 de las 24 poblaciones estudiadas. Más de la mitad de las posibles pruebas (62%) produjo efectos cuello de botella en las poblaciones del sur, mientras que sólo un (26%) se produjo en las del norte (tabla II. 8, Pág. 62).

II.5.2 Diversidad de secuencias de ADN

Un total de 11 sitios fueron polimórficos La principal fuente de diversidad fueron sustituciones de nucleótidos e indeles, cuyas longitudes variaron en las distintas regiones del DNAc: 3 pb (SG), 5 pb (MD) y 72 pb (HA) (Tabla II. 9, Pág. 63) (Fig. II. 6, Pág. 48). El análisis de 44 individuos, tanto para el ADNc como la región nuclear ITS1-2 mostró 2

haplotipos geográficamente estructurados concordantes con la divisoria a latitudes de 27°S (Fig. II. 7, Pág. 49).

La reducida diversidad de nucleótidos, indica que algunas mutaciones ocurrieron en el conjunto completo de datos (Tabla II. 10, Pág. 64). Los test de neutralidad fueron positivos y significativos: Tajima D (3,67, $p < 0,001$) y Fu y Li's F (2,56, $p < 0,02$) indicando una disminución en el tamaño de la población. La distribución Mismatch arrojó un patrón bimodal revelando equilibrio demográfico o poblaciones estables (Fig. II 8, Pág. 50).

II.5.3 Modelo de distribución de la especie

El modelo tuvo un buen desempeño en predecir la distribución potencial de *Echinopsis terscheckii* con un valor de AUC de 0.989 y una ganancia de entrenamiento regularizado de 2,769. Los valores de idoneidad en el modelo por encima de 0,420 incluyeron al menos el 90% de los puntos de entrenamiento de *E. terscheckii*. Cuando se proyectaron a las condiciones del UMG y Holoceno-Medio, se produjo una restricción de las extrapolaciones sobre los límites de las variables predictoras, de cero o cercano a cero en toda la región de estudio, lo que sugiere que las condiciones climáticas pasadas estaban dentro del rango de valores representados en los datos de entrenamiento.

La distribución potencial actual de *E. terscheckii* se compuso de dos áreas de alta idoneidad: una pequeña zona al norte en las provincias de Salta, Tucumán y Jujuy y al sur una zona más amplia que abarca Catamarca, La Rioja y el norte de San Juan. Ambas zonas claramente separadas por una región de baja idoneidad, entre 26°42'- 27°18'S (Fig. II. 9c, Pág. 51).

Las condiciones climáticas pasadas durante el Último Máximo Glacial y el Holoceno-Medio, generaron fuertes cambios y espacialmente heterogéneos en la idoneidad de *E. terscheckii*. Durante el UMG los modelos de distribución de la especie mostraron una expansión general de áreas adecuadas en el este (tierras bajas) (Fig. II 9a, Pág. 51) y un deterioro general de las condiciones en sitios al oeste y de mayor altitud. Mientras que la porción sur de la distribución de *E. terscheckii* muestra mayor idoneidad durante el UMG en áreas cercanas (unos pocos kilómetros) a las poblaciones actuales, la porción norte de la distribución muestra un área central de mayor idoneidad en el UMG localizada a unos 100 kilómetros al este de las poblaciones existentes (Fig. II 10a, Pág. 52). Localmente, la ubicación de las poblaciones actuales fue testigo de disminuciones generales en la idoneidad durante el LGM (Fig. II 9a, Pág. 51), sin embargo, las condiciones fueron mucho peores para el sector norte, que para el sur de las poblaciones actuales (Fig. II 10b, Pág. 52). Las

condiciones del Holoceno-Medio también fueron generalmente peores, que la idoneidad actual, con poca o ninguna zona de condiciones mejoradas (Fig. II 9b, Pág. 51, Fig. II 10c, Pág. 52). Generalmente, la porción sur de la distribución de *E. terscheckii* muestra condiciones empeoradas en comparación con la porción norte que permaneció más estable (Fig. II 10c, d, Pág. 52).

II.6 Discusión

Las poblaciones de *E. terscheckii* presentaron una alta diversidad genética estructurada latitudinalmente. Estudios de genética de poblaciones en cactus columnares que evaluaron la variación genética utilizando isoenzimas, también evidenciaron patrones de elevada diversidad (Tabla II. 11, Pág. 65-66). La diversidad genética (H_E) en *E. terscheckii* osciló en valores poblacionales medios entre 0,32 a 0,573, lo cual se asemeja a lo encontrado en otro cactus columnar (*Stenocereus pruinosus*) con la mayor diversidad reportada hasta la actualidad ($H_E = 0,583$, Tabla II. 11, Pág. 65-66). Los cactus columnares son especies longevas, por lo general con altas tasas de exogamia, y dispersión a larga distancia de semillas y polen mediada por animales. Estos rasgos de historia de vida han sido asociados con una alta diversidad genética en las plantas vasculares y en particular en cactus columnares (Nassar et al. 2003, Moraes et al. 2005). Además, la alta diversidad genética también se ha asociado a grandes tamaños poblacionales y distribución continua (Nassar et al. 2003). La moderada divergencia entre las poblaciones de *E. terscheckii* ($F_{ST} = 0,12$, $Nm = 1,83$) es similar a otros cactus columnares polinizados por murciélagos e insectos (Tabla II. 11, Pág. 65-66). La relativamente moderada divergencia entre las poblaciones de cactus columnares parece estar relacionada con la polinización mediada por animales y los síndromes de dispersión de semillas. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar su papel efectivo sobre la estructura genética de las poblaciones.

En general, la diferenciación interpoblacional en cactáceas se relacionó con la acción de deriva génica, escaso flujo de genes y endogamia (Nassar et al. 2001, Moraes et al. 2005). La autofecundación es probablemente rara, por cuanto *E. terscheckii* es auto-incompatible (Ortega-Báez et al. 2010) y esto se ve reflejado en un índice de endogamia $F_{IS} = 0,11$ no significativo distinto de cero. Sin embargo, el déficit de heterocigotas para el 40% de los análisis de desvío de las condiciones de equilibrio, puede ser el resultado de la endogamia biparental debido al establecimiento de individuos genéticamente relacionados en las proximidades. Los análisis de la estructura genética a escala fina dentro de las poblaciones de *E. terscheckii* mostraron un efecto significativo de la distancia asociado a la cobertura vegetal

y a las condiciones ambientales en diferentes sitios de la distribución de la especie (Ver capítulo III).

Los modelos de nicho mostraron que las condiciones climáticas durante el UMG en el sur permitieron la persistencia local, así como en sitios cercanos de baja altitud. En contraste, las áreas idóneas del norte fueron en general reducidas y posiblemente ubicadas en zonas alejadas en las tierras bajas al este del Chaco Salteño. Por lo tanto, las poblaciones actuales del norte son el resultado de la subsistencia local en poblaciones pequeñas que resistieron las condiciones del UMG y/o que sufrieron los efectos de la dispersión a larga distancia. En cualquiera de los casos, las poblaciones del norte sufrieron deriva genética y efectos fundadores que erosionaron la diversidad genética. No obstante, las condiciones ambientales durante el Holoceno-Medio mejoraron en el norte mientras se deterioraron en el sur. Como consecuencia de ello, muchas poblaciones del sur probablemente se extinguieron localmente manteniendo la variación genética y la cohesión que puede verse reflejada, por una divergencia genética significativamente menor a través del valor de F_{ST} en comparación con las del norte.

La presencia de la sierra del Aconquija localizada a $\sim 27^\circ\text{S}$ podría ser en parte responsable de las diferencias entre ambos grupos estructurados latitudinalmente. La sierra del Aconquija es una barrera orográfica que comenzó su elevación durante los últimos 6 Ma (Ramos et al. 2002, Strecker et al. 2007). Actualmente forma un paisaje prominente sobre sus llanuras adyacentes, alcanzando elevaciones mayores de 5 km (Bonnet 2009) y representa una barrera topográfica importante para el flujo de humedad procedente del Océano Atlántico: el flanco este recibe mucha más precipitación ($> 2\text{myr}^{-1}$) que el flanco oeste (Sobel et al. 2003), destacándose el papel relevante de la tectónica en la evolución del clima en esta parte de los Andes (Coutand et al. 2006).

Los patrones fijados en las secuencias de ADN nuclear y del cloroplasto analizadas, mostraron una significativa estructura genética al norte y sur de los $26\text{-}27^\circ\text{S}$ que se correlacionó con la presencia de la sierra del Aconquija y su efecto sobre el clima. La datación molecular de tal divergencia no pudo estimarse, debido a la ausencia de polimorfismo dentro de cada grupo. Probablemente estos dos grupos divergieron de un ancestro común ampliamente distribuido, consecuencia de una barrera orográfica que excluyó la influencia de la humedad, sobre todo en las poblaciones del norte. En consecuencia las poblaciones del linaje sur tuvieron una influencia más continua de las precipitaciones lo que resultó en poblaciones más estables. Esto se refleja en la mayor variación isoenzimática en el sur lo cual convierte a estas poblaciones en reservorio a largo plazo de la diversidad genética.

Nassar et al. (2001) en un estudio con *Melocactus curvispinus* también han atribuido la alta diversidad isoenzimática observada en algunas poblaciones como parte de una vegetación árida más amplia durante el UMG, y las poblaciones menos diversas son explicadas por haber sufrido efecto de deriva genética.

La presencia de variantes genéticas únicas del ADN del cloroplasto en las poblaciones sur de *Podocarpus parlatorei* también fueron interpretadas como refugios a largo plazo (Quiroga et al. 2012, Quiroga y Premoli 2013). En contraste, el área ocupada por las poblaciones del norte de *E. terscheckii* se encuentra a sotavento de la Sierra del Aconquija y por lo tanto probablemente sufrieron de hiperaridez. Sin embargo, la retención de variantes conservadas en las secuencias del ADNc e ITS, concordantes con los grupos norte y sur producidos por el análisis de cluster, y la presencia de alelos únicos en ambos grupos de poblaciones apoyan la idea de persistencia a larga plazo de *E. terscheckii* en todo el rango.

Por lo tanto, la reducida diversidad isoenzimática en el norte, no es consecuencia de la migración desde el sur, sino reflejo de los efectos de la deriva en esas poblaciones. Por lo tanto, estos resultados proveen evidencia de refugios múltiples durante el UMG como lo sugerido para taxones microtérminos (resistentes al frío) que habitan áreas templadas. Estos persistieron localmente durante los períodos fríos (Premoli 1998, Premoli et al. 2000) y que las principales respuestas bióticas a los cambios climáticos implicaron persistencia y capacidad de recuperación, en lugar de migración a grandes distancias (Byrne 2008). La moderada divergencia medida por F_{ST} la cual es asociada con la distancia geográfica entre poblaciones, fue significativa (test de Mantel) sugiriendo que las expansiones poblacionales se produjeron a partir de poblaciones localmente cercanas dentro de cada sector norte y sur.

Estos resultados muestran que la aridez climática global del UMG produjo efectos diferenciales en las poblaciones de *E. terscheckii* localizadas a diferentes latitudes debido a la presencia de cadenas montañosas que intensificaron la influencia de la sequía.

El modelado de las condiciones del Holoceno-medio produjo una reducción significativa de la idoneidad en todo el rango de *E. terscheckii*. Las condiciones óptimas del Holoceno-Medio mejoraron la ocupación de *E. terscheckii* en especial de la zona norte que a su vez alcanzó elevaciones más altas (Fig. II. 11, Pág. 53). Durante este período, varias localidades en el noroeste de Argentina y los Andes Tropicales parecen haber retenido condiciones más húmedas, en su mayoría ubicadas en las altas elevaciones o cercanas a ríos y lagos (Tchilinguirian y Morales 2013). El clima de los Andes tropicales es el resultado de un equilibrio entre los vientos del este que permite la entrada de humedad del Amazonas durante el verano austral (diciembre-marzo) y el desplazamiento hacia el norte de los vientos del oeste

que moderan la humedad proveniente del este (Tchilinguirian y Morales 2013). Por lo tanto, la influencia de los vientos del oeste en el Holoceno-Medio podría haber fomentado la expansión de las poblaciones a barlovento del norte, mientras que favoreció probablemente a otras especies en el sur, por ej. bosques transicionales que afectaron por competencia a las poblaciones de tierras bajas de *E. terscheckii* en el sur, reduciendo así su área de distribución natural. Esto es coherente con los resultados que proporcionan evidencia de cuellos de botella genéticos y aumento de la endogamia en las poblaciones del sur como resultado de disminución de los tamaños poblacionales. Por el contrario, las poblaciones del norte han sufrido una dinámica de contracción-expansión que resultó en una reducida diversidad genética y baja endogamia. Esto puede ocurrir en poblaciones históricamente pequeñas donde la selección puede favorecer a individuos menos endogámicos, es decir, individuos que no llevan alelos deletéreos homocigóticos. Por lo tanto, la retracción del rango de principios a mediados del Holoceno ha promovido la divergencia genética entre los grupos de poblaciones norte y sur, fechadas por isoenzimas en aproximadamente 10.000 años BP.

Las variantes fijadas de las secuencias de ADN nuclear y del cloroplasto, junto con el análisis multivariado de cluster que produjo dos grupos latitudinalmente estructurados y la presencia de variantes isoenzimáticas únicas en cada sector sugieren diferentes unidades evolutivas significativas que merecen acciones de conservación separadas. El gradiente de diversidad genética con una mayor variación isoenzimática, pero con el aumento de la endogamia debido a los cuellos de botella recientes en el sur, requiere a su vez, la necesidad de diseñar acciones de conservación para proteger su potencial evolutivo, particularmente en áreas donde la expansión de tierras para la agricultura puede amenazar la persistencia de *E. terscheckii*.

II.7 Figuras y tablas

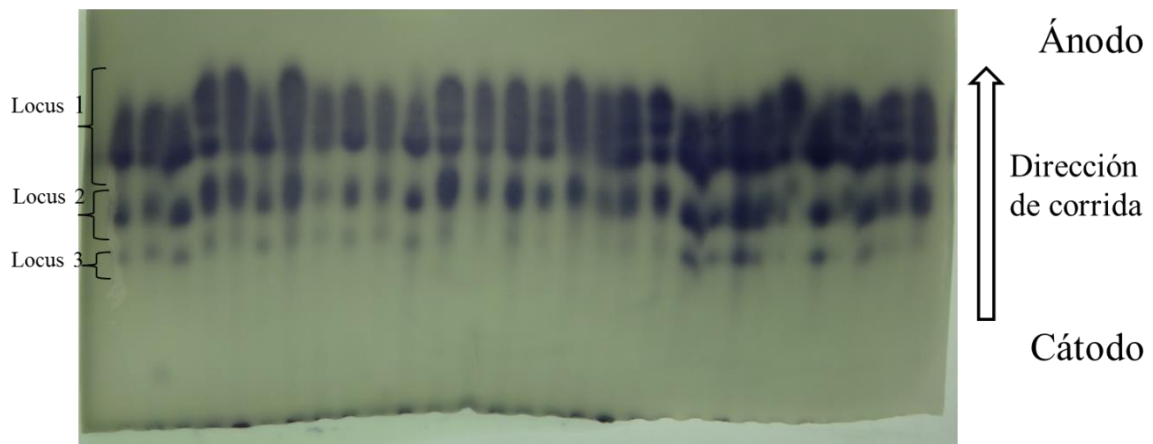


Fig.II.1: Gel de almidón con tinción para la enzima Pgi. Se muestra la codificación de los loci para *Echinopsis terscheckii*.

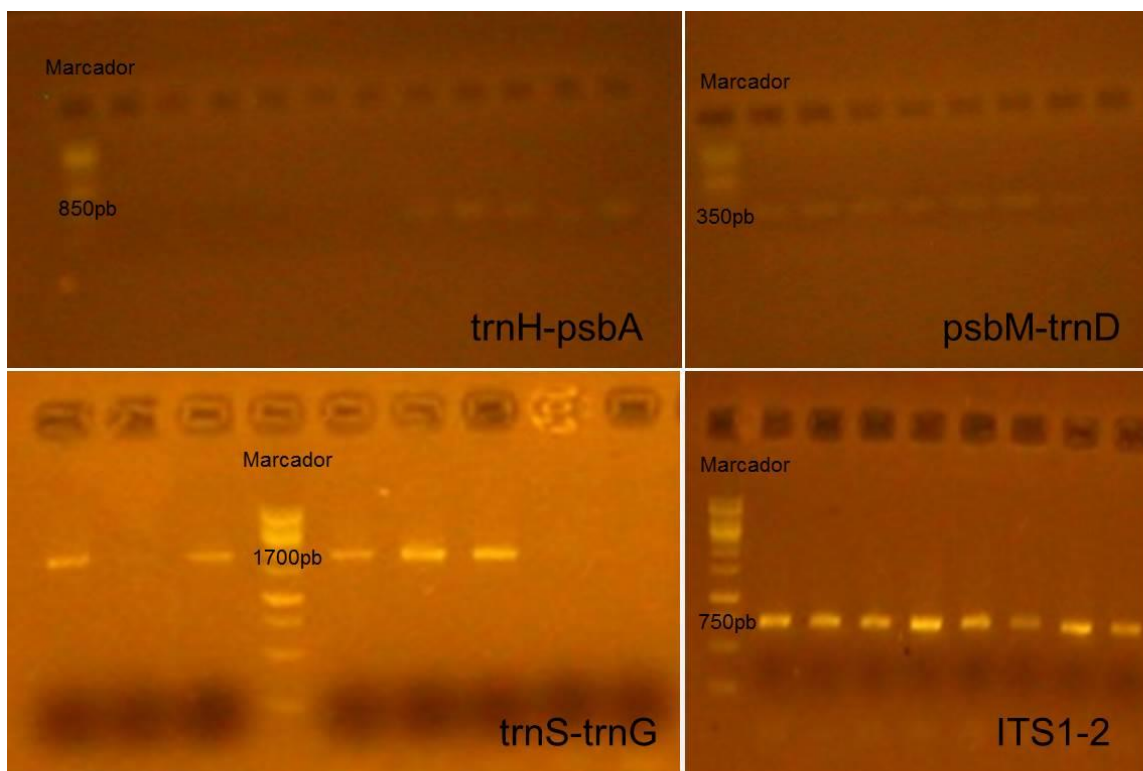


Fig.II.2: Visualización de bandas amplificadas por PCR para las tres regiones del ADNc y nuclear (ITS1-2).

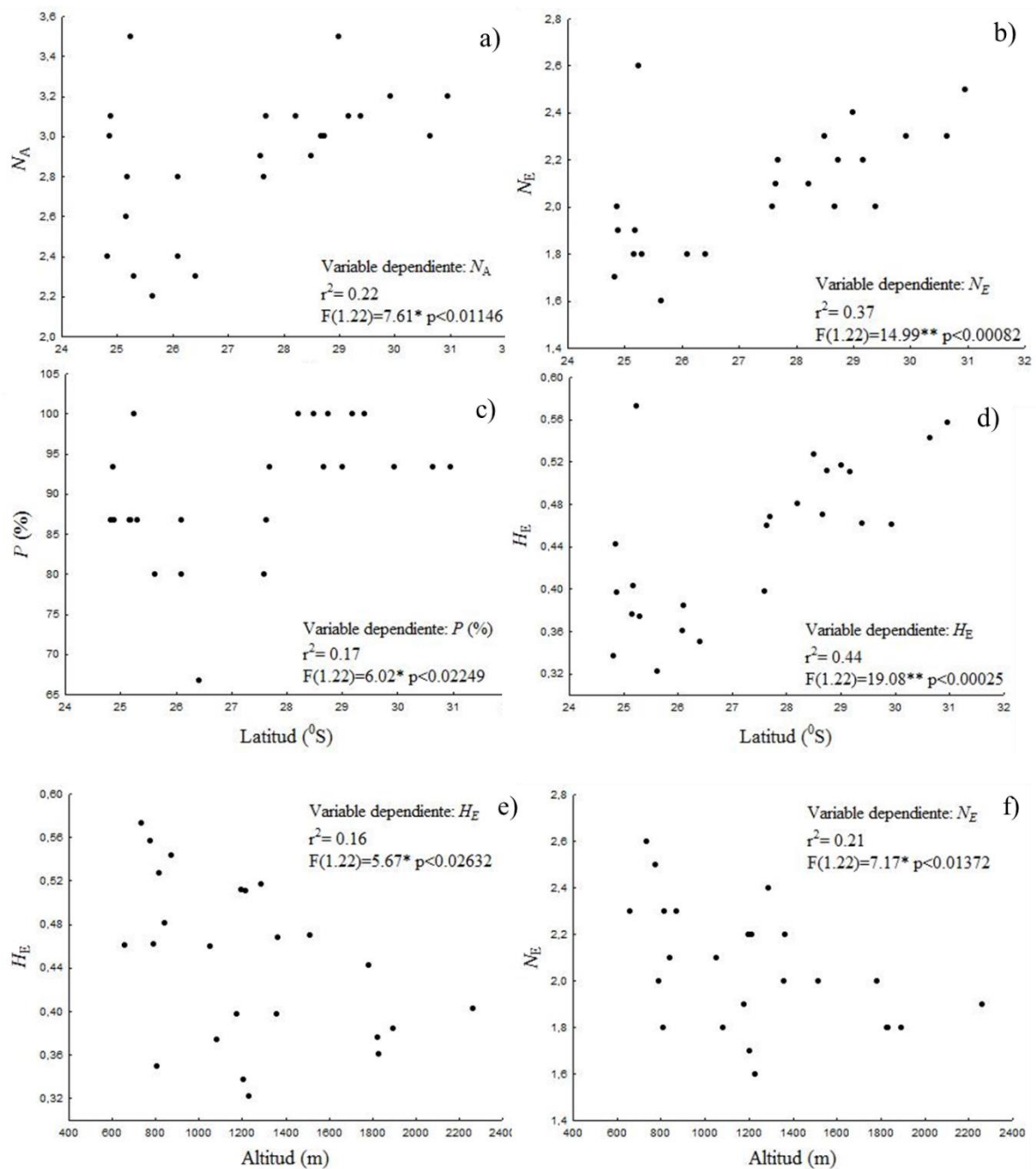


Fig.II.3: Variación de parámetros genéticos dentro de las poblaciones para 15 loci isoenzimáticos en 24 poblaciones de *Echinopsis terscheckii* con la latitud: a) N_A número promedio de alelos por locus b) N_E número efectivo de alelos por locus c) P porcentaje de polimorfismo criterio *sensu stricto* d) H_E Heterocigosis esperada y con la altitud: e) H_E Heterocigosis esperada f) N_E número efectivo de alelos por locus.

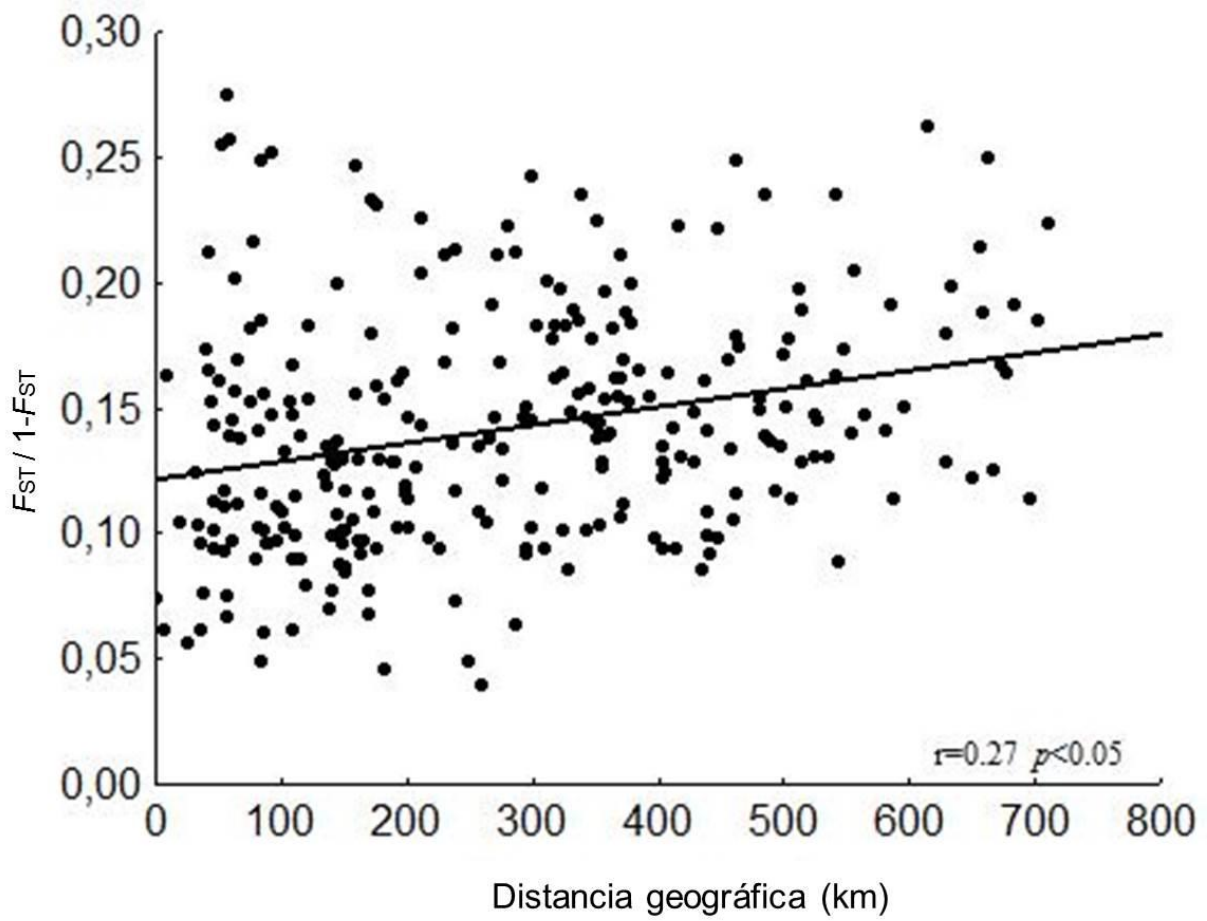


Fig.II.4: Correlación de divergencia genética para valores F_{ST} linearizados [$F_{ST} / (1 - F_{ST})$] y distancias geográficas entre todos los pares de poblaciones de *Echinopsis terscheckii*.

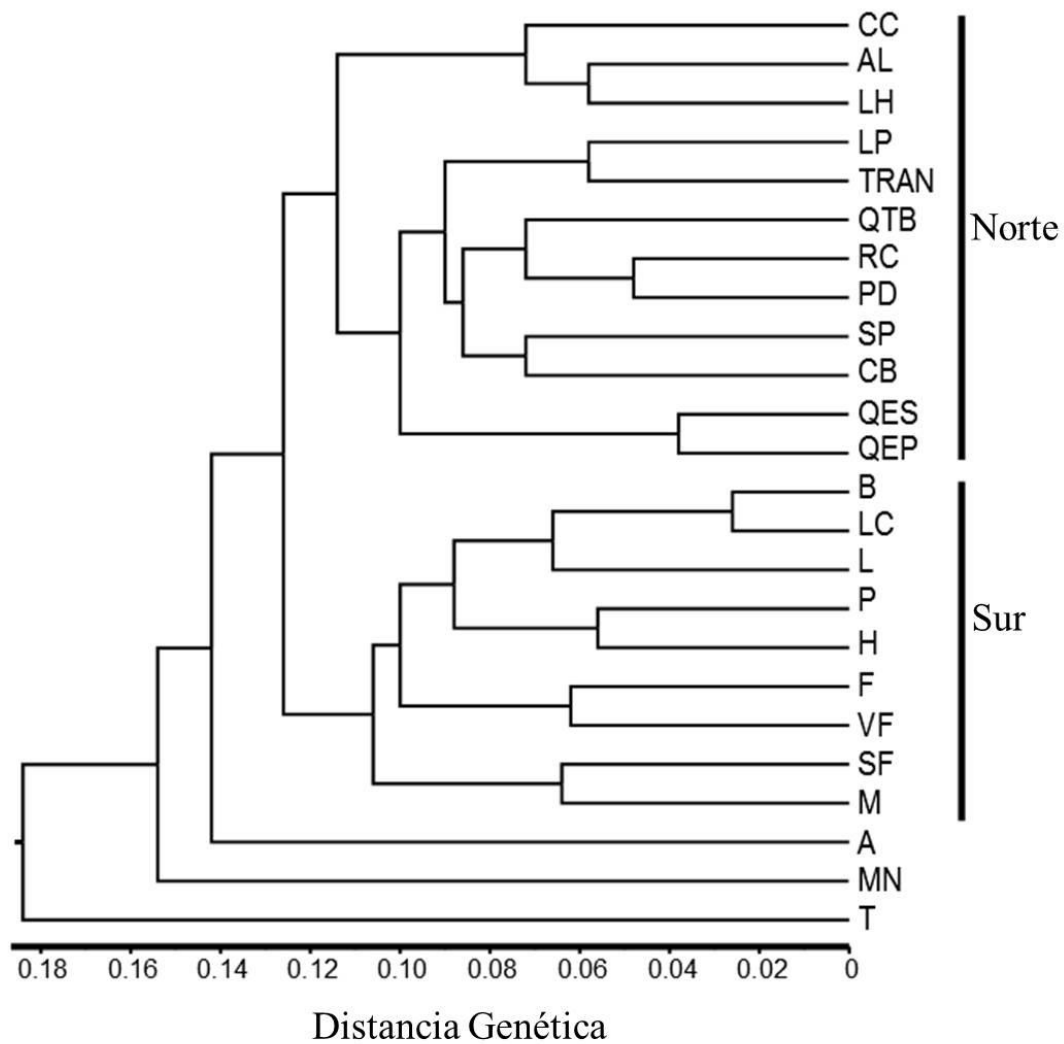


Fig.II.5: Análisis multivariado de cluster (UPGMA) de la distancia genética no sesgada de Nei (1978) de las 24 poblaciones de *Echinopsis terscheckii* analizadas con marcadores isoenzimáticos. Los grupos norte y sur nuclean a la mayoría de las poblaciones. La población A esta presente en la latitud 27° S mientras que la población MN en el extremo este del grupo norte y la población T es la más austral de la distribución.

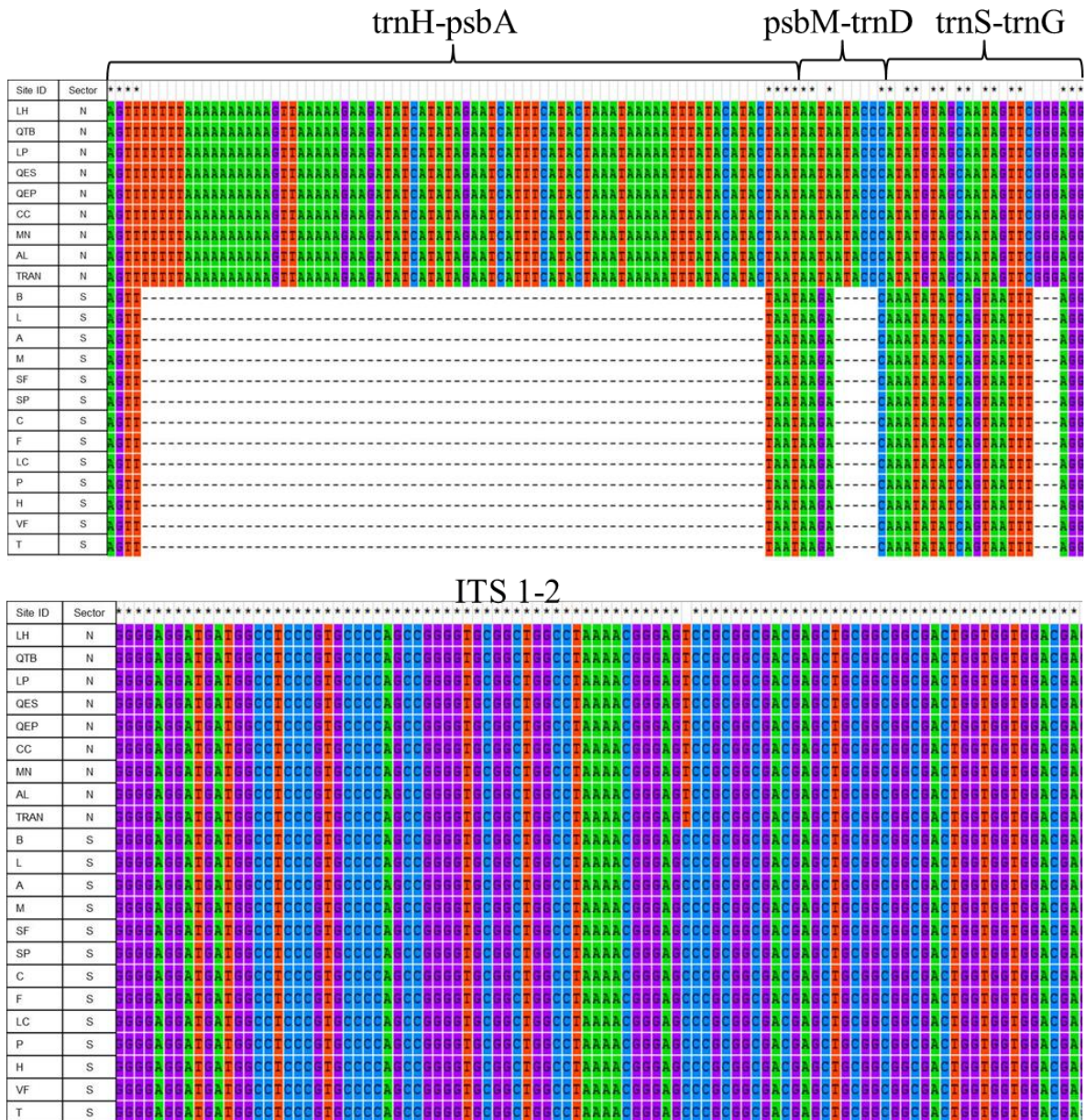


Fig.II.6: Alineamiento de secuencias para las regiones del ADNc y nuclear de *Echinopsis terscheckii*. Se muestra 1 individuo por población y las sustituciones e indels para cada haplotipo.

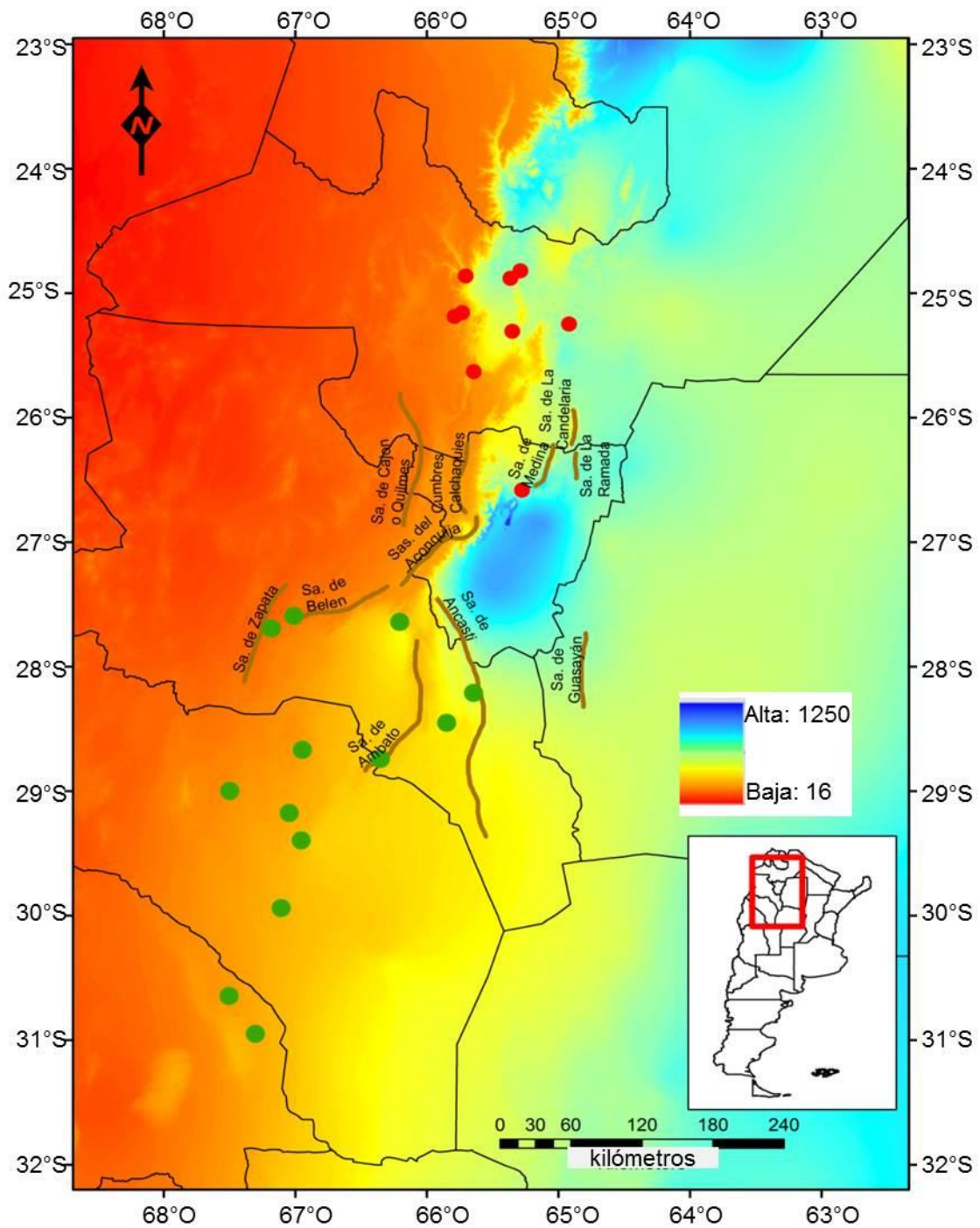


Fig.II.7: Distribución geográfica de los haplotipos concatenados del ADN del cloroplasto y nuclear de *Echinopsis terscheckii*. Los círculos rojos y verdes representan haplotipos norte y sur, respectivamente. Los colores de fondo azul representan las precipitaciones anuales más altas disminuyendo hacia las laderas occidentales.

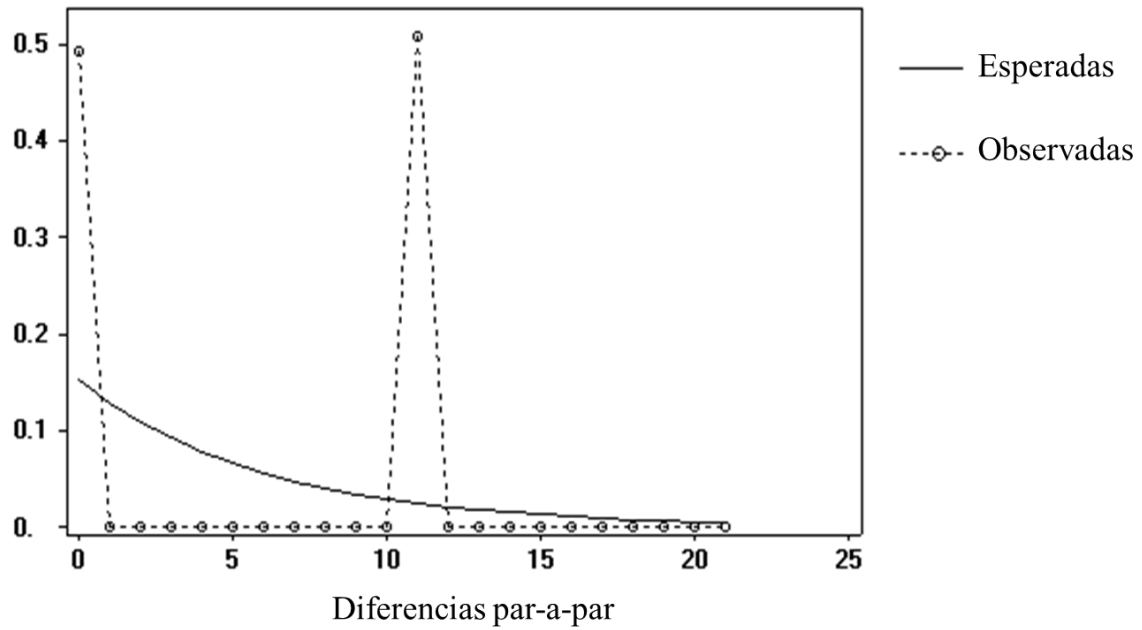


Fig.II.8: Distribución Mismatch por pares de haplotipos de ADN del cloroplasto e ITS en las poblaciones de *Echinopsis terscheckii*. Las frecuencias esperadas y observadas de las diferencias entre pares en un modelo poblacional de crecimiento/declinación se indican con líneas sólidas y discontinuas, respectivamente.

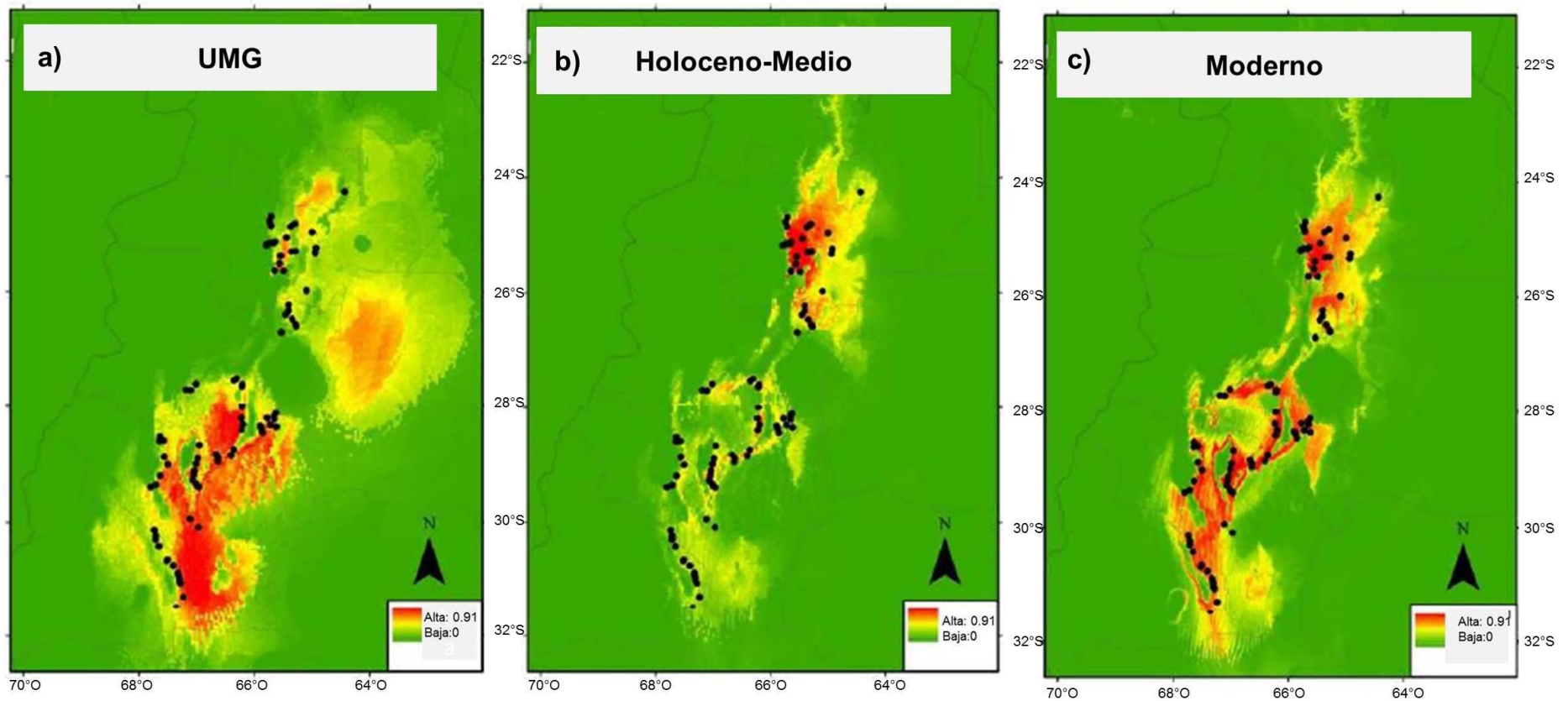


Fig. II.9 Modelos de distribución de *Echinopsis terscheckii* que muestran la idoneidad potencial durante a) UMG (22.000 años BP), b) Holoceno-Medio (aproximadamente 6000 años BP), y c) moderno (preindustrial). Los valores de idoneidad para escenarios pasados representan promedios de dos modelos climáticos globales (CCSM4 y MIROC-ESM). Los valores naranja-rojo representan una alta idoneidad, mientras que el verde representa una baja idoneidad. Los puntos utilizados en el modelado se indican en negro.

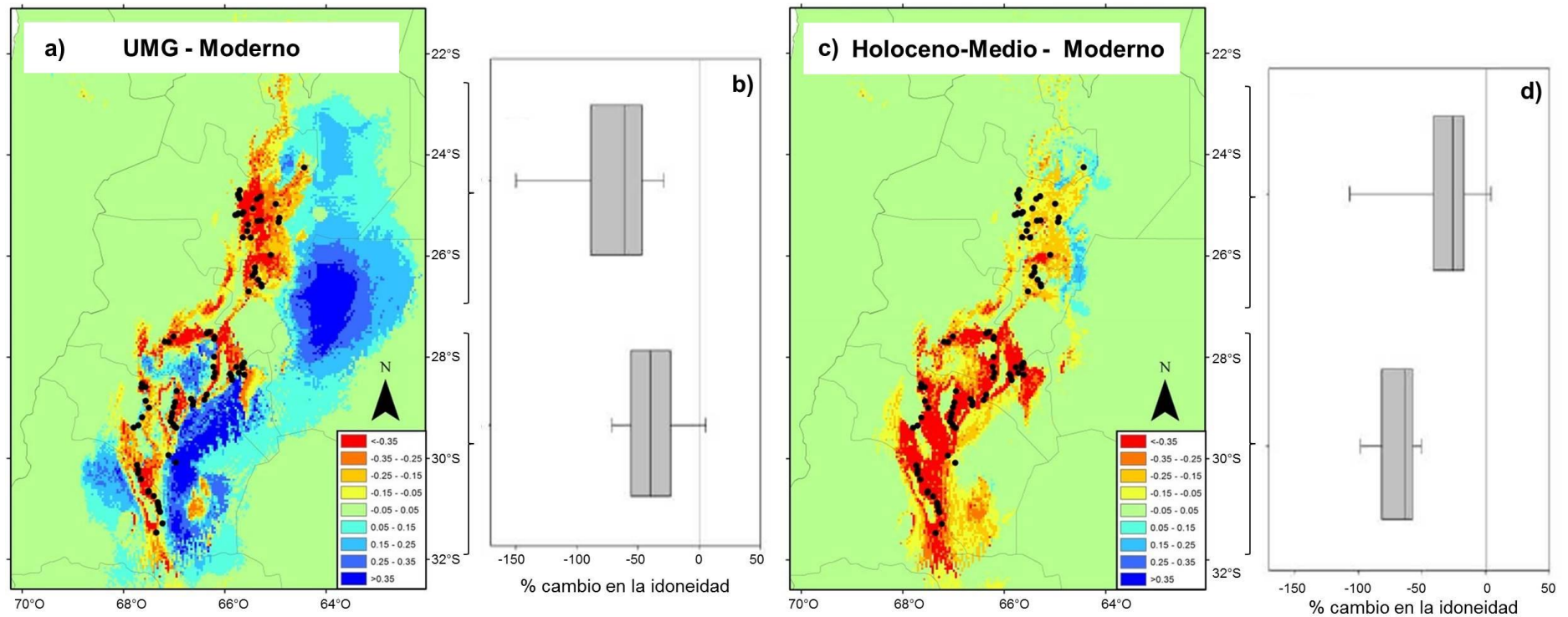


Fig. II.10 El cambio absoluto en la idoneidad se compara con el moderno preindustrial para a) UMG y b) Holoceno-Medio donde los colores naranja-rojo representan las pérdidas de idoneidad y los colores azules ganancia en idoneidad. Los diagramas de cajas representan el cambio porcentual en la idoneidad (en comparación con el moderno preindustrial) en los sitios de localizaciones de entrenamiento durante b) UMG y d) Holoceno medio. Los diagramas superior e inferior en b) y d) representan la distribución del % de cambio de idoneidad en las ubicaciones del sitio de entrenamiento de *E. terschekii* del norte (<27 ° S) y del sur (> 27 ° S).

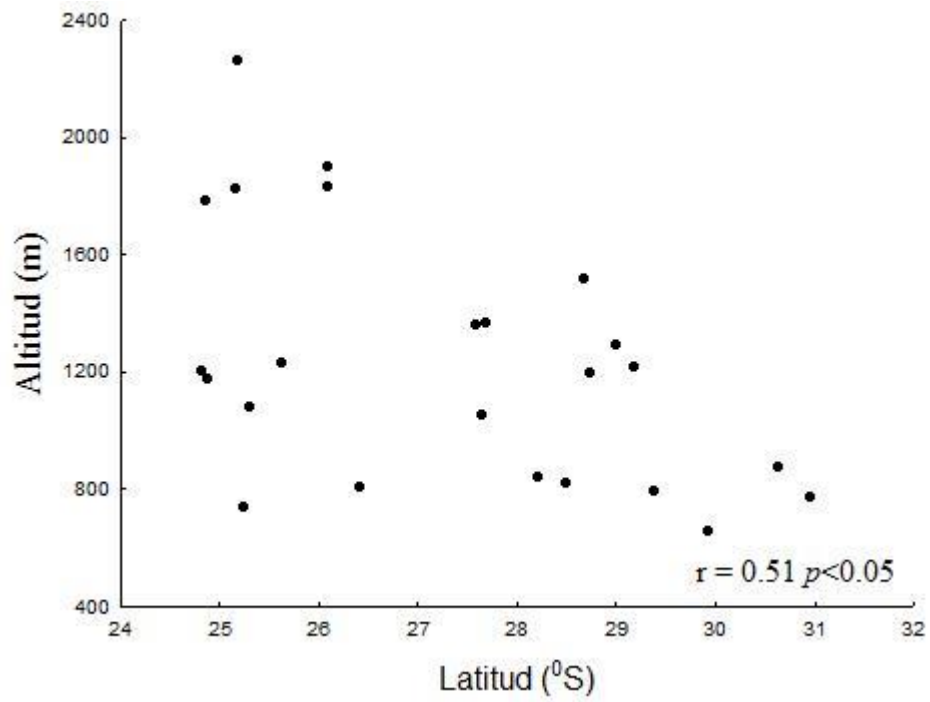


Fig.II.11: Correlación entre la altitud y la latitud en las poblaciones muestreadas de *Echinopsis terscheckii*.

Tabla II.1: Ubicación geográfica de las poblaciones analizadas de *Echinopsis terscheckii* y número de individuos por población analizados para isoenzimas y para las regiones: trnH-psbA, psbM-psbA, trnS-trnG e ITS1-2.

No. ID	Población	Provincia	Latitud	Longitud	Altitud	Tamaño muestral Isoenzimas	Tamaño muestral ADNc/ ITS1-2
1.LH	Las Higuerillas	Salta	24° 49'	65° 17'	1.204	28	2/2
2.QTB	Qda. del Toro	Salta	24° 51'	65° 42'	1.784	33	2/2
3.LP	La Pedrera	Salta	24° 53'	65° 21'	1.176	74	6/6
4.QES	Sunchal	Salta	25° 09'	65° 43'	1.827	33	2/2
5.QEP	Qda. Escoipe	Salta	25° 11'	65° 47'	2.263	28	2/2
6.CC	Cabra Corral	Salta	25° 18'	65° 20'	1.082	31	2/2
7.MN	Metan	Salta	25° 14'	64° 55'	737	27	2/5
8.AL	Alemania	Salta	25° 37'	65° 38'	1.229	31	2/2
9.RC	Rio Colorado	Salta	26° 05'	66° 00'	1.832	30	2/2
10.TRAN	Trancas	Tucumán	26° 24'	65° 20'	809	21	2/5
11.PD	Peña Divisadero	Salta	26° 06'	66° 01'	1.896	30	2/2
12.B	Belen	Catamarca	27° 35'	67° 00'	1.360	30	2/2
13.L	Londres	Catamarca	27° 41'	67° 10'	1.366	29	2/2
14.A	Andalgala	Catamarca	27° 38'	66° 12'	1.053	30	2/2
15.M	La Merced	Catamarca	28° 12'	65° 38'	843	30	2/2
16.SF	San Fernando	Catamarca	28° 29'	65° 50'	817	30	2/2
17.SP	San Pedro	La Rioja	28° 40'	66° 56'	1.514	30	2/2
18.C	Cebila	La Rioja	28° 44'	66° 21'	1.197	30	2/2
19.F	Famatina	La Rioja	28° 59'	67° 29'	1.289	29	2/2
20.LC	Los Colorados	La Rioja	29° 56'	67° 06'	660	24	2/2
21.P	Padercitas	La Rioja	29° 23'	66° 57'	790	30	2/2
22.H	Huaco	La Rioja	29° 10'	67° 02'	1.215	30	2/2
23.VF	Valle Fertil	San Juan	30° 38'	67° 30'	873	30	2/2
24.T	Tumanas	San Juan	30° 57'	67° 18'	774	30	2/2

Tabla II.2: Sistemas buffer y loci putativos empleados para el estudio de la variabilidad genética mediante isoenzimas de *Echinopsis terscheckii*. Los loci en negrita fueron excluidos del análisis por no haberse resuelto en varias poblaciones.

Sistema	pH	Corriente (mA)	Tiempo de corrida (h)	Loci analizados
18	7	40	6	Ald G2d Idh
CB	8	25	6	Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3 Gdh
MC	7.5	50	6	Pgi-1, Pgi-2, Pgi-3 Adh Mnr-1, Mnr-2 Per Pgm-1, Pgm-2 Skdh

Tabla II.3: Marcadores universales de las regiones de ADN cloroplasto y nuclear probadas y amplificadas en *Echinopsis terscheckii* para detectar polimorfismo intraespecífico.

Iniciador	Temperatura de anclaje (°C)	Tamaño del producto de PCR (pb)	Grado de variación	Referencia
Marcadores del cloroplasto				
psbH-psbB	48-57	doble bandas		Hamilton 1999
psbM-trnD	48-50	350	polimórfico	Shaw et al. 2007
rpl32-trnL		no amplificó		Shaw et al. 2007
rps16-trnK	52	500	monomórfico	Shaw et al. 2007
rps16-trnQ		no amplificó		Shaw et al. 2007
trnC-trnD-M	48-50	1700	monomórfico	Demesure et al. 1995
trnD-trnT		no amplificó		Demesure et al. 1995
trnF-trnVr		no amplificó		Dumolin-Lapegue et al. 1997
trnH-psbA	54	850	polimórfico	Hamilton 1999
trnLexon2-trnF	52	400	monomórfico	Taberlet et al. 1991
trnS-trnfM-R		no amplificó		Demesure et al. 1995
trnS-trnG	51.5	1700	polimórfico	Shaw et al. 2005
trnT-trnL	48-52	350	monomórfico	Taberlet et al. 1991
Marcadores genómicos ITS				
ITS1-ITS2	48-53	750	polimórfico	White et al. 1990

Tabla II.4: Parámetros de diversidad genética intrapoblacional y para los dos grupos (Norte y Sur) de *Echinopsis terscheckii* a partir de isoenzimas. N_A : número promedio de alelos por locus, N_E : número efectivo de alelos por locus, P (%): porcentaje de loci polimórficos bajo el criterio *sensu stricto*, H_O y H_E heterocigosis observada y esperada, respectivamente. Las desviaciones estándar se muestran entre paréntesis.* $P < 0,05$, test de Mann-Whitney.

Grupo	Localidad	N_A	N_E	P (%)	H_O	H_E
N	LH	2,4 (0,3)	1,7 (0,2)	86,7	0,419 (0,086)	0,337 (0,060)
N	QTB	3,0 (0,3)	2,0 (0,2)	93,3	0,288 (0,064)	0,442 (0,055)
N	LP	3,1 (0,3)	1,9 (0,2)	86,67	0,337 (0,068)	0,397 (0,068)
N	QES	2,6 (0,3)	1,8 (0,2)	86,67	0,423 (0,101)	0,376 (0,064)
N	QEP	2,8 (0,2)	1,9 (0,2)	86,67	0,447 (0,092)	0,403 (0,062)
N	CC	2,3 (0,2)	1,8 (0,1)	86,7	0,449 (0,084)	0,374 (0,057)
N	MN	3,5 (0,3)	2,6 (0,3)	100	0,403 (0,094)	0,573 (0,052)
N	AL	2,2 (0,2)	1,6 (0,1)	80	0,372 (0,078)	0,322 (0,057)
N	RC	2,4 (0,3)	1,8 (0,2)	80	0,398 (0,076)	0,361 (0,061)
N	TRAN	2,3 (0,3)	1,8 (0,2)	66,7	0,246 (0,092)	0,35 (0,075)
N	PD	2,8 (0,3)	1,8 (0,1)	86,7	0,303 (0,080)	0,384 (0,056)

Tabla II.4. (Continuación)...

Grupo	Localidad	N_A	N_E	P (%)	H_O	H_E
S	B	2,9 (0,3)	2,0 (0,2)	80	0,385 (0,096)	0,398 (0,076)
S	L	3,1 (0,3)	2,2 (0,2)	93,3	0,357 (0,085)	0,468 (0,061)
S	A	2,8 (0,3)	2,1 (0,2)	86,7	0,396 (0,088)	0,46 (0,058)
S	M	3,1 (0,3)	2,1 (0,2)	100	0,475 (0,091)	0,481 (0,056)
S	SF	2,9 (0,2)	2,3 (0,2)	100	0,528 (0,088)	0,527 (0,048)
S	SP	3,0 (0,3)	2,0 (0,2)	93,3	0,36 (0,085)	0,47 (0,053)
S	C	3,0 (0,2)	2,2 (0,2)	100	0,404 (0,082)	0,512 (0,048)
S	F	3,5 (0,3)	2,4 (0,2)	93,33	0,39 (0,079)	0,517 (0,065)
S	LC	3,2 (0,4)	2,3 (0,3)	93,33	0,382 (0,089)	0,461 (0,073)
S	P	3,1 (0,2)	2,0 (0,2)	100	0,416 (0,080)	0,462 (0,049)
S	H	3,1 (0,2)	2,2 (0,2)	100	0,486 (0,070)	0,511 (0,046)
S	VF	3,0 (0,2)	2,3 (0,2)	93,3	0,322 (0,081)	0,543 (0,047)
S	T	3,2 (0,3)	2,5 (0,2)	93,3	0,326 (0,070)	0,557 (0,051)
Norte		2,67 (0,82)*	1,90 (0,06)*	85,45 (2,51)*	0,37 (0,02)	0,39(0,01)*
Sur		3,07 (0,07)*	2,23(0,06)*	94,36 (1,66)*	0,40 (0,02)	0,49 (0,01)*
Población		2,89 (0,05)	2,07 (0,04)	90,28 (1,70)	0,39 (0,02)	0,44 (0,01)
Especie		5,33 (0,25)	2,23 (0,19)	100	0,40(0,06)	0,51 (0,03)

Tabla II.5: Test χ^2 para las frecuencias alélicas por locus para todas las poblaciones (*) significativos <0,0001.

Locus	N de alelos	χ^2	d.f.
ALD*	4	517,799	69
IDH*	4	853,834	69
G2D*	5	653,525	92
SKDH*	5	748,666	92
PER*	5	436,220	92
PGM1*	7	821,738	138
PGM2*	7	1214,016	138
MNR1*	5	708,422	92
MNR2*	5	682,378	92
PGI1*	6	612,362	115
PGI2*	6	859,622	115
PGI3*	5	785,729	92
MDH1*	6	813,675	115
MDH2*	6	1218,333	115
MDH3*	4	408,561	69
Totales	80	11334,880	1495

Tabla II.6: Coeficientes de endogamia dentro de las poblaciones, para 15 loci polimórficos en 24 poblaciones de *Echinopsis terscheckii*. *: test χ^2 , $p < 0,05$.

Población	Ald	G2d	Idh	Mdh-1	Mdh-2	Mdh-3	Mnr-1	Mnr-2	Per	Pgm-1	Pgm-2	Pgi-1	Pgi-2	Pgi-3	Skdh
LH	-0,088		-0,169	-0,349*	-0,129	-0,064	-0,074	-0,043	0,067	-0,535*	-	-0,674*	-0,021	-0,105	
QTB	0,818*	0,747*	-0,179	0,124*	0,448*		0,591*	-0,8	0,675*	-0,087	-0,41	-0,088*	0,251	0,536*	1*
LP	-0,324*	-0,059	-0,014	-0,253	0,082*	0,62*	0,266		0,441*	0,153*	0,077*	-0,165*	0,512*		0,313*
QES	0,429	-0,067	0,209*	-0,378*	-0,103	0,11			-	-0,668*	-	-0,643*	0,87*	-0,026	0,685*
QEP	0,349	0,341*	0,041*	-0,503*	-0,235	0,307*			-0,31	-0,529	-0,362	-0,51*	0,32	-0,037	0,311*
CC	-0,083	-0,057	-0,127	-0,28*	-0,27	0,014	-0,002	-0,2	-0,104	-0,536*	-0,62*	-0,437*	0,608*		
MN	0,516*	0,836*	1*	-0,383	-0,165	1*	0,115	-0,05	0,422	0,113*	0,007*	-0,304*	0,036	0,797*	1*
AL	-0,102		-0,657*	-0,272	-0,111	-0,04	0,495*	-0,231	-0,088	-0,519*	-0,193	-0,023	0,11		
RC	-0,081			-0,411*	-0,137	-0,195	-0,146	-0,25	-0,51	-0,166	0,178	-0,138	0,297*		0,142
TRAN	0,399*	1*		-0,603*		1*	0,143			-0,333*	-0,333	-0,248	0,921*		1*
PD	-0,115			-0,513*	0,654*	0,246*	1*	0,869*	-0,143	-0,141	0,176	-0,531*	0,216*	0,151	0,738*

Tabla II.6. (Continuación)...

Población	Ald	G2d	Idh	Mdh-1	Mdh-2	Mdh-3	Mnr-1	Mnr-2	Per	Pgm-1	Pgm-2	Pgi-1	Pgi-2	Pgi-3	Skdh
B			0,863*	-0,474*		0,649*	0,487*	0,167*	0,101*	-0,244	0,028*	-0,338*	-0,108*	0,057*	-0,034
L		1*	0,395*	-0,379	0,546*	-0,073	0,273*	0,648*	0,04	0,432*	0,63*	-0,481*	-0,121	0,495*	1*
A		0,747*	-0,105	-0,195*	0,048	-0,112*	0,842*	0,905*	0,54*	0,17		-0,582*	-0,373*	-0,07*	0,537*
M	0,355*	0,695*	0,927*	-0,37	-0,168	-0,434*	0,495*	1*	-0,079	-0,224	-0,531*	-0,384*	-0,081	0,274	-0,036
SF	0,443*	0,542*	0,8*	-0,499*	-0,168	-0,035*	-0,423*	1*	0,004	-0,217*	0,044	-0,43*	0,094	-0,255	0,464*
SP	-0,159*	0,925*	0,304*	-0,208		0,352	1*	1*	0,695*	-0,149*	-0,122*	-0,164	-0,153*	0,666*	0,465*
C	-0,039	0,641*	0,235*	-0,227	-0,132	-0,437*	1*	1*	0,304	0,541*	0,18*	-0,282*	0,078	0,376*	0,856*
F		1*	-0,025	0,143	-0,036	0,502*	0,223*	1*	0,563*	-0,193*	0,208	-0,318	-0,124	0,05*	0,717*
LC		1*	0,538*	0,079	-0,067	1*	-0,043	1*	0,195*	0,002*	-0,101*	-0,223	0,095	-0,634	0,5*
P	-0,096	0,257	0,346	-0,455	-0,034	0,015*	-0,306	0,937*	0,658*	-0,575	0,366*	-0,371	-0,087*	0,435*	0,46*
H	-0,184	0,756*	0,216*	-0,355	-0,121	0,362*	-0,087*	0,251	-0,12	-0,241	0,036*	-0,253	0,087*	0,169	0,486*
VF		1*	0,828*	-0,009	0,072	0,362*	0,658*	1*	0,495*	0,888*	0,406*	-0,561*	-0,156	-0,138*	1*
T	0,234	0,831*	0,423*	0,123	-0,25	0,025	1*	1*	0,616*		-0,123*	-0,205	-0,001*	0,55*	1*

Tabla II.7: Resumen del análisis de AMOVA para 24 sitios muestreados de *Echinopsis terscheckii*.

Fuente de variación	grados de libertad	suma de cuadrados	cuadrados medios	varianza estimada	% de variación
Entre poblaciones	23	717,478	31,195	0,890	20
Dentro de poblaciones	724	2590,180	3,578	3,578	80
Total	747	3307,658		4,467	100

PhiPT= 0.199 valor de P<0,001

Tabla II.8: Test Bottleneck por medio de exceso de heterocigotos en 15 loci en 24 poblaciones de *Echinopsis terscheckii* ordenados por sectores latitudinales.

Sector	Deficiencia	Exceso	Proporción de poblaciones
Norte	13 (6%)	54 (26%)	5/11
Sur	12 (6%)	128 (62%)	10/13

Tabla II.9: Sitios variables de las 44 secuencias de ADN concatenadas de tres regiones del cloroplasto y la región nuclear ITS de *Echinopsis terscheckii*.

Cloroplasto											ITS
Posición	INDEL	SUBSTITUCIÓN	INDEL	SUBSTITUCIONES						INDEL	
secuencia	108-179	489	491-495	665	894	1259	1277	1307	1314	1315-1317	469
H1-Norte	TTTTTAAAAAAAAAAGTTAAAAAG AAGATATCATATAGAATCATTCA TACTAAATAAAAATTTATACATAC	T	ATACC	T	G	G	A	G	C	GGG	T
H2-Sur	-----	G	-----	A	A	T	G	A	T	-----	C

Tabla II.10: Parámetros de diversidad para las secuencias de ADN en 3 regiones no codificantes del cloroplasto (HA, MD, SG), nuclear ITS (ITS1-2) y regiones concatenadas, en 22 poblaciones de *Echinopsis terscheckii*. La longitud del alineamiento se indican en pares de bases (bp), contenido CG (CG%), Ps: número de sitios polimórficos, I: número de indels, h: diversidad haplotídica, π : diversidad nucleotídica. Los errores estándar están en paréntesis.

Región DNA	Tamaño (bp)	Haplotipos	CG%	Ps	I	h	π
HA	196-268	2	28,7	1	1	0,507 (0,019)	0,0026 (0,0001)
MD	368-373	2	39	2	1	0,507 (0,019)	0,0026 (0,0001)
SG	680-683	2	32,1	7	1	0,507 (0,019)	0,0052 (0,0002)
ITS1-2	614	2	69,9	1	0	0,507 (0,019)	0,0008 (0,0000)
HA_MD_SG_ITS1-2	1861-1938	2	45,5	11	3	0,507 (0,019)	0,0030 (0,0001)

Tabla II.11: Diversidad isoenzimática en cactáceas columnares, modificado de Figueredo et al. 2010. N: Tamaño de la muestra, *P* %: porcentaje de polimorfismo, *A_P*: número promedio de alelos por locus polimórfico, *H_E*: heterocigosis esperada (diversidad genética), *D*: Divergencia entre poblaciones (*F_{ST}* o *G_{ST}*); S = silvestre; M = manejo *in situ*; C=cultivado. A: amplia; R: rara.

Especies	N	<i>P</i> %	<i>A_P</i>	<i>H_E</i>	<i>D</i>	Distribución	País	Polinizadores	Referencia
<i>Carnegiea gigantea</i>	16	93,3	2,79	0,129	0,075	A	México	Murciélagos /aves/abejas	Hamrick et al. 2002
<i>Cereus repandus</i>	14	94,1	3,69	0,242	0,126	A	Venezuela	Murciélagos	Nassar et al. 2003
<i>Echinopsis terscheckii</i>	24	100	5,33	0,507	0,12	A	Argentina	Noctuidae/Sphingidae/abejas	Este estudio
<i>Escontria chiotilla</i>	3S,3M,3C	35,9	1,5	0,122	0,075	A	México	Abejas/colibríes	Tinoco et al. 2005
<i>Facheiroa squamosa</i>	1	93	2,53	0,401	-	R	Brazil	---	Moraes et al. 2005
<i>Lophocereus gatesii</i>	1	65	2	0,153	-	R			Nason et al. 2002
<i>Lophocereus schottii</i>	21	90	3038	0,226	0,431	A	USA	Polillas nocturnas (<i>Upiga virescens</i>)	Nason et al. 2002
<i>Pachycereus pringlei</i>	19	91,7	3,14	0,212	0,076	A	USA	Murciélagos /aves/ abejas	Hamrick et al. 2002
<i>Pilosocereus aureispinus</i>	1	71	2,53	0,284	-	R	Brazil	Murciélagos /colibríes/abejas	Moraes et al. 2005
<i>Pilosocereus lanuginosus</i>	10	91	3,52	0,274	0,043	A	Venezuela	Murciélagos	Nassar et al. 2003
<i>Pilosocereus machrissi</i>	6	79	5,31	0,38	0,281	R	Brazil	Murciélagos /colibríes/abejas	Moraes et al. 2005
<i>Pilosocereus tillianus</i>	2	100	2783	0,352	0,028		Venezuela	Murciélagos /aves	Figueredo et al. 2010
<i>Pilosocereus viloboensis</i>	1	71	3,33	0,292	-	R	Brazil	Murciélagos /colibríes/abejas	Moraes et al. 2005
<i>Polaskia chende</i>	5S,3M	93,3	2,9	0,479	0,135	R	México	Abejas	Contreras Negrete et al. 2014

Tabla II.11 (Continuación)...

Especies	N	P %	A_p	He	D	Distribución	País	Polinizadores	Referencia
<i>Polaskia chichipe</i>	3S,3M,3C	-	-	0,495	0,067	R	México	Abejas/colibríes/Sphingidae	Casas et al. 2007
<i>Praecereus euchlorus</i>	6	88	4,33	0,443	0,484	R	Brazil	Murciélagos /colibríes/abejas	Moraes et al. 2005
<i>Stenocereus eruca</i>	8	46,2	1,48	0,154	-	R	México	Sphingidae	Molina Frenner y Clark-Tapia 2005
<i>Stenocereus griseus</i>	15	100	3,5	0,182	0,092	A	Venezuela	Murciélagos	Nassar et al. 2003
<i>Stenocereus gummosus</i>	12	75	1,96	0,26	0,1	A	México	Sphingidae	Clark-Tapia y Molina Frenner 2003
<i>Stenocereus pruinosus</i>	3S,3M,3C	100	3,4	0,583	0,046	A	México	Murciélagos	Parra et al. 2008
<i>Stenocereus stellatus</i>	3S,3M,3C	-	-	0,26	0,094	A	México	Murciélagos /aves	Casas et al. 2007
<i>Stenocereus thurberi</i>	20	84	3,42	0,201	0,128	A	México	Murciélagos /aves/abejas	Hamrick et al. 2002
<i>Weberbauerocereus weberbaueri</i>	1	67	2,25	0,257	-	A	Perú	Murciélagos/colibríes	Sahley 1996

Apéndice II.1:

Protocolo de extracción de ADN para muestras con alto contenido de polisacáridos (Adaptado de Doyle y Doyle 1990, Dumolin et al. 1995).

TA: temperatura ambiente, **H:** heladera, **F:** freezer.

1. Agregar 7,5 mg de DTT (H) y 0,01 g de PVP 40000 (TA) por cada 1 mL de buffer de extracción. Calentar el buffer de extracción a 55°C.
2. Colocar aproximadamente 0,025g de tejido parenquimático molido con nitrógeno líquido, en tubos de 1.5 ml.
3. Agregar 1 mL de buffer de extracción en cada tubo y mezclar bien.
4. Incubar en baño a 55° C durante 1 hora. Homogeneizar por inversión del tubo cada 15 min.
5. Sacar los tubos del baño y dejarlos 10 min para que se enfríen.
6. Agregar 400 µL de diclorometano (TA) y mezclar suavemente hasta obtener una emulsión.
7. Centrifugar 10 min a 1.3000 rpm. Pasar el sobrenadante a un tubo nuevo cuidando de no pipetear la interfase.
8. Repetir pasos 6 y 7.
9. Agregar 400 µL (2/3 del volumen) de isopropanol (F) y mezclar suavemente. Si el pellet de ADN no aparece, colocar los tubos en freezer a -20°C durante 30 min (Se puede dejar toda la noche).
10. Centrifugar 15 min a 1.3000 rpm. Remover el isopropanol cuidando de no perder el pellet y secar los tubos durante 1 hora sobre papel de filtro a TA.
11. Agregar 1 mL de etanol 76% (H), mezclar suavemente.
12. Centrifugar 15 min a 13.000 rpm. Remover el sobrenadante cuidadosamente y secar los tubos durante 1 hora sobre papel de filtro.
13. Agregar 50-100 µL de buffer TE 1X (TA) o buffer Ae (TA).

Buffer de extracción de ADN

Para preparar 1000ml:

ATMAB (Alkyltrimethyl Ammonium Bromide) – Sigma M7635 20 gr

*EDTA 0,5 M pH 8 40 mL

*Tris HCl 1 M pH 8 100 mL

*NaCl 5 M 280 mL

H₂O destilada llevar a 1.000 mL

* Autoclavar antes de preparar el buffer. Disolver el ATMAB en baño a 55°C. Autoclavar el buffer de extracción una vez preparado.

Buffer TE 10X (Solución stock)

Tris 100 mM 12,11 gr

EDTA 10 mM 3,72 gr

H₂O destilada 1.000 mL

Agregar 20 mg/mL de ARNasa

Solución NaCl 5M (para preparar 1.000 ml)

NaCl 292,2 gr

H₂O destilada 1.000 mL

Apéndice II.2: Frecuencias alélicas para *Echinopsis terscheckii*. En negrita alelos únicos dentro de cada grupo.

Poblaciones Grupo Norte												Grupo Sur													
Locus	LH	QTB	LP	QES	QEP	CC	MN	AL	RC	TRAN	PD	B	L	A	M	SF	SP	C	F	LC	P	H	VF	T	
Ald1	0,019	0,037			0,214		0,267	0,093		0,167					0,037	0,040	0,353				0,017				
Ald1-2	0,904	0,407	0,669	0,583	0,714	0,692	0,600	0,907	0,925	0,690	0,897	1,000	1,000	1,000	0,907	0,817	0,580	0,471	1,000	1,000	0,767	0,845	1,000	0,482	
Ald1-3	0,077	0,463	0,304	0,417	0,071	0,308	0,133		0,075	0,143	0,103				0,056	0,183	0,380	0,176			0,217	0,155		0,375	
Ald1-4		0,093	0,027																					0,143	
G2d1																									0,222
G2d1-2			0,045			0,054	0,119			0,077			0,042	0,433	0,345	0,345	0,260	0,154	0,120				0,087	0,083	
G2d1-3	1,000	0,864	0,927	0,938	0,911	0,946	0,595	1,000	1,000	0,769	1,000	1,000	0,792	0,533	0,655	0,655	0,620	0,731	0,640	0,933	0,808	0,684	0,652	0,500	
G2d1-4		0,121	0,027	0,063	0,089		0,214			0,154			0,167	0,033			0,120	0,115	0,160	0,067	0,192	0,316	0,261	0,194	
G2d1-5		0,015					0,071																		
Idh1																	0,054				0,233		0,214		
Idh1-2	0,500			0,091	0,185	0,113	0,077	0,483				0,333	0,333	0,483		0,483	0,339	0,093		0,310	0,550	0,300	0,352	0,232	
Idh1-3	0,478	0,848	0,986	0,848	0,759	0,887	0,885	0,517	1,000	1,000	1,000	0,633	0,574	0,517	0,650	0,517	0,607	0,722	0,621	0,619	0,433	0,467	0,426	0,321	
Idh1-4	0,022	0,152	0,014	0,061	0,056		0,038					0,033	0,093		0,350			0,185	0,379	0,071	0,017		0,222	0,232	
Mdh1	0,161	0,350												0,288				0,175	0,381				0,167	0,150	
Mdh1-2	0,018	0,150	0,101	0,348	0,464		0,227		0,357		0,121	0,333	0,348	0,096	0,107	0,196	0,125	0,200	0,071	0,214			0,208	0,225	
Mdh1-3	0,214	0,100	0,268	0,091	0,107	0,233	0,273	0,032	0,143		0,362	0,204	0,239	0,135	0,357	0,304	0,100	0,300	0,238	0,286	0,458	0,413	0,188	0,250	
Mdh1-4	0,268	0,400	0,601	0,348	0,125	0,367	0,364	0,758	0,357	0,500	0,431	0,407	0,283	0,212	0,482	0,500	0,475	0,325	0,262	0,214	0,458	0,261	0,438	0,350	
Mdh1-5	0,339		0,029	0,212	0,304	0,400	0,136	0,210	0,018	0,227	0,086	0,056	0,130	0,269	0,054		0,150		0,048	0,214	0,083	0,196		0,025	
Mdh1-6									0,125	0,273							0,150			0,071		0,130			
Mdh2	0,071	0,033	0,020			0,177	0,019	0,069							0,017	0,050								0,050	
Mdh2-2	0,161	0,250	0,230	0,045	0,214	0,081	0,148	0,190	0,052		0,138		0,466	0,300	0,250	0,300			0,034	0,063	0,033	0,033	0,200	0,200	
Mdh2-3	0,768	0,717	0,709	0,318	0,643	0,710	0,222	0,724	0,845	1,000	0,586	1,000	0,500	0,700	0,733	0,650	1,000	0,883	0,966	0,938	0,967	0,867	0,750	0,800	
Mdh2-4			0,041	0,530	0,143	0,032	0,130	0,017	0,103		0,155		0,034					0,117				0,100			
Mdh2-5				0,106			0,222				0,121														
Mdh2-6							0,259																		

Apéndice II.2 (Continuación)...

Locus	LH	QTB	LP	QES	QEP	CC	MN	AL	RC	TRAN	PD	B	L	A	M	SF	SP	C	F	LC	P	H	VF	T
Mdh3			0,057		0,227	0,089	0,357	0,017	0,056	0,111	0,074		0,167	0,315	0,052	0,067	0,406	0,175	0,125		0,154	0,067	0,188	0,159
Mdh3-2	0,940	1,000	0,586	0,519	0,636	0,643	0,643	0,950	0,796	0,444	0,796	0,950	0,563	0,352	0,483	0,600	0,594	0,450	0,825	0,750	0,788	0,733	0,583	0,773
Mdh3-3	0,060		0,357	0,481	0,136	0,268		0,033	0,148	0,444	0,130	0,050	0,271	0,333	0,431	0,183		0,375	0,050	0,250	0,058	0,200	0,188	0,068
Mdh3-4															0,034	0,150							0,042	
Mnr1		0,016																						
Mnr1-2		0,274	0,221				0,435	0,208	0,321	0,167	0,433	0,350	0,071	0,250	0,367	0,250	0,267	0,333	0,293	0,042	0,017	0,050	0,033	0,300
Mnr1-3	0,593	0,500	0,770	1,000	1,000	0,646	0,565	0,792	0,679	0,833	0,567	0,650	0,893	0,717	0,367	0,383	0,733	0,633	0,500	0,958	0,750	0,717	0,383	0,333
Mnr1-4	0,407	0,210	0,008			0,354							0,036	0,033	0,267	0,367		0,033	0,207		0,233	0,233	0,283	0,267
Mnr1-5																							0,300	0,100
Mnr2														0,033										0,200
Mnr2-2							0,048						0,054	0,183	0,033					0,450				0,280
Mnr2-3	0,958	0,926	1,000	1,000	1,000	0,833	0,952	0,813	0,800	1,000	0,850	0,867	0,946	0,783	0,967	0,900	0,846	0,964	0,893	0,864	0,517	0,707	0,786	0,520
Mnr2-4	0,042	0,074				0,167		0,188	0,200		0,150	0,067				0,100	0,154	0,036	0,107	0,136	0,033	0,293	0,214	
Mnr2-5												0,067												
Per1						0,033						0,036	0,037		0,043				0,109	0,158	0,135	0,017		
Per1-2	0,167		0,147			0,250	0,063	0,387			0,125	0,250	0,352	0,207	0,370	0,096	0,100	0,109	0,130	0,211	0,192	0,397	0,125	0,107
Per1-3	0,833	0,615	0,490	0,481	0,571	0,717	0,438	0,613	0,542	1,000	0,875	0,607	0,611	0,707	0,543	0,596	0,760	0,565	0,478	0,395	0,615	0,500	0,500	0,571
Per1-4		0,385	0,235	0,463	0,405		0,375		0,458			0,107		0,086	0,043	0,308	0,140	0,326	0,196	0,237	0,058	0,086	0,375	0,321
Per1-5			0,127	0,056	0,024		0,125												0,087					
Pgm1													0,036									0,147		
Pgm1-2		0,017		0,125	0,269			0,323				0,083	0,286					0,091	0,088	0,237		0,206	0,214	
Pgm1-3		0,283	0,100	0,406	0,308	0,339	0,156	0,274	0,406		0,118	0,292	0,107			0,143	0,269	0,250	0,353	0,079	0,200	0,235	0,321	
Pgm1-4	0,575	0,700	0,515	0,469	0,423	0,419	0,313	0,403	0,594	0,417	0,853	0,458	0,321	0,409	0,425	0,429	0,615	0,659	0,382	0,474	0,450	0,412	0,464	1,000
Pgm1-5	0,425		0,277			0,242	0,125			0,167	0,029	0,167	0,214	0,273	0,300	0,214	0,115		0,176	0,158	0,350			
Pgm1-6			0,108				0,156			0,417			0,036	0,318	0,275	0,214				0,053				
Pgm1-7							0,250																	

Apéndice II.2 (Continuación)...

Locus	LH	QTB	LP	QES	QEP	CC	MN	AL	RC	TRAN	PD	B	L	A	M	SF	SP	C	F	LC	P	H	VF	T
Pgm2																			0,146	0,188				
Pgm2-2												0,269						0,115	0,208	0,156				
Pgm2-3	0,464	0,288	0,132	0,310	0,308		0,200	0,267	0,019	0,250	0,188	0,370	0,231		0,017	0,038	0,346		0,021	0,188	0,036	0,093		
Pgm2-4	0,536	0,682	0,500	0,638	0,673	0,532	0,680	0,733	0,712	0,750	0,604	0,304	0,500	1,000	0,483	0,385	0,404	0,417	0,354	0,250	0,696	0,426	0,577	0,458
Pgm2-5		0,030	0,278	0,052	0,019	0,468	0,120		0,269		0,208	0,130			0,052	0,288	0,135	0,208	0,271	0,219	0,250	0,278	0,385	0,479
Pgm2-6			0,090									0,196			0,448	0,288		0,208			0,018	0,204	0,038	0,063
Pgm2-7																			0,167					
Pgi1												0,207	0,179	0,179			0,121	0,154						
Pgi1-2		0,250	0,243	0,479	0,380		0,348			0,333	0,056	0,188	0,276	0,321	0,196	0,293	0,155	0,173	0,121	0,326	0,283	0,300	0,304	0,190
Pgi1-3	0,429	0,154	0,143		0,020	0,500	0,065	0,563	0,222	0,056	0,278	0,250		0,018	0,143	0,224	0,138	0,154	0,259	0,152	0,117	0,117	0,161	0,241
Pgi1-4	0,089	0,135	0,157	0,146	0,220	0,138	0,152	0,125	0,250	0,111	0,148	0,104	0,069		0,054	0,086	0,121	0,038	0,121	0,043	0,083	0,117		0,017
Pgi1-5	0,482	0,308	0,457	0,375	0,380	0,362	0,326	0,313	0,444	0,500	0,519	0,417	0,448	0,482	0,429	0,397	0,466	0,481	0,500	0,478	0,517	0,467	0,536	0,552
Pgi1-6		0,154					0,109		0,083			0,042												
Pgi2															0,017									0,103
Pgi2-2		0,068									0,100	0,409	0,018	0,034	0,207	0,196	0,107		0,304	0,310	0,033	0,183	0,231	0,155
Pgi2-3	0,308	0,205	0,415	0,145	0,313	0,150		0,326	0,121	0,176	0,050	0,091	0,429	0,431	0,293	0,339	0,304	0,250	0,089	0,214	0,133	0,367	0,288	0,345
Pgi2-4	0,673	0,727	0,451	0,855	0,583	0,850	0,478	0,674	0,672	0,294	0,725	0,500	0,554	0,534	0,483	0,464	0,554	0,654	0,571	0,476	0,450	0,417	0,481	0,397
Pgi2-5	0,019		0,134		0,104		0,304		0,207	0,265	0,125						0,036	0,096	0,036		0,183	0,033		
Pgi2-6							0,217			0,265											0,200			
Pgi3											0,033	0,045							0,268				0,150	0,111
Pgi3-2		0,094									0,167	0,409	0,519	0,037	0,357	0,105	0,310	0,340	0,286	0,385	0,114		0,450	0,222
Pgi3-3	0,905	0,750	1,000	0,975	0,964	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,700	0,500	0,442	0,759	0,643	0,421	0,690	0,660	0,411	0,577	0,568	0,722	0,400	0,667
Pgi3-4	0,095	0,156		0,025	0,036		0,313				0,100	0,045	0,038	0,204		0,474			0,036	0,038	0,318	0,278		
Pgi3-5							0,188																	
Skdh1														0,034					0,056	0,029				
Skdh1-2			0,016	0,031	0,036						0,188		0,136	0,276			0,020		0,352	0,088			0,080	0,500
Skdh1-3	1,000	0,630	0,913	0,828	0,821	1,000	0,571	1,000	0,558	0,833	0,688	0,967	0,864	0,690	0,966	0,933	0,920	0,536	0,444	0,706	0,926	0,850	0,600	0,500
Skdh1-4		0,111	0,071	0,125	0,107		0,333		0,442	0,111	0,125	0,033			0,034	0,067	0,060	0,464	0,148	0,147	0,074	0,133	0,320	
Skdh1-5		0,259		0,016	0,036		0,095				0,056									0,029		0,017		



CAPÍTULO III

Efecto del clima y la cobertura vegetal en la estructura genética fina del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*

III.1 Resumen

Los ambientes áridos y semiáridos imponen condiciones extremas de temperaturas y humedad que influyen en el reclutamiento de las poblaciones. La importancia de la vegetación circundante en estos ambientes actuaría favoreciendo el establecimiento y la supervivencia de las plántulas debido a la generación de micrositios favorables, mientras que la competencia puede afectar a las poblaciones en ambientes climáticamente más benignos.

El objetivo de este capítulo fue analizar cómo los diferentes climas y vegetación afectan el establecimiento y la estructura genética espacial (EGE) a escala fina del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*. Se seleccionaron cuatro sitios en diferentes ambientes, ubicados a lo largo de la distribución de la especie y se tomaron datos de la cobertura vegetal mediante parches digitalizados y a través de valores promedios del índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Se realizó un diseño de muestreo espacialmente explícito para mapear los individuos y se tomó tejido parenquimático para el análisis de electroforesis isoenzimática mediante 15 loci putativos. Se calculó la autocorrelación espacial entre todos los posibles pares de genotipos, así como el número de grupos y familias genéticamente homogéneos en cada población. La mayor cobertura vegetal (66%) y los mayores valores promedio de NDVI, se midieron en la condición más húmeda, que consistió en menos parches, de mayores tamaños y más distantes. Todas las poblaciones fueron genéticamente diversas y mostraron EGE significativa. Se encontraron correlaciones positivas entre la distancia a la que se alcanzaron los valores máximos de autocorrelación y coancestría con el área de la vegetación y el tamaño del parche. También se asociaron valores NDVI más altos a un menor número de parches. Las poblaciones bajo una mayor precipitación y cubierta de vegetación consistieron en individuos esparcidos que se agruparon a mayores distancias, mientras los parches de vegetación en climas áridos produjeron grupos de genotipos estrechamente relacionados a pequeñas distancias. Estos resultados apoyan la hipótesis genética del gradiente-estrés. Bajo estrés hídrico, la facilitación promueve el establecimiento debajo de la vegetación esparcida que resulta en la estructura familiar de escala fina. En los bosques xerófilos climáticamente benignos, la competencia por los recursos, por ejemplo la luz, resulta en individuos dispersos y, por tanto, en vecindarios de escala gruesa.

Esta información es relevante para orientar esfuerzos de conservación y/o restauración, ya que estima la escala espacial a la cual puede realizarse recolección de semillas para la conservación *ex situ*.

III.2 Introducción

Las condiciones ambientales extremas de temperatura y humedad de los ambientes áridos y semiáridos, afectan el establecimiento y la supervivencia de numerosas plantas. Por lo tanto, la necesidad de sitios seguros para la germinación y el crecimiento temprano, así como el impacto de los herbívoros puede reducir en gran medida las posibilidades de reclutamiento de nuevos individuos dentro de las poblaciones. La facilitación (asociaciones positivas entre plantas) determina que las plántulas de algunas especies se establezcan bajo las copas de los individuos de otras especies, síndrome conocido como “nodricismo” (Valiente-Banuet et al. 2002, Godínez-Alvarez et al. 2003, Holland 2012).

Varios estudios han informado este tipo de interacciones bióticas en la germinación y el reclutamiento de nuevos individuos en las poblaciones de cactáceas (Franco y Nobel 1989, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991, Mandujano et al. 1998, Godínez-Alvarez et al. 2003, López et al. 2007). Por ejemplo un estudio en el saguaro *Carnegiea gigantea*, un cactus columnar en el desierto de Sonora al sur de los Estados Unidos y norte de México, mostró que una pequeña proporción de plántulas en lugares protegidos, como en superficies rocosas o debajo de plantas nodrizas, pudieron sobrevivir, tanto a las condiciones ambientales extremas como al escape de la herbivoría (Niering 1963). Las plantas nodrizas proporcionan protección contra la radiación y la pérdida de agua, disminuyen la temperatura del suelo, reducen la granivoría y la herbivoría (Nobel 1980, Franco y Nobel 1989, Valiente-Banuet et al. 1991, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991, Godínez-Alvarez et al. 2003, Drezner 2006). Algunos cactus globosos también se establecen en asociación con sustratos rocosos (Peters et al. 2008) o bien las cavidades rocosas pueden favorecer la permanencia de las semillas protegiéndolas de los depredadores, como lo observado en el cactus columnar *Pilosocereus leucocephalus* (Munguia-Rosas y Sosa 2008).

Varios estudios han proporcionado evidencia sobre los efectos positivos de la vegetación nodriza en el establecimiento de las plantas (Callaway 1997), particularmente en los cactus (Franco y Nobel 1989, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991, Mandujano et al. 2002, Godínez-Alvarez et al. 2003, Peters et al. 2008). Algunos de esos estudios siguieron diseños experimentales que pueden ser difíciles de llevar a cabo en las tierras secas debido a diversas limitaciones para la producción de semillas y las fluctuaciones climáticas que pueden tener un gran impacto en el establecimiento. Por lo tanto, el papel de las plantas nodrizas en las tierras secas se puede inferir a partir de estudios correlacionales que vinculan la co-ocurrencia de individuos adultos de una especie determinada, en asociación con otras plantas (por ejemplo,

de Viana 1996). En particular, se demostró que las imágenes obtenida a partir de sensores remotos, pueden usarse para estimar la coexistencia positiva de plantas, como la facilitación, mejor de lo esperado por azar (Xu et al. 2015).

Mientras que las plantas nodrizas en los entornos áridos y semiáridos pueden favorecer el reclutamiento debajo de la cubierta vegetal, las condiciones severas de la matriz circundante (espacios abiertos), pueden restringir la supervivencia y el crecimiento de las plántulas. Por otro lado, la competencia por los recursos limitados también puede afectar la distribución de las plantas, particularmente en entornos ambientales más benignos. La relación entre las interacciones vegetales y el estrés ha sido el objeto de distintos modelos conceptuales. El más conocido e influyente es la hipótesis del gradiente de estrés (HGE) propuesta por Bertness y Callaway (1994). HGE propone que las relaciones de facilitación y competencia entre especies varían inversamente a lo largo de gradientes de estrés ambiental, siendo las relaciones de facilitación más frecuentes en situaciones de mayor estrés ambiental.

Aunque muchos estudios se han centrado en probar la hipótesis HGE, no se investigó ninguna asociación sobre el efecto del estrés abiótico y biótico sobre la estructura genética de las poblaciones naturales. El efecto de las interacciones positivas y negativas de las especies a lo largo de gradientes de recursos, en combinación con patrones de flujo genético por medio del polen y la dispersión de semillas, puede producir la agregación espacial de individuos y por lo tanto genotipos estrechamente relacionados (estructura genética espacial significativa) en la vecindad de la planta madre, es decir, una estructura genética familiar (Hamrick y Nason 1996, Vekemans y Hardy 2004).

La distribución de genotipos en el espacio se estudió en varias especies arbóreas mostrando en la mayoría de los casos, una existencia de estructuración genética espacial, es decir, el agrupamiento de genotipos estrechamente relacionados a pequeña distancia y limitada dispersión de semillas de la planta madre, particularmente en especies que poseen semillas tan pequeñas como *E. terscheckii* (por ejemplo, Jacquemyn et al. 2007, Bessega et al. 2016).

También se ha demostrado que la escala espacial del establecimiento de plántulas afecta a EGE. Los bosques en fase de regeneración debido a las caídas de los árboles, producen vecindades genéticas más pequeñas que las que resultan de disturbios a gran escala, como lo generado después de un incendio (Premoli y Kitzberger 2005). Sin embargo, el conocimiento de la estructura genética espacial de las especies que habitan las tierras secas es escaso. Un estudio sobre el cactus columnar *Pilosocereus tillianus* asoció la agrupación espacial de genotipos estrechamente relacionados a distancias <26 m y coeficiente máximo de

relación $<0,05$ con el comportamiento de forrajeo local de los polinizadores (Figueredo et al. 2010).

En este capítulo se estudió mediante diseño de muestreo espacialmente explícito a lo largo de transectas, sitios con climas y tipos variables de vegetación para analizar si el establecimiento de semillas, y por lo tanto la estructura genética espacial a escala fina del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*, se relaciona con la cubierta vegetal.

III.3 Objetivos e Hipótesis

El objetivo de este capítulo fue analizar cómo los diferentes climas y tipos de vegetación afectan la disponibilidad de sitios para el establecimiento del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*.

Se puso a prueba la hipótesis de que el aumento de la aridez, es decir una mayor proporción de suelo desnudo, resulta en grupos de genotipos relacionados debajo de las plantas nodrizas; mientras que las áreas con condiciones ambientales más benignas, las interacciones competitivas llevan a la presencia de individuos dispersos dentro de una matriz de mayor cubierta vegetal, fomentando la formación de vecindarios genéticamente relacionados.

III.4 Materiales y Métodos

III.4.1 Sitios de estudio

En Diciembre de 2013 y Abril 2014 se muestrearon 4 poblaciones, “**Las Higuierillas**” (**LH**), Quebrada La Chilca en “**Andalgala**” (**A**), “**Padercitas**” (**P**) y “**Valle Fértil**” (**VF**). Estas poblaciones están incluidas en el estudio descrito en el Capítulo II, que abarcó el muestreo dentro de un amplio rango de condiciones ambientales y altitudinales habitadas por la especie. (Tabla III. 1, Pág. 93, Fig. III. 1 y 2, Pág. 87-88).

El sitio **LH** se encuentra en el Valle de Lerma, Provincia de Salta, a 1204 ms.n.m (Fig. III. 2a, Pág. 88). Pertenece a la región fitogeográfica de la Provincia del Chaco (Cabrera 1976), posee un clima subtropical. La temperatura media anual es de 16.9 °C, con temperaturas mínimas y máximas de 9.5 °C y 24.4 °C, respectivamente. La humedad relativa es del 69%. Los meses más secos y húmedos son julio y enero, con 3 mm y 176 mm de lluvia acumulados, respectivamente (Apéndice III. 1, Pág. 100). La vegetación principal es el bosque decíduo xerófilo, con un estrato de gramíneas, cactus y bromelias. Entre las especies de plantas dominantes se encuentran: *Acacia caven* (churqui), *Bromelia hieronymi* (chaguar),

Celtis tala (tala), *Cercidium praecox* (brea), *Ceiba chodatii* (palo borracho), *Erythrina cristagalli* (ceibo), *Geoffroea decorticans* (chañar) y *Prosopis alba* (algarrobo) (Cabrera 1976). También hay otras especies frecuentes como *Anadenanthera colubrina* (quebracho blanco), *Ceiba chodatii* (yuchán) y *Schinopsis marginata* (cebil) (Gasparri et al. 2004).

El sitio **A** está ubicado en el límite austral de la sierra del Aconquija y su prolongación hacia el sur sobre la parte septentrional de la Sierra de Ambato en la Provincia de Catamarca, a 1.053 ms.n.m (Fig. III. 2b, Pág. 88). Pertenece a la Provincia del Monte en transición con la Provincia de la Prepuna (Cabrera 1976). El clima es árido, con temperatura media anual de 18.4 °C y temperaturas medias mensuales de verano e invierno de 26.2 C° y 10.8 °C, respectivamente (Paoli et al. 2002). La humedad relativa es del 61%. Los meses más secos y húmedos son septiembre y enero, con 5 y 74 mm de precipitaciones, respectivamente (Apéndice III. 1, Pág. 100). Presenta una vegetación principal de estepa arbustiva abierta xerófila (Cabrera 1971, 1976; Morlans 1995), caracterizada por el predominio de Leguminosas arbustivas de hojas caducas, con espinas, entre las que se encuentran *Acacia furcatispina* (Garabato Macho), *Cercidium praecox* (Brea), *Larrea divaricata* (Jarilla) y *L. cuneifolia* (Jarilla), *Mimozyanthus carinatus* (Lata), *Prosopis torquata* (Tintitaco), con menos frecuencia se encuentran *Acacia aroma* (Tusca), *Bulnesia retama* (Retamo), *Ximения americana* (Pata), y algunas higuerillas (*Jatropha spp.*) (Morlans 1995).

El sitio **P** está situado en la ladera oriental de la Sierra de Velasco, en la provincia de La Rioja, a 790 ms.n.m (Fig. III. 2c, Pág. 88). Pertenece a la Provincia del Monte en transición con la Provincia del Chaco (Cabrera 1976), con clima subtropical a semiárido continental. La temperatura media anual es de 20.0 °C y las temperaturas mínimas y máximas anuales son de 12.6 °C y 27.4 °C, respectivamente (Menditto 2007). La humedad relativa es del 69%. Los meses más secos y húmedos son junio y enero, con 3 y 71 mm de lluvia acumulada en esos meses, respectivamente (Apéndice III. 1, Pág. 100). El tipo de vegetación está representada principalmente por *Celtis sp.* (talas), *Larrea sp.* (jarillas), *Prosopis sp.* (algarrobos), *Bulnesia retama* (retamo), *Cercidium praecox* (brea), y *Geoffroea decorticans* (chañar) (Boiry 2008).

El sitio **VF** está localizado en las montañas orientales de Valle Fértil en la Provincia de San Juan, a 873 ms.n.m (Fig. III. 2d, Pág. 88). Pertenece a la Provincia del Monte en transición con la Provincia del Chaco (Cabrera 1976), con un clima desértico. La temperatura media anual es de 17.9 °C, con una temperatura mínima de 10.5 °C y máxima de 25.4 °C. La humedad relativa es del 66%. Los meses más secos y húmedos son mayo y enero, con 3 y 56 mm de precipitaciones, respectivamente (Apéndice III. 1, Pág. 100). El tipo de vegetación es

con predominio de plantas xerófilas, siendo las especies más características: *Larrea divaricata*, *L. cuneifolia* y *L. nitida* (jarillas), *Monttea aphylla* (ala del loro), *Senna aphylla* (pichanilla), *Cercidium praecox* (brea), *Bougainvillea spinosa* (monte negro), *Lycium sp.* (acerillo), *Bulnesia retama* (retamo), acompañado por especies del género *Prosopis* (algarrobos) (Villagra et al. 2004).

III.4.2 Análisis de cobertura vegetal

Se seleccionaron cuatro sitios en diferentes ambientes, y se tomó datos de la cobertura vegetal mediante parches digitalizados y a través de valores promedios del índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, por sus siglas en inglés).

NDVI es un indicador que describe el verdor, la densidad relativa de la vegetación para cada elemento de imagen, o píxel, en una imagen de satélite. Un Índice de Vegetación puede ser definido como un parámetro calculado a partir de los valores de la reflectancia a distintas longitudes de onda, y es particularmente sensible a la cubierta vegetal (Gilabert et al. 1997). Así este índice utiliza las características de reflectancia espectral relativamente únicas de la vegetación verde, calculadas a partir de la luz visible y del infrarrojo cercano reflejado por la vegetación. Mientras que la clorofila absorbe la luz visible (de 0,4 a 0,7 μm) para su uso en la fotosíntesis, la estructura celular de las hojas de la planta, por otro lado, refleja la luz del infrarrojo cercano (de 0,7 a 1,1 μm). Así, los datos en espectro de luz visible e infrarrojo cercano pueden usarse para determinar las diferencias en la reflectancia de la planta y su distribución espacial en imágenes de satélite (Peñuelas y Filella 1998).

El índice de vegetación de diferencia normalizada se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\frac{(IRC-R)}{(IRC+R)}$$

Donde IRC es la reflectividad en el infrarrojo cercano y R es la reflectividad en el rojo. El rango de valores de las reflexiones espectrales se encuentra entre el 0 y 1; ya que tanto la reflectividad del infrarrojo cercano como la del rojo, son cocientes de la radiación reflejada sobre la radiación entrante en cada banda espectral. Por consecuencia de estos rangos de valores, el NDVI varía su valor entre -1 y 1: áreas de roca estéril, arena o nieve suelen mostrar valores NDVI muy bajos (por ejemplo, 0,1 o menos), la vegetación escasa como arbustos y praderas puede resultar en valores moderados de NDVI (aproximadamente 0,2 a 0,5) y

valores altos de NDVI (aproximadamente 0,6 a 0,9) corresponden a vegetación densa como la que se encuentra en bosques templados y tropicales.

Sin embargo, el cálculo de los valores de NDVI es sensible a una serie de factores perturbadores que afectan las mediciones realizadas en el espacio que conducen a malas interpretaciones. Estos incluyen los efectos atmosféricos (es decir, la composición de la atmósfera en términos de vapor de agua y aerosoles), presencia de nubes (particularmente nubes finas y pequeñas, así como sombras de nubes pueden contaminar significativamente las mediciones), efectos del suelo (tienden a oscurecerse cuando están mojados, de modo que su reflectancia es una función directa del contenido de agua). Con el fin de minimizar las fuentes de errores en las estimaciones de NDVI, se utilizaron imágenes satelitales disponibles, tomadas durante la estación seca de las zonas de estudio de dos fechas (2013 y 2014), lo que dio lugar a una medida promedio. Éstas consistieron de imágenes tomadas durante el año 2013, para el 3 de julio para los sitios LH, A y P y el 15 de noviembre para la población de VF; y durante 2014 para el 22 de julio en todos los sitios. Para cada sitio se descargaron imágenes de satélite LANDSAT-8 de: <https://libra.developmentseed.org/> con una resolución espacial de 30 m.

III.4.3 Muestreo de plantas y Electroforesis de isoenzimas

En cada uno de los cuatro sitios, se muestrearon en promedio 30 individuos siguiendo un diseño de muestreo espacialmente explícito a lo largo de transectas de 400-900 m de largo. Particularmente para el sitio LH (N = 28), sólo se consideraron 21 individuos para los análisis; los otros siete individuos fueron excluidos ya que las distancias entre ellos superaron los 900 m. La posición de cada individuo muestreado a lo largo de cada transecta fue tomada a una precisión aproximada de 1 m (Fig. III. 3, Pág. 89). Sin embargo, el sitio LH tuvo un número menor de individuos pareados por clase de distancia y, por lo tanto, consistió en individuos esparcidos (Apéndice III. 2, Pág. 101).

Para el análisis genético de cada individuo, se recolectó tejido fresco del tronco principal o de las ramificaciones secundarias, que consistieron de un cubo de 5cm de lado, siendo posteriormente etiquetadas y almacenadas en un refrigerador portátil hasta su arribo al laboratorio, donde se extrajeron las proteínas siguiendo la metodología desarrollada en el Capítulo II.

Se resolvieron 15 loci isoenzimáticos (descritos en el Capítulo II), los que fueron utilizados para el análisis genético.

III.4.4 Análisis de datos

La cobertura vegetal se estimó en las transectas de cada sitio mediante dos métricas: parches digitalizados y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). En cada sitio y dentro de un área de 25 x 600 m, se digitalizó datos vectoriales consistentes en parches de vegetación de las imágenes Google Earth. Lmagine®2016 Digital Globe con resolución submétrica. Los parches se construyeron como polígonos y se determinó el porcentaje de cobertura, el número de parches, el tamaño promedio del parche y la distancia promedio desde el centroide de cada parche, entre todos los pares de parches posibles usando el programa Quantum Gis 2.14.

Los datos NDVI para cada sitio se calculó utilizando el programa Quantum Gis 2.14 y consistió en valores promedio muestreados en 30 puntos a lo largo de una transecta de 30 x 900 m equivalente al sitio más grande LH. Los valores de NDVI medidos en cada población y año se compararon utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con STATISTICA v.7.0 (Statsoft 2004).

La diversidad genética se determinó por la proporción de genotipos distinguibles como G/N , donde G es el número de genotipos diferentes y N es el número de individuos en cada población/clase distancia (Ellstrand y Roose 1987). La diversidad de genotipos multilocus (D) se midió siguiendo Clark Tapia et al. (2005), como:

$$D=1-\sum \{[n_i(n_i-1)] / [N(N-1)]\}$$

Dónde:

n_i : es el número de individuos de genotipos i

N : tamaño de la muestra

D mide la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar de una población de N individuos tengan diferentes genotipos multilocus. D oscila entre 0 y 1, siendo 1 la máxima diversidad.

Se calculó el índice de fijación ($F = 1-[H_O/H_E]$) de Wright (1931) para cada sitio, y las desviaciones al equilibrio Hardy-Weinberg se testearon mediante pruebas de χ^2 para cada locus polimórfico, utilizando el programa POPGENE v. 1.32 (Yeh et al. 1999).

La estructura genética espacial a escala fina en cada población se evaluó mediante análisis de autocorrelación espacial entre todos los posibles genotipos apareados de individuos mapeados. Estos análisis se realizaron utilizando dos enfoques: coeficientes de coancestría en pares (Loiselle et al. 1995) y el coeficiente de autocorrelación r entre distancias geográficas y

genéticas (Smouse y Peakall 1999) utilizando los programas SPAGeDi v. 1.2 (Hardy y Vekemans 2002) y GenAlEx v. 6.5 (Peakall y Smouse 2006, 2012), respectivamente. Para cada sitio, se estimaron los coeficientes medios entre todos los pares de individuos dentro de cada una de 16 clases de distancia a intervalos de 25 m, con distancias geográficas no superiores a 400 m.

Se utilizó el estadístico Sp para evaluar la cantidad de EGE, de acuerdo a Vekemans y Hardy (2004), como:

$$-b / (1 - F_{(1)})$$

Dónde:

b: pendiente de regresión lineal

$F_{(1)}$: es el coeficiente de coancestría medio en la primera clase de distancia.

Sp se ha relacionado con el sistema de cruzamiento (alto en especies con autofecundación) y la densidad poblacional (alto en poblaciones de baja densidad) (Vekemans y Hardy 2004). Debido a que las poblaciones fueron muestreadas a lo largo de transectas, se realizaron todos los análisis anteriores bajo la hipótesis de un modelo lineal, en el que los coeficientes de coancestría fueron regresados para las distancias lineales y no logarítmicas (Rousset 2000, Vekemans y Hardy 2004).

La significación estadística del coeficiente de autocorrelación r se probó utilizando dos métodos: permutaciones aleatorias de individuos y bootstrapping a través de loci con 1.000 permutaciones aleatorias y repeticiones de bootstrap, respectivamente. También se calcularon otros parámetros indicativos de EGE: $kmáx$ como el valor máximo del coeficiente de coancestría; $Dkmáx$ como la distancia a la que se produce el valor máximo del coeficiente de coancestría, $rmáx$ como el valor máximo de la autocorrelación espacial; $Drmáx$ como la distancia a la cual la autocorrelación espacial alcanza el valor máximo de r .

La estructura genética de la población en cada sitio se infirió utilizando métodos bayesianos espaciales y simulaciones de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC, por sus siglas en inglés) implementadas en el paquete R Geneland versión 4.0.5 (Guillot et al. 2005a). Las ubicaciones geográficas de cada individuo se incluyeron en las simulaciones MCMC para determinar el número de clústeres genéticos (Guillot et al. 2005b). Se definieron los parámetros para ejecutar el modelo espacial de frecuencia no correlacionada a 100.000 iteraciones MCMC, tasa fina 100, y burn-in 200 para 10 corridas a valores de K de 1 a 10. La corrida con la mayor probabilidad posterior fue elegida para inferir el mejor K (número de cluster).

Con el fin de identificar los grupos familiares de los individuos muestreados, se utilizaron los métodos de reconstrucción de hermanos (sibship), que se utilizan cuando no se dispone de información sobre genotipos parentales ni grupos familiares para las muestras recogidas. Se utilizó el método de verosimilitud completa implementado en el software Colony v. 2.0.6.3 (Jones y Wang 2010) para estimar la probabilidad de que cualquiera de dos individuos fueran probablemente hermanos completos (fullsibs) o medio hermanos (halfsibs).

Para investigar la relación entre las métricas genéticas espaciales y la cobertura vegetal de las poblaciones estudiadas, se realizaron correlaciones parciales de rangos de Spearman entre parámetros genéticos (Sp , $kmáx$, $Dkmáx$, $rmáx$, $Drmáx$) y métricas de cobertura vegetal (NDVI 2013 y 2014, NDVI promedio, número de parches, distancia del parche, como la distancia promedio entre parches, tamaño del parche, como el promedio de tamaño del parche, y área total, como porcentaje de área de vegetación). Además, las variables climáticas de las poblaciones estudiadas como precipitación anual (P), temperaturas media (T), máxima ($Tmáx$) y mínima ($Tmín$) disponible en <https://es.climate-data.org> (Apéndice III. 1, Pág. 100) fueron correlacionadas con métricas de cobertura vegetal y con los parámetros genéticos espaciales.

III.5 Resultados

Los fragmentos digitalizados dentro de cada área de estudio dieron como resultado valores mayores en el total de la cubierta vegetal (66%) en el sitio LH más al norte y el más húmedo, mientras que en los sitios restantes los valores fueron A (42%), P (31%) y VF (41%). Los sitios de estudio variaron en el número de parches con vegetación. La vegetación bajo régimen de precipitación más baja, como A y VF, tuvieron el mayor número de parches (A 105 y VF 96), mientras que aquellos en condiciones relativamente más húmedas produjeron relativamente menos parches (LH 21 y P 36). Asimismo, las poblaciones con mayor precipitación produjeron mayores valores promedio de NDVI (LH 0,134 y P 0,129) que aquellos bajo climas más áridos y desérticos (A 0,042 y VF 0,079) (Tabla III. 2, Pág. 94).

A escala fina, los grupos de individuos produjeron el 81% de genotipos diferentes dentro de una clase de distancia corta de 50 m, lo que dio lugar a alta diversidad de genotipos multilocus de al menos 0,976 (Apéndice III. 3, Pág. 102); Resultados similares se encontraron a una escala espacial más amplia dentro de una clase de distancia de 100 m (Apéndice III. 4, Pág. 103).

Los análisis genéticos a escala fina produjeron un EGE significativo en todas las poblaciones de *E. terscheckii* (Fig. III 4 y 5, Pág. 90-91). Los coeficientes máximos de coancestría, se alcanzaron a pequeñas distancias espaciales, es decir, dentro de aproximadamente los primeros 25-50 m, variaron entre 0,15 y 0,17 en la mayoría de los lugares, excepto en el clima desértico de VF que alcanzó valores tan altos como 0,398. De manera similar, el sitio VF alcanzó el máximo rm_{\max} de 0,269. Se obtuvieron Sp superiores para los dos sitios del sur, de baja elevación, como P y VF con valores similares de 0,094; mientras que el $Sp = 0,015$ más bajo se encontró en el sitio norte de LH con mayor humedad y valores intermedios de 0,048 para el otro sitio ubicado al norte en A (Tabla III. 3, Pág. 95, Fig. III. 6, Pág. 92). De manera similar, el sitio de VF produjo la mayor endogamia promedio dentro de la población $F = 0,418$, con 64% de los índices de fijación positivos del total de test por locus, mostrando salida del equilibrio de Hardy Weinberg y sugiriendo una deficiencia de heterocigotos (Tabla III. 4, Pág. 96). Los sitios de A y P tuvieron una media de F similar a 0,181 y 0,103 respectivamente, con el 40 y el 38% de los test, que mostraron endogamia significativa. LH tuvo una media de F negativo de -0,202 y un tercio de los test con salida del apareamiento al azar, dieron valores negativos que indica exceso de heterocigotas (Tabla III. 4, Pág. 96). La estructura genética poblacional produjo un mayor número de grupos genéticamente homogéneos en poblaciones bajo climas más secos que también se correlacionaron con un mayor número de familias por medio de métodos de reconstrucción de la hermandad. Además, un mayor porcentaje de hermanos completos y medios hermanos se encontraron en lugares más húmedos (Tabla III. 5, Pág. 97).

Las métricas de cobertura vegetal se asociaron significativamente entre ellas, ya que un mayor número de parches se relacionó negativamente con el NDVI promedio y la distancia media entre parches (Tabla III. 6, Pág. 98). Se obtuvieron correlaciones significativas entre las métricas de cubierta vegetal y los parámetros genéticos espaciales. En particular, la distancia a la que se alcanzó la autocorrelación máxima (Drm_{\max}) y los coeficientes de coancestría (Dkm_{\max}) tuvo una relación positiva con el porcentaje de área de vegetación y el tamaño medio de parche, respectivamente (Tabla III. 6, Pág. 98). Además, las distancias más cortas a las que se alcanzaron los valores máximos de autocorrelación (Drm_{\max}) se correlacionaron significativamente con un mayor EGE (Sp) (Tabla III. 6, Pág. 98). De las cuatro variables climáticas analizadas (precipitación anual y temperaturas media, máxima y mínima) sólo la precipitación produjo una asociación positiva con Drm_{\max} , Dkm_{\max} y tamaño de parche (Apéndice III. 5, Pág. 104).

III.6 Discusión

Los sitios de estudio se encuentran a lo largo de un gradiente de precipitación y produjeron patrones concordantes de cobertura vegetal dentro de cada sector en el norte y el sur. Los sitios en condiciones secas tuvieron un NDVI relativamente más bajo y consistieron en un mayor número de parches pequeños que a su vez se encontraban más próximos entre sí como los medidos en A y VF. En contraste, el sitio más húmedo LH consistió en parches más grandes y con una mayor cobertura vegetal. Esto es consistente con lo sugerido para ecosistemas fuertemente limitados por agua con cubierta vegetal discontinua que no excede el 60% (Aguilar y Sala 1999). Por lo tanto, las aproximaciones como NDVI y los parches de vegetación digitalizados resultaron útiles en la descripción de la cubierta vegetal en ambientes secos, que a su vez dieron lugar a una asociación significativa con la distribución de genotipos en el espacio. La estructura espacial de grano fino dio lugar a poblaciones genéticamente estructuradas.

Las poblaciones de *E. terscheckii* mostraron un número elevado de diferentes genotipos multiloci (Tabla III. 7, Pág. 99) y altos niveles de diversidad genética dados por P y H_E (valores descritos en el Capítulo II). Los altos valores de diversidad genética han sido asociados con rangos geográficos amplios y altas tasas de fecundación cruzada, en plantas en general (Hamrick y Godt 1989, 1996; Hamrick et al. 1992) y cactus columnares en particular (Nassar et al. 2003; Moraes et al. 2005; Figueredo et al. 2010). El sistema de reproducción auto-incompatible de *E. terscheckii* (Ortega-Baez et al. 2010) en combinación con una dispersión a larga distancia por aves probablemente genera poblaciones genéticamente diversas.

Los genotipos de *E. terscheckii*, no se encontraron ni aleatoriamente ni uniformemente distribuidos a pequeñas distancias espaciales. Se produjeron grupos de genotipos similares en todas las poblaciones estudiadas, y alcanzaron valores de coancestría diferentes que dependieron de las condiciones del sitio, incluyendo el clima y la cobertura vegetal. Particularmente VF bajo las condiciones más secas alcanzó la estructura genética espacial más fuerte evidenciada por los valores más altos del coeficiente de coancestría y de correlación, k_{max} 0,398 y r_{max} 0,269, respectivamente. Sólo un estudio realizado en Cactaceae analizó la agregación genética espacial de genotipos a distancias espaciales de escala fina. Este trabajo mostró que el cactus columnar *Pilosocereus tillianus*, que habita en los Andes venezolanos con precipitaciones anuales de 450-550 mm, produjo grupos de genotipos relacionados, a de escalas espaciales <30 m (Figueredo et al. 2010). La EGE

significativa se explicó por el establecimiento local de semillas estrechamente relacionadas, producidas por la autocompatibilidad parcial y la endogamia biparental (Figueredo et al. 2010). Del mismo modo, la estructura genética registrada en *E. terscheckii* se produjo a distancias de 25-50 m en condiciones de aridez (<400 mm/año), mientras que en el sitio más húmedo, los genotipos genéticamente similares se agruparon a mayores distancias de 100-125 m. Aunque las poblaciones de *E. terscheckii* son auto-incompatibles, en climas áridos y desérticos la estructura espacial de la vegetación en manchones puede favorecer la actividad local de los polinizadores y por lo tanto los eventos de apareamiento entre individuos espacialmente más cercanos y genéticamente relacionados (endogamia biparental). Por otra parte, los bosques caducifolios xerófilos bajo regímenes de mayor precipitación, consisten de individuos dispersos que formaron vecindarios de *E. terscheckii* más grandes y más distantes entre sí. La endogamia medida dentro de estas poblaciones resultó en valores negativos que indicaría exceso de heterocigotas debido a la exogamia, es decir, el apareamiento de familias distantes espacialmente y no emparentadas entre ellas. El efecto de los polinizadores respecto a su abundancia y riqueza en la determinación de EGE, requiere de nuevos estudios.

Todas las poblaciones estudiadas mostraron EGE significativa y la fuerza del patrón de agregación estuvo asociada con la cobertura vegetal y los parámetros climáticos de los sitios estudiados. En particular, una mayor precipitación se relacionó con manchones de vegetación más grandes (escala gruesa) y mayores distancias a las que se alcanzaron los valores máximos de coancestría y autocorrelación. Además los valores más altos de NDVI promedio, se correlacionaron negativamente con el número y la distancia entre parches de vegetación. Las poblaciones de ambientes relativamente más húmedos consistieron de menos grupos y un menor número de familias de genotipos relacionados. Datos opuestos se obtuvieron para poblaciones bajo estrés hídrico.

Estos resultados sugieren que un gradiente en la disponibilidad de recursos determina la estructura de la vegetación, que a su vez parecería estar asociada al grado de estructura genética y familiar de *E. terscheckii*. Tales estructuras parecen ser de escala gruesa en el extremo más húmedo y de escala fina en condiciones áridas. Esta evidencia se sumaría a la HGE que predice que bajo condiciones abióticas estresantes las interacciones entre las especies tienden a ser mutualistas (por ejemplo, la facilitación) mientras que bajo condiciones benignas las mismas tienden a ser más antagonistas (por ejemplo la competencia) o neutrales.. Este estudio suma a estas predicciones, a la hipótesis genética de gradiente de estrés (HGGE), que sugiere que las interacciones como la facilitación serán más importantes bajo condiciones ambientales adversas, como los ambientes áridos, en donde la estructura genética espacial

seguirá un patrón genético agregado a escala fina en relación con la cubierta vegetal amanchonada. El fenómeno de la facilitación directa también es conocido como el síndrome de la planta nodriza, las cuales amortiguan las condiciones extremas en ambientes áridos para el establecimiento de plantas. Bajo climas benignos como los bosques xéricos bajo regímenes de precipitación más altos y mayor cubierta de vegetación, la competencia por los recursos como la luz brinda limitadas oportunidades para el establecimiento bajo el cerrado dosel de especies relativamente intolerantes a la sombra y de lento crecimiento como *E. terscheckii*, cuyas semillas son fotoblásticas positivas (Ortega-Baes et al. 2007) y por lo tanto dependientes de la luz para la germinación. Como consecuencia, *E. terscheckii* en los bosques xerófilos consistirá de individuos dispersos y una estructura genética de escala gruesa consistente de manchones más grandes y de genotipos agrupados a escalas espaciales mayores que pueden asociarse al potencial comportamiento de forrajeo de semillas y dispersión a larga distancia por aves. Las semillas fotoblásticas a menudo se asocian con bancos de semillas transitorios, como en *Ferocactus wislizeni*, un cactus perenne común del desierto de Sonora, cuyas semillas sobrevivieron al menos 18 meses en el suelo (Bowers 2000). Se documentó un banco de semillas persistente a corto plazo para *Echinopsis atacamensis*, especie estrechamente relacionada con *E. terscheckii*, con semillas pequeñas y latencia impuesta (de Viana 1996) que habita la Puna del noroeste de Argentina. La EGE significativo medido en *E. terscheckii* también puede deberse a bancos de semillas transitorios que pueden acumular genotipos relacionados, muy próximos a la planta madre. Además, los eventos de reclutamiento masivos pero poco frecuentes se asocian con precipitaciones favorables y períodos de temperaturas adecuadas en ambientes áridos. Esto se ha sugerido para los cactus columnares *Carnegiea gigantea* y *Stenocereus thurberi* (Parker 1993, Pierson y Turner 1998). La ausencia de germinación y el establecimiento de plántulas del cactus *Pachycereus schottii* se atribuyó a la sequía (Holland y Molina Freaner 2012) y se indicó que las plantas nodrizas sólo podrían facilitar el reclutamiento de plántulas en condiciones de precipitación suficiente. Aparentemente, eventos poco frecuentes como "El Niño" pueden aumentar el reclutamiento en algunas poblaciones (Godínez Alvarez et al. 2003). Por ejemplo, en la población de VF se registraron fuertes lluvias ocasionales (German Poblete, Universidad Nacional de San Juan, Argentina, comunicación Personal) que puede dar lugar a un abundante establecimiento de plántulas que podría explicar la alta endogamia medida en este lugar más seco.

III.7 Figuras y tablas

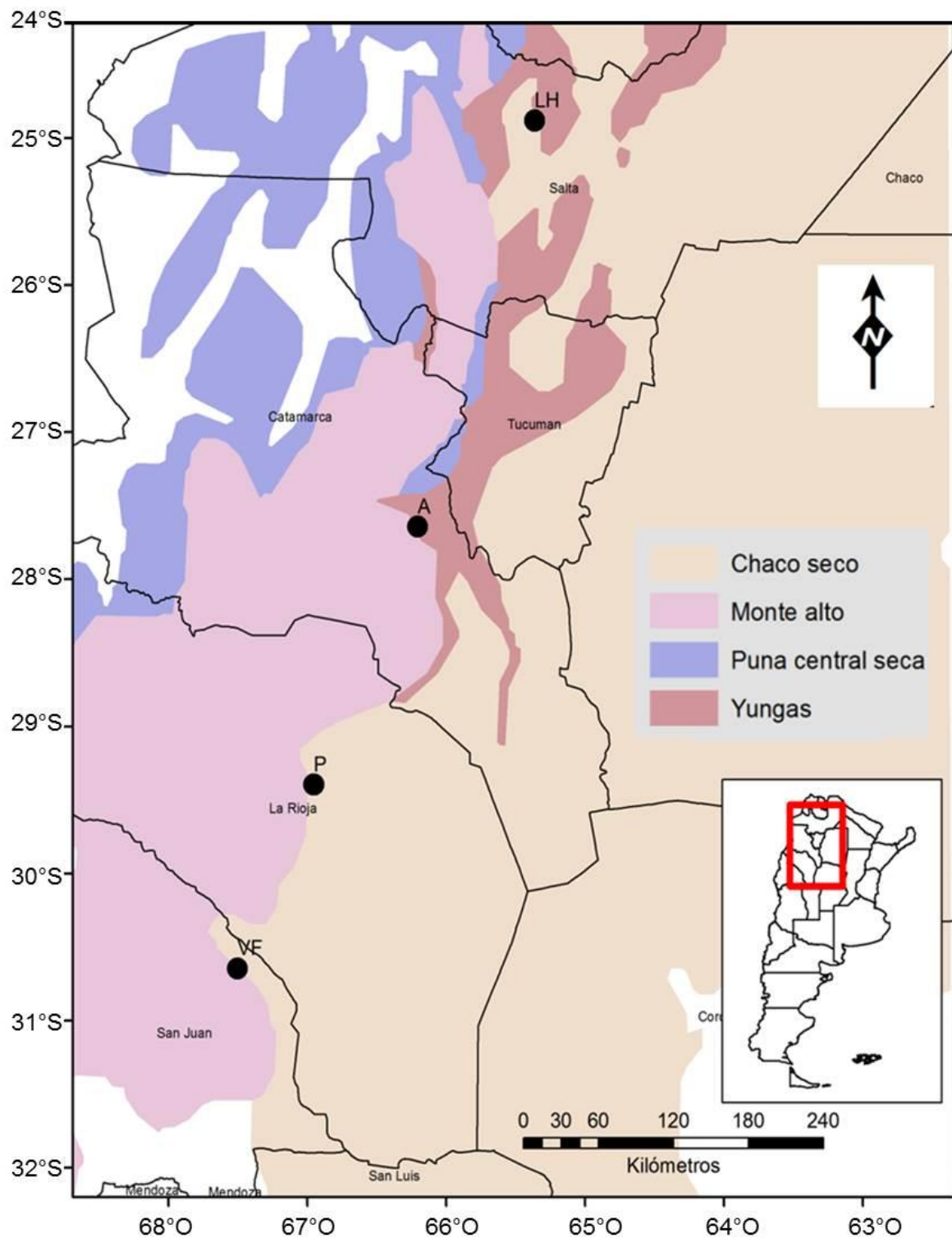


Fig.III.1: Mapa de Ecorregiones (Olson et al. 2001) habitadas por *Echinopsis terscheckii* a lo largo de su área de distribución y ubicación de los sitios de muestreo.

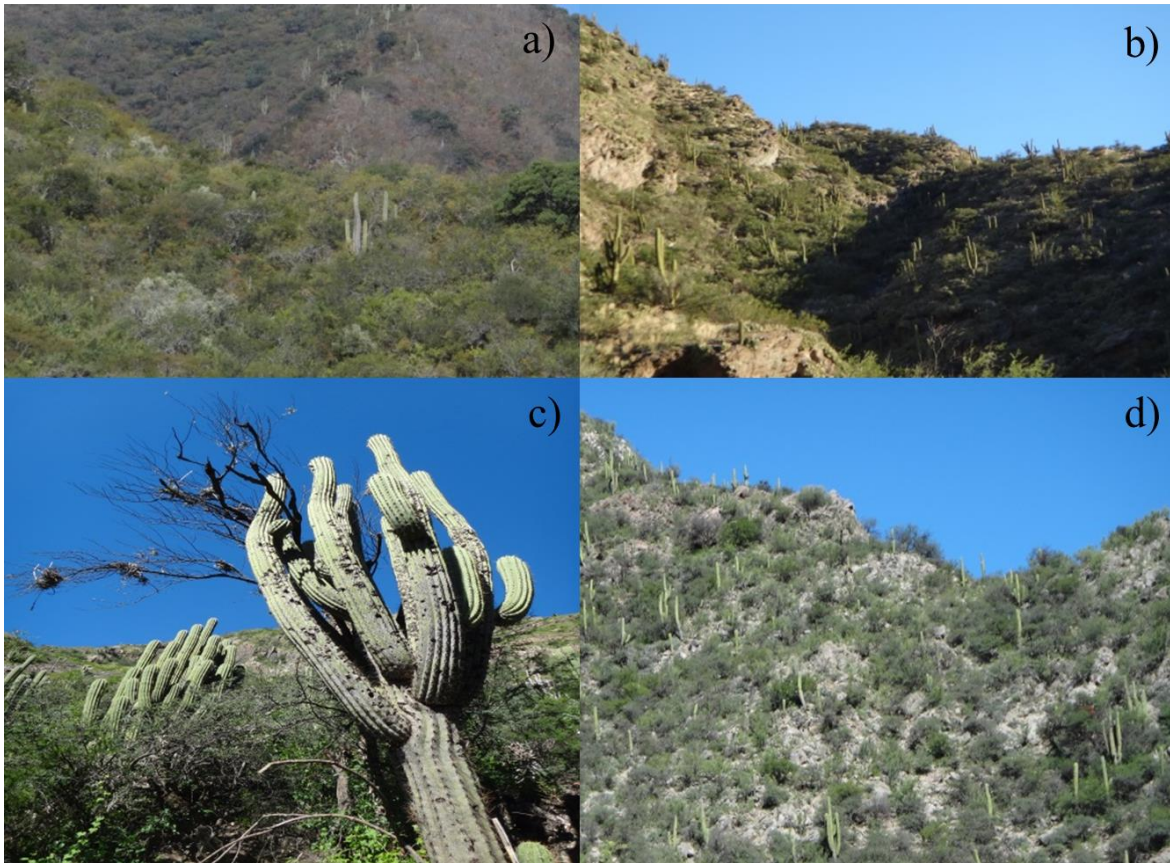


Fig.III.2: Fotos panorámicas de los sitios de muestreos: **a)** Las Higuierillas (Provincia de Salta), **b)** Andalgala (Provincia de Catamarca), **c)** Padercitas (Provincia de La Rioja), **d)** Valle Fértil (Provincia de San Juan).

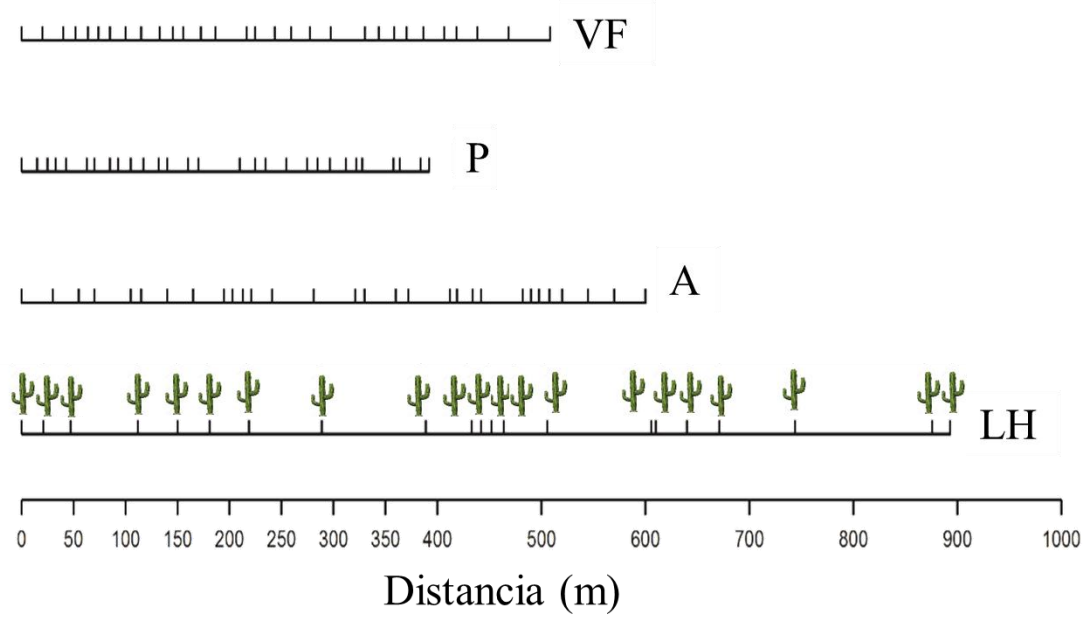


Fig.III.3: Representación esquemática del muestreo por medio de transectas lineales de 400-900 m utilizado en *Echinopsis terscheckii*. LH: Las Higuerrillas (N = 21); A: Andalgala (N = 30); P: Padercitas (N = 29); VF: Valle Fértil (N = 30).

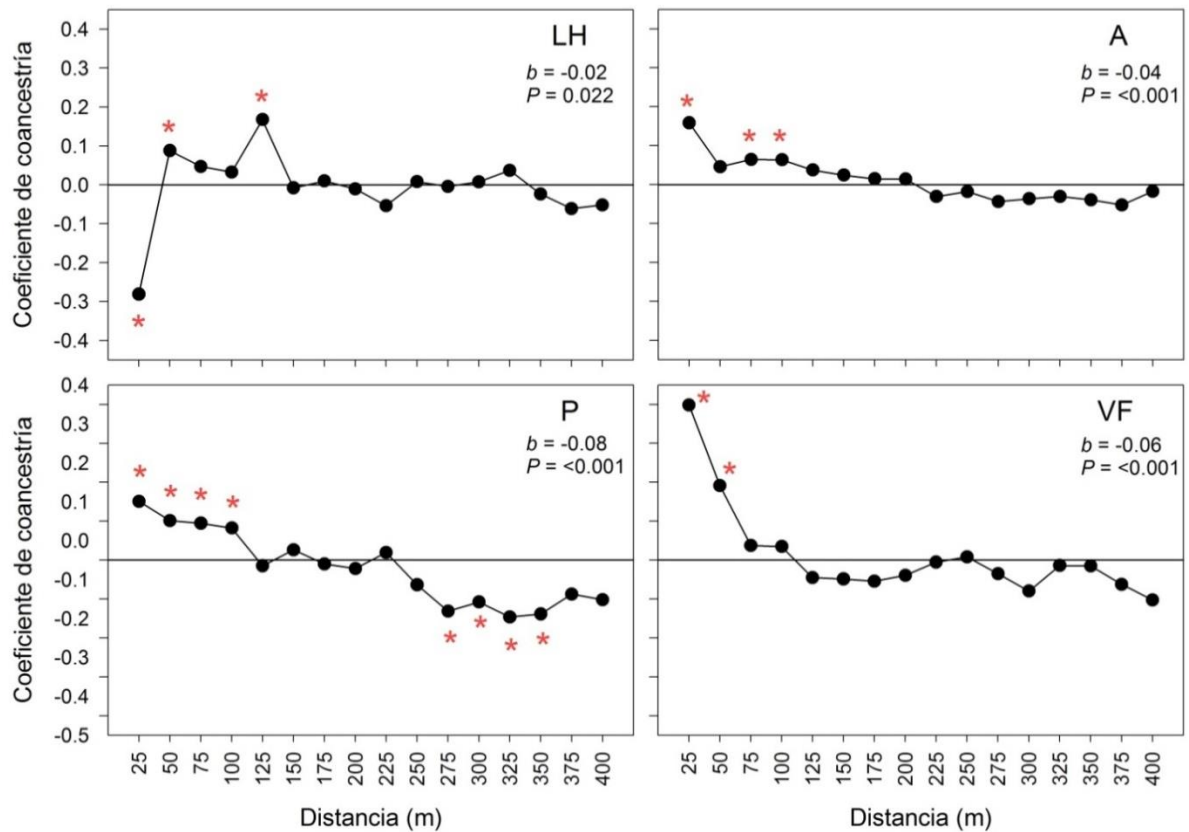


Fig.III.4: Autocorrelogramas espaciales basados en el coeficiente de coancestría de Loiselle calculados usando SPAGeDi en 15 loci de isoenzimas para *Echinopsis terscheckii*. Se definieron 16 clases de distancia en intervalos continuos de 25 m. La línea continua horizontal indica ausencia de autocorrelación espacial. Los asteriscos indican coeficientes de coancestría significativamente diferentes de cero ($P < 0,05$). Se señalan los valores significativos de la pendiente b de la regresión de coeficientes de coancestría con el logaritmo de la distancia geográfica.

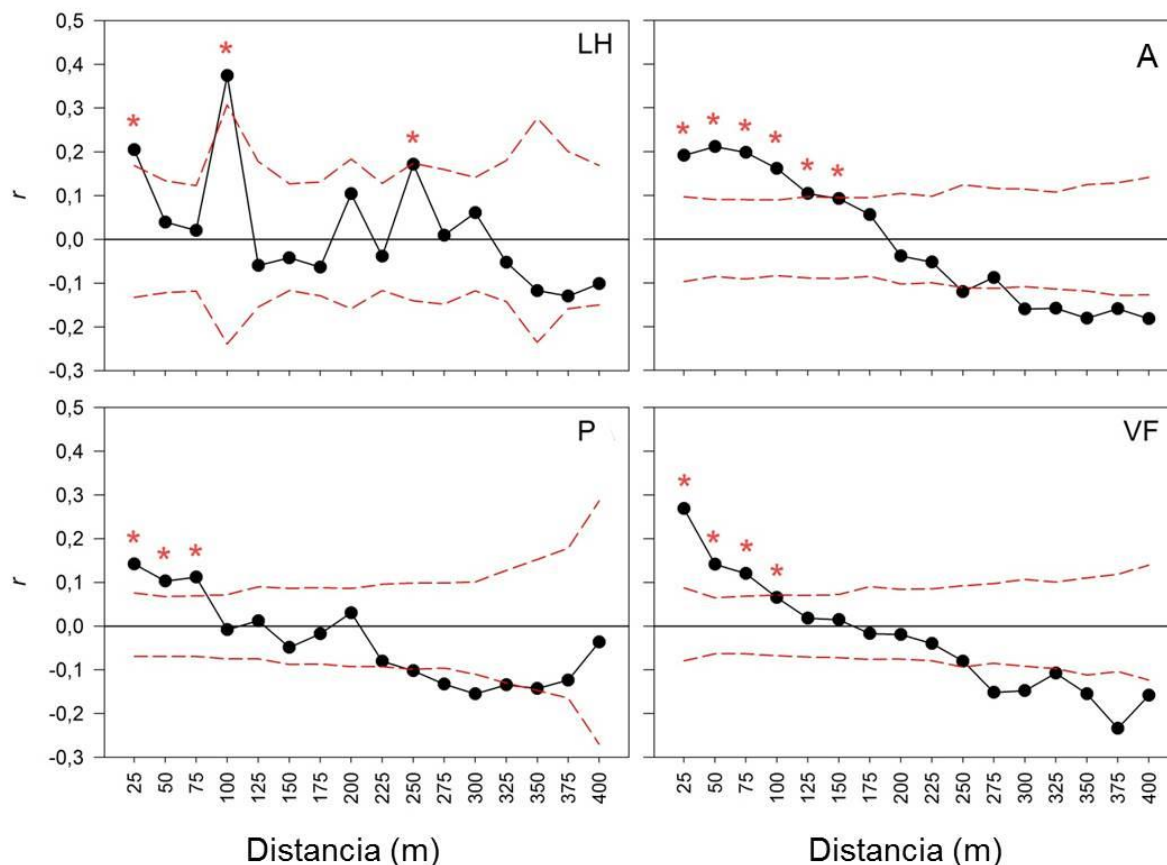


Fig.III.5: Autocorrelogramas espaciales basados en el coeficiente de autocorrelación r calculados con GenALEx en 15 loci de isoenzimas para *Echinopsis terscheckii*. Se definieron 16 clases de distancia a intervalos continuos de 25 m. La línea continua horizontal indica ausencia de autocorrelación espacial. Las líneas discontinuas representan los límites superior e inferior de los intervalos de confianza del 95%, determinados por permutación. Los asteriscos indican coeficientes de autocorrelación significativamente diferentes de cero ($P < 0,05$) determinados por re-muestreo bootstrap.

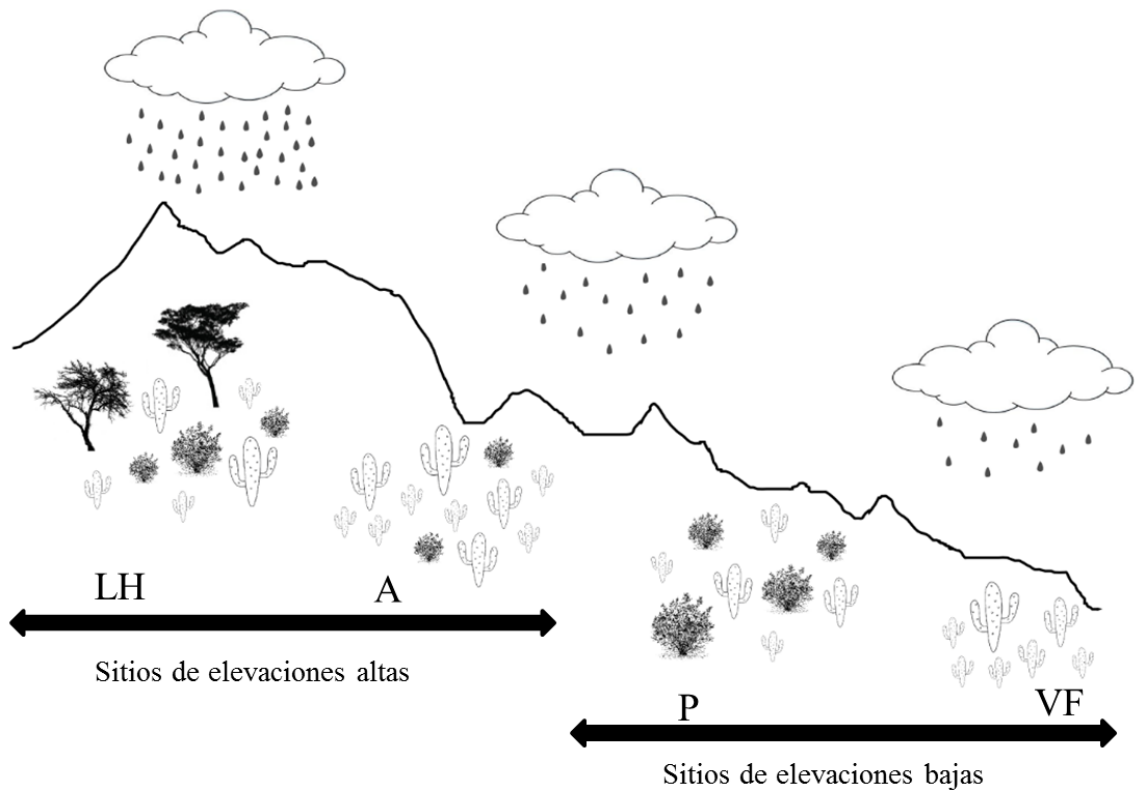


Fig.III.6: Representación esquemática de las poblaciones muestreadas, se indica el tamaño de los sitios y la cobertura vegetal en relación con los gradientes de elevación y precipitación de *Echinopsis terscheckii*. LH: Las Higuerrillas; A: Andalgala; P: Padercitas; VF: Valle Fértil.

Tabla III.1: Descripción de las condiciones ambientales y cobertura vegetal de los 4 sitios de muestreo de *Echinopsis terscheckii*

Sitio, Provincia	Coordenadas	Región Fitogeográfica *	Altitud (m.s.n.m)	Clima	Precipitación (mm/año)	Promedio de temperatura anual (°C)	Tmáx (°C)	Tmín (°C)	Tipo de vegetación
LH-Las Higuierillas, Salta	24° 49'S 65° 17'O	Provincia del Chaco en ecotono con Yungas	1204	templado húmedo	689	16,9	24,4	9,5	bosques xerófilos deciduos
A-Andalgala, Catamarca	27° 38'S 66° 11'O	Provincia del Monte en transición con Prepuna	1053	árido	326	18,4	26,2	10,8	arbustiva abierta xerófila
P-Padercitas, La Rioja	29° 24'S 66° 56'O	Provincia del Monte en transición con el Chaco	790	continental semiárido	330	20,0	27,4	12,6	arbustiva xerófila
VF-Valle Fértil, San Juan	30° 38'S 67° 30'O	Provincia del Monte en transición con el Chaco	873	desértico	243	17,9	25,4	10,5	predominancia de plantas xerófilas

* Regiones fitogeográficas según Cabrera (1971). Índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI): estima la cobertura vegetal.

Tabla III.2: Medidas de cobertura vegetal analizadas con el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) y métricas espaciales digitalizadas para los sitios muestreados de *Echinopsis terscheckii* del Noroeste de Argentina.

Sitio, Provincia	NDVI 2013	NDVI 2014	NDVI promedio	N°. de parches	Distancia de parches (m)	Tamaño del parche (m ²)	Área Total
LH-Las Higuierillas, Salta	0,139 ^a	0,128 ^a	0,134	21	230 ^a	473 ^a	66%
A-Andalgala, Catamarca	0,038 ^b	0,046 ^b	0,042	105	147 ^b	59 ^b	42%
P-Padercitas, La Rioja	0,111 ^c	0,147 ^a	0,129	36	193 ^a	129 ^a	31%
VF-Valle Fértil, San Juan	0,078 ^b	0,08 ^b	0,079	96	158 ^c	65 ^b	41%

Letras diferentes del superíndice indican diferencias significativas $P < 0,05$ Prueba de medias de Kruskal-Wallis.

Tabla III.3: Pares de coeficientes de coancestría, parámetros de autocorrelación espacial y coeficiente de endogamia intra-poblacional de *Echinopsis terscheckii* en cuatro sitios del noroeste de Argentina. $r_{m\acute{a}x}$: es el máximo valor de la correlación; $Dr_{m\acute{a}x}$: es la distancia a la cual la correlación alcanza el máximo valor; $K_{m\acute{a}x}$: es el máximo valor del coeficiente de coancestría; $Dk_{m\acute{a}x}$: es la distancia a la que se produce el máximo valor del coeficiente de coancestría; b : pendiente de la regresión lineal de los coeficientes de coancestría con el logaritmo de la distancia geográfica, Sp : es la estimación de EGE según Vekemans y Hardy (2004) y F : es el índice de fijación de Wright (1931). Las letras de superíndice indican diferencias significativas $P < 0,05$ prueba t por locus pareados.

Sitio	$r_{m\acute{a}x}$	$Dr_{m\acute{a}x}$	$k_{m\acute{a}x}$	$Dk_{m\acute{a}x}$	b	Sp	F
LH	0,205	100	0,168	125	-0,02	0,015	-0,202 ^a
A	0,212	50	0,158	25	-0,04	0,048	0,181 ^b
P	0,142	25	0,150	25	-0,08	0,094	0,103 ^b
VF	0,269	25	0,398	25	-0,06	0,094	0,418 ^c

Tabla III.4: Índices de fijación (*F*) y porcentaje de pruebas no significativas (ns) y significativas (*) positivas (+) y negativas (-) para las desviaciones de las condiciones de Hardy Weinberg de las cuatro poblaciones de *Echinopsis terscheckii*.

Sitio	<i>F</i>	ns	*	(+)	(-)
LH	-0,202	69	31	0	31
A	0,181	24	76	38	38
P	0,103	53	47	40	7
VF	0,418	22	78	64	14

Tabla III.5: Estructura genética poblacional y grupos familiares de *Echinopsis terscheckii* en cuatro localidades del noroeste argentino. El número de cluster (K) identificados por Geneland y parámetros de estructura obtenidos por Colony, Fullsibs (hermanos completos), Halfsibs (medios hermanos).

Sitio	K	Número de clusters	Número de familias	Hermanos completos	Medios hermanos
LH	1	1	8	25 (12%)	99 (47%)
A	2	2	16	21 (5%)	70 (16%)
P	3	3	20	15 (4%)	67 (17%)
VF	7	2	20	14 (3%)	48 (11%)

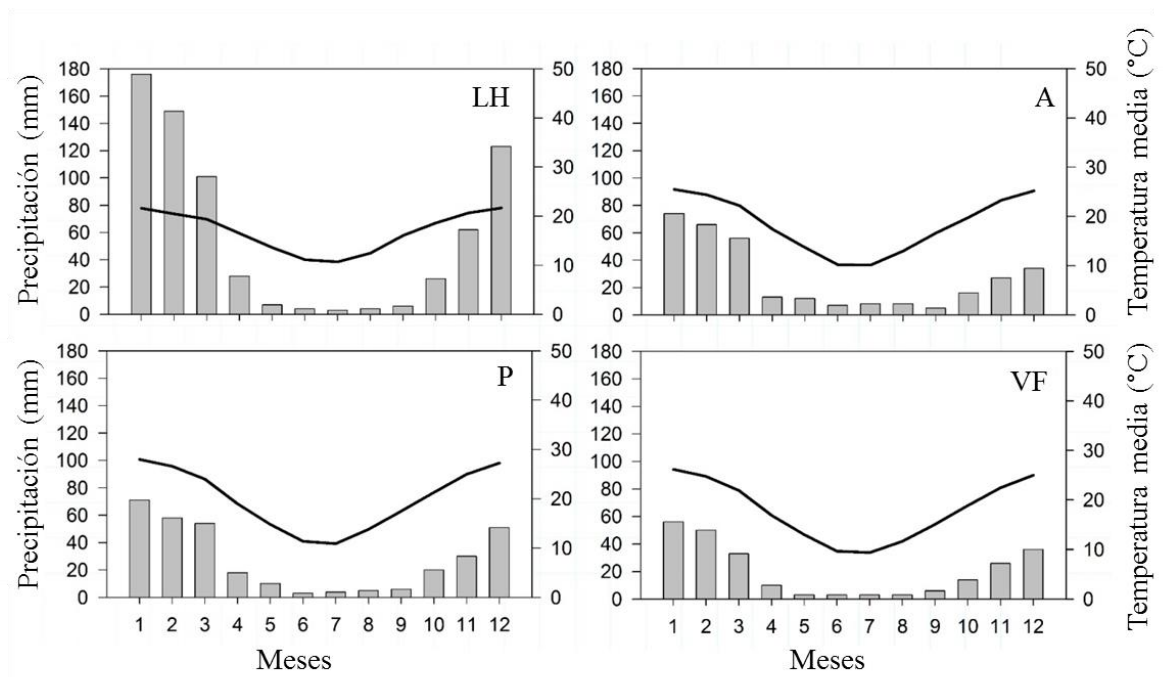
Tabla III.6: Matriz de correlaciones entre métricas de cobertura vegetal y parámetros EGE medidos para *Echinopsis terscheckii* en el Noroeste de Argentina. Las correlaciones marcadas en negrita son significativas a $P. < 0,05$.

	NDVI 2013	NDVI 2014	Promedio NDVI	N°. de parches	Distancia de parche	Tamaño del parche	Área total	<i>Sp</i>	<i>km</i> max	<i>Dkm</i> max	<i>rm</i> max	<i>Dr</i> max
NDVI 2013	1,00	0,90	0,98	-0,95	0,96	0,81	0,48	-0,26	-0,19	0,73	-0,36	0,48
NDVI 2014	0,90	1,00	0,98	-0,93	0,82	0,54	0,08	0,06	-0,30	0,40	-0,65	0,15
Promedio NDVI	0,98	0,98	1,00	-0,96	0,91	0,69	0,29	-0,10	-0,25	0,58	-0,52	0,32
N°. de parches	-0,95	-0,93	-0,96	1,00	-0,96	-0,80	-0,41	0,32	0,48	-0,69	0,62	-0,50
Distancia de parche	0,96	0,82	0,91	-0,96	1,00	0,92	0,63	-0,50	-0,40	0,85	-0,42	0,68
Tamaño del parche	0,81	0,54	0,69	-0,80	0,92	1,00	0,88	-0,76	-0,35	0,99	-0,16	0,90
Área total	0,48	0,08	0,29	-0,41	0,63	0,88	1,00	-0,89	-0,12	0,94	0,26	0,95
<i>Sp</i>	-0,26	0,06	-0,10	0,32	-0,50	-0,76	-0,89	1,00	0,49	-0,83	-0,01	-0,97
<i>km</i> max	-0,19	-0,30	-0,25	0,48	-0,40	-0,35	-0,12	0,49	1,00	-0,28	0,82	-0,42
<i>Dkm</i> max	0,73	0,40	0,58	-0,69	0,85	0,99	0,94	-0,83	-0,28	1,00	-0,03	0,94
<i>Rm</i> max	-0,36	-0,65	-0,52	0,62	-0,42	-0,16	0,26	-0,01	0,82	-0,03	1,00	-0,00
<i>Dr</i> max	0,48	0,15	0,32	-0,50	0,68	0,90	0,95	-0,97	-0,42	0,94	-0,00	1,00

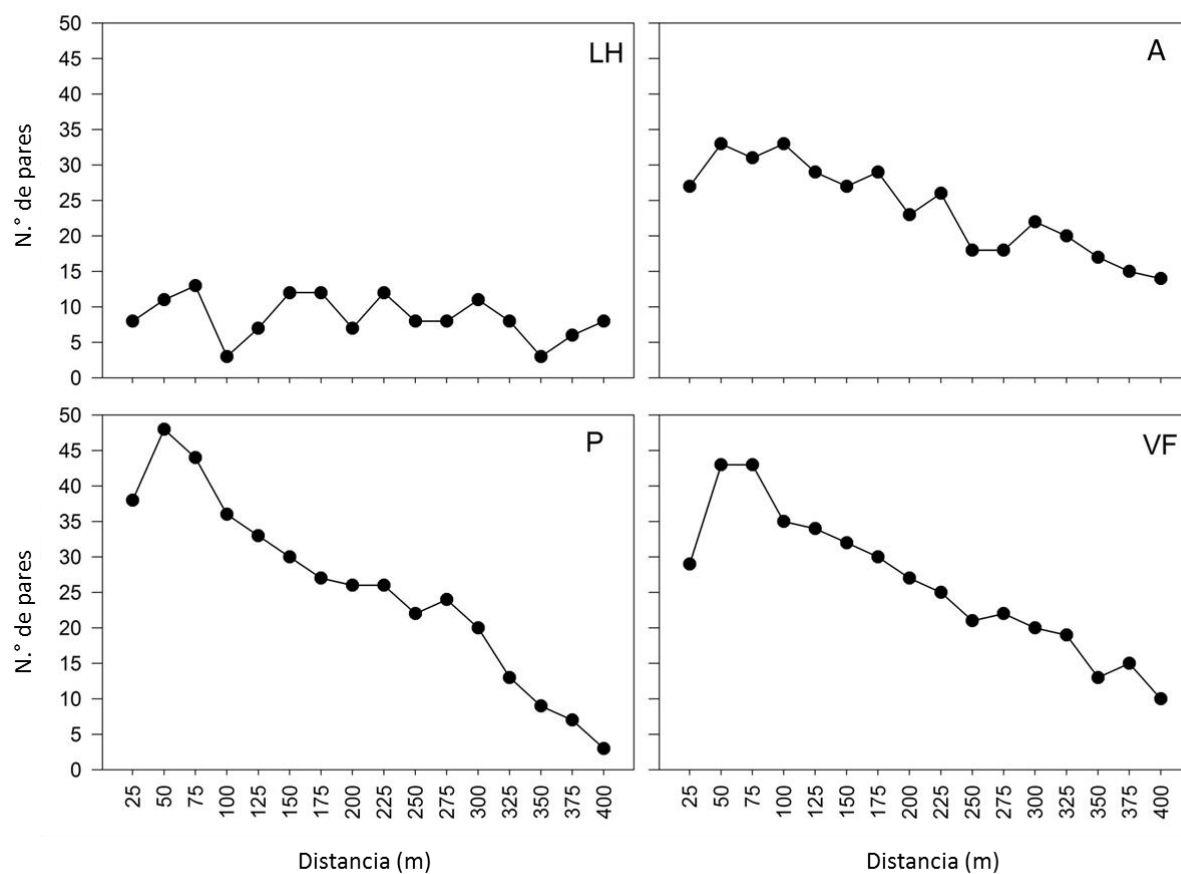
Tabla III.7: Parámetros de diversidad genotípica de *Echinopsis terscheckii* para cada población. *N*: número de individuos; *G*: número de genotipos multilocus diferentes; *G/N*: proporción de genotipos multilocus diferentes; *D*: diversidad de genotipos multilocus.

Sitio	<i>N</i>	<i>G</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>
LH	21	17	0,81	0,976
A	30	29	0,97	0,998
P	29	27	0,93	0,995
VF	30	29	0,97	0,998

Apéndice III.1: Datos de climogramas para la precipitación mensual y la temperatura media en cada sitio muestreado de *Echinopsis terscheckii*. LH: Las Higuierillas; A: Andalgala; P: Padercitas; VF: Valle Fértil (Extraído de CLIMATE-DATA.ORG). Las barras indican los valores de precipitación (mm), y la línea la temperatura media (C°).



Apéndice III.2: Número de pares de datos analizados por clase de distancia. LH: Las Higuerrillas, Provincia de Salta; A: Andalgala, Provincia de Catamarca; P: Padercitas, Provincia de La Rioja; VF: Valle Fértil, Provincia de San Juan.



Apéndice III.3: Número de genotipos multilocus diferentes contados a intervalos de 50m para *Echinopsis terscheckii*. *G*: número de genotipos multilocus diferentes; *N*: número de individuos; *G/N*: proporción de genotipos multilocus diferentes; *D*: diversidad de genotipos multilocus. LH: Las Higuerillas; A: Andalgala; P: Padercitas; VF: Valle Fértil.

Clase de distancia (m)	LH				A				P				VF			
	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>
0-50	3	3	1	1	2	2	1	1	5	5	1	1	3	3	1	1
50-100					2	2	1	1	4	4	1	1	4	4	1	1
100-150	4	4	1	1	3	3	1	1	4	4	1	1	4	4	1	1
150-200					2	2	1	1	2	2	1	1	3	3	1	1
200-250					3	3	1	1	3	3	1	1	3	3	1	1
250-300					2	2	1	1	4	4	1	1	3	3	1	1
300-350	3	3	1	1	2	2	1	1	3	3	1	1	2	2	1	1
350-400					2	2	1	1	3	4	0,8	0,7	3	3	1	1
400-450					4	4	1	1					3	3	1	1
450-500					3	3	1	1					2	2	1	1
500-550	4	4	1	1	3	3	1	1								
550-600					2	2	1	1								
600-650	4	4	1	1												
650-700																
700-750																
750-800																
800-850	2	3	0,7	0,5												
850-900																
Promedio	3,3	3,5	0,95	0,92	2,5	2,5	1,00	1,00	3,5	6,6	0,98	0,96	3,0	3,0	1,00	1,00

Apéndice III.4: Número de genotipos multilocus diferentes contados a intervalos de 100 m para *Echinopsis terscheckii*. *G*: número de genotipos multilocus diferentes; *N*: número de individuos; *G/N*: proporción de genotipos multilocus diferentes; *D*: diversidad de genotipos multilocus.

Clase de distancia (m)	LH				A				P				VF			
	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>N</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>
0-100	8	8	1	1	4	4	1	1	9	9	1	1	6	7	0,9	0,8
100-200					5	5	1	1	6	6	1	1	7	7	1	1
200-300					5	5	1	1	6	7	0,9	0,8	6	6	1	1
300-400	6	6	1	1	4	4	1	1	6	7	0,9	0,8	5	5	1	1
400-500					7	7	1	1					5	5	1	1
500-600					5	5	1	1								
600-700	6	7	0,9	0,8												
700-800																
800-900																
Promedio	6,7	7,0	0,97	0,93	5,0	5,0	1,00	1,00	6,8	7,3	0,95	0,90	5,8	6,0	0,98	0,96

Apéndice III.5: Correlaciones entre variables climáticas (P, T, T_{máx}, T_{mín}) y métricas de cobertura vegetal y parámetros EGE medidos para *Echinopsis terscheckii* en el noroeste argentino. Las correlaciones marcadas en negrita son significativas a $P < 0,05$.

	Promedio precipitación anual (P)	Promedio temperatura anual (T)	Temperatura Máxima (T_{máx})	Temperatura Mínima (T_{mín})
NDVI 2013	0,71	-0,20	-0,31	-0,13
NDVI 2014	0,44	0,24	0,13	0,30
Promedio NDVI	0,59	0,03	-0,09	0,09
N°. de parches	-0,74	0,02	0,12	-0,03
Distancia de parche	0,87	-0,29	-0,38	-0,24
Tamaño del parche	0,98	-0,61	-0,66	-0,57
Área total	0,89	-0,90	-0,91	-0,89
<i>Sp</i>	-0,86	0,71	0,67	0,73
<i>kmáx</i>	-0,47	-0,27	-0,30	-0,24
<i>Dkmáx</i>	0,98	-0,72	-0,76	-0,70
<i>rmáx</i>	-0,20	-0,65	-0,63	-0,66
<i>Dr máx</i>	0,95	-0,75	-0,74	-0,75

CAPÍTULO IV



Áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de *Echinopsis terscheckii* y la importancia de las mismas para conservar la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae

IV.1 Resumen

La conservación de los recursos genéticos se ha convertido en años recientes en una prioridad para las prácticas de manejo y conservación. El principal objetivo es proteger la viabilidad de las especies tanto a corto como a largo plazo, este último implica la protección de la variabilidad genética de las poblaciones. Argentina es uno de los países más diversos en cactáceas a escala global, con un alto nivel de endemismo. Debido a su valor de uso y a sus características biológicas, las cactáceas son consideradas un grupo de importancia para acciones de conservación. En este capítulo, se determinaron las áreas de conservación *in situ*, para la diversidad genética del cactus columnar *Echinopsis terscheckii*, y se evaluó su papel como sustituto de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae. La selección de áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de *E. terscheckii* se realizó de acuerdo a 4 metas de representación. Para las áreas seleccionadas como prioritarias se determinó qué porcentaje de diversidad taxonómica de la familia Cactaceae está representada en las mismas. Los datos genéticos, para determinar la diversidad genética, consistieron de marcadores isoenzimáticos y secuencias de ADN del cloroplasto e ITS, analizados para 22 poblaciones distribuidas en todo el rango geográfico de la especie. De acuerdo a la meta de representación 1, seis poblaciones son necesarias para representar los 80 alelos y los dos haplotipos conocidos de *E. terscheckii*. El 90.1% de las especies y el 85.36% de las especies endémicas de Argentina se encontraron representadas en el sistema de reservas genéticas de *E. terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 1. De acuerdo al resto de las metas, la proporción de especies protegidas incrementó con una meta más exigente. La representatividad de la diversidad taxonómica de cactáceas, en los conjuntos mínimos de áreas, no fue diferente del azar, pero el uso de la diversidad genética de *E. terscheckii* como sustituto de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae permitió identificar qué poblaciones tienen prioridad para cumplir con el objetivo de establecer reservas genéticas para una especie focal que a la vez puedan proteger una alta proporción de la diversidad taxonómica de un grupo con la más alta prioridad para acciones de conservación como lo son las especies de esta familia de plantas.

IV.2 Introducción

Uno de los desafíos más importantes que afronta nuestra sociedad es la de conservar la biodiversidad, dado los numerosos beneficios que la misma tiene para nuestra población y las amenazas que enfrenta debido a las actividades humanas que están sometiendo a las especies o sus poblaciones a riesgos de extinción local o global (Sodhi y Ehrlich 2010). Los niveles de pérdida de biodiversidad son de tal magnitud que hoy se considera que estamos enfrentando el sexto período de extinción masiva (Ceballos et al. 2015), siendo la principal amenaza en la actualidad, el cambio en el uso de la tierra debido a la expansión agropecuaria y la urbanización (Venter et al. 2016).

Frente a este panorama, es necesario que se planifiquen acciones de conservación que tengan como objetivo preservar la biodiversidad de las principales amenazas que enfrentan. En este sentido, en los últimos años un importante cuerpo de conocimiento se ha generado para cumplir con este propósito. Casi en su totalidad, el cuerpo teórico y metodológico que se ha generado ha tenido como principal objeto de análisis a la diversidad taxonómica, y dentro de ella principalmente a la riqueza de especies como una medida de la diversidad taxonómica. Esto ha sido así, fundamentalmente porque información sobre la diversidad taxonómica es de fácil acceso y está disponible para muchos grupos de especies y regiones de nuestro planeta. Sin embargo, tal como lo indica la Convention on Biological Diversity (CBD; www.cbd.int/convention/text/), los esfuerzos de conservación deben realizarse sobre los tres niveles de biodiversidad: ecosistemas, especies y genes. Este último nivel, comprende la diversidad genética dentro de las especies la cual representa su potencial evolutivo (Fisher 1930), por lo que su conservación es fundamental para proteger la historia evolutiva de las mismas como así también preservar la información genética que les permita enfrentar desafíos futuros como los relacionados con el cambio climático. A pesar de esta importancia y debido a las dificultades metodológicas y presupuestarias, la genética es la que menos ha sido utilizada como medida de diversidad, por ejemplo para planificar acciones de conservación de una región determinada.

El conocimiento de la diversidad genética es de suma importancia para fijar acciones de conservación para especies focales que tienen prioridad en función de la amenaza que enfrentan o por el valor de uso que las mismas poseen, evaluando inclusive esquemas de conservación en escenarios climáticos futuros (Vinceti et al. 2013). Recientemente, se han aplicado a los principios de la planificación sistemática para la conservación (*Systematic Conservation Planning*), y definir prioridades de conservación de especies focales a partir de

la diversidad genética conocida (Diniz-Filho et al. 2012a, Vinceti et al. 2013). Este enfoque ha sido tradicionalmente aplicado para planificar esquemas de conservación regional usando la diversidad taxonómica o ecosistémica, y raramente utilizando la diversidad genética. Este marco conceptual permite seleccionar el número mínimo de áreas en el cual se podría conservar *in situ* toda la diversidad genética conocida y además podría ser usada para planificar las colecciones núcleo que serían la base para la conservación *ex situ*, por ejemplo en bancos de germoplasma (Diniz-Filho et al. 2012a, Vinceti et al. 2013).

Estudios recientes han mostrado evidencia que la diversidad genética de especies focales puede ser usada además para planificar acciones de conservación para otros niveles de la diversidad en virtud de que áreas definidas con base en la diversidad genética representan adecuadamente la diversidad de grupos de especies prioritarias, como lo son las especies amenazadas. En este sentido, se ha mostrado que la diversidad genética de especies comunes de aves, murciélagos y anfibios puede ser usada como sustituto de la diversidad taxonómica de especies de Ecuador (Fuller et al. 2013). Se demostró que el desempeño de la diversidad genética fue superior al de grupos indicadores de diversidad taxonómica y de variables ambientales. A pesar de esta evidencia, existe controversia sobre si la diversidad genética puede ser usada como indicador de la diversidad taxonómica, debido a la baja o nula correlación registrada entre estas dos medidas de la diversidad. La presencia o ausencia de relación se ha explicado con base en comprender de qué manera procesos evolutivos pueden haber operado de manera similar o análoga tanto a nivel genético como ecológico (Taberlet et al. 2012).

La evidencia actual y los pocos estudios realizados al presente, ponen de manifiesto la necesidad de evaluar la manera en que la diversidad genética puede ser usada como un sustituto de la diversidad a otros niveles de organización, más allá de ser utilizada para definir prioridades de conservación para especies focales. Sin embargo, estudios previos realizados con base en la diversidad taxonómica han demostrado que la pregunta relevante no es, si los patrones de riqueza de especies de un grupo predicen los patrones de riqueza de otro grupo (correlación significativa), la relevancia radica en conocer si la complementariedad del grupo indicador predice la complementariedad (número de especies no representadas que añade una nueva área) (Margules y Pressey 2000) del otro grupo de especies, es decir si las áreas seleccionadas con base en un *surrogate* (sustituto) tienen un buen desempeño en representar la diversidad de otro grupo de especies (Lamoreux et al. 2006, Williams et al. 2006). Por lo tanto, la baja o nula correlación entre la diversidad genética y la riqueza de especies no sería

indicativa de que la diversidad genética tenga un mal desempeño como sustituto de la diversidad taxonómica.

Las cactáceas son un grupo de plantas de especial interés para conservación, esto debido principalmente a los niveles de amenazas que enfrentan como consecuencia del cambio en el uso del suelo como así también por la sobreexplotación de la que son objeto por tener valor estético y ser de gran interés para coleccionistas, principalmente como especies ornamentales (Goettsch et al. 2015). Evaluaciones recientes han mostrado que una alta proporción de las especies de cactáceas (31%) se encuentra en alguna categoría de riesgo de extinción. Además, la familia entera se encuentra en el Apéndice II y algunas especies en el Apéndice I de CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora y en castellano Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) (Ortega-Baes et al. 2010). Numerosos estudios han ensayado esquemas de conservación para la diversidad de este grupo de plantas tanto a escala regional como global (Ortega-Baes et al. 2010) pero en su gran mayoría se han referido a la diversidad taxonómica.

IV.3 Objetivos e Hipótesis

El objetivo de este capítulo fue utilizar la diversidad genética de *Echinopsis terscheckii*, una cactácea columnar endémica de Argentina culturalmente importante que se utiliza como fuente de madera y que está categorizada como vulnerable por IUCN (Ortega-Baes y Lowry 2013), para fijar prioridades de conservación *in situ*. Con base en esta información se evaluó además, si la diversidad genética de esta especie puede ser utilizada como sustituta de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae que habita a lo largo de la distribución geográfica de esta especie.

Se puso a prueba la hipótesis que la diversidad genética de *E. terscheckii* puede ser utilizada como sustituta de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae, de tal manera que las áreas prioritarias para conservación de esta especie, seleccionadas con base en su diversidad genética, albergarán una alta proporción de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae.

IV.4 Materiales y Métodos

IV.4.1 Diversidad genética de *Echinopsis terscheckii*

Los datos genéticos de *E. terscheckii* consistieron de marcadores isoenzimáticos, secuencias de ADN del cloroplasto y ADN nuclear, analizados para 22 poblaciones ampliamente distribuidas, abarcando todo el rango geográfico de la especie, a lo largo de aproximadamente 700 km (Tabla IV.1, Pág. 122). Un total de 688 plantas individuales fueron genotipadas para quince loci de isoenzimas y 44 individuos fueron secuenciados para 3 regiones no codificantes del ADN del cloroplasto y nucleares de ITS (ver Capítulo II para detalles metodológicos).

El número de alelos para marcadores isoenzimáticos de cada población y para el total de alelos de la especie, conjuntamente con los alelos privados, fueron obtenidos por conteo directo a partir de las frecuencias alélicas. Se registró un total de 80 alelos y dos variantes haplotípicas (obtenidas en base a secuencias de ADN del cloroplasto e ITS) para el total de las 22 poblaciones evaluadas. La diversidad alélica fue utilizada como medida de la diversidad genética tal como fue propuesta por Diniz-Filho et al. (2012a). Estos autores justifican el uso de la diversidad alélica para planificar esquemas de conservación para especies focales, en el marco conceptual de poblaciones que presentan diferenciación genética, como es el caso del presente estudio, medida a través del índice F_{ST} (una medida de la divergencia entre poblaciones). Tal como fue indicado en el Capítulo II de la presente tesis, *E. terscheckii* presenta una divergencia entre poblaciones moderada correspondiente a un F_{ST} de 0,119 (Capítulo II).

IV.4.2 Distribución geográfica de las especies de cactáceas de Argentina

Se modeló la distribución geográfica de 172 especies de cactáceas que se distribuyen en Argentina. Esto representa el 94,51% de la diversidad específica reconocida para este país (Ortega-Baes et al. 2010).

En el presente capítulo se utilizó una base de datos de 2707 registros de presencia de las especies de cactáceas argentinas (Ortega-Baes datos no publicados, Fig. IV.1, Pág. 117). La base de datos incluye puntos de muestreo y puntos de registro de colecciones de los principales herbarios del país. La validez de cada registro se realizó de acuerdo a Scheldeman y Zonneveld (2010) a través del análisis de inconsistencia, es decir, se removieron puntos sin coordenadas, se asignaron coordenadas a puntos georreferenciados en forma incorrecta

(cuando fue imposible), se eliminaron datos duplicados o dudosos y se examinaron las especies de plantas para resolver cualquier conflicto de nombre científico. Luego de ello, los registros de colecta fueron revisados manualmente con las localidades extraídas del servicio de datos de acceso libre Open Street Map (<https://www.openstreetmap.org/#map=5/51.500/-0.100>) y los datos de localidades y pueblos provista por el Instituto Geográfico Nacional de Argentina (IGN; <http://www.ign.gob.ar/sig>), ambos disponibles en formato ESRI Shapefile. Con las mismas se determinaron las inconsistencias espaciales entre los sitios de colecta con las que figuran en las bases. Puntos con errores de georreferenciación fueron relocalizados usando dichas bases de datos y el programa Google Earth (disponible en <http://www.google.com/earth/download/ge/>).

Para generar la distribución potencial de cada especie se usó el software Maxent (Phillips et al. 2006, Phillips y Dudík 2008). Este algoritmo fue elegido debido a su buen desempeño comparado con otros (Elith et al. 2006, Hernández et al. 2006, Aguirre-Gutiérrez et al. 2013). Se utilizaron las 19 variables bioclimáticas provistas por Worldclim con una resolución de 30 segundos (~1 km; Hijmans et al. 2005). Sólo se emplearon variables climáticas ya que según Bucklin et al. (2015), producen aproximaciones efectivas y eficientes de ambientes habitables.

Cada modelo de distribución fue puesto a punto mediante la modificación de dos configuraciones de Maxent: el multiplicador de regularización y las clases de características (*feature class*). MaxEnt tiene seis *feature class*: lineal (L), producto (P), cuadrático (Q), bisagra (H), umbral (T) y categórico (C). Las cuales se derivan de variables ambientales de dos tipos: continuo y categórico. Las características lineales, cuadráticas, producto, umbral y bisagra se derivan de variables continuas. Las características del indicador de categoría se derivan de variables categóricas (Phillips y Dudík 2008). Se crearon corridas para las siguientes combinaciones: L, LQ, H, LQH y LQHPT de *feature class* y 0,25; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 y 10,00 multiplicadores de regularización. Los modelos fueron corridos con el enfoque propuesto por Radosavljevic y Anderson (2014), usando el método de tipo enmascarado y geográficamente estructurado. De esta manera, el área de modelado es dividida en compartimientos de distintas áreas, pero con el mismo número de registros (Araujo y Rahbek 2006, Jiménez-Valverde et al. 2011, Peterson 2011). Además, debido a su distribución en sentido Norte-Sur, cada uno de los grupos espaciales es organizado latitudinalmente. Esto reduce la auto-correlación entre los datos de calibración y evaluación ya que se hace con datos espacialmente separados y las métricas de evaluación no se exageran (Veloz 2009, Hijmans 2012). La evaluación de los modelos se hizo mediante el valor AUC

promedio de las tres iteraciones para cada combinación de parámetros (una por cada zona enmascarada geográficamente). También se calculó la diferencia entre el AUC de evaluación (AUCe) y el AUC de calibración (AUCc). Esta diferencia de AUCs se calculó para toda la región de estudio de cada especie (Radosavljevic y Anderson 2014). Además de estas dos medidas, se calculó la tasa de omisión. Para ello, se usó como umbral el percentil 10. Este umbral se utilizó debido a que el mismo no es sensible a localidades particularmente extremas en cuanto a su probabilidad. El mejor modelo fue elegido de acuerdo a: 1) la menor tasa de omisión, 2) el mínimo valor AUCs y 3) el máximo valor observado de AUCe.

Una vez obtenida la distribución geográfica de todas las especies se sobrepuso cada mapa de distribución sobre las 22 celdas que incluyen las poblaciones para los cuáles se cuenta con información de diversidad alélica de *E. terscheckii*. El punto georreferenciado de cada población de *E. terscheckii* fue el centroide de una celda hexagonal de 53.11 km². Este tamaño de celda corresponde a la mediana de la superficie que tienen las áreas protegidas en Argentina (de la categoría I a la IV, según IUCN). De esta manera se determinó el número de especies (88 especies; Apéndice 1, Pág. 124-126), que potencialmente habitan junto con *E. terscheckii*, constituyendo así la diversidad taxonómica para la cual se evaluó los niveles de representatividad de las reservas seleccionadas con base en la diversidad alélica de esta especie focal.

IV.4.3 Selección de áreas prioritarias y el papel como sustituto

La selección de las áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de *E. terscheckii* fue realizada usando el software MARXAN (Game y Grantham 2008). Este software es utilizado para la selección de reservas que soluciona el problema del conjunto mínimo y tiene como objetivo específico minimizar el costo de la red de reservas, a la vez que cumple con todas las metas cuantitativas de biodiversidad. Las metas de representación tenidas en cuenta fueron: 1) que la diversidad alélica esté representada al menos una vez (meta 1), 2) que la diversidad alélica esté representada al menos una vez, con la restricción que los dos únicos haplotipos registrados para la especie estén seleccionados prioritariamente (meta 2), 3) que la diversidad alélica esté representada al menos dos veces (meta 3) y 4) que la diversidad alélica esté representada al menos dos veces, con la restricción que los dos únicos haplotipos registrados para la especie estén seleccionados prioritariamente (meta 4).

Una vez seleccionadas las áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de *E. terscheckii* se determinó qué diversidad taxonómica de la familia Cactaceae estaba representada en dichas áreas, evaluando así el desempeño de la diversidad genética

como sustituto de la diversidad taxonómica. Para ello se sobrepusieron los mapas de distribución de todas las especies y de las especies endémicas de Argentina separadamente, sobre las áreas seleccionadas como prioritarias para la conservación de *E. terscheckii* de acuerdo a las cuatro metas de conservación, obteniendo el porcentaje de todas las especies y de las especies endémicas (representatividad) que estaba contenido en las poblaciones seleccionadas como prioritarias. A fin de conocer si las áreas seleccionadas con base en la diversidad alélica de *E. terscheckii* tienen un mejor desempeño que áreas seleccionadas al azar, se generaron 1.000 subconjuntos al azar de áreas prioritarias utilizando el mismo número mínimo de poblaciones obtenido para cada meta de conservación. Para cada subconjunto se calculó la representatividad de especies con los que se obtuvieron los percentiles 2,5 y 97,5%, los que constituye los límites de confianza. El desempeño del grupo sustituto (diversidad alélica) se consideró bueno si la representatividad observada de la diversidad taxonómica supera el límite superior del intervalo.

IV.5 Resultados

IV.5.1 Poblaciones prioritarias para conservación

La riqueza alélica promedio por población fue de $43,68 \pm 5,24$, con un máximo de 52 (poblaciones de Metán y Famatina) y un mínimo de 33 (población de Alemania; (Tabla IV.1, Pág. 122). De acuerdo a la meta de representación 1, seis poblaciones son necesarias para representar los 80 alelos y los dos haplotipos conocidos de *E. terscheckii* (Fig. IV. 2, Pág. 118). Estas poblaciones ocupan un rango amplio latitudinal y están ubicadas en las provincias de Salta, La Rioja y San Juan. Diez poblaciones fueron necesarias para representar toda la diversidad genética conocida de *E. terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 2. Estas poblaciones se ubicaron en las cinco provincias en las que se distribuye la especie (Fig. IV. 3, Pág. 119). De acuerdo a la meta de representación 3, 12 poblaciones fueron seleccionadas como prioritarias, ubicándose en todas las provincias a excepción de Tucumán (Fig. IV. 4, Pág. 120). Por último, 15 poblaciones constituyen el número mínimo para representar toda la diversidad conocida de la especie bajo estudio, las que se ubicaron en las cinco provincias en las que se distribuye la especie (Fig. IV. 5, Pág. 121). Cinco poblaciones (QTB, MN, LC, H y T) fueron seleccionadas para las cuatro metas de representación (Fig.IV.2, Pág. 118).

IV.5.2 Representatividad de la diversidad taxonómica

Del total de especies (88 especies) que se distribuyen potencialmente conjuntamente con *E. terscheckii*, el 90,1% se encuentran representadas en el sistema de reservas

seleccionado de acuerdo a la meta de conservación 1, 95,45 de acuerdo a la meta 2, 96,59 de acuerdo a la meta 3 y el 98,86 de acuerdo a la meta 4. Del total de especies endémicas de Argentina (41 especies) que se distribuyen potencialmente junto con *E. terscheckii*, el 85,36% están representadas en el sistema de reservas de acuerdo a la meta de representación 1, el 90,24 de acuerdo a la meta 2, el 95,12 de acuerdo a la meta 3 y el 97,56 de acuerdo a la meta 4. En todos los casos, la representatividad en el conjunto mínimo de áreas, de acuerdo a cada meta de representación, no fue diferente del azar (Tabla IV. 2, Pág. 123).

IV.6 Discusión

El número mínimo de poblaciones necesarias para conservar toda la diversidad genética conocida de *Echinopsis terscheckii* fueron seis, de acuerdo a la meta 1. Cuando las metas de representación fueron más exigentes (meta 2, 3 y 4), un número mayor de poblaciones fueron necesarias para cumplir con este propósito. Estos resultados muestran que el marco conceptual y metodológico de la planificación sistemática para la conservación (Margules y Pressey 2000) puede ser utilizado para la diversidad genética, lo que ha sido destacado en los pocos estudios previos que han usado un enfoque similar (Diniz-Filho et al. 2012, Vinceti et al. 2013). Es decir, es posible diseñar una red de reservas genéticas a través de métodos de optimización, dando peso no sólo a las áreas que tienen una alta diversidad genética (alélica) sino también a aquellas, que aunque menos diversas, tienen diversidad singular (alelos únicos o pocos frecuentes; Diniz-Filho et al. 2012). Los enfoques tradicionales, por ejemplo, utilizando diferentes medidas que resumen la diversidad genética, como la riqueza alélica (el equivalente a la riqueza de especies, utilizada para la diversidad taxonómica) tienen el inconveniente que priorizan áreas más diversas, sin importar que la misma pueda ser redundante (Vinceti et al. 2013). Esto ha sido destacado previamente para la diversidad taxonómica cuando se han comparado las áreas seleccionadas con base en el concepto de *hotspots* con las seleccionadas por complementariedad (Reyers et al. 2000).

El número de poblaciones seleccionadas para la conservación *in situ* de *E. terscheckii* en base a su diversidad genética, fue similar a los obtenidos para *Dipteryx alata*, un árbol endémico de la ecoregión del Cerrado (Diniz-Filho et al. 2012) y relativamente bajo cuando se lo compara con *Prunus africana*, un árbol de los bosques Afromontanos de África (Vinceti et al. 2013). Esto es una ventaja, porque significa que con un bajo esfuerzo, expresado en número de poblaciones, puede conservarse el 100 % de la diversidad genética conocida. Si se desea una mayor representatividad de dicha diversidad (por ejemplo, que cada alelo esté representado dos veces) más poblaciones son necesarias para dar cumplimiento a este objetivo. Se ha

indicado, que aunque niveles altos de representación en los sistemas de reservas son más costosos, son preferibles porque podrían ser más efectivos para conservar la diversidad objeto de protección a largo plazo (Gaston et al. 2001).

Aunque el objetivo inicial sólo fue determinar el número mínimo de poblaciones que son necesarias para establecer las reservas genéticas para la conservación *in situ* de esta especie, los resultados obtenidos pueden ser usados para la colecta de germoplasma, lo que permitiría establecer una colección núcleo para la conservación *ex situ*.

También el diseño de prácticas de conservación puede guiarse además por la distribución de polimorfismos genéticos. Los centros de diversidad genética y variantes genéticas únicas son relevantes en conservación para asegurar la viabilidad de las poblaciones y su potencial evolutivo para responder a cambios ambientales en el largo plazo. La disyunción de los dos grupos de poblaciones reveladas tanto por marcadores de ADN del cloroplasto como nucleares a los 27° S podría considerarse como unidades evolutivas significativas (Moritz 1994). De la misma manera, la elevada diversidad en los marcadores isoenzimáticos juntamente con la presencia de variantes alelicas únicas hacia el sur de la distribución pueden utilizarse para priorizar esfuerzos de conservación, como lo sugerido para *Podocarpus parlatorei* (Quiroga et al. 2012, Quiroga y Premoli 2013).

Echinopsis terscheckii es una cactácea columnar que es colectada como fuente de madera para la construcción de pequeños muebles, artesanías, revestimientos, entre otros usos. Esta especie endémica de Argentina ha sido categorizada como vulnerable por IUCN, estando amenazada, además de su colecta, por el avance de la frontera agropecuaria que ha afectado la extensión de su distribución geográfica, al menos en el noroeste de Argentina (Ruiz 2011). Debido a esto es necesario generar acciones de conservación *ex situ* que se complementen con las acciones de conservación *in situ*. Es importante indicar que a pesar de que Argentina es uno de los países más diverso en cactáceas a escala global (Ortega-Baés y Godínez-Alvarez 2006, Ortega-Baés et al. 2015) y que muchas de estas especies están amenazadas, no se ha establecido en nuestro país un banco de germoplasma para las especies de esta familia de plantas. En todo sentido, las poblaciones seleccionadas como prioritarias, identificadas por el presente estudio, constituyen la base para la implementación efectiva de un banco de germoplasma para esta especie, siendo así el primer paso para el establecimiento de estrategias de conservación *ex situ* para la familia Cactaceae.

Una alta proporción de especies de la familia Cactaceae estuvieron representadas en las reservas genéticas de *E. terscheckii*, siendo superior al 90 % para todas las metas fijadas *a priori*. Esto implica que la diversidad genética de la especie focal tuvo un buen desempeño

como sustituto de la diversidad taxonómica. Sin embargo, es importante indicar que el porcentaje de especies representadas en los conjuntos mínimos de poblaciones seleccionadas de acuerdo a las diferentes metas, no fue diferente del azar. Esto último siempre se ha considerado uno de los aspectos importantes, además de los niveles de representatividad, para la identificación de un sustituto con buen desempeño. Sin embargo, el análisis realizado con Marxan, establece por optimización no sólo cuántas son las poblaciones más importantes para conservar toda la diversidad genética conocida de *E. terscheckii*, sino también la identidad de las mismas. Esto significa que no cualquier población puede ser elegida para cumplimentar con el número mínimo establecido. Cualquier conjunto de poblaciones seleccionadas de acuerdo al número mínimo establecido por Marxan, puede albergar alta diversidad de especies de cactáceas, pero no genética. Por lo tanto, usar la diversidad genética de *E. terscheckii* como sustituto de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae permite identificar qué áreas (=poblaciones) son las más importantes para cumplir con el doble propósito de establecer reservas genéticas para una especie focal como así también establecer una red de reservas para conservar la diversidad taxonómica de un grupo con alta prioridad para acciones de conservación como lo son las especies de esta familia de plantas.

IV.7 Figuras y tablas

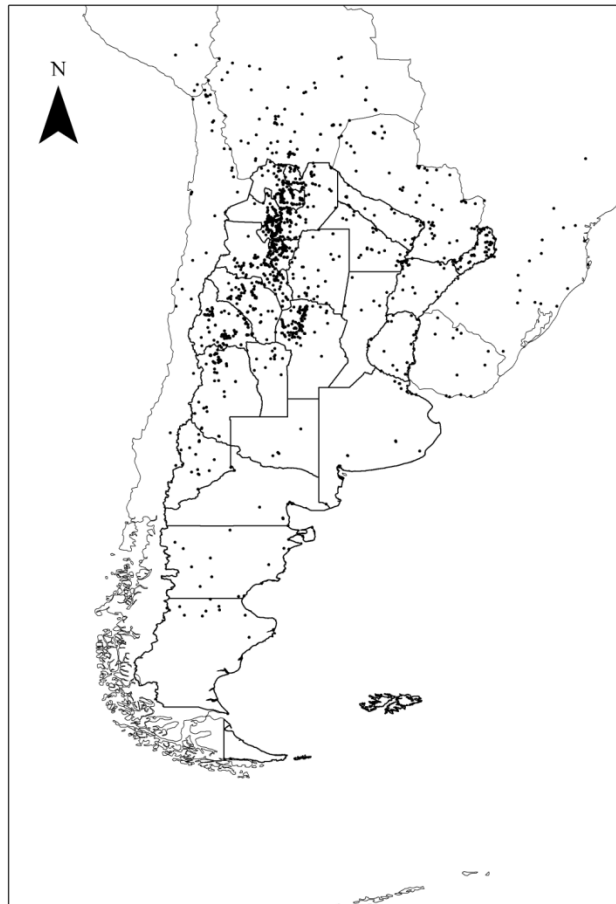


Fig.IV.1: Puntos de registro de colectas de herbario y de campo utilizados para modelar la distribución potencial de las cactáceas de Argentina.

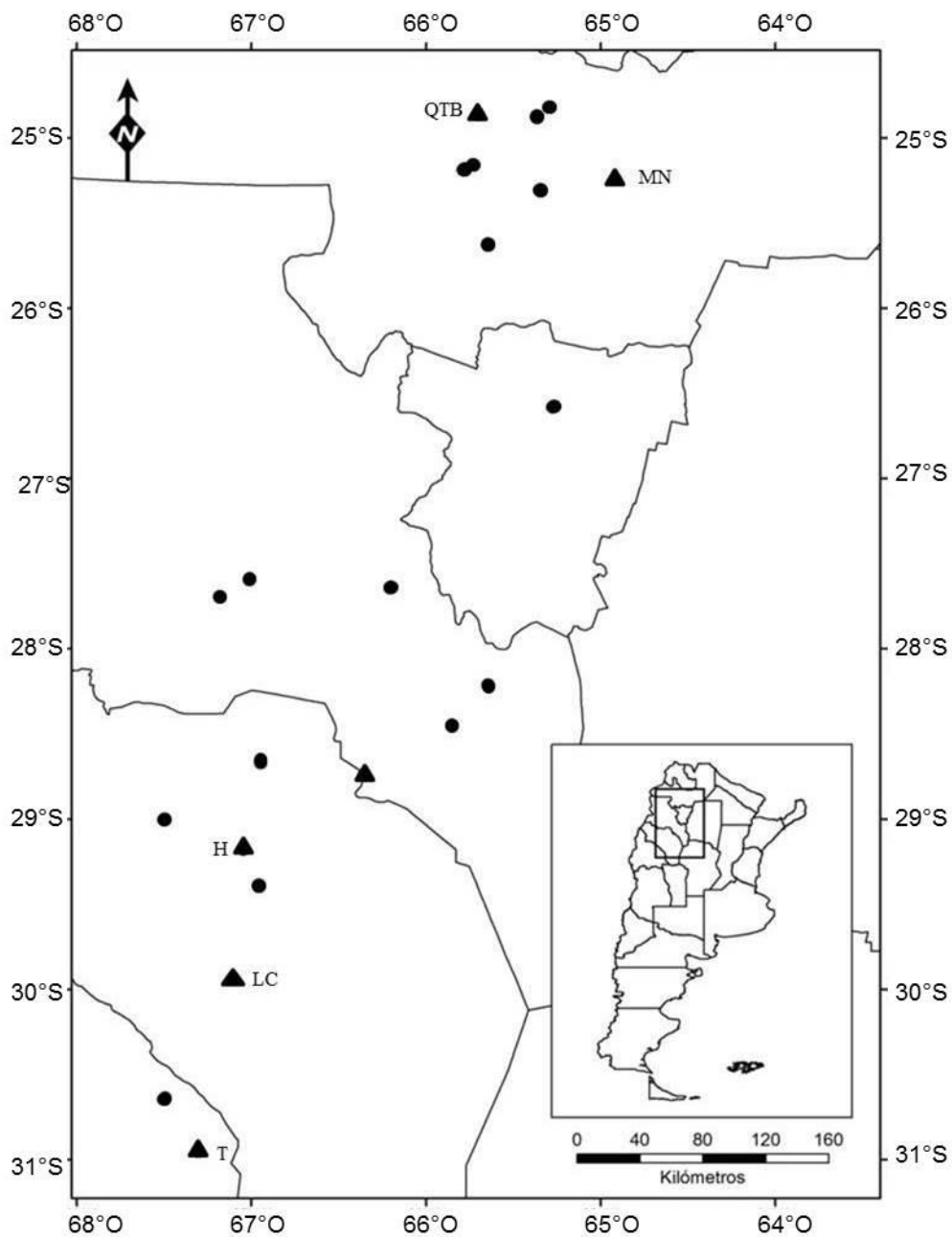


Fig.IV.2: Poblaciones prioritarias para la conservación de la diversidad genética conocida de *Echinopsis terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 1 (que la diversidad alélica esté representada al menos una vez). Los triángulos indican las áreas prioritarias (6) y los círculos las áreas no seleccionadas por complementariedad (16).

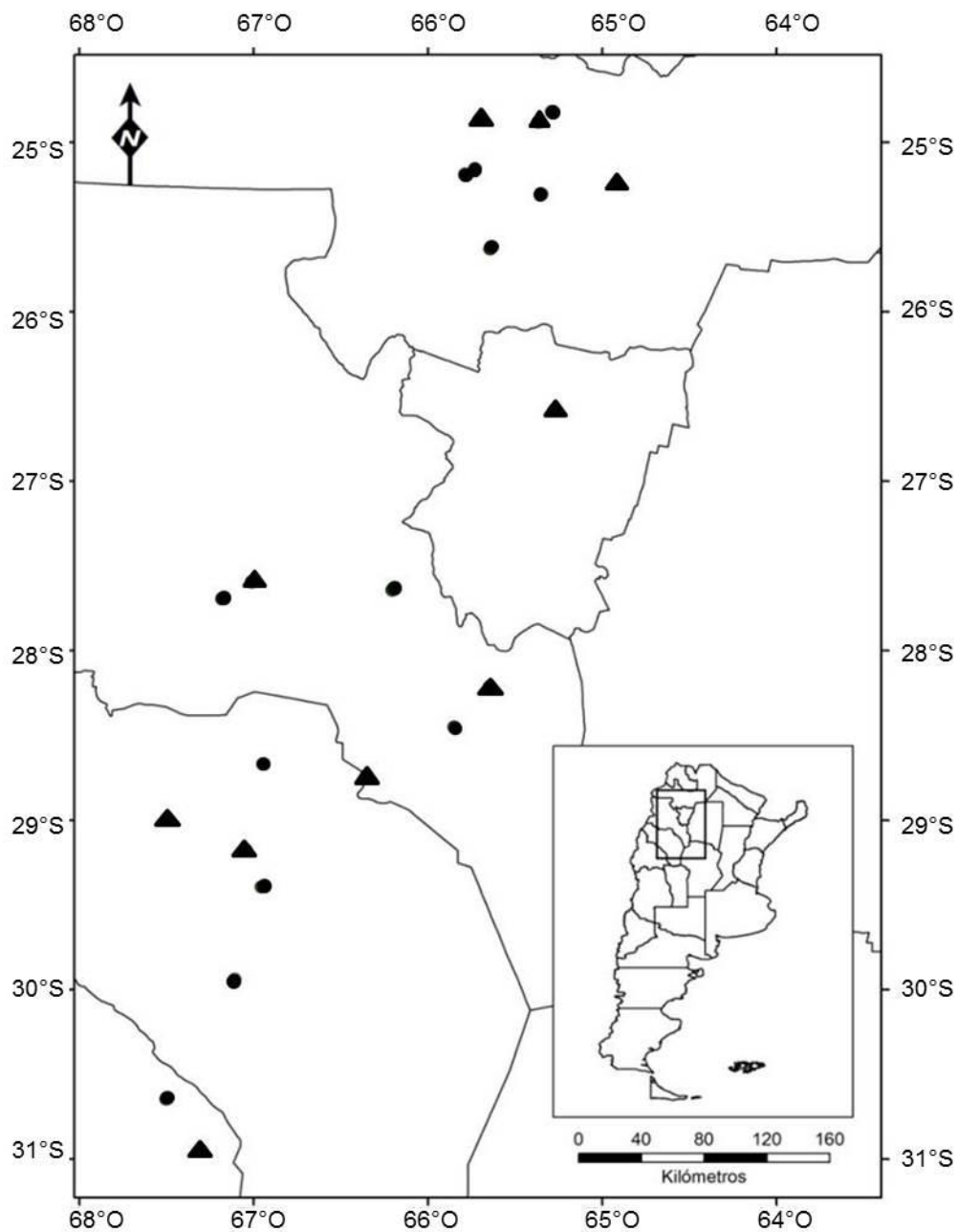


Fig.IV.3: Poblaciones prioritarias para la conservación de la diversidad genética conocida de *Echinopsis terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 2 (que la diversidad alélica esté representada al menos una vez, con la restricción que los dos únicos haplotipos registrados para la especie estén seleccionados prioritariamente). Los triángulos indican las áreas prioritarias (10) y los círculos las áreas no seleccionadas por complementariedad (12).

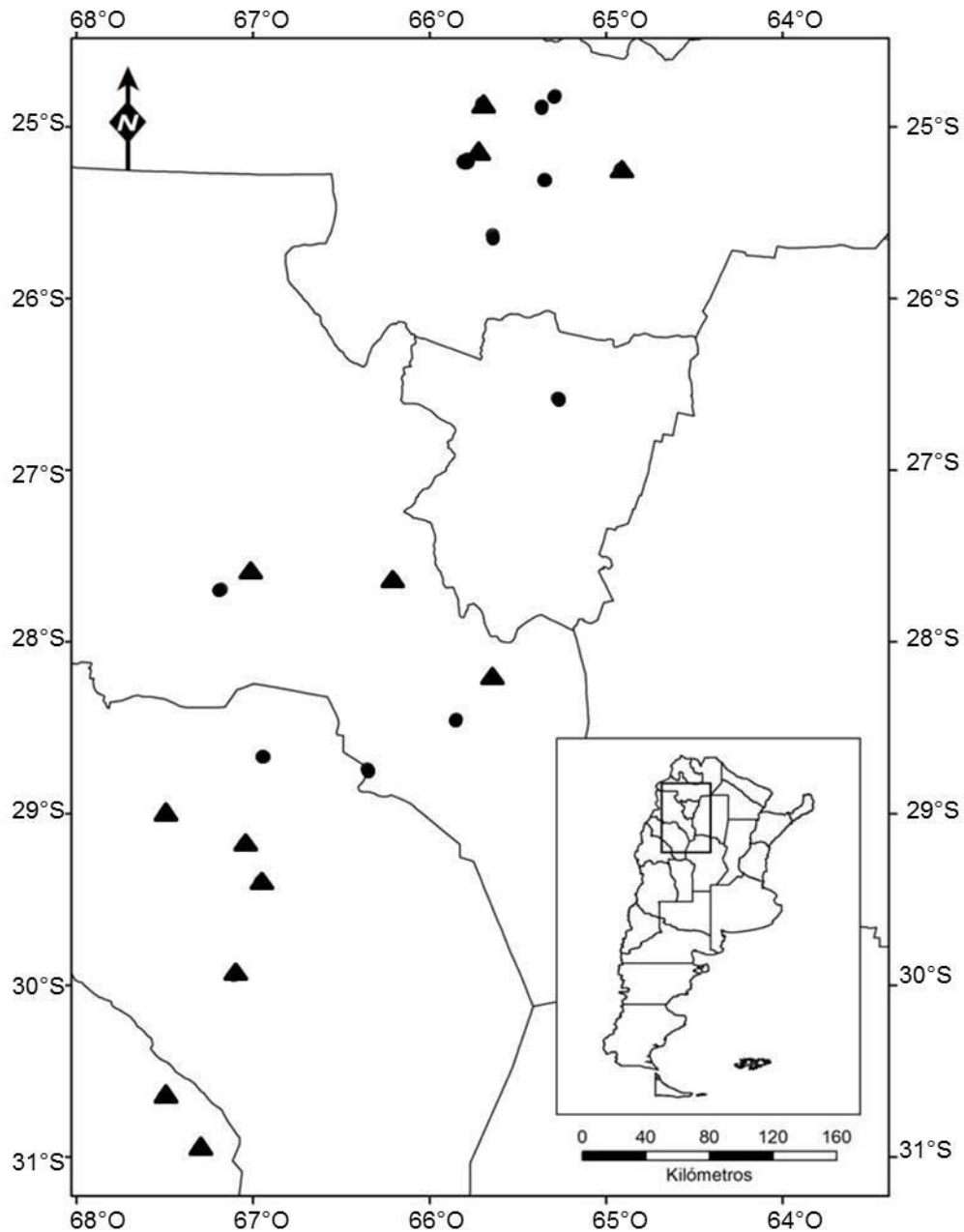


Fig.IV.4: Poblaciones prioritarias para la conservación de la diversidad genética conocida de *Echinopsis terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 3 (que la diversidad alélica esté representada al menos dos veces). Los triángulos indican las áreas prioritarias (12) y los círculos las áreas no seleccionadas por complementariedad (10).

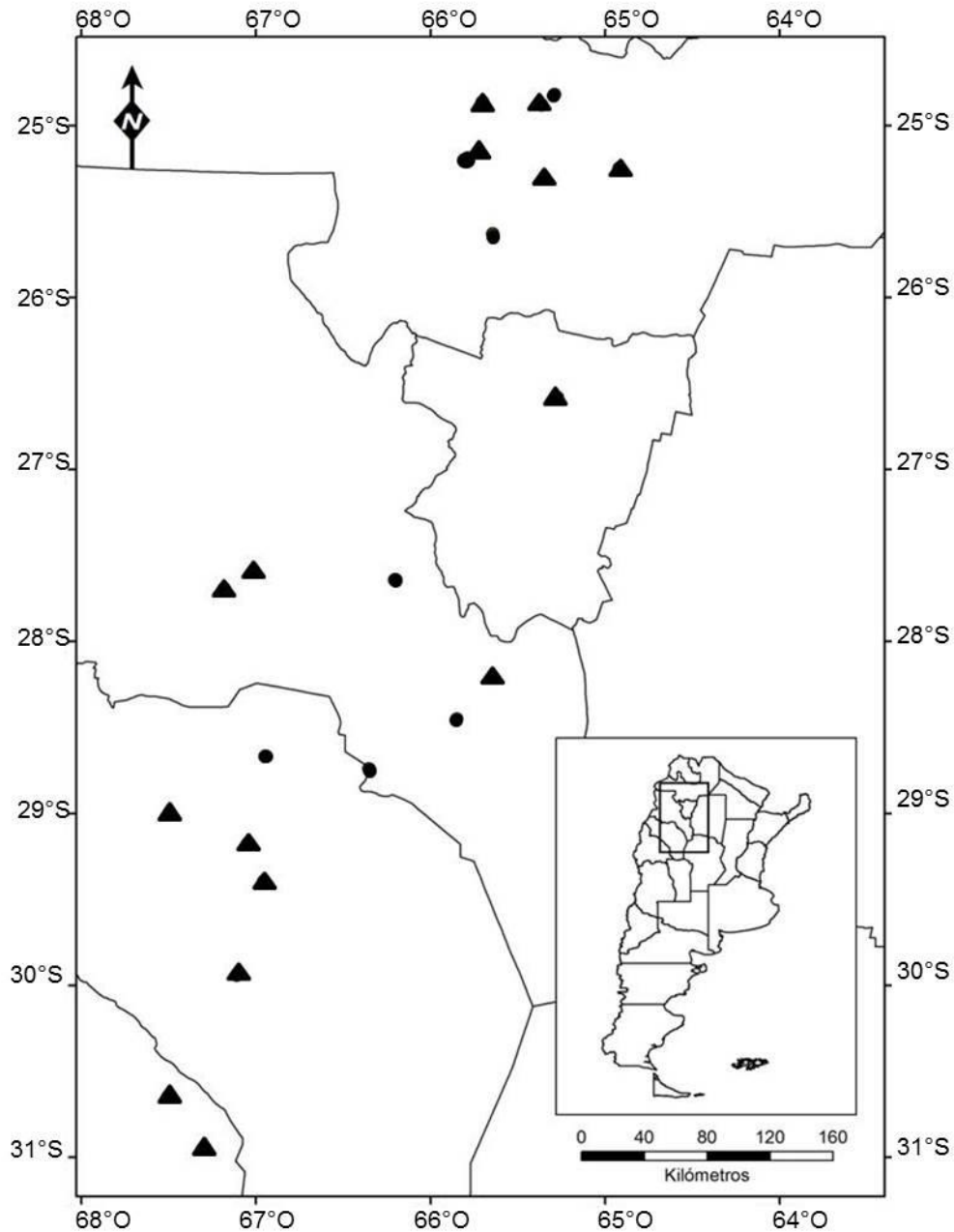


Fig.IV.5: Poblaciones prioritarias para la conservación de la diversidad genética conocida de *Echinopsis terscheckii* de acuerdo a la meta de representación 4 (que la diversidad alélica esté representada al menos dos veces, con la restricción que los dos únicos haplotipos registrados para la especie estén seleccionados prioritariamente). Los triángulos indican las áreas prioritarias (15) y los círculos las áreas no seleccionadas por complementariedad (7).

Tabla IV.1: Ubicación geográfica y riqueza alélica de cada una de las 22 poblaciones de *Echinopsis terscheckii* estudiadas en el presente trabajo.

N°	Población	Provincia	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)	Riqueza alélica	N° de alelos únicos
1	Las Higuierillas	Salta	24° 49'	65° 17'	1.204	36	
2	Qda. del Toro	Salta	24° 51'	65° 42'	1.784	44	1
3	La Pedrera	Salta	24° 53'	65° 21'	1.176	46	
4	Sunchal	Salta	25° 09'	65° 43'	1.827	39	
5	Qda. Escoipe	Salta	25° 11'	65° 47'	2.263	42	
6	Cabra Corral	Salta	25° 18'	65° 20'	1.082	35	
7	Metán	Salta	25° 14'	64° 55'	737	52	3
8	Alemanía	Salta	25° 37'	65° 38'	1.229	33	
9	Trancas	Tucumán	26° 24'	65° 20'	809	35	
10	Belén	Catamarca	27° 35'	67° 00'	1.360	43	1
11	Londres	Catamarca	27° 41'	67° 10'	1.366	46	
12	Andalgalá	Catamarca	27° 38'	66° 12'	1.053	42	
13	La Merced	Catamarca	28° 12'	65° 38'	843	47	
14	San Fernando	Catamarca	28° 29'	65° 50'	817	44	
15	San Pedro	La Rioja	28° 40'	66° 56'	1.514	45	
16	Cebila	La Rioja	28° 44'	66° 21'	1.197	45	1
17	Famatina	La Rioja	28° 59'	67° 29'	1.289	52	
18	Los Colorados	La Rioja	29° 56'	67° 06'	660	48	
19	Padercitas	La Rioja	29° 23'	66° 57'	790	47	
20	Huaco	La Rioja	29° 10'	67° 02'	1.215	47	
21	Valle Fértil	San Juan	30° 38'	67° 30'	873	45	
22	Tumanas	San Juan	30° 57'	67° 18'	774	48	

Tabla IV.2: Desempeño de la diversidad genética de *Echinopsis terscheckii* como sustituto de la diversidad taxonómica de las cactáceas de Argentina y de acuerdo a las diferentes metas de conservación. El desempeño se evaluó como el porcentaje (representatividad) de todas las especies (TE) y de las especies endémicas de Argentina (EE) contenido en las poblaciones seleccionadas como prioritarias para la especie focal. Los intervalos de confianza se calcularon a partir de generar 1000 subconjuntos al azar de áreas prioritarias utilizando el mismo número mínimo de poblaciones obtenido para cada meta de conservación, lo que permitió obtener los percentiles 2,5 y 97,5%.

		Representatividad	Intervalo de confianza
Meta 1 (6 poblaciones)	TE	90,91	[79,55-97,73]
	EE	85,36	[76,61-100]
Meta 2 (10 poblaciones)	TE	95,45	[88,64-100]
	EE	90,24	[85,36-100]
Meta 3 (12 poblaciones)	TE	96,59	[93,15-100]
	EE	95,12	[90,24-100]
Meta 4 (15 poblaciones)	TE	98,86	[96,59-100]
	EE	97,56	[95,12-100]

Apéndice IV.1:

Listado de especies de cactáceas nativas de Argentina que se distribuyen conjuntamente con *Echinopsis terscheckii*.

Especie	Status
<i>Austrocylindropuntia shaferi</i>	Nativa
<i>A. verschaffeltii</i>	Nativa
<i>A. vestita</i>	Nativa
<i>Blossfeldia liliputana</i>	Nativa
<i>Brasiliopuntia brasiliensis</i>	Nativa
<i>Cereus aethiops</i>	Endémica
<i>C. hankeanus</i>	Nativa
<i>Cleistocactus baumannii</i>	Nativa
<i>C. smaragdiflorus</i>	Nativa
<i>Cumulopuntia boliviana</i>	Nativa
<i>C. chichensis</i>	Nativa
<i>C. rossiana</i>	Nativa
<i>Denmoza rhodacantha</i>	Endémica
<i>Echinopsis albispinosa</i>	Endémica
<i>E. ancistrophora</i>	Nativa
<i>E. angelesii</i>	Endémica
<i>E. atacamensis</i>	Nativa
<i>E. aurea</i>	Endémica
<i>E. candicans</i>	Endémica
<i>E. chrysochete</i>	Nativa
<i>E. densispina</i>	Endémica
<i>E. famatinensis</i>	Endémica
<i>E. ferox</i>	Nativa
<i>E. formosa</i>	Nativa
<i>E. haematantha</i>	Endémica
<i>E. huascha</i>	Endémica
<i>E. jajoana</i>	Endémica
<i>E. leucantha</i>	Endémica
<i>E. mirabilis</i>	Endémica
<i>E. pugionacantha</i>	Nativa
<i>E. rhodotricha</i>	Nativa
<i>E. rowleyi</i>	Endémica

Apéndice IV.1 (Continuación)...

Espece	Status
<i>E. saltensis</i>	Endémica
<i>E. schickendantzii</i>	Nativa
<i>E. strigosa</i>	Endémica
<i>E. tarijensis</i>	Nativa
<i>E. thelegona</i>	Endémica
<i>E. thelegonoides</i>	Endémica
<i>E. thionantha</i>	Endémica
<i>Eriosyce straussiana</i>	Endémica
<i>Gymnocalycium baldianum</i>	Endémica
<i>G. bodenbenderianum</i>	Endémica
<i>G. castellanosi</i>	Endémica
<i>G. kieslingii</i>	Endémica
<i>G. marsoneri</i>	Nativa
<i>G. pflanzii</i>	Nativa
<i>G. saglionis</i>	Endémica
<i>G. schickendantzii</i>	Endémica
<i>G. spegazzinii</i>	Nativa
<i>Harrisia pomanensis</i>	Nativa
<i>Lepismium lorentzianum</i>	Nativa
<i>L. lumbricoides</i>	Nativa
<i>Maihuenia poeppigii</i>	Nativa
<i>Maihueniopsis glomerata</i>	Nativa
<i>M. hypogaea</i>	Nativa
<i>M. subterranea</i>	Nativa
<i>Opuntia anacantha</i>	Nativa
<i>O. quimilo</i>	Nativa
<i>O. salmiana</i>	Nativa
<i>O. schickendantzii</i>	Endémica
<i>O. sulphurea</i>	Nativa
<i>Oreocereus trollii</i>	Nativa
<i>Parodia aureicentra</i>	Endémica
<i>P. chrysacanthion</i>	Endémica

Apéndice IV.1 (Continuación)...

Especie	Status
<i>P. erinacea</i>	Nativa
<i>P. maassii</i>	Nativa
<i>P. mammulosa</i>	Nativa
<i>P. microsperma</i>	Endémica
<i>P. stuemeri</i>	Endémica
<i>Pereskia sacharosa</i>	Nativa
<i>Pfeiffera ianthothele</i>	Nativa
<i>P. monacantha</i>	Nativa
<i>Praecereus saxicola</i>	Nativa
<i>Pterocactus tuberosus</i>	Endémica
<i>Rebutia einstenii</i>	Endémica
<i>R. minuscula</i>	Endémica
<i>Rhipsalis baccifera</i>	Nativa
<i>R. floccosa</i>	Nativa
<i>Stetsonia coryne</i>	Nativa
<i>Tephrocactus alexanderi</i>	Endémica
<i>T. aoracanthus</i>	Endémica
<i>T. articulatus</i>	Endémica
<i>T. molinensis</i>	Endémica
<i>T. nigrispinus</i>	Nativa
<i>T. weberi</i>	Endémica
<i>Tunilla corrugata</i>	Endémica
<i>T. erectoclada</i>	Endémica
<i>T. soehrensii</i>	Nativa



CAPÍTULO V

Efectos del cambio del uso de la tierra sobre la
diversidad genética del cactus columnar
Echinopsis terscheckii

V.1 Resumen

Actualmente la biodiversidad se ve amenazada principalmente, por el avance de la frontera agropecuaria y el efecto del cambio climático. Los impactos sobre las especies se vincularían con la retracción de los rangos geográficos, la declinación poblacional y pérdida de diversidad genética. En este capítulo se evaluó la vulnerabilidad de las poblaciones de *Echinopsis terscheckii* al cambio en el uso del suelo para la provincia de Salta y la potencial pérdida de diversidad genética bajo este escenario. Mediante el desarrollo de un modelo de potencial de transición, se determinó que 1,8% del área de distribución de la especie se encuentra bajo riesgo de cambio de uso alto, muy alto o extremo, siendo la elevación y la distancia a camino, las variables con mayor influencia en la deforestación, por otro lado se encontraron correlaciones significativas positivas entre los parámetros de diversidad genética y los potenciales de transición de Bosque a Cultivo. Estos resultados muestran que si bien el porcentaje de área bajo riesgo de cambio es relativamente bajo, el mismo puede impactar de manera significativa en la reserva genética de *E. terscheckii*.

V.2 Introducción

La creciente demanda mundial de alimentos ha proporcionado motivos para transformar áreas naturales en áreas destinadas a la agricultura. El cambio en el uso de la tierra dado principalmente por la expansión de la frontera agropecuaria, es un importante factor de deforestación y destrucción de hábitats naturales con la consecuente pérdida de biodiversidad, especialmente en las tierras bajas tropicales y subtropicales donde los suelos son productivos (Izquierdo y Grau 2009). Fundamentalmente, son muy afectados los ecosistemas de Bosque Seco (Chaco) en el noroeste de Argentina, donde la expansión de la frontera agrícola es la principal causa del aumento de la deforestación (Grau et al. 2005), destinada principalmente a la producción de granos.

En la Provincia de Salta se calcula que el porcentaje de tierras transformadas en relación a la superficie plana disponible, pasó desde el 4% en el año 1975 al 23% en el año 2008. Esta expansión se produjo por la necesidad de cultivo de soja, un producto altamente rentable y productivo en áreas donde existen fuertes restricciones hídricas (<700 mm de precipitación anual) (Grau et al. 2005, PROYUNGAS 2011).

Además, la expansión de los cultivos ha estado direccionada por diferentes factores, entre los que se pueden mencionar las limitaciones biofísicas propias de cada región (INTA-PNUD 1990) y el acceso a servicios como rutas, puentes y asentamientos urbanos (Rudel 2007).

El uso de técnicas basadas en Sistemas de Información Geográfica (SIG) y de métodos implementados en los mismos, permiten el desarrollo de modelos de cambio de usos del suelo basados en redes neuronales artificiales (RNAs), que calculan los potenciales de transición de cambio, determinados por variables especificadas por el usuario que se refieren, al estado de las fuerzas motrices del cambio, entre las que pueden mencionarse, la pendiente, la elevación, variables climáticas, distancias a caminos, distancias a pueblos entre otros.

El pool génico de las poblaciones del cactus columnar *E. terscheckii*, que se distribuyen en áreas potencialmente productivas, podría resultar afectado por tales cambios. Las consecuencias genéticas de la pérdida de hábitat, con su posterior fragmentación lleva a las poblaciones remanentes, de menores tamaños poblacionales y aisladas, a acentuar los efectos de la deriva genética con la posterior fijación y pérdida de alelos e incrementos en los procesos de endogamia, lo que causa una disminución de la heterocigosis. Por otro lado el aislamiento entre las poblaciones disminuye el flujo de genes entre las mismas, intensificando la divergencia poblacional. Todos estos procesos llevan a la disminución de la diversidad

genética, y a la pérdida de aptitud disminuyendo el potencial evolutivo de las poblaciones a futuros cambios ambientales (Fisher 1930).

Un estudio en el cactus columnar *Polaskia chichipe* fue evaluado en áreas afectadas por actividades antrópicas (Otero-Arnaiz et al. 2005). No todas las especies se ven afectadas por la fragmentación de hábitat, esto depende principalmente de la capacidad de dispersión de la especie dada por los polinizadores y los dispersores de semilla, que permiten el flujo de genes entre las poblaciones (Otero-Arnaiz et al. 2005). Como se documenta para otras especies de cactus columnares (Valiente-Banuet et al. 2002), las especies de murciélagos y aves que participan en la dispersión de semillas, así como los árboles y arbustos que tienen un papel como plantas nodrizas para el establecimiento de plántulas son críticos en los ambientes fragmentados. Sin embargo estudios realizados en *Stenocereus quevedonis*, un cactus columnar endémico en el centro de México, ha mostrado que el conjunto de frutas y de semillas son significativamente mayores en los sitios con disturbios que en sitios con una vegetación conservada, debido a que el aclaramiento de la vegetación favorece una mayor radiación solar en las plantas (Rodríguez-Oseguera et al. 2012).

Se carece de información que permita conocer el impacto en la reserva genética de las poblaciones de *E. terscheckii* debido a la pérdida de hábitat producto del avance de la frontera agropecuaria. Esta información es relevante para poder generar pautas en la conservación de esta especie en estado vulnerable.

V.3 Objetivos e Hipótesis

El objetivo de este trabajo fue cuantificar la diversidad genética basada en el análisis genético-poblacional de 12 poblaciones distribuidas en la provincia de Salta y el desarrollo de un modelo predictivo de cambio en el uso de la tierra para la misma ubicación geográfica, a fin de identificar poblaciones y evaluar pérdidas genéticas producto de estos cambios.

Se puso a prueba la hipótesis que el cambio en el uso del suelo debido a la expansión de la frontera agropecuaria constituye una amenaza importante para las poblaciones de *E. terscheckii* que se distribuyen en la provincia de Salta, afectando principalmente a las poblaciones ubicadas en las tierras bajas de la ecorregión del Chaco que tienen un alto valor para la actividad agropecuaria.

V.4 Materiales y Métodos

V.4.1 Colección de muestras para análisis genético

Para el análisis genético, se seleccionaron 12 poblaciones, (Tabla V.1, Pág. 136). En cada sitio se muestreo al azar entre 15-33 individuos. En total se colectaron 345 individuos.

V.4.2 Modelado de cambio de uso de suelo

Se utilizaron series temporales de imágenes Landsat que caracterizan la extensión y el cambio forestal, disponibles en Global Forest Change <https://earthenginepartners.appspot.com/science-2013-global-forest>), en donde los árboles se definen como la vegetación más alta y se expresan como un porcentaje por celda de la cuadrícula de salida como "Porcentaje de cubierta arbórea 2000". La "pérdida de la cubierta forestal" se define como una alteración del reemplazo de la parcela, o un cambio de un estado forestal a otro no forestal, durante el período 2000-2014.

Las imágenes de este período se utilizaron para analizar la vulnerabilidad de la especie al cambio del uso de la tierra, para ello se construyó un modelo de potencial de transición, este modelo analiza los cambios de usos de suelo producidos en un área determinada en el espacio y en el tiempo, y examina los mecanismos que dirigen su dinámica, la disposición en el espacio de cada unidad del territorio representada (cada celda del mapa raster), determina su potencial para admitir una determinada clase de uso de suelo. Este potencial se define por una serie de normas de transiciones dadas por las características biofísicas (altitud, temperatura, precipitación, etc.) o bien socioeconómicas (distancia a carreteras, densidad de población que influye sobre su uso u ocupación), cuyo resultado final es un mapa que indica los valores potenciales de cada celda para cambiar a una categoría específica de usos de suelo.

El modelo que analizó los cambios bosque-cultivo en función de las variables predictoras de mayor influencia en la deforestación como precipitación media anual, elevación, pendiente y distancia a caminos, se realizó utilizando Land Change Modeler (LCM, in IDRISI (<http://www.clarklabs.org/>)). LCM utiliza una red neural (algoritmo perceptrón multicapa) para producir un mapa de probabilidades de potenciales de transición.

El mejor ajuste del modelo se evaluó con el índice de criterio de información Akaike (AIC):

$$AIC=2k - 2\ln(L)$$

donde k es el número de parámetros en el modelo estadístico, y L es el máximo valor de la función de verosimilitud para el modelo estimado.

Dado un conjunto de modelos candidatos para los datos, el mejor modelo es el que tiene el valor mínimo en el AIC.

Luego se combinaron los resultados de este escenario con un mapa de distribución potencial de *E. terscheckii* para evaluar la vulnerabilidad a los cambios de uso según las probabilidades de transición dentro de la distribución actual de la especie y para las poblaciones estudiadas.

V.4.3 Análisis de datos

El genotipado y el análisis de los parámetros de diversidad genética, se realizaron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo II.

Los parámetros genéticos de las poblaciones estudiadas como el número medio de alelos por locus (N_A), número medio efectivo de alelos por locus (N_E), porcentaje de loci polimórficos criterio *sensu stricto* (P), heterocigosis observada (H_O) heterocigosis esperada (H_E) bajo las condiciones Hardy-Weinberg y alelos privados fueron correlacionadas con los potenciales de transición de bosque a cultivo, usando el programa STATISTICA v.7.0 (StatSoft 2004).

V.5 Resultados

Se resolvieron 15 loci con elevado polimorfismo y diversidad genética $>67\%$ y >0.38 , respectivamente (Tabla V.1, Pág. 136). La población de Metan presenta los mayores valores de diversidad genética y presencia de alelos únicos (Tabla V.1, Pág. 136).

El análisis de vulnerabilidad mostró que sólo un 1,8% del área de distribución de la especie se encuentra bajo riesgo de cambio de uso alto, muy alto o extremo. El modelo más explicativo para el cambio del uso de la tierra, incluyó a las variables de elevación y distancia a caminos. La variable con mayor influencia para la ausencia de deforestación fue la pendiente.

Las poblaciones de Metan, La Pedrera y las Higuierillas, resultaron con los mayores valores de potencial de transición (Fig.V.1, Pág. 135, Tabla V.2, Pág. 137).

Se obtuvieron correlaciones significativas entre los parámetros genéticos y los potenciales de transición de bosque a cultivo. En particular, el número de alelos privados, número medio efectivo de alelos por locus (N_E) y heterocigosis esperada (H_E) tuvieron una relación positiva con los potenciales de transición. (Tabla V. 3, Pág. 137).

V.6 Discusión

Las poblaciones de *E. terscheckii* analizadas para la provincia de Salta mostraron valores de diversidad genética que oscilaron entre 0,293 a 0,572, valores similares a lo descrito para otras especies de cactáceas columnares evaluadas con los mismos marcadores genéticos (Hamrick et al. 2002, Nassar et al. 2003, Nason et al. 2002, Moraes et al. 2005).

El nivel de diversidad genética más alto, se encontró en la población de Metan, ubicada al este de la distribución, donde además se registró el mayor valor de potencial de transición.

Estos resultados conjuntamente con las correlaciones positivas entre los parámetros de diversidad genética y los potenciales de transición sugieren un efecto significativo en la pérdida de diversidad genética debido al cambio en el uso del suelo.

La diversidad genética representa el potencial evolutivo y es importante para el funcionamiento de los ecosistemas. Se considera que la deforestación es una de las causas principales en las extinciones de las especies (Foley et al. 2005), la reducción del área forestal en fragmentos reduce el número de individuos y mientras más pequeña sea una población, es más vulnerable a los efectos de pérdida de diversidad genética. Autores como Whitmore y Sayer (1992) sugieren que la tasa de extinción de especies depende de la cantidad y disposición espacial del bosque alterado o destruido.

Por otro lado, varios estudios en cactáceas columnares de México, evaluaron cómo el manejo *in situ* (práctica donde los agricultores despejan las tierras para el cultivo y las plantas de cactus con rasgos fenotípicos deseables se conservan), tiene un importante rol en el mantenimiento de la diversidad genética, debido a que se conserva el flujo de genes entre las poblaciones silvestres y las de manejo *in situ*, adicionalmente las prácticas de cultivo también promueven la diversidad genética, ya que se introducen nuevos genotipos a las poblaciones desde otras poblaciones (Otero-Arnaiz et al. 2005, Cruse-Sanders et al. 2012). Estos resultados sugieren que las prácticas tradicionales de manejo han conservado los recursos genéticos *in situ*. Este aspecto puede ser considerado para contrarrestar los efectos de pérdidas de diversidad genética en las prácticas de manejo de las poblaciones de *E. terscheckii* ubicadas en las tierras potencialmente productivas.

Por otro lado, características del sistema reproductivo como la autoincompatibilidad de la especie, podrían disminuir los efectos de la endogamia, aunque la endogamia biparental podría incrementarse en los ambientes fragmentados o en parches como lo descrito en el Capítulo 3, en relación a la actividades de los polinizadores y/ o presencia de banco de

semillas y reclutamientos masivos. Si es posible un alto nivel de flujo génico realizado por las aves y/o los polinizadores, esto posibilitaría el mantenimiento de la diversidad genética en las poblaciones fragmentadas.

Asimismo, se deben tener en cuenta tanto las variables de elevación y distancia a caminos como principales fuerzas, en la dirección del cambio en el uso del suelo, y las modificaciones en los patrones climáticos como condicionantes, tanto de la distribución de las especies como de la expansión agrícola. De este modo, determinadas áreas de la distribución de *E. terscheckii* en las tierras planas, pueden resultar productivas, a pesar que en la actualidad presentan alta restricción hídrica. Villalba et al. (1998) indicaron una tendencia a un aumento de las precipitaciones en el NOA en los últimos años.

Si bien las estimaciones realizadas al 2009 indican que la especie ha perdido el 6,35% del hábitat disponible a lo largo de su rango geográfico y que la fragmentación del mismo se ha incrementado en un 66,4% (Ortega-Baes datos no publicados), la concentración de altos niveles de diversidad genética para las poblaciones estudiadas y situadas al noreste de la distribución debe ser puesta en consideración para las prácticas de manejo y conservación tanto *in situ* como *ex situ*, como lo propuesto tanto el capítulo III, como IV, de tal forma de preservar el potencial evolutivo de esta especie emblemática y de alto valor cultural en el noroeste de Argentina.

V.7 Figuras y tablas

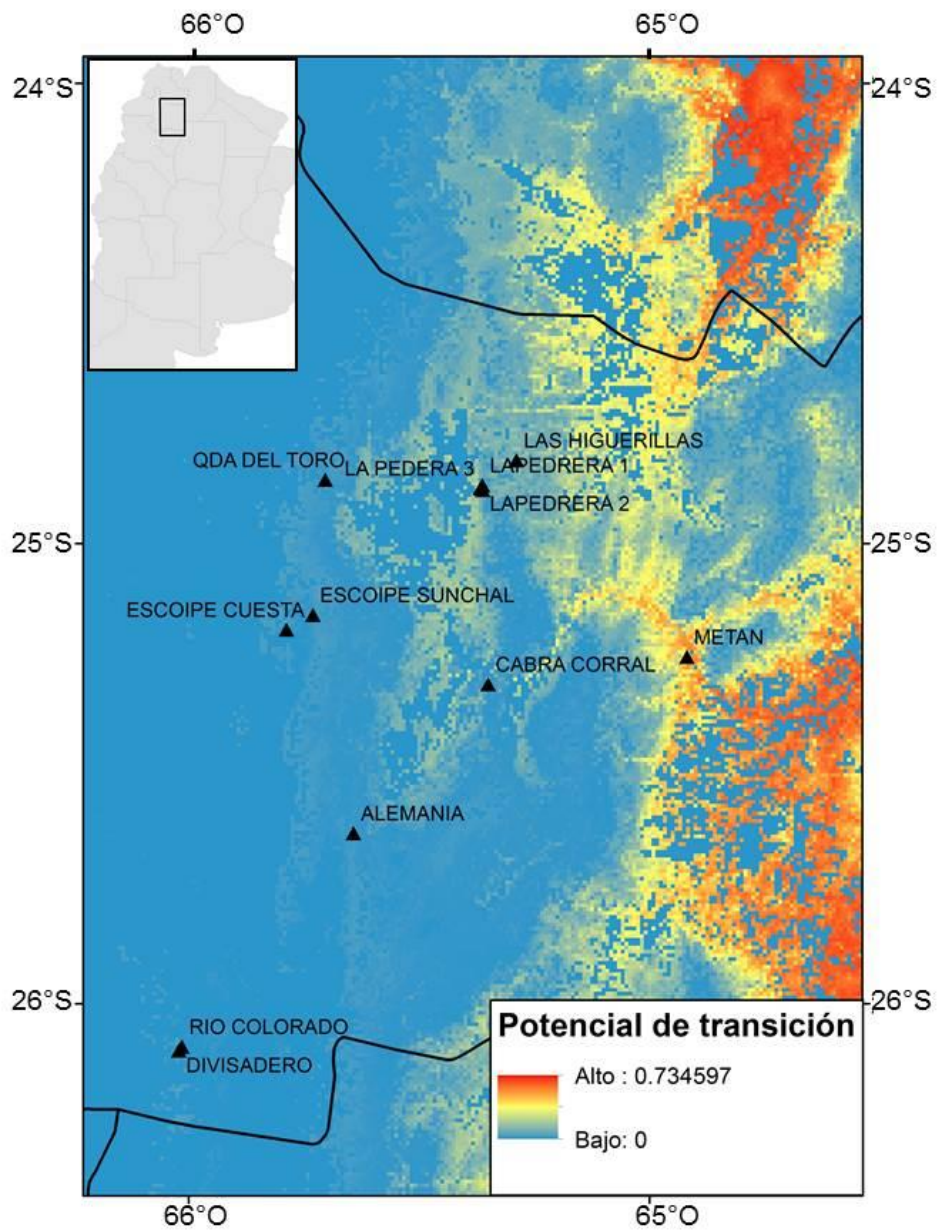


Fig.V.1: Mapa de cambio de uso de suelo para la provincia de Salta y poblaciones de *Echinopsis terscheckii*.

Tabla V.1: Parámetros de diversidad genética poblacional de 12 poblaciones de *Echinopsis terscheckii* a partir de isoenzimas. N_A : número promedio de alelos por locus, N_E : número efectivo de alelos por locus, P (%): porcentaje de loci polimórficos bajo el criterio *sensu stricto*, H_O y H_E heterocigosis observada y esperada, respectivamente. Las desviaciones estándar se muestran entre paréntesis.

Población	Latitud (S)	Longitud (O)	N_A	N_E	P (%)	H_O	H_E	Alelos privados
METAN	25° 14'	64° 55'	3,5 (0,3)	2,6 (0,3)	100	0,403 (0,094)	0,572 (0,052)	5
QDA DEL TORO	24° 51'	65° 42'	3,0 (0,2)	2,0 (0,2)	93,33	0,283 (0,065)	0,442 (0,055)	1
ESCOIPE CUESTA	25° 11'	65° 47'	2,8 (0,2)	1,9 (0,2)	86,67	0,447 (0,092)	0,403 (0,062)	
DIVISADERO	26° 6'	66° 1'	2,8 (0,3)	1,8 (0,1)	86,67	0,303 (0,080)	0,384 (0,056)	1
LA PEDRERA 1	24° 52'	65° 22'	2,5 (0,2)	1,8 (0,2)	80	0,333 (0,071)	0,377 (0,065)	1
ESCOIPE SUNCHAL	25° 9'	65° 43'	2,6 (0,2)	1,8 (0,2)	86,67	0,423 (0,101)	0,376 (0,064)	
CABRA CORRAL	25° 18'	65° 20'	2,3 (0,2)	1,8 (0,1)	86,67	0,449 (0,084)	0,374 (0,057)	1
RIO COLORADO	26° 5'	66° 0'	2,4 (0,3)	1,8 (0,2)	80	0,398 (0,076)	0,360 (0,061)	1
LA PEDRERA 2	24° 53'	65° 21'	2,6 (0,2)	1,8 (0,1)	80	0,343 (0,079)	0,354 (0,066)	
LAS HIGUERILLAS	24° 49'	65° 17'	2,4 (0,2)	1,7 (0,2)	86,67	0,419 (0,086)	0,337 (0,060)	
ALEMANIA	25° 37'	65° 38'	2,2 (0,2)	1,6 (0,1)	80	0,372 (0,078)	0,322 (0,057)	
LA PEDRERA 3	24° 52'	65° 22'	2,1 (0,3)	1,6 (0,2)	66,67	0,318 (0,099)	0,293 (0,068)	

Tabla V.2: Potencial de transición analizado en las doce poblaciones de *Echinopsis terscheckii* para la provincia de Salta.

Poblaciones	Potencial de transición de Bosque a Cultivo
METAN	0,3370
LA PEDRERA 3	0,1860
LA PEDRERA 1	0,1484
LAS HIGUERILLAS	0,1169
LA PEDRERA 2	0,0864
CABRA CORRAL	0,0584
QDA. DEL TORO	0,0484
ALEMANIA	0,0353
ESCOIPE CUESTA	0,0187
ESCOIPE SUNCHAL	0,0164
RIO COLORADO	0,0079
DIVISADERO	0,0022

Tabla V.3: Correlaciones entre parámetros de diversidad genética (N_A , N_E , P (%), H_O , H_E , Alelos privados) y los potenciales de transición Bosque a Cultivo medidos para *Echinopsis terscheckii* en la provincia de Salta. Las correlaciones marcadas en negrita son significativas a $P < 0,05$.

	Potencial de transición de Bosque a Cultivo
N_A	0,69
N_E	0,88
P (%)	0,63
H_O	0,27
H_E	0,85
Alelos privados	0,91



CAPÍTULO VI

Discusión general

VI.1 Discusión general

El estudio realizado a diferentes escalas espaciales y temporales permitió conocer y determinar el estado actual de las poblaciones de *Echinopsis terscheckii* a fin de proponer pautas de conservación y/o colecta para esta especie dominante de los ambientes áridos y semiáridos del noroeste Argentino. Históricamente, los factores orográficos, tal como el levantamiento de la Cordillera Andina Central conjuntamente con las oscilaciones climáticas del Cuaternario, han modelado el acervo genético de *E. terscheckii* a lo largo de su historia evolutiva. La distribución de los polimorfismos genéticos encontrados mediante el análisis del ADN del cloroplasto y nuclear detectó patrones asociados posiblemente con los gradientes de precipitación, generados por la orografía. La presencia de la sierra del Aconquija, una barrera orográfica que se elevó durante los últimos 6 Ma. (Ramos et al. 2002, Strecker et al. 2007) localizada a ~ 27°S podría ser en parte responsable de las diferencias que determinó la presencia de dos grupos, hacia el norte y sur de las poblaciones de *E. terscheckii*. Aun cuando se considere la ausencia de límites al flujo génico por parte de los dispersores de semillas (aves), posiblemente las restricciones al flujo génico, se darían durante la fase de establecimiento (germinación y supervivencia de plántulas) como lo sugerido para los miembros de la familia de cactáceas en general (Godínez-Alvarez et al. 2003).

La familia tuvo su origen hace aproximadamente 30 millones de años durante el período del Terciario Medio (Hershkovitz y Zimmer 1997, Nyffeler 2002, Hernández-Hernández et al. 2014), mientras que los principales eventos de diversificación son más recientes, hacia finales del Mioceno-Plioceno hace aproximadamente 10 - 5 Ma (Arakaki et al. 2011). Esto coincide con el desarrollo de los ambientes áridos de América y eventos geoclimáticos del Cuaternario (Hershkovitz y Zimmer 1997). Por ejemplo, el aumento en la tasa de especiación en el clado Trichocereinae, un linaje de América del Sur que comprende la mayor parte de la diversidad de cactus en la región central andina, incluido los cactus columnares ocurrió en los últimos 7.5 - 6.5 Ma (Arakaki et al. 2011). Esta reciente divergencia ha sido apoyada por la pequeña variabilidad en las secuencias detectada a través de marcadores de ADN del cloroplasto (ADNc) (Nyffeler 2002), esto también es coincidente con la baja diversidad haplotípica encontrada en *E. terscheckii*.

Además de los factores geológicos, las oscilaciones climáticas del Cuaternario, particularmente las ocurridas durante el Último Máximo Glacial (UMG) también habrían afectado la distribución de las especies de las regiones áridas y semiáridas de Sudamérica, incluido *E. terscheckii*.

Durante este período, y como consecuencia de los ciclos glaciales, condiciones frías y secas durante el Pleistoceno promovieron la expansión de la vegetación de los bosques secos tropicales de Sudamérica Central, mientras que los períodos interglaciares, más cálidos y húmedos, provocaron su fragmentación (Pennington et al. 2000, 2009, Mayle 2004). Los resultados presentados en el Capítulo II mostraron cómo fue moldeado el pool génico de *E. terscheckii* durante el UMG, utilizando marcadores moleculares isoenzimáticos analizados en poblaciones distribuidas a lo largo de todo el rango latitudinal de la especie, los cuales reflejan patrones contemporáneos de flujo génico. Las condiciones climáticas del UMG produjo efectos diferenciales en las poblaciones de *E. terscheckii* localizadas a diferentes latitudes, lo cual se atribuyó a la presencia de cadenas montañosas que intensificaron la influencia de la sequía permitiendo la persistencia local de las poblaciones al sur de la distribución, y en sitios cercanos a elevaciones de menor altitud, mientras que las áreas idóneas del norte se redujeron, subsistiendo localmente en poblaciones pequeñas y/o dispersándose a larga distancia, sufriendo deriva genética y efectos fundadores que erosionaron la diversidad genética. Por el contrario, las condiciones ambientales durante el Holoceno-Medio mejoraron en el norte, mientras que se deterioraron en el sur, llevando a que muchas poblaciones en este sector probablemente se extinguieran localmente manteniendo la variación genética.

La retención de variantes ancestrales en las secuencias del ADNc y nucleares de ITS, la formación de grupos diferentes al norte y sur a través de análisis multivariado de cluster y la presencia de alelos únicos en ambos grupos de poblaciones apoyan la idea de persistencia a largo plazo de *E. terscheckii* a lo largo de su rango geográfico. De este modo la reducida diversidad isoenzimática detectada en las poblaciones del norte no sería una consecuencia de migración desde áreas del sur, sino probablemente un reflejo de los efectos de deriva en tales poblaciones. Estos resultados proveen evidencia de refugios múltiples durante el UMG para *E. terscheckii*.

E. terscheckii es una especie dominante en áreas de la región chaqueña y del monte del Noroeste Argentino. Principalmente en los ambientes áridos a semiáridos donde las condiciones extremas de temperaturas y humedad limitan el establecimiento de nuevos individuos, la cobertura vegetal actúa favoreciendo el establecimiento y la supervivencia de las plántulas debido a la generación de micrositios favorables, mientras que en bosques xerófilos con mayores regímenes de precipitación se produce una competencia por recursos como la luz. En el Capítulo III, las 4 poblaciones analizadas a lo largo de gradientes de cobertura vegetal y de precipitación mostraron estructura genética espacial a escala fina EGE

significativos, el grado de agrupamiento espacial de los genotipos estuvo significativamente influenciado por las condiciones del sitio (clima y cobertura vegetal), las poblaciones con una mayor cubierta de vegetación y mayor régimen de precipitación, consistieron en individuos escasos que se agruparon a mayores distancias, mientras que aquellos que consistían en parches de vegetación más pequeños en climas áridos, produjeron grupos de genotipos estrechamente relacionados a pequeñas distancias. Se propone la hipótesis genética de gradiente de estrés, sugiriendo que la facilitación (nodricismo) prevalecería en entornos estresantes (sequía), donde se producen pequeños parches de vegetación y una estructura genética de grano fino. Por el contrario bajo climas con regímenes de precipitación más altos y una mayor cobertura vegetal, la competencia por los recursos como la luz y en el caso de especies cuyas semillas son fotoblásticas positivas como *E. terscheckii*, lleva al establecimiento de individuos dispersos que resultan en la formación de vecindarios de escala más amplia, que puede asociarse con una dispersión potencial a larga distancia de las semillas realizada por las aves o por la presencia de bancos de semillas transitorios que pueden acumular genotipos relacionados muy cerca de las plantas madre. En consecuencia esta información permite guiar esfuerzos de conservación y/o restauración, como lo es, la escala espacial a la cual se debería recolectar muestras para conservación de germoplasma.

Debido tanto a la importancia como fuente de madera y al potencial cambio en el uso del suelo las poblaciones de *E. terscheckii* se encuentran ante la necesidad de desarrollo de estrategias de conservación. En el capítulo IV se determinaron áreas de conservación *in situ* basado en la diversidad genética para esta especie de cactus columnar, y se evaluó su papel como sustituto de la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae. Se identificaron un mínimo de 6 poblaciones ubicadas en las provincias de Salta (QTB, MN), La Rioja (C, H, LC) y San Juan (T), que albergan toda la diversidad genética conocida de la especie, incluidos los dos clados monofiléticos asociados a poblaciones al norte y sur de la distribución los que representan 2 unidades evolutivas significativas. Estas áreas además son importantes para la conservación de la familia Cactaceae en el noroeste de Argentina.

Estos resultados implican que las acciones de conservación llevadas a cabo en base a la diversidad genética basada en una especie focal, no sólo aseguraría la preservación de la especie, sino la diversidad taxonómica de la familia Cactaceae, cuya diversidad se encuentra amenazada debido a sus altos valores de uso y a sus características biológicas, considerándose de este modo un grupo de especial importancia para la conservación. Las especies de cactáceas enfrentan además, otras amenazas potenciales, como lo es el impacto del avance de la frontera agrícola. En el capítulo V se evaluó el impacto del cambio del uso de la tierra para

las poblaciones distribuidas en la provincia de Salta, siendo significativo el riesgo de pérdida de diversidad genética en las poblaciones ubicadas en las tierras potencialmente productivas, cuyos usos están determinados por las variables de elevación y la distancia a caminos. Este estudio debería ampliarse a toda el área de distribución de la especie, para evaluar con mayor precisión esta amenaza, en el acervo genético de la especie. Adicionalmente sería de gran importancia realizar modelos de distribución potencial futuros para la especie, de manera de poder determinar las posibles áreas de pérdida de hábitat y tener de este modo un diseño de conservación a largo plazo, preservando áreas que actualmente presentan alta diversidad genética y con ello un mayor potencial genético, para responder a escenarios de cambio climático.

VI.2 Conclusiones Generales

- ✓ La especie *E. terscheckii* mostró elevada diversidad genética para marcadores isoenzimáticos.
- ✓ Las poblaciones presentan divergencia genética moderada, con una asociación positiva y significativa entre las distancias genéticas y geográficas.
- ✓ A escala regional, los patrones de variación genética en el ADN del cloroplasto de *E. terscheckii* están estructurados latitudinalmente, mostrando dos grupos asociados a poblaciones al norte y sur de la distribución.
- ✓ La presencia de la sierra del Aconquija localizada a ~ 27°S podría ser en parte responsable de las diferencias entre ambos grupos ya que constituye una barrera orográfica a las precipitaciones expresándose en aridez en los ambientes del oeste del país y en zonas muy húmedas al este.
- ✓ Los patrones genéticos isoenzimáticos de *E. terscheckii* reflejan los cambios climáticos asociados al Último Máximo Glacial mostrando diferencias con la latitud.
- ✓ El grupo Sur presenta mayor diversidad genética, respecto al grupo Norte.
- ✓ Las poblaciones hacia el sur de la distribución fueron relativamente estables, mientras que las poblaciones al norte de la distribución sufrieron efectos de deriva genética y/o efectos fundadores durante el último máximo glacial.
- ✓ A escala de rodal, la mayor estructura genética de *E. terscheckii* está asociada a una menor cubierta de vegetación y menor régimen de precipitación.

- ✓ La selección de áreas prioritarias para la conservación de la diversidad genética de *E. terscheckii* resultó en seis poblaciones necesarias para representar los 80 alelos y los dos haplotipos conocidos para la especie en toda el área de distribución.
- ✓ El 90.1% de las especies de cactáceas y el 85.36% de las especies de cactáceas endémicas de Argentina se encontraron representadas en el sistema de reservas genéticas de *E. terscheckii*.
- ✓ El modelo del cambio en el uso del suelo, para la provincia de Salta, mostró una alta vulnerabilidad para las poblaciones ubicadas en las tierras bajas en el este de la distribución.

VI.3 Implicancias para la conservación de *Echinopsis terscheckii* y aportes a la conservación de las cactáceas del Noroeste de Argentina

Echinopsis terscheckii forma parte de la lista roja de especies de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) y está catalogada como especie vulnerable (Ortega-Baes y Lowry 2013).

A pesar de que su rango de distribución es relativamente amplio, las poblaciones están disminuyendo, debido a que el hábitat donde esta especie crece se ve afectado actualmente por la agricultura y la urbanización. Se estima que la población se ha reducido al menos en un 30% en los últimos 30 años debido a la pérdida y uso del hábitat. Además, la especie se cosecha por su madera y al igual que otras especies de cactáceas columnares como *Echinopsis atacamensis*, *E. tarijensis* y *Stetsonia coryne*, son utilizadas para la construcción de muebles, revestimientos, vigas, puertas de corrales, fabricación de artesanías y “souvenirs”, entre otros (Anderson 2001, Kiesling y Ferrari 2005).

Sólo dos poblaciones, una correspondiente al sector sur (Valle Fértil), y otra al sector norte (Alemania) se encuentran dentro de áreas protegidas, lo que expone al resto de las poblaciones a una situación vulnerable frente a posibles cambios.

Los resultados de este trabajo sugieren un número mínimo de 6 poblaciones locales que deberían utilizarse para el desarrollo de prácticas de conservación tanto *in situ* como *ex situ*. Los métodos de optimización permiten diseñar una red de reservas genéticas, dando peso no sólo a las áreas que tienen una alta diversidad genética (alélica) sino también a aquellas, que aunque menos diversas, tienen diversidad singular como variantes alélicas únicas.

El estudio a escala fina, permite definir la escala espacial a utilizar en la recolección de germoplasma. En climas áridos (<400 mm/año) las semillas deben ser recolectadas a

distancias menores a los 50 m, mientras que en los bosques xerófilos bajo regímenes de precipitación más altos la colecta debe realizarse a distancias mayores a los 100 m.

Otro aspecto a considerar en las prácticas de manejo y/o conservación de *E. terscheckii* es su conocimiento respecto a la dinámica poblacional, ya que este tipo de plantas es fuertemente dependiente de la longevidad de los individuos maduros (Godínez-Alvarez et al. 2003). De este modo factores como la herbivoría podrían tener efectos negativos sobre la reproducción de la especie, estos resultados han sido evaluados por Peco et al. (2011) donde el daño de la corteza por parte del pastoreo de ganado salvaje reduce el potencial reproductivo de las poblaciones de *E. terscheckii* ubicadas en la provincia de San Juan. Además de estos impactos directos, se debe considerar la herbivoría del ganado en los desiertos que puede disminuir el reclutamiento de las plantas, tanto reduciendo la cobertura de las plantas nodrizas como a través de la degradación del suelo (Bowers 1997).

Finalmente, *E. terscheckii* conocido vulgarmente como el “cardón del valle” es un recurso cuya explotación sustentable es compleja, debido principalmente a su lento crecimiento y a su limitada regeneración.

Agradecimientos

Esta tesis ha sido posible gracias a numerosas personas e instituciones que me han brindado su apoyo en el transcurrir de su elaboración.

Principalmente quiero agradecer a mi directora, la Dra. Andrea Premoli, en su excelente labor de guía y orientadora. Gracias por tanto ejemplo de vida, sabiduría, paciencia y perseverancia que permitieron poder concretar esta formación.

También agradezco a mi codirector, el Dr. Pablo Ortega-Baes, por la motivación, su espíritu positivo y generoso.

A mis compañeras/os del Laboratorio Ecotono, en forma especial a Paula Quiroga, Paula Mathiasen, Mariana Fasanella, Cintia Souto, Marina Arbetman, Griselda Ignazi, Romina Vidal Rusell y Thomas Kitzberger quienes me asistieron con la mayor paciencia en las consultas realizadas y cuyas recomendaciones resultaron claves al momento de definir diferentes aspectos de la tesis.

Gracias a Sofia Gonzalez, Claudia Sosa, Melina Chamorro, Alejandra Kenigsten y Estela Raffaele por su amistad, su generosidad y por haber alegrado mis días en la Patagonia.

Agradezco también a la Dra. Andrea Premoli por recibirme y brindarme la posibilidad de trabajar en el Laboratorio Ecotono de la Universidad Nacional del Comahue, que me permitió interactuar con numerosos investigadores, que supieron compartirme sus conocimientos.

A mis compañeros/as del LABiBO de la Universidad Nacional de Salta.

A las diferentes Secretarías de Ambientes de la Provincia de Salta, Catamarca y San Juan.

A la Universidad Nacional del Comahue, en particular a los integrantes del Dpto. de Postgrado.

A los Miembros del Jurado por aceptar formar parte del tribunal examinador y dedicar su tiempo a la revisión de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

A la Universidad Nacional de Salta, quien conjuntamente con el CONICET, a través del Programa de Áreas de Vacancias Geográficas, permitieron llevar adelante mi formación doctoral.

Gracias a los amigos/as de la vida.

A mi querido PADRE Silvestre Quipildor, por su compañía incondicional, su ejemplo de fortaleza y por haber cultivado en mi vida, las ganas y deseos de luchar por los sueños. A mis hermanos Néstor, Reynaldo, Italo y sobrinos.

A Fernando, gracias por el cariño, el compañerismo y la generosidad de tantos años.

Bibliografía general

- Aguiar MR, Sala OE (1999) Patch structure, dynamics and implications for the functioning of arid ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*. **14**:273-277.
- Aguirre-Gutiérrez J, Carvalheiro LG, Polce C, van Loon EE, Raes N, Reemer M, Biesmeijer JC (2013) Fit-for-Purpose: Species Distribution Model Performance Depends on Evaluation Criteria – Dutch Hoverflies as a Case Study. *PLoS ONE* 8:e63708.
- Alberdi MT, Bonadonna FP, Ortiz Jaureguizar E (1997) Chronological correlation, paleoecology, and paleobiogeography of the late Cenozoic South American rionegrán land-mammal fauna: a review. *Revista española de paleontología*. **12**:249-225.
- Anderson E (2001) The cactus Family. Timber press. Portland, Oregon. 776 pp.
- Anderson LL, Hu FS, Nelson DM, Petit RJ, Paige KN (2006) Ice-age endurance: DNA evidence of a white spruce refugium in Alaska. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **103**: 12447-12450.
- Arakaki M, Christin PA, Nyffeler R, Lendel A, Eggli U, Ogburn, RM, et al (2011) Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **108**:8379-8384.
- Araujo MB, Rahbek C (2006) How Does Climate Change Affect Biodiversity? *Science*. **313**:1396-1397.
- Arbetman MP, Premoli AC (2011) Oldies (but goldies!): extracting DNA from cryopreserved allozyme homogenates. *Journal of Heredity*. **102**:764-769.
- Arias S, Guzmán U, Mandujano MC, Galván MS, Golubov J (2005) Las especies mexicanas de cactáceas en riesgo de extinción. I. Una comparación entre los listados NOM-059-ECOL-2001 (México), La lista Roja (UICN) y CITES. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **50**:100-125.
- Avice JC (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of biogeography*. **36**:3-15.
- Avice JC (2000) Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Barthlott W, Hunt DR (1993) Cactaceae. In Flowering Plants·Dicotyledons (pp. 161-197). Springer Berlin Heidelberg.
- Bertness MD, Callaway R (1994) Positive interactions in communities. *Trends in Ecology and Evolution*. **9**:191-193.
- Besega C, Pometti CL, Ewens M, Saidman BO, Vilardi JC (2016) Fine-scale spatial genetic structure analysis in two Argentine populations of *Prosopis alba* (Mimosoideae) with

- different levels of ecological disturbance. *European Journal of Forest Research*. **135**:495-505.
- Byrne M (2008) Evidence for multiple refugia at different time scales during Pleistocene climatic oscillations in southern Australia inferred from phylogeography. *Quaternary Science Reviews*. **27**:2576-2585.
- Boiry L (2008) Programa de Readequación de los Sistemas de Riego Superficiales y de Intensificación Productiva Provincia de La Rioja. Estudio:1.EE.209.
- Bonatelli IA, Perez MF, Peterson AT, Taylor NP, Zappi DC, Machado MC, Moraes EM (2014) Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Molecular ecology*. **23**:3044-3063.
- Bonnet S (2009) Shrinking and splitting of drainage basins in orogenic landscapes from the migration of the main drainage divide. *Nature Geoscience*. **2**:766-771.
- Bowers JE (2000) Does *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae) have a between-year seed bank?. *Journal of Arid Environments*. **45**:197-205.
- Bowers JE (1997) Demographic patterns of *Ferocactus cylindraceus* in relation to substrate age and grazing history. *Plant Ecology*. **133**:37-48.
- Boyle TH, Anderson E (2002) Biodiversity and Conservation. En: Nobel P.S. Ed. *Cacti. Biology and uses*. University of California Press, Los Angeles. 125-141.
- Broccoli AJ, Manabe S (1997) Mountains and midlatitude aridity, in Ruddiman, W.F., ed., *Tectonic uplift and climate change*: New York, Plenum Press. pp. 89-121.
- Brown AD, Pacheco S (2006) Propuesta de actualización del mapa ecoregional de la Argentina. In: Brown AD, Martínez Ortiz U, Acerbi M, Corcuera J, Eds. *Situación Ambiental Argentina 2005*. Buenos Aires (Argentina): Fundación Vida Silvestre. 59-60.
- Bucklin DN, Basille M, Benschoter AM, Brandt LA, Mazzotti FJ, Romañach SS, Speroterra C, Watling JI (2015) Comparing species distribution models constructed with different subsets of environmental predictors. *Diversity and Distributions*. **21**:23-35.
- Burnham RJ, Graham A (1999) The history of neotropical vegetation: new developments and status. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 546-589.
- Cabrera AL (1976) Regiones fitogeográficas argentinas. In: Kugler WF, editor. *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*. Buenos Aires (AR): Ed. Acme. 1-85.
- Cabrera AL (1971) Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. Vol. XIV: 1-2.

- Callaway RM, Walker LR (1997) Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology*. **78**:1958-1965.
- Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E, Valiente-Banuet A (2007) In situ Management and Domestication of Plants in Mesoamerica. *Annals of Botany*. **100**:1101-1115.
- Ceballos G, Ehrlich PR, Barnosky AD, García A, Pringle RM, Palmer TM (2015) Accelerated modern human-induced species losses: entering the sixth mass extinction. *Science advances*. 1(5), e1400253.
- Clark-Tapia R, Alfonso-Corrado C, Eguiarte L.E, Molina-Freaner F (2005) Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran desert. *American Journal of Botany*. **92**:272-278.
- Clark-Tapia R, Molina-Freaner F (2003) The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran desert. *Heredity*. **90**:443-450.
- Clarke DA (2006) Antiquity of aridity in the Chilean Atacama Desert. *Geomorphology*. **73**:101-114.
- Conkle MT, Hodgskiss PD, Nunnally LB, Hunter SC (1982) Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. *General Technical Report PSW-64* (ed.by Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station). Berkeley, California.
- Contreras-Negrete G, Ruíz-Durán ME, Cabrera-Toledo D, Casas A, Vargas O, Parra F (2014) Genetic diversity and structure of wild and managed populations of *Polaskia chende* (Cactaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico: insights from SSR and allozyme markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. **62**:85-101.
- Cornejo-Romero A, Medina-Sánchez J, Hernández-Hernández T, Rendón-Aguilar B, Valverde PL, Zavala-Hurtado A, et al (2014) Quaternary origin and genetic divergence of the endemic cactus *Mammillaria pectinifera* in a changing landscape in the Tehuacán Valley, Mexico. *Genetics and Molecular Research*. **13**:73-88.
- Cornejo Romero A (2013) Estructura genética y filogeografía de dos cactus endémicos del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis Doctoral. pp1-120.
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*. **144**:2001-2014.
- Cornuet JM, Pudlo P, Veyssier J, Dehne-Garcia A, Gautier M, Leblois R, Marin JM, Estoup A (2014) DIYABC v2.0: a software to make Approximate Bayesian Computation inferences about population history using Single Nucleotide Polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics*. **30**:1187-1189.

- Coutand I, Carrapa B, Deeken A, Schmitt AK, Sobel ER, Strecker MR (2006) Propagation of orographic barriers along an active range front: insights from sandstone petrography and detrital apatite fission-track thermochronology in the intramontane Angastaco basin, NW Argentina. *Basin Research*. **18**:1-26.
- Cruse-Sanders JM, Parker KC, Friar EA, Huang DI, Mashayekhi S, Prince LM et al (2012) Managing diversity: domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecology and evolution*. **3**:1340-1355.
- Demesure B, Sodzi N, Petit RJ (1995) A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology*. **4**:129-131.
- de Viana ML (1996) Distribución espacial de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en relación al espacio disponible y al banco de semillas. *Revista Biología Tropical*. **44/45**:95-103.
- Diers L (2008a) Over chromosomen bij cactussen-ter herinnering aan Albert Buining (1). *Succulenta*. **87**: 83-92.
- Diniz-Filho JAF, Melo DB, Oliveira G, Collevatti RG, Soares TN, Nabout JC, Lima JS, Dobrovolski R, Chaves LJ, Naves RV, et al (2012a) Planning for optimal conservation of geographical genetic variability within species. *Conservation Genetic*. **13**:1085-1093.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. **12**:13-15.
- Drezner TD (2006) Plant facilitation in extreme environments: the non-random distribution of saguaro cacti (*Carnegiea gigantea*) under their nurse associates and the relationship to nurse architecture. *Journal of Arid Environments*. **65**:46-61.
- Dumolin S, Demesure B, Petit RJ (1995) Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theoretical and Applied Genetics*. **9**:1253-1256.
- Dumolin-Lapegue S, Pemonge MH, Petit RJ (1997) An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Molecular Ecology*. **6**:393-397.
- Elith J, Phillips SJ, Hastie T, Dudík M, Chee YE, Yates CJ (2011) A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and distributions*. **17**: 43-57.
- Elith JH, Graham CP, Anderson R, Dudík M, Ferrier S, Guisan AJ, Hijmans R, Huettmann FR, Leathwick J, et al (2006) Novel methods improve prediction of species distributions from occurrence data. *Ecography*. **29**:129-151.
- Ellstrand NC, Roose ML (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*. **74**:123-131.

- Excoffier L, Peter E, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics Society of America*. **131**:479-491.
- Fernández-Pacella L (2015) Fossil record and distribution of *Anadenathera* in Argentina from the Miocene to the present. *Estudios geológicos-Madrid*. **71**:1.
- Fielding AH, Bell JF (1997) A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*. **24**:1469-4387.
- Figueredo CJ, Nassar JM, García-Rivas AE, González-Carcacía JA (2010) Population genetic diversity and structure of *Pilosocereus tillianus* (Cactaceae, Cereae), a columnar cactus endemic to the Venezuelan Andes. *Journal of Arid Environments*. **74**:1392-1398.
- Fisher RA. (1930) The genetical theory of natural selection. Clarendon Press, Oxford.
- Foley JA, DeFries R, Asner GP, Barford C, Bonan G, Carpenter SR, Chapin FS, Coe MT, Daily GC, Gibbs HK, Helkowski JH, Holloway T, Howard EA, Kucharik CJ, Monfreda C, Patz JA, Prentice IC, Ramankutty N, Snyder PK (2005) Global consequences of land use. *Science*. **309**:570-574.
- Franco AC, Nobel PS (1989) Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology*. **77**:870-886.
- Frankel O, Soule ME (1981) *Conservation and evolution*. CUP Archive.
- Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*. **133**:693-709.
- Fuller TL, Thomassen HA, Peralvo M, Buermann W, Milá B, Kieswetter CM, et al (2013) Intraspecific morphological and genetic variation of common species predicts ranges of threatened ones. In *Proc. R. Soc. B*. **280**:No. 1760.
- Game ET, Grantham HS (2008) Marxan User Manual: For Marxan version 1.8.10. University of Queensland, St. Lucia, Queensland, Australia, and Pacific Marine Analysis and Research Association, Vancouver, British Columbia, Canada.
- Garziona CN, Hoke GD, Libarkin JC, Withers S, MacFadden B, Eiler J, Ghosh P, Mulch A (2008) Rise of the Andes. *Science*. **320**:1304-1307.
- Gasparri I, Manghi E, Montenegro C, Strada M, Parmuchi MG, Bono J (2004) Mapa forestal Provincia de Salta. Dirección de Bosques Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable.
- Gaston KJ, Rodrigues ASL, van Rensburg BJ, Koleff P, Chown SL (2001) Complementary representation and ecological transition. *Ecology Letters*. **4**:4-9.

- Gentry AH (1995) Diversity and floristic composition of neotropical dry forests. Seasonally dry tropical forests. Cambridge University Press, Cambridge. **10**:146-190.
- Gibson AC, Nobel PS (1986) The Cactus Primer. Harvard University Press, Cambridge.
- Gilabert MA, González-Piqueras J, García-Haro J (1997) Acerca de los índices de vegetación. *Revista de teledetección*. **8**(10).
- Godínez-Alvarez H, Valverde T, Ortega-Baes P (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*. **69**:173-203.
- Godínez-Alvarez H, Valiente-Banuet A, Banuet LV (1999) Biotic interactions and the population dynamics of the long-lived columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo* in the Tehuacán Valley, Mexico. *Canadian Journal of Botany*. **77**: 203-208.
- Goettsch B, Hilton-Taylor C, Cruz-Piñón G, et al (2015) High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nat. Plants* doi: 10.1038/nplants.2015.142.
- Goudet J (2001) *FSTAT*, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9.3.
- Grau HR, Gasparri NI, Aide TM (2005) Agriculture expansion and deforestation in seasonally dry forests of north-west Argentina. *Environmental Conservation*. **32**:140-148.
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005a) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*. **170**:1261-1280.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005b) GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*. **5**:708-711.
- Hamilton MB (1999) Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology*. **8**:521-523.
- Hamrick JL, Nason JD, Fleming TH, Nassar JM (2002) Genetic diversity in columnar cacti. *Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology and conservation*. (Ed. by T.H. Fleming and A. Valiente Banuet). University of Arizona Press, Tucson, AZ. 122-133.
- Hamrick JL, Nason JD (1996) Consequences of dispersal in plants. In *Population dynamics in ecological space and time* (ed. O. E. Rhodes, R. K. Chesser y M. H. Smith), pp. 203-236. Chicago: University of Chicago Press.
- Hamrick JL, Godt MJW (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **351**:1291-1298.

- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*. **6**:95-124.
- Hamrick JL, Godt MJW (1989) Allozyme diversity in plant species. *Plant populations genetics, breeding and germoplasm resources* (ed. by A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir), pp. 43-63. Sunderland, MA: Sinauer.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*. **2**:618-620.
- Hernández-Hernández T, Brown JW, Schlumpberger BO, Eguiarte LE, Magallón S (2014) Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New phytologist*. **202**:1382-1397.
- Hernández-Hernández T, Hernández HM, De-Nova JA, Puente R, Eguiarte LE, Magallón S (2011) Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany*. **98**:44-61.
- Hernández PA, Graham CH, Master LL, Albert DL (2006) The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography*. **29**:773-785.
- Hernández HM, Godínez H (1994) Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazada. *Acta Botánica Mexicana*. **26**:33-52.
- Hershkovitz MA, Zimmer EA (1997) On the evolutionary origins of the cacti. *Taxon*. 217-232.
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. **359**:183-195.
- Hewitt G (2001) Speciation, hybrid zones and phylogeography-or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*. **10**:537-549.
- Hewitt GM (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. **405**:907-913.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of the ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. **58**:247-276.
- Hijmans RJ (2012) Cross-validation of species distribution models: removing spatial sorting bias and calibration with a null model. *Ecology*. **93**:679-688.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*. **25**:1965-1978.

- Hinojosa LF, Villagran C (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: antecedentes paleobotánicos, geológicos y climáticos del Terciario del cono sur de América. *Revista Chilena de Historia Natural*. **70**:225-239.
- Holderegger R, Kamm U, Gugerli F (2006) Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*. **21**:797-807.
- Holland JN, Molina Freaner F (2012) Hierarchical effects of rainfall, nurse plants, granivory and seed banks on cactus recruitment. *Journal of Vegetation Science*. **24**:1053-1061.
- Hoorn C, Wesselingh FP, Ter Steege H, Bermudez MA, Mora A, Sevink J, Sanmartin I, Sanchez-Meseguer A, et al (2010) Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*. **330**:927-931.
- Hunt D (2006) The New Cactus Lexicon. Volume I and II. DH books, Milborne Port, England. 900 p.
- Imbrie J, Boyle EA, Clemens SC, Duffy A, Howard WR, Kukla G, et al. (1992) On the structure and origin of major glaciation cycles 1. Linear responses to Milankovitch forcing. *Paleoceanography*. **7**:701-738.
- INTA-UNDP (1990) Atlas de Suelos de la República Argentina. Buenos Aires.
- Izquierdo AE, Grau RH (2009) Agriculture adjustment, land-use transition and protected áreas in Northwestern Argentina. *Journal of Environmental Management*. **90**:858-865.
- Jacquemyn H, Brys R, Vandepitte K, Honnay O, Roldán-Ruiz I, Wiegand T (2007) A spatially explicit analysis of seedling recruitment in the terrestrial orchid *Orchis purpurea*. *New Phytologist*. **176**:448-459.
- Jiménez-Valverde A, Peterson AT, Soberón J, Overton JM, Aragón P, Lobo JM (2011) Use of niche models in invasive species risk assessments. *Biol Invasions*. **13**:2785-2797.
- Jones OR, Wang J (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources*. **10**:551-555.
- Karhu A, Hurme P, Karjalainen M, Karvonen P, Kärkkäinen K, Neale D, Savolainen O (1996) Do molecular markers reflect patterns of differentiation in adaptive traits of conifers?. *Theoretical and Applied Genetics*. **93**:215-221.
- Kiesling R, Ferrari OE (2005) 100 cactus argentinos. O'Reilly Media, Inc.
- Kiesling R (1975) Los géneros de Cactaceae de Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. **16**:197-227.
- Kiesling R (1978) El género *Trichocereus* (Cactaceae): I: Las especies de la Rep. Argentina. *Darwiniana*. **21**:263-330.

- King JN, Dancik BP (1983) Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. **5**:430-436.
- Kleinert K, Strecker MR (2001) Climate change in response to orographic barrier uplift: paleosol and stable isotope evidence from the late Neogene Santa María basin, northwestern Argentina. *Geological Society of America Bulletin*. **113**:728-742.
- Lamoreux JF, Morrison JC, Ricketts TH, Olson DM, Dinerstein E, McKnight MW, Shugart HH (2006) Global tests of biodiversity concordance and the importance of endemism. *Nature* **440**: 9 doi:10.1038/nature04291.
- Larsson A (2014) AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics Applications Note*. **30**:3276-3278.
- Li CC, Horvitz DG (1953) Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American Journal of Human Genetics*. **5**:107-117.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics Applications Note*. **25**:1451-1452.
- Linares-Palomino R (2004) Los bosques tropicales estacionalmente secos: II. Fitogeografía y composición florística. *Arnoldia*. **11**:103-138.
- Linares-Palomino R, Pennington RT, Bridgewater S (2003) The phytogeography of the seasonally dry tropical forests in Equatorial Pacific South America. *Candollea*. **58**:473-499.
- Linhart YB, Grant MC (1996) Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **27**:237-277.
- Loiselle BA, Sork VL, Nason JD, Graham C (1995) Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*. **82**:1420-1425.
- López RP, Valdivia S, Sanjinés N, De la Quintana D (2007) The role of nurse plants in the establishment of shrub seedlings in the semi-arid subtropical Andes. *Oecologia*. **152**:779-790.
- Loveless MD, Hamrick JL. 1984. Ecological determinants of genetic structure of plant populations. *A. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 65-95.
- McKay JK, Latta RG (2002) Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology & Evolution*. **17**:285-291.
- Mandujano MC, Flores-Martinez A, Golubov J, Ezcurra E (2002) Spatial distribution of three globose cacti in relation to different nurse-plant canopies and bare areas. *Southwestern Naturalist*. **47**:162-168.

- Mandujano MC, Montana C (1998) Clonal propagation in *Opuntia rastrera* from two habitats in the Chihuahuan Desert. *Ecology*. **86**:911-921.
- Margules CR, Pressey RL (2000) Systematic conservation planning. *Nature* **405**:243-253.
- Markert CL, Møller F (1959) Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **45**:753-763.
- Mathiasen P, Premoli AC (2010) Out in the cold: genetic variation of *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae) provides evidence for latitudinally distinct evolutionary histories in austral South America. *Molecular Ecology*. **19**:371-385.
- Mayle FE (2004) Assessment of the Neotropical dry forest refugia hypothesis in the light of palaeoecological data and vegetation model simulations. *Journal of Quaternary Science*. **19**:713-720.
- McCauley DE (1995) The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trends in Ecology y Evolution*. **10**:198-202.
- Menditto MR (2007) Análisis de la ciudad de La Rioja como destino turístico y centro de distribución de la Provincia. Universidad abierta Interamericana.
- Mitton JB, Linhart YB, Sturgeon KB, Hamrick JL (1979) Allozyme polymorphisms detected in mature needle of ponderosa pine. *Journal of Heredity*. **70**:86-89.
- Mogni VY, Oakley LJ, Prado DE (2015) The distribution of woody legumes in neotropical dry forests: the Pleistocene Arc Theory 20 years on. *Edinburgh Journal of Botany*. **72**:35-60.
- Molina-Freaner F, Clark-Tapia R (2005) Clonal diversity and allelic relationships between two closely related species of columnar cacti from the Sonoran Desert *Stenocereus eruca* and *Stenocereus gummosus*. *International Journal of Plant Sciences*. **166**:257-264.
- Moraes EM, Abreu AG, Andrade CS, Sene FM, Solferini VN (2005) Population genetic structure of two columnar cacti with a patchy distribution in eastern Brazil. *Genética*. **125**:311-323.
- Moritz C (1999) Conservation units and translocations: strategies for conserving evolutionary processes. *Hereditas*. **130**:217-228.
- Moritz C (1994) Defining 'evolutionarily significant units' for conservation. *Trends in ecology & evolution*. **9**:373-375.
- Morlans MC (1995) Regiones Naturales de Catamarca (Provincias Geológicas y Provincias Fitogeográficas). Editorial Científica Universitaria. Universidad Nacional de Catamarca.

- Mulch A, Uba CE, Strecker MR, Schoenberg R, Chamberlain CP (2010) Late Miocene climate variability and surface elevation in the central Andes. *Earth and Planetary Science Letters*. **290**:173-182.
- Munguía-Rosas MA, Sosa VJ (2008) Nurse plants vs. nurse objects: effects of woody plants and rocky cavities on the recruitment of the *Pliosocereus leucocephalus* columnar cactus. *Annals of Botany*. **101**:175-185
- Murphy RW, Sites JW, Buth DG, Hufler CH (1996) Proteins: isozyme electrophoresis. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK, editors. *Molecular systematic*. Sunderland Massuchestts (USA): Sinauer Associates. pp 51-120.
- Murphy PG, Lugo AE (1986) Ecology of tropical dry forest. *Annual reviews of Ecology and Systematics*. **17**:67-88.
- Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH (2003) Population genetic structure of Venezuelan Chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany*. **90**:1628-1637.
- Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH (2002) Allozyme Diversity and Genetic Structure of the Leafy Cactus (*Pereskia guamacho* [Cactaceae]). *The Journal of Heredity*. **93**:193-200.
- Nassar JM., Hamrick JL, Fleming TH (2001) Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity*. **87**:69-79.
- Nason JD, Hamrick JL, Fleming TH (2002) Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran desert columnar cactus. *Evolution*. **56**:2214-2226.
- Niering WA, Whittaker RH, Lowe CH (1963) The saguaro: A population in relation to environment. *Science*. **142**:15-23.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Science USA. **70**:3321-3323.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small numbers of individuals. *Genetics*. **89**:583-590
- Nobel PS (ed.) (2002) Cacti - biology and uses. University of California Press, Los Angeles.
- Nobel PS (1980). Morphology, nurse plants, and minimum apical temperatures for young *Carnegiea gigantea*. *Botanical Gazette*. **141**:188-191.
- Nogués-Bravo D (2009) Predicting the past distribution of species climatic niches. *Global Ecology and Biogeography*. **18**:521-531.

- Nyffeler R (2002) Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. *American Journal of Botany*. **89**:312-326.
- Olson DM, Dinerstein E, Wikramanayake ED, Burgess ND, Powell GV, Underwood EC, D'Amico JA, Itoua I, Strand HE, et al. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*. **51**:933-938.
- Ortega-Baes P, Godínez Álvarez H, Sajama JM, et al (2015) La familia Cactaceae en Argentina: patrones de diversidad y prioridades políticas para su conservación. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **50**: 71-78.
- Ortega-Baes P, Lowry M (2013) *Echinopsis terscheckii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T152300A620937. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20131.RLTS.T152300A620937.en>.
- Ortega-Baes P, Saravia M, Suhring S, Godínez H, Zamar M (2010) Reproductive biology of *Echinopsis terscheckii* (Cactaceae): the role of nocturnal and diurnal pollinators. *Plant Biology*. **13**:33-40.
- Ortega-Baes P, Suhring S, Sajama J, Sotola E, Alonso-Pedano M, Bravo S, Godínez-Alvarez H (2010) Diversity and conservation in the cactus family. In: K.G. Ramawat (Ed.) *Desert plants: Biology and Biotechnology*. Springer.pp 157-173.
- Ortega-Baes P, Aparicio-González M, Galíndez G, del Fueyo P, Suhring S, Rojas-Aréchiga M (2010) Are cactus growth forms related to germination responses to light? A test using *Echinopsis* species. *Acta Oecologica*. **36**:339-342.
- Ortega-Baes P, Rojas-Aréchiga M (2007) Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of Arid Environments*. **69**:169-176.
- Ortega-Baes P, Godínez-Alvarez H (2006) Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*. **15**:817-827.
- Ortiz Jaureguizar E, Cladera G (2006) Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*. **66**:489-532.
- Otero-Arnaiz A, Casas A, Hamrick JL (2005) Direct and indirect estimates of gene flow among wild and managed populations of *Polaskia chichipe*, an endemic columnar cactus in Central Mexico. *Molecular Ecology*. **14**: 4313-4322.
- Paoli HP, Bianchi AR, Yáñez CE, Volante JN, Fernández DR, Mattalía MC, Noé YE (2002) Recursos Hídricos de la Puna, Valles y Bolsones Áridos del Noroeste Argentino.

- Parker KC (1993) Climatic effects on regeneration trends for two columnar cacti in the northern Sonoran Desert. *Annals of the Association of American Geographers*. **83**:452-474.
- Parra F, Pérez-Nasser N, Lira R, Pérez-Salicrup D, Casas A (2008) Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Arid Environments*. **72**:1997-2010.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. **28**:2537-2539.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GenAlex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. **6**:288-295.
- Pearcy J, Ferrier S (2000) Evaluating the predictive performance of habitat models developed using logistic regression. *Ecological Modelling*. **133**:225-245.
- Peco B, Borghi CE, Malo JE, Acebes P, Almiron M, Campos CM (2011) Effects of bark damage by feral herbivores on columnar cactus *Echinopsis* (= *Trichocereus*) *terscheckii* reproductive output. *Journal of Arid Environments*. **75**:981-985.
- Pennington RT, Lavin M, Oliveira-Filho A (2009) Woody plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **40**:437-457.
- Pennington RT, Ratter JA (Eds.) (2006) Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography, and conservation. CRC Press.
- Pennington RT, Lavin M, Prado DE, Pendry CA, Pell SK, Butterworth CA (2004) Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **359**:515-537.
- Pennington RT, Prado DE, Pendry CA (2000) Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*. **27**:261-273.
- Peñuelas J, Filella I (1998) Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in Plant Science*. **3**:151-155.
- Peters EM, Martorell C, Ezcurra E (2008) Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Arid Environments*. **72**:593-601.
- Peterson AT (2011) *Ecological Niches and Geographic Distributions* (MPB-49). Princeton University Press.

- Petit RJ, Brewer S, Bordáes S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, Cottrell J, Csaki UM, van Dam B, et al (2002) Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. **156**:49-74.
- Phillips SJ, Dudik M (2008) Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*. **31**:161-175.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*. **190**:231-259.
- Pierson EA, Turner RM (1998) An 85-year study of saguaro (*Carnegiea gigantea*) demography. *Ecology*. **79**:2676-2693.
- Prado DE (2000) Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. *Edinburgh Journal of Botany*. **57**:437-461.
- Prado DE, Gibbs PE (1993) Patterns of species distributions in the dry seasonal forests of South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. **80**:902-927.
- Prado DE (1991). A critical evaluation of the floristic links between Chaco and Caatingas vegetation in South America. St. Andrews: University of St. Andrews v, 283p.-col. Thesis: University of St. Andrews: PhD.
- Premoli AC, Mathiasen P, Kitzberger T (2010) Southernmost Nothofagus trees enduring ice ages: genetic evidence and ecological niche retrodiction reveal high latitude (54°S) glacial refugia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. **285**: 186-193.
- Premoli AC, Kitzberger T (2005) Regeneration mode affects spatial genetic structure of Nothofagus dombeyi forests in northwestern Patagonia. *Molecular Ecology*. **14**:2319-2329.
- Premoli AC, Kitzberger T, Veblen TT (2000) Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography*. **27**:251-260.
- Premoli AC (1998) Use of genetic markers to conserve endangered species and to design protected areas for more widespread species. *Proceedings of an International Workshop on Recent Advances in Biotechnology for Tree Conservation and Management* (ed. by International Foundation for Science), pp. 157-171. Universidad Federal de Santa Catarina, Brazil.
- PROYUNGAS (2011) Cambio de uso de la tierra en el noroeste de Argentina. 1-42.
- Quiroga MP, Premoli AC (2013) The role of the marginal populations in the conservation of the gene pool of the only conifer *Podocarpus parlatorei* from south Yungas in Argentine and Bolivia . *Ecologia en Bolivia*. **48**:4-16.

- Quiroga MP, Pacheco S, Malizia LR, Premoli AC (2012) Shrinking forests under warming: evidence of *Podocarpus parlatorei* (pino del cerro) from the Subtropical Andes. *Journal of Heredity*. **103**:682-691.
- Quiroga P, Premoli AC (2007) Genetic patterns in *Podocarpus parlatorei* reveal long term persistence of cold tolerant elements in southern Yungas. *Journal of Biogeography*. **34**: 447-455.
- Radosavljevic A, Anderson RP (2014) Making better Maxent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation. *J. Biogeogr.* **41**:629-643.
- Ramos VA, Cristallini EO, Pérez DJ (2002) The Pampean flat-slab of the Central Andes. *Journal of South American earth sciences*. **15**: 59-78.
- Ranker TA, Haufler CH, Soltis PS, Soltis DE (1989) Genetic evidence for allopolyploidy in the neotropical fern *Hemionitis* (Adiantaceae) and the reconstruction of an ancestral genome. *Systematic Botany*. **14**:439-447.
- Raven PH, Axelrod DI (1974) Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. **61**:539-673.
- Raymo ME, Ruddiman WF (1992) Tectonic forcing of late Cenozoic climate. *Nature*. **359**:117-122.
- Reyers B, van Jaarsveld AS, Krüger M (2000) Complementarity as a biodiversity indicator strategy. *Proc. R. Soc. Lond. B*. **267**:505-513.
- Ritz CM, Martins L, Mecklenburg R, Goremykin V, Hellwig FH (2007) The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American mountain cacti. *American Journal of Botany*. **94**:1321-1332.
- Rodríguez-Oseguera AG, Casas A, Herrerías-Diego Y, Pérez-Negrón E (2012) Effect of habitat disturbance on pollination biology of the columnar cactus *Stenocereus quevedonis* at landscape level in central Mexico. *Plant Biology*. **15**:573-582.
- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*. **9**:552-569.
- Rojas M, Moreno P, Kageyama M, Crucifix M, Hewitt C, Abe-Ouchi A, et al (2009) The Southern Westerlies during the last glacial maximum in PMIP2 simulations. *Climate Dynamics*. **32**:525-548.
- Rousset F (2000) Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology*. **13**:58-62.

- Rudel T (2007) Changing agents of deforestation: From state-initiated to enterprise driven processes, 1970-2000. *Land Use Policy*. **24**:35-41.
- Ruiz S (2011) ¿Están las cactáceas del Noroeste de Argentina amenazadas por el cambio en el uso del suelo? Tesis de Ingeniero en Recursos Naturales y Medio Ambiente, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Salta.
- Sahley C (1996) Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *American Journal of Botany*. **83**:1329-1336.
- Sarmiento G (1975) The dry plant formations of South America and their floristic connections. *Journal of Biogeography*. 233-251.
- Scheldeman X, van Zonneveld M (2010) Training manual on spatial analysis of plant diversity and distribution. 179 pp.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*. **94**:275-288.
- Shaw J, Lickey EB, Beck JT, Farmer SB, Liu W, Miller J, et al (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American journal of botany*. **92**:142-166.
- Slatkin M (1994) Flujo génico y estructura de las poblaciones. *Ecological genetics*. Editado por L. Real. Princeton.
- Smouse PE, Peakall R (1999) Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*. **82**:561-573.
- Sobel ER, Strecker MR (2003) Uplift, exhumation and precipitation: Tectonic and climatic control of late Cenozoic landscape evolution in the northern Sierras Pampeanas, Argentina. *Basin Research*. **15**:431-451.
- Sodhi NS, Ehrlich P (2010) Conservation Biology for all. Oxford University Press, Oxford.
- Sosa C (2016) Estructura del rango geográfico del cactus *Echinopsis terscheckii*: parámetros poblacionales y factores ambientales. PhD thesis. Facultad de Ciencias Exactas. Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.
- StatSoft, Inc. (2004) STATISTICA (Computer Program Manual) version 7.0. Tulsa, USA.
- Storz JF, Beaumont MA (2002) Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution*. **56**:154-166.

- Strecker MR, Alonso RN, Bookhagen B, Carrapa B, Hilley GE, Sobel ER, Trauth MH (2007) Tectonics and Climate of the Southern Central Andes. *The Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. **35**:747-87.
- Swofford DL, Selander RB (1989) Biosys-1 a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics, release 1.7. *Illinois Natural History Survey*. Vol **43**.
- Taberlet P, Zimmermann NE, Englisch T, Tribsch A, Holderegger R, et al. (2012) Genetic diversity in widespread species is not congruent with species richness in alpine plant communities. *Ecology Letters*. **15**: 1439-1448.
- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cossons JF (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*. **7**:453-464.
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*. **17**:1105-1109.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. **123**:585-595.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology Evolution*. **10**:2731-2739.
- Tchilinguirian P, Morales MR (2013) Mid-Holocene paleoenvironments in Northwestern Argentina: main patterns and discrepancies. *Quaternary International*. **307**:14-23.
- Teich I (2012) Análisis de la estructura genética espacial de especies arbóreas y su asociación con la variabilidad fenotípica y ambiental. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Tinoco A, Casas A, Luna R, Oyama K (2005) Population genetics of *Escontria chiotilla* in wild and silvicultural managed populations in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*. **52**:525-538.
- Valiente-Banuet A, Arizmendi MC, Rojas-Martínez A, Casas A, Godínez-Alvarez H, Silva C, Dávila P (2002) Biotic interactions and population dynamics of columnar cacti. En: Flemming, T. y A. Valiente-Banuet. Columnar cacti and their mutualists evolution, ecology and conservation. 225-240. The University of Arizona press. Arizona.
- Valiente-Banuet A, Ezcurra E (1991) Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. *Journal of Ecology*. **79**:961-971.

- Valiente-Banuet A, Bolongaro-Crevenna A, Briones O, Ezcurra E, Rosas M, Nuñez H, Barnard G, Vazquez E (1991) Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semi-arid environment in central México. *Journal of Vegetation Science*. **2**:15-20.
- Veloz SD (2009) Spatially autocorrelated sampling falsely inflates measures of accuracy for presence-only niche models. *Journal of Biogeography*. **36**:2290-2299.
- Venter O, Sanderson EW, Magrath A, Allan JR, Beher J, Jones KR, Possingham HP, Laurance WF, Wood P, et al (2016) Sixteen years of change in the global terrestrial human footprint and implications for biodiversity conservation. *Nature Communications*. **7**:12558.
- Vekemans X, Hardy OJ (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*. **13**:921-935.
- Villagra PE, Cony MA, Mantován NG, Rossi BE, González-Loyarte MM, Villalba R, Marone L (2004) Ecología y Manejo de los algarrobales de la Provincia Fitogeográfica del Monte. Editores Arturi MF, Frangi JL, Goya JF. Ecología y Manejo de Bosques Nativos de Argentina. Editorial Universidad Nacional de La Plata.
- Villagran C, Hinojosa LF (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural*. **70**:241-267.
- Villalba R, Grau HR, Boninsegna JA, Jacoby GJ, Ripalta A (1998) Tree-ring evidence for long-term precipitation changes in Subtropical South America. *International Journal of Climatology*. **18**:1463-1478.
- Vinceti B, Loo J, Gaisberger H, van Zonneveld MJ, Schueler S, Konrad K, Kadu CAC, Geburek T (2013) Conservation priorities for *Prunus africana* defined with the aid of spatial analysis of genetic data and climatic variables. *PLoS ONE* **8**: e59987–e59987.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. **38**:1358-1370.
- Werneck FP (2011) The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews*. **30**:1630-1648.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (ed. by M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White), pp. 315-322. Academic Press, Inc., New York.
- Whitmore TC y Sayer JA (1992) Deforestation and species extinction in tropical moist forests. *Tropical deforestation and species extinction*. 1-14.

- Williams P, Faith D, Manne L, Sechrest W, Preston C (2006) Complementarity analysis: Mapping the performance of surrogates for biodiversity. *Biological Conservation*. **128**: 253-264.
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*. **19**:358-420.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* **15**:323-354.
- Wright S (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics*. **16**:97-159.
- Xu C, Holmgren M, Van Nes EH, Maestre FT, Soliveres S, Berdugo M, Kéfi S, Marquet PA, Abades S, Scheffer M (2015) Can we infer plant facilitation from remote sensing? A test across global drylands. *Ecological Society of America*. **25**:1456-1462.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX (1999) POPGENE 1.32, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>.

Trabajo de respaldo