

## Variación intraespecífica en *Nothofagus alessandrii* una especie endémica en peligro de extinción de los bosques mediterráneos de Chile

### Intra-specific variation in *Nothofagus alessandrii*, an endemic and endangered species of the Mediterranean forests of Chile

Rómulo Santelices-Moya <sup>aa</sup>, Antonio Cabrera-Ariza <sup>ab</sup>,  
Patricia Silva-Flores <sup>ab</sup>, Patricio Ramos-Campos <sup>c</sup>

\*Autor de correspondencia: <sup>a</sup>Universidad Católica del Maule, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Centro del Secano, Talca, Chile, tel.: 56 712203501. rsanteli@ucm.cl

<sup>b</sup>Universidad Católica del Maule, Vicerrectoría de Investigación y postgrado, Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Maule (CIEAM), Talca, Chile.

<sup>c</sup>Universidad de Talca, Instituto de Ciencias Biológicas, Talca, Chile.

#### SUMMARY

In forest conservation, especially in a changing climate, it is essential to understand the intraspecific variation of multiple functional traits in a species. Accordingly, the analysis of *Nothofagus alessandrii*, an endangered species from Chile, could play an important role as a basis for future conservation of genetic resources and restoration of its forests. This study aims to analyze the variation of this species, considering its spatial distribution, variation in ecological distribution, populations associated with forest typology, genecological differentiation, variation in growth, and genetic variation. The information analyzed shows that these forests cover 314 hectares in a very restricted area, with little variation in environmental conditions, only showing variation in sun exposure and in fertility of soils. Although there are no differentiated growth zones, there is evidence that growth can vary. Genetic studies have shown varying levels of genetic diversity and differences between populations. Habitat fragmentation is emerging as the main threat to the survival of the species, as it can cause genetic isolation, inbreeding depression, genetic drift, and loss of adaptive potential. Based on existing research and the analysis carried out, a second experimental phase is proposed in order to select populations capable of adapting to changing environmental conditions due to climate change. It is important to take into account the microbiome of this species and establish efficient conservation and restoration measures for its forests. In summary, the analysis of the variation of *N. alessandrii* is crucial for the conservation of this species in a changing climate.

**Keywords:** ruil, ecological variation, genecology, growth, genetic variation.

#### RESUMEN

En la conservación de los bosques, especialmente en un escenario de cambio climático, es fundamental conocer la variación intraespecífica de múltiples rasgos funcionales en una especie. En este sentido, es importante analizar *Nothofagus alessandrii*, una especie altamente amenazada en Chile, para servir como base en futuros programas de conservación de recursos genéticos y restauración de sus bosques. Este trabajo tiene como objetivo analizar la variación de esta especie, considerando su distribución espacial, variación en la distribución ecológica, poblaciones asociadas a la tipología forestal, diferenciación genecológica, variación en el crecimiento y variación genética. La información analizada muestra que estos bosques abarcan 314 hectáreas en un área muy restringida, con poca variación en las condiciones ambientales, solamente en exposiciones de umbría y en suelos de baja fertilidad. Aunque no existen zonas diferenciadas de crecimiento, hay evidencia de que este puede variar. Los estudios genéticos han demostrado niveles variables de diversidad genética y diferencias entre poblaciones. La fragmentación del hábitat se perfila como la principal amenaza para la supervivencia de la especie, ya que puede provocar aislamiento genético, depresión endogámica, deriva genética y pérdida de potencial de adaptación. A partir de la investigación existente y al análisis realizado, se propone una segunda fase experimental para seleccionar poblaciones capaces de adaptarse a las nuevas condiciones ambientales, debido al cambio climático. Es importante tener en cuenta el microbioma de esta especie y establecer medidas eficientes de conservación y restauración de sus bosques. En resumen, el análisis de la variación de *N. alessandrii* es crucial para la conservación de esta especie en un escenario de cambio climático.

**Palabras clave:** ruil, variación ecológica, genecología, crecimiento, variación genética.

## INTRODUCCIÓN

*Nothofagus alessandrii* Espinosa (ruil), es una especie endémica de la zona mediterránea de Chile que pertenece a la familia Nothofagaceae (Rodríguez y Quezada 2003) y que se encuentra en peligro de extinción (Barstow *et al.* 2017). Es un árbol monoico diclino de crecimiento elevado mono y/o polifustal, troncos rectos y cónicos. En el pasado, era posible observar ejemplares de 30 m de altura y 1 m de diámetro (Espinosa 1928), aunque en la actualidad no se encuentran árboles de esas características.

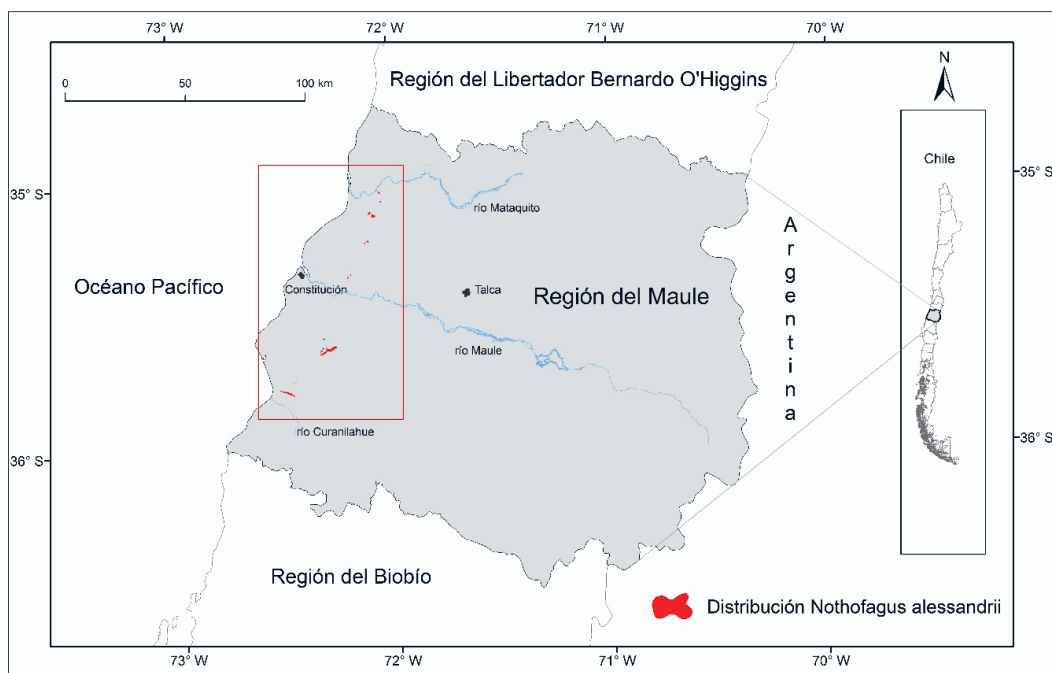
Los bosques de *N. alessandrii* se insertan en el Bosque Maulino, un ecosistema forestal mediterráneo de transición entre las formaciones xerofíticas y los bosques templados más meridionales. En este territorio, se concentra la mayor densidad poblacional de Chile y existe una fuerte presión antropogénica sobre los recursos naturales, lo que se ha traducido en un fuerte retroceso de los bosques naturales, incluidos los de ruil (Echeverría *et al.* 2006).

En general, los ecosistemas forestales mediterráneos chilenos son propensos a los incendios forestales antropogénicos. Si a esto se le suman las consecuencias del cambio climático (i.e. aumento de la temperatura, de la oscilación térmica diaria y de los periodos de sequía), la probabilidad de que se vuelva a producir un disturbio de gran magnitud, como los incendios del año 2017, aumenta. Ese año se produjo uno de los incendios más grandes en la historia de Chile, destruyendo 184.000 ha de sistemas agrícolas y forestales, incluyendo un 55 % de los bosques remanentes de *N. alessandrii* (Valencia *et al.* 2018). Considerando la

amenaza que significa el cambio climático, es fundamental conocer la variación en la distribución ecotípica, genética y clinal que existe en una especie, a fin de orientar la toma de decisiones, en especial en lo referido a la conservación de los recursos genéticos. Para muchas especies arbóreas de los bosques nativos de Chile se ha descrito la variación intra-específica, incluyendo la mayoría del género *Nothofagus* e incluso *N. glauca* (Phil.) Krasser (Santelices Moya *et al.* 2020). Sin embargo, aún no se ha descrito la variación para *N. alessandrii*. Por ello, el objetivo de este trabajo es analizar el estado actual del conocimiento sobre la variación de *N. alessandrii* de tal forma de proponer lineamientos para futuros programas de conservación de los recursos genéticos y la restauración de los bosques de esta especie, la más amenazada de los bosques mediterráneos del género *Nothofagus*.

## DISTRIBUCIÓN GENERAL

En el año 2008, la superficie cubierta por los bosques de *N. alessandrii* era de 314 ha (Santelices *et al.* 2012a), sin que existan reportes posteriores. El área ocupada corresponde a la zona montañosa costera de la Región del Maule de Chile central, en una extensión lineal que no supera los 100 km, siendo una especie endémica de esta zona. Geográficamente se distribuye entre Huelón por el Norte ( $35^{\circ} 05' S$  y  $72^{\circ} 04' O$ ), Curepto, provincia de Talca, y la ribera norte del río Curanilahue, comuna de Chanco, provincia de Cauquenes, por el sur ( $35^{\circ} 49' S$  y  $72^{\circ} 31' O$ ) (figura 1). Su distribución no es continua, distinguiéndose



**Figura 1.** Distribución espacial de los bosques de *Nothofagus alessandrii* [Modificado de Santelices *et al.* (2012a)].

Spatial distribution of *Nothofagus alessandrii* forests [Modified from Santelices *et al.* (2012a)].

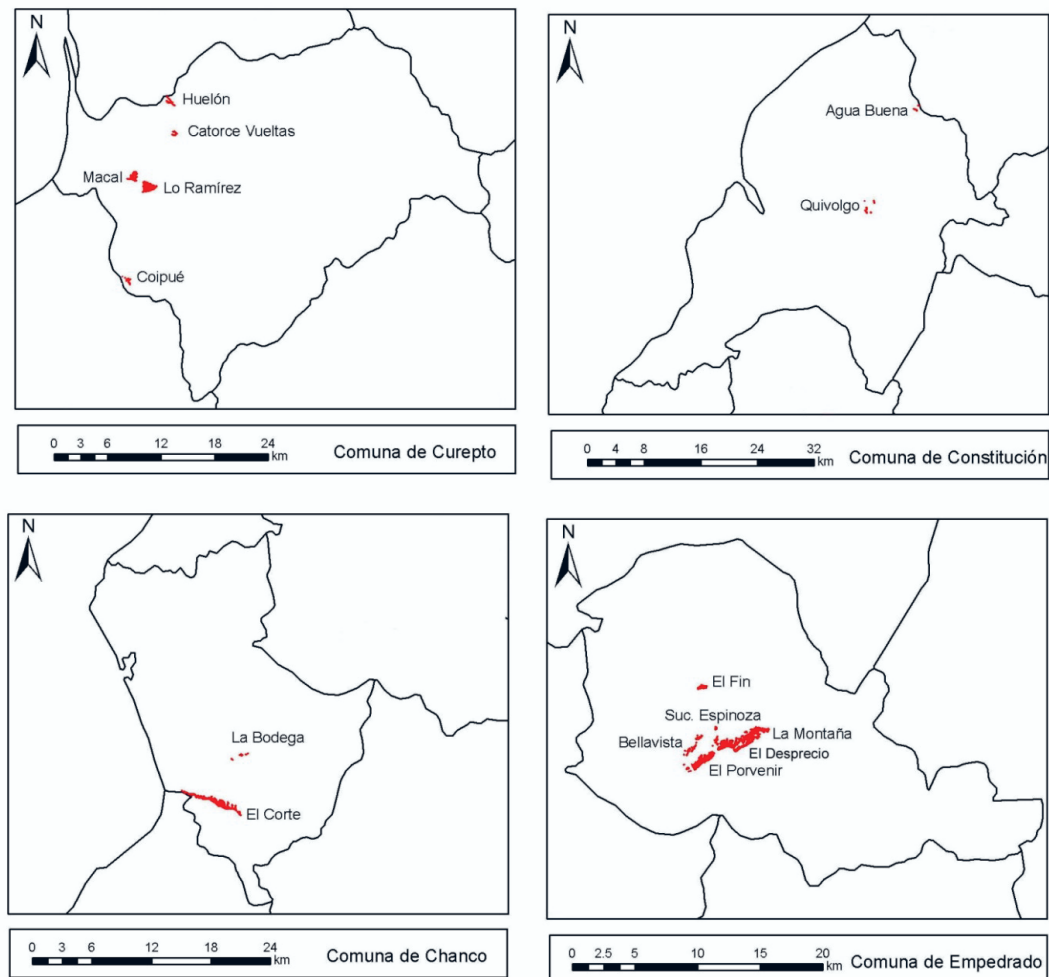
dos grandes unidades interfluviales: una por el norte entre los ríos Mataquito y Maule y, la otra, por el sur entre el Maule y el Curanilahue.

En todos los sitios estos bosques se distribuyen en un rango que va desde los 150 a los 500 m s.n.m., siempre en laderas, sin alcanzar las altas cumbres ni enclaustrarse en el fondo de las quebradas (San Martín *et al.* 2013). Por otra parte, en esta disposición espacial es clara la cercanía que tienen estos bosques al mar, siendo la menor distancia igual a 7 km en un sitio al poniente de la Reserva Nacional Los Ruiles, Chanco, (35° 49' S y 72° 31' O) y la mayor igual a 30 km en el sector de Coipué (35° 16' S y 72° 08' O). La variación espacial de los bosques de ruil entre los años 1991 y 2008 fue de 42 ha, lo que significa una tasa anual de deforestación de la especie para este periodo de 0,74 % (Santelices *et al.* 2012a). La comuna que concentra la mayor superficie de bosques con esta especie es la de Empedrado (52 %), mientras que la más exigua es la de Constitución (3 %). La comuna de Curepto y la de Chanco concentran cada una un poco más de un quinto de la

superficie total. La distribución espacial se puede apreciar en la figura 2, y en el cuadro 1 su variación en el periodo comprendido entre los años 1991 y 2008.

#### VARIACIÓN EN LA DISTRIBUCIÓN ECOLÓGICA DE *Nothofagus alessandrii*

De acuerdo con Di Castri y Hajek (1976), el clima de la zona es de tendencia mediterránea subhúmeda con cinco a seis meses de aridez y uno a dos semiáridos. Estos mismos autores, señalaban hace 45 años que la temperatura media era de 13,7 °C, con una máxima en el mes de enero de 24,8 °C y una mínima en el de julio de 5,9 °C, que la precipitación era 830,7 mm como promedio anual siendo la máxima en junio con 186,4 mm, y que la humedad relativa media anual era de un 78 % con los menores valores de un 69 % entre noviembre y enero del año siguiente y la máxima de un 86,3 % desde abril a julio. Siguiendo a Santibáñez y Uribe (1993), en aquellas procedencias más septentrionales la precipitación media



**Figura 2.** Distribución espacial y comunal de los bosques de *Nothofagus alessandrii*.

Spatial and communal distribution of *Nothofagus alessandrii* forests.

**Cuadro 1.** Distribución de la superficie de bosques de *Nothofagus alessandrii* en los años 1991 y 2008 (Santelices *et al.* 2012a).

Distribution of the forest area of *Nothofagus alessandrii* in the years 1991 and 2008 (Santelices *et al.* 2012a).

Comuna	Sector	Superficie (ha)	
		1991	2008
Curepto	Huelón	10,6	7,6
	Catorce Vueltas	4,0	3,6
	Lo Ramírez	47,0	46,3
	Macal	14,8	15,1
Constitución	Coipué	2,5	2,6
	Agua Buena	1,4	1,5
	Quivolgo	5,9	5,2
Empedrado	El Fin	9,4	10,2
	El Porvenir	52,0	43,2
	La Montaña	62,7	62,8
	El Desprecio	64,8	39,2
	Suc. Espinoza	0,4	0,7
	Bellavista	9,9	7,0
Chanco	La Bodega	2,7	2,7
	El Corte	68,2	66,6
Total		356,3	314,3

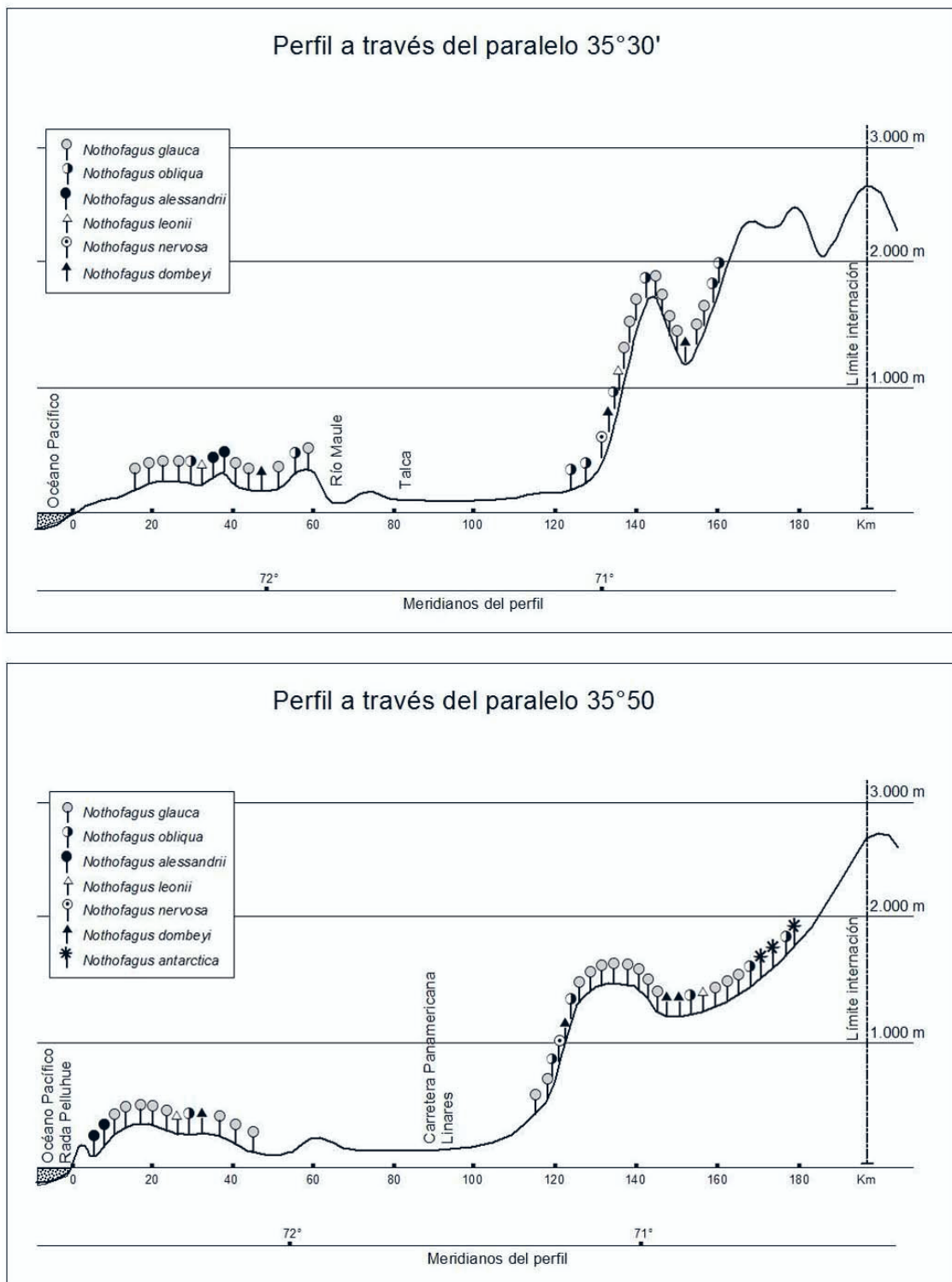
anual es levemente mayor que en las más meridionales y, por el contrario, la temperatura media anual tiende a disminuir (cuadro 2). No obstante, como consecuencia del cambio climático global, en los últimos años se ha observado que la distribución de las lluvias está condicionada por la presencia de los fenómenos de El Niño y de La Niña. Así, en los últimos 10 años se ha registrado una persistente sequía en esta zona, disminuyendo las precipitaciones incluso en más de un 50 % respecto de un año normal. También se ha observado un aumento de las temperaturas y de las olas de calor (DMC 2021).

Los bosquetes de ruil se encuentran en un paisaje montañoso, en laderas con pendientes no muy pronunciadas (figura 3). Los suelos tienen un origen metamórfico con sobreposición de los tipos pardo no cálcicos (dominan en el área entre los ríos Mataquito y Maule) y los del tipo lateritas pardo rojizos (dominan desde Constitución al sur) y son descritos como transicionales entre lateritas pardo rojizos y pardos no cálcicos (Roberts y Díaz 1959-1960). A este grupo, y en algunos sitios específicos, se interponen otros de origen granítico de la serie San Esteban. Una característica propia de los suelos de la Cordillera de la Costa es su baja fertilidad, la que es potenciada por un bajo contenido de fósforo. Son suelos muy intemperizados, delgados, con muy baja retención de agua y susceptibles a la erosión de manto y pluvial. Están clasificados en las clases de uso VI y VII de secano (Peralta 1976).

**Cuadro 2.** Ubicación geográfica y condiciones climáticas de los sectores con fragmentos de *Nothofagus alessandrii* (San Martín *et al.* 1991, Santibáñez y Uribe 1993).

Geographic location and climatic conditions of sectors with fragments of *Nothofagus alessandrii* (San Martín *et al.* 1991, Santibáñez and Uribe 1993).

Procedencia	Latitud (S)	Longitud (O)	Altitud media (m s.n.m.)	Precipitación media anual (mm)	Temperatura media anual (°C)
Huelón	35° 05'	72° 04'	230	708	13,1
Catorce vueltas	35° 06'	72° 04'	100	709	13,9
Lo Ramírez	35° 10'	72° 06'	385	708	13,1
Macal	35° 09'	72° 08'	150	708	13,1
Coipué	35° 16'	72° 08'	412	708	13,1
Agua Buena	35° 16'	72° 09'	300	708	13,2
Quivolgo	35° 23'	72° 12'	262	709	13,9
El Fin	35° 37'	72° 21'	250	926	13,3
Porvenir	35° 40'	72° 19'	300	926	13,3
La Montaña	35° 40'	72° 18'	350	926	13,3
El Desprecio	35° 40'	72° 20'	344	926	13,3
Suc. Espinoza	35° 39'	72° 20'	380	926	13,3
Bellavista	35° 40'	72° 21'	400	926	13,3
La Bodega	35° 47'	72° 28'	200	837	11,7
El Corte	35° 50'	72° 30'	280	837	11,7



**Figura 3.** Perfiles vegetacionales transversales en la región Mediterránea de Chile donde crece naturalmente *Nothofagus alessandrii* [Modificado de Donoso (1993)].

Cross-sectional vegetation profiles in the Mediterranean region of Chile where *Nothofagus alessandrii* grows naturally [Modified from Donoso (1993)].

*Nothofagus alessandrii* se localiza solo en laderas de umbría, en refugios que se caracterizan por tener una mayor humedad que otras exposiciones y los bosquetes, muy fragmentados, se encuentran inmersos en una matriz de plantaciones exóticas (Santelices *et al.* 2012a). Armesto y Martínez (1978), demostraron que la exposición de las laderas influye en la calidad de la radiación. En este sentido, se ha observado que en La Reserva Nacional Los Ruiles en la comuna de Chanco, la diferencia de la media anual de la insolación entre las laderas de exposición norte y sur es de un 40 %. Este hecho dejaría en evidencia la intolerancia de la especie a desarrollarse en insolaciones mayores y, por el contrario, optaría por sitios donde esta sea indirecta y de menor magnitud (San Martín *et al.* 2013), como es el caso de las exposiciones de umbría. En este contexto, la mayor humedad, la influencia marítima, el volumen de las precipitaciones, la orientación y la radiación solar indirecta y su menor efecto de insolación refleja que, en la actualidad, los bosques de ruil responden a condiciones de mayor humedad de carácter microclimático azonal como fue en el pasado y no al macroclima regional de carácter zonal. Este hecho confirma el carácter de relictos de los bosquetes de ruil y su continuidad en el tiempo depende de la heterogeneidad del relieve y su cercanía al mar, por la exigencia de un ambiente húmedo, entre otros factores, para su desarrollo. Santelices *et al.* (2012a), señalan que la mayor probabilidad para cultivos potenciales se daría en aquellos sitios que tienen mayor pluviometría y que están más cerca del mar, es decir, aquellos de mayor humedad y menor oscilación térmica. Esto nuevamente sugiere la real amenaza que significa para esta especie el aumento de la temperatura y de los periodos de sequía como consecuencia del cambio climático.

#### POBLACIONES DE *Nothofagus alessandrii* ASOCIADAS A LA TIPOLOGÍA FORESTAL

En su distribución natural esta especie ocupa un área muy restringida, de características ambientales en general homogéneas. Tiende a formar bosques puros, aunque comparte el hábitat con otras especies de temperamento similar, destacándose la presencia de *N. glauca*. Aunque no hay informes sobre su contribución en términos de área basal, Deus y Bravo (1984) indican que la densidad del rodal influye significativamente en este aspecto. En su estudio, encontraron una amplia variación en un mismo sector, que osciló entre 380 árboles por hectárea y 9,8 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> de área basal, hasta 1.420 árboles ha<sup>-1</sup> y 32,8 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>. A pesar de su reducida superficie, en consideración a su estado de conservación y a su importancia ecológica, se le clasifica en un solo Tipo Forestal, el Roble-Hualo, en el subtipo Bosquetes de ruil (Donoso 1993). El Tipo Forestal Roble-Hualo es descrito como Bosque Caducifolio Maulino (Gajardo 1983).

Si bien es cierto que la especie se desarrolla naturalmente en sitios de características muy particulares y en

una distribución discontinua, los rodales se estructuran en comunidades o subasociaciones definidas y su variación se relaciona más bien con la posición en el área interfluvial descrita anteriormente. Para la distribución al norte del río Maule se ha descrito la subasociación *Nothofagetum alessandrii boldetosum*, de condiciones cálidas, mientras que hacia el sur del mismo río es la *Nothofagetum alessandrii pernettyetosum*, de características más húmedas (San Martín *et al.* 1984).

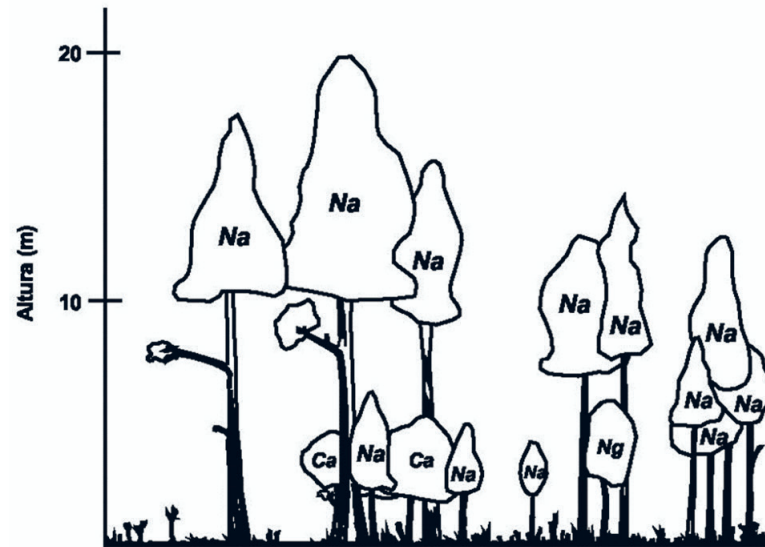
La vegetación natural presente en los bosquetes de ruil tiene características mesofíticas, higrófilas y/o xerofíticas. Muchas de estas especies participan en la estructura de estos bosques superando el centenar (San Martín y Ramírez 1986) y en su disposición vertical se organizan en estratos definidos propios de un bosque semiconservado y/o conservado. La composición y estructura de un rodal típico de *N. alessandrii* se puede apreciar en la figura 4.

Otras especies que comparten el espacio de *N. glauca* y *N. alessandrii* son *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. (roble) y *Nothofagus leonii* Espinosa (hualo), aunque en forma marginal. Esta última especie está presente en el ecotono de hualo y roble y es descrita como un híbrido (Donoso y Landrum 1976).

#### DIFERENCIACIÓN GENECOLÓGICA. VARIACIÓN CLINAL O ECOTÍPICA

Las condiciones ambientales donde ruil se distribuye naturalmente son relativamente homogéneas, existiendo poca variación en la precipitación y temperatura media anual (Santibáñez y Uribe 1993). No obstante, dependiendo de la posición que tengan los bosquetes en la ladera y de la influencia de las neblinas, condicionadas por la cercanía al mar, es posible encontrar condiciones microclimáticas diferentes. En este contexto, no sería esperable encontrar diferenciaciones ecotípicas o clinales asociadas a la variación del hábitat. Sin embargo, existe alguna evidencia de que la procedencia más austral podría ser un ecotipo diferente (Santelices *et al.* 2009).

Santelices *et al.* (2009) analizaron y caracterizaron atributos cualitativos y cuantitativos del material forestal de cinco procedencias representativas de su distribución. Los resultados reportados por estos autores indican que el tamaño de las semillas es homogéneo y que solo se observan diferencias significativas en la longitud de las dímeras y en el ancho de las trímeras. El peso de 1.000 semillas y la capacidad germinativa varió significativamente entre las procedencias. Después de una temporada de cultivo en vivero, el desarrollo de las plantas fue homogéneo y no hubo diferencias en el diámetro de cuello de la raíz, en la altura y el índice de esbeltez de las plantas. Si bien Santelices *et al.* (2009) señalan que la mayoría de las procedencias estudiadas no se diferenciarían en poblaciones genéticamente diferentes, la procedencia más meridional podría diferenciarse del resto. En efecto, sus semillas tienden a ser más pesadas y de mayor tamaño, pero con una capaci-



**Figura 4.** Composición y estructura de un rodal característico de *Nothofagus alessandrii* (Na= *N. alessandrii*, Ng= *Nothofagus glauca*, Ca= *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser) [Modificado de (Deus y Bravo 1984)].

Composition and structure of a characteristic stand of *Nothofagus alessandrii* (Na = *N. alessandrii*, Ng = *Nothofagus glauca*, Ca = *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser) [Modified from (Deus y Bravo 1984)].

dad germinativa significativamente inferior al de las otras procedencias.

En cuanto a la ciclicidad en la producción de semillas, *N. alessandrii* tiene un comportamiento similar al de otras especies del mismo género (Donoso *et al.* 2013), siendo considerada una especie vecera. No obstante, no se conocen aún los ciclos de semillación.

En un estudio sobre la producción de semillas de *Nothofagus alpina* (Poepp. & Endl.) Oerst., en Argentina en un área comparable con la de *N. alessandrii*, se encontraron diferencias importantes en el peso de las semillas en función de su origen y los años de colecta. En aquellos años de mayor producción las semillas fueron más grandes y pesadas. Además, se observó una variación latitudinal del tipo clinal, encontrando semillas más pesadas en la zona norte de distribución (Marchelli y Gallo 1999). En consecuencia, para el caso de *N. alessandrii* deberían profundizarse este tipo de estudios y analizar los parámetros de las semillas en una escala temporal mayor.

#### VARIACIÓN EN CRECIMIENTO EN *Nothofagus alessandrii*

La reducida variación de las condiciones ambientales en donde se distribuye naturalmente *N. alessandrii* no permitiría diferenciar zonas de crecimiento. Sin embargo, hay estudios que muestran resultados disímiles (Deus y Bravo 1984, Donoso 1975, San Martín *et al.* 1991, Santelices y Riquelme 2007). Estas diferencias podrían deberse, entre otros factores, a la densidad de las masas boscosas o a condiciones particulares de micrositio. Se ha observado que

los ejemplares más esbeltos, tanto en altura como en rectitud del fuste, crecen en laderas con elevadas pendientes próximas al fondo de las quebradas. Así mismo, la densidad de individuos es mucho menor y prácticamente con ausencia de rebrotes basales. Esta situación es opuesta a la encontrada en los niveles superiores y sitios más elevados dado que el acceso y frecuencia de entresaca es mayor (San Martín *et al.* 2013).

Deus y Bravo (1984), realizaron un ensayo de raleo en un rodal de 60 a 70 años. Después de ocho años, observaron que el mayor incremento en área basal se obtuvo con una densidad de 460 árboles ha<sup>-1</sup>; de 16,3 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> iniciales aumentó a 22,3 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>, siendo la extracción inicial del raleo de un 21 %. Por el contrario, el menor incremento se obtuvo al extraer un 25 % del área basal en una densidad de 485 árboles ha<sup>-1</sup>, (después de 8 años, el incremento anual periódico fue de 0,66 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>). En resumen, de acuerdo con Deus y Bravo (1984), un bosque de *N. alessandrii* de entre 60 y 70 años de edad aún puede responder al raleo. Sin embargo, el incremento anual en el área basal y en el volumen no es muy significativo, oscilando entre 0,54 - 0,75 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y 8,4 - 11,4 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

Santelices y Riquelme (2007) desarrollaron un modelo de crecimiento diametral que entrega un incremento diametral anual de 4,3 mm. Este valor es bajo respecto de los 6,6 mm observados macroscópicamente por estos autores. La procedencia de este estudio (Coipué), podría considerarse como menos favorable para el crecimiento de *N. alessandrii*. Por otra parte, Donoso (1975) observó en otra procedencia (Empedrado) un crecimiento mucho mayor al antes señalado; un rodal de monte bajo tuvo un diámetro

de 25 cm a los nueve años. En otro estudio se registró un incremento medio anual de casi 9 mm en diámetro a los 25 años (San Martín *et al.* 1991). Las diferencias registradas en el crecimiento diametral podrían ser un indicador de que existen rodales que, a pesar de tener la capacidad de regenerarse, no tendrían el vigor de un material más joven.

En términos de crecimiento en vivero existe variada y suficiente información para asegurar que es posible producir plantas en una temporada de una calidad funcional aceptable para su establecimiento en campo (San Martín *et al.* 2013, Santelices *et al.* 2011a, Santelices *et al.* 2011b). Por lo general, se producen plantas con un valor superior a los 3 mm para el diámetro de cuello de la raíz y este es uno de los atributos morfológicos más importantes para predecir el desarrollo posterior de las plantas en el campo. El índice de esbeltez es otro atributo de calidad y para ruil varía entre siete y nueve, rango considerado como aceptable para especies de climas Mediterráneos (Villar-Salvador 2003).

En cuanto al crecimiento de plantaciones de *N. alessandrii*, las experiencias publicadas son escasas. Santelices *et al.* (2012b), señalan que es fundamental contar con protección contra la insolación directa para asegurar el establecimiento. Después de tres años, observaron que hay diferencias significativas en la supervivencia por efecto de la protección, registrándose una mortalidad completa en aquellas plantas bajo plena luminosidad. Sin embargo, no observaron diferencias significativas en el crecimiento en altura ni en el diametral, como consecuencia de la protección con sombra lateral. Sí encontraron diferencias significativas en el contenido de carbohidratos y biomasa de las plantas por efecto de la variación del nivel de sombra. Aunque inicialmente los atributos morfométricos foliares fueron similares, después del tercer año de crecimiento se observaron diferencias significativas, lo que muestra la capacidad de adaptación de las plantas. En general, a medida que aumenta el gradiente de sombra, disminuye el contenido de carbohidratos y biomasa de las plantas y las hojas tienden a tener mayor superficie. Como consecuencia del tipo de control de malezas, estos autores no observaron diferencias estadísticas en ninguna de las variables estudiadas. Preliminarmente, se puede concluir que es posible establecer plantaciones de *N. alessandrii* en condiciones climáticas diferentes a las de su distribución natural, aunque con una baja tasa de supervivencia, siendo fundamental proteger las plantas con sombra lateral (Santelices *et al.* 2012b).

Por su parte, Acevedo *et al.* (2020) señalan que la fertilización en vivero con nitrógeno de cero a 200 mg N L<sup>-1</sup> proporciona niveles suficientes de este macroelemento, lo que resulta en un aumento de la altura de las plantas, el diámetro del cuello de la raíz, la biomasa aérea y las concentraciones totales de N y fósforo de los brinzales en campo. Además, señalan que la cobertura artificial mediante la utilización de malla de protección aumenta significativamente la supervivencia, lo que concuerda con Santelices *et al.* (2012b), y mejora el crecimiento en altura durante

la primera temporada en campo. Por otra parte, establecer plantas con un mayor volumen radical no afecta los atributos morfológicos y supervivencia de ruil en campo.

En otro ensayo de plantación Quiroz *et al.* (2021) concluyen que el volumen radical de los brinzales y la frecuencia de riego no afectan significativamente el desarrollo de la plantación, y que regar con grandes cantidades de agua a baja frecuencia es ineficiente. Quiroz *et al.* (2021), al igual que Santelices *et al.* (2012b) y Acevedo *et al.* (2020), concluyen que el uso de protectores mejora la supervivencia y el crecimiento en altura, en relación con los árboles expuestos a plena luminosidad. No obstante, la supervivencia de aquellos brinzales con protección lateral se redujo drásticamente cuando las plantas sobrepasaron la altura del protector de 1 m.

De acuerdo con lo anterior, es evidente que *N. alessandrii* sigue una estrategia de regeneración por claros (Donoso 1993), es decir, necesita protección contra la radiación solar directa para asegurar el establecimiento del repoblado; en el caso de plantaciones, el uso de protectores debe ser considerado para asegurar una alta sobrevivencia, siendo una alternativa la protección lateral con malla de plástico.

En cuanto a la relación de *N. alessandrii* con microorganismos y sus potenciales efectos en el crecimiento, existe evidencia de una alta riqueza de hongos ectomicorrícicos asociados al ruil (Riquelme 2010), lo que permite hipotetizar que esta especie es altamente dependiente de estos hongos en relación con su desempeño biológico. Dicho todo esto, se ha evaluado la micorrización de *N. alessandrii* en vivero con el objetivo de producir una planta de calidad funcional para su establecimiento en campo. Siguiendo los estándares ya mencionados para su propagación y al momento en que las plantas alcanzaron 5 cm de longitud de tallo, es decir, cuando se estima que comenzó el desarrollo de raíces secundarias, las plantas fueron inoculadas con distintas fuentes de ectomicorriza en tres temporadas (Cabrera *et al.* 2023). En las tres oportunidades y a pesar de que las raíces se veían sanas, activas y con alta presencia de pelos radicales, no hubo micorrización (se utilizaron como fuente de inóculo basidiomas y micelio de diferentes especies). Entonces, es necesario seguir investigando sobre las especies de hongos específicos asociados a ruil, de forma tal de generar inóculos que efectivamente lo micorricen y se puedan evaluar los potenciales efectos positivos de esta simbiosis.

En otro estudio, Torres-Díaz *et al.* (2021b) estudiaron la inoculación de un consorcio de hongos endófitos de raíces aisladas de una planta antártica sobre el desempeño ecofisiológico de ruil en invernadero y en campo, donde concluyeron que la inoculación con endófitos de raíces produjo aumentos significativos en las tasas de fotosíntesis de *N. alessandrii*, en la eficiencia en el uso del agua y en el crecimiento acumulativo. La supervivencia de las plántulas inoculadas fue significativamente mayor que en aquellas no inoculadas. Además, mediante modelamiento



de nichos, sugieren que los hongos endófitos radiculares antárticos podrían mejorar la tolerancia a la sequía de *N. alessandrii*, sin afectar el microbioma rizosférico de las plantas. Esto podría ser útil para mitigar los impactos negativos de las condiciones climáticas futuras esperadas como consecuencia del cambio climático.

#### VARIACIÓN GENÉTICA DETECTADA MEDIANTE MARCADORES ISOENZIMÁTICOS Y MOLECULARES

El conocimiento de la diversidad genética es hoy en día un elemento básico para considerar en los programas de conservación. El conocimiento de la distribución de la variación genética es considerado una herramienta para la conservación del patrimonio genético, en especial en aquellas especies amenazadas, como es el caso de *N. alessandrii*. No obstante, los reportes sobre estudios genéticos para *N. alessandrii* son escasos, ciñéndose al empleo de diversas técnicas, con resultados variables y no concluyentes (Martín *et al.* 2010, Pineda 1998, Torres-Díaz *et al.* 2007).

El sistema de compatibilidad reproductiva del ruil no es bien conocido, aunque se puede asumir que sea parecido al de sus parientes congénéricos más cercanos (*i.e.* polinización por viento, incompatibilidad para autofertilización y fecundación predominantemente cruzada). Se sabe que las especies con rangos de distribución estrechos como *N. alessandrii* poseen bajos niveles de diversidad genética, puesto que han estado asociados a poblaciones pequeñas y discontinuas, sujetas a efecto fundador, con altos niveles de deriva génica y endogamia, y bajos niveles de flujo génico. Sin embargo, se ha demostrado que algunas especies endémicas, con un rango de distribución restringido, pueden llegar a tener niveles de diversidad moderados a altos (Premoli *et al.* 2001).

El primer reporte sobre la diversidad genética de *N. alessandrii* fue realizado mediante electroforesis horizontal, evaluando tinciones obtenidas de la isoenzima peroxidasa, que es altamente polimórfica y que, además, reveló gran nitidez (Pineda 1998). Los principales resultados de este estudio muestran que *N. alessandrii* tiene en promedio entre dos a cuatro alelos por *locus*; que su diversidad no sería inferior a la de *Nothofagus nervosa*; que no cumple con la Ley de Hardy-Weimberg, detectándose escasez de heterocigotos; y que la procedencia más meridional, es decir la de la Reserva Nacional Los Ruiles, sería una población diferente a aquellas localizadas en Empedrado y Curepto.

En otro estudio, que tuvo por objeto estimar la diversidad y estructura genética, y el flujo de genes de diferentes procedencias de *N. alessandrii*, utilizando aloenzimas, se observaron altos niveles de diversidad genética (Torres-Díaz *et al.* 2007). Los niveles más altos de diversidad genética (observada y heterocigocidad esperada) fueron encontrados en aquellos fragmentos que no están protegidos por el Estado de Chile. Además, el coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) fue positivo en la procedencia de la Re-

serva Nacional Los Ruiles (unidad incorporada el Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Estado), mostrando una deficiencia significativa de los heterocigotos. Por otra parte, se observó la presencia de alelos raros en pequeños fragmentos en áreas no protegidas, lo que sugiere que pueden servir como reservorios de este tipo de alelos.

Actualmente se encuentra mucha información sobre la genómica y menos sobre la proteómica, lo que es más marcado en las especies del género *Nothofagus*. Para *N. alessandrii* Martín *et al.* (2010) desarrollaron un marcador molecular basado en las proteínas de reserva de la semilla, encontrando que, de las diferentes fracciones de proteínas de la semilla, las glutelinas mostraron los mejores resultados al presentar bandas más conspicuas; detectaron, además, 22 bandas, siendo 14 de ellas polimórficas. Sobre esta base, los autores sugieren que, aunque estos resultados son preliminares, este marcador podría ser útil para la evaluación de la diversidad genética en especies del género *Nothofagus*.

Si bien son escasos los estudios sobre la diversidad genética de *N. alessandrii* podrían diferenciarse dos poblaciones genéticamente diferentes: aquella más meridional localizada en la Reserva Nacional Los Ruiles (inserta en aquella procedencia denominada El Corte) y las otras más septentrionales (Pineda 1998). Sin embargo, hay algunos fragmentos de la procedencia conocida como La Bodega, de una superficie de 2,7 ha y distante a no más de 10 km de la Reserva Nacional Los Ruiles, que deberían estudiarse y definir a qué población pertenecen. La fragmentación del hábitat es la principal amenaza para la supervivencia de las especies debido al aislamiento genético, la depresión endogámica, la deriva genética y la pérdida de potencial de adaptación. Sin embargo, para algunas especies fuertemente amenazadas como por ejemplo *Gomortega keule* (Mol.) Baillon, se ha observado que en un paisaje altamente fragmentado los parches están genéticamente conectados gracias a la acción de insectos polinizadores, lo que permite a su vez disminuir los niveles de endogamia (Lander *et al.* 2011). En el caso de ruil, es necesario considerar que el principal vector de polinización es el viento. *N. alessandrii* tendría una diversidad genética, medida como heterocigocidad esperada ( $H_E$ ), entre 0,12 a 0,18 (Torres-Díaz *et al.* 2007), lo cual es considerado alto en comparación a otras especies del género *Nothofagus* (Premoli 1997) y sugiere que la especie no habría sido afectada por procesos de endogamia o deriva génica. Sin embargo, no se cumple con el principio de Hardy-Weimberg (Pineda 1998, Torres-Díaz *et al.* 2007), indicador de la escasez de heterocigotos y de un alto nivel de endogamia que tendría la especie. De los fragmentos que han sido analizados, tanto de aquellas procedencias ubicadas al norte del río Maule como al sur de este, tienen la misma cantidad de alelos por *locus* ( $A = 1,8$ ) (Torres-Díaz *et al.* 2007), lo que es similar a lo reportado para otras especies del género como *Nothofagus pumilio* (Poepp. *et* Endl.) Krasser, *Nothofagus betuloides* (Mirb.) Oerst., *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst., y *Nothofagus*

*nitida* (Phil.) Krasser (Premoli 1997, Premoli 2003). Siguiendo a Torres-Díaz *et al.* (2007), desde el punto de vista de la diferenciación genética, el nivel de diferenciación al interior de los fragmentos es alto ( $H_s = 0,18$ ), en tanto que la diferenciación genética entre fragmentos es baja ( $F_{ST} = 0,06$ ), lo que indicaría preliminarmente que los fragmentos de la especie corresponden a una sola población y no están diferenciados genéticamente. Sin embargo, ello se contradice con lo reportado por Pineda (1998), quien sugiere que existen al menos dos poblaciones genéticamente diferentes. Además, estos resultados no son consistentes con el bajo nivel de heterocigocidad encontrado, que indirectamente indicaría un alto grado de endogamia. De acuerdo con lo observado en terreno, la especie es capaz de autoclonarse a partir de la raíz, la cantidad de semilla producida tiene en general alrededor de un 10 % de viabilidad (Santelices *et al.* 2011b), y es común observar durante el cultivo en vivero algunas plantas enanas, todos indicadores de que habría presencia de endogamia en esos bosquetes remanentes. Es interesante el hecho de que la mayor diversidad genética se encontraría en aquellos fragmentos que no se encuentran bajo algún sistema de protección, sumando a ello la presencia de alelos raros, y que, por el contrario, solo una pequeña fracción de la diversidad genética de la especie se encontraría en aquellos bosquetes remanentes que están protegidos. En este contexto, surge como una necesidad la conservación de estos pequeños fragmentos remanentes que pueden albergar variantes alélicas raras y que, por tanto, servirían para la preservación de la variación genética de la especie (Torres-Díaz *et al.* 2007). Recientemente, Torres-Díaz *et al.* (2021a) aislaron y caracterizaron nuevos marcadores microsatélites polimórficos del genoma de *N. alessandrii* mediante secuenciación de alto rendimiento. Se sintetizaron un total de 30 pares de cebadores, con los cuales se amplificaron correctamente 18 microsatélites. Se evaluó el polimorfismo y la diversidad genética en 58 individuos de tres poblaciones de *N. alessandrii* (reserva nacional Los Ruiles-Chanco, reserva nacional Los Ruiles - Empedrado y, Fundo El Desprecio). Dieciséis de ellos eran polimórficos y el número de alelos en la muestra combinada osciló entre 2 y 14, con un número medio de alelos de 4,81. Los valores medios de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) son similares en todas las poblaciones estudiadas, sugiriendo diversidad genética dentro y entre las poblaciones estudiadas, pero también sugieren cautela considerando que el número de individuos muestreados fue de entre 18 a 20 por población. Además, se encontró un desequilibrio de ligamiento entre unos pocos pares de loci (cinco de 263 pruebas), lo que sugiere que la mayoría de los marcadores pueden considerarse independientes. Los autores sugieren que los marcadores de microsatélites desarrollados podrían contribuir al estudio de la diversidad y estructura genética dentro y entre poblaciones para desarrollar planes de manejo integrados basados en estudios de ecología molecular con el objetivo de promover la conservación de esta especie en peligro de extinción.

Se ha señalado que el ruil es el árbol más amenazado de Chile. Sin embargo, esta afirmación puede ser cuestionada al considerar ciertos antecedentes. Por ejemplo, la actual superficie ocupada por el ruil es de 314 hectáreas, con un promedio de entre 500 a 1.500 árboles por hectárea (Santelices y Riquelme 2007), lo que equivale a una población estimada de entre 157.000 a 471.000 árboles de ruil. En contraste, la población total de *G. keule* se estima en 498 árboles, distribuidos en un paisaje altamente fragmentado, con una matriz vegetacional dominada por bosques de especies alóctonas y autóctonas, así como sistemas agrícolas de supervivencia. La población más grande de *G. keule* se compone de tan solo 176 individuos (Lander *et al.* 2009), lo que sugiere que el tamaño efectivo de su población podría ser menor a los 450 árboles. Si bien es cierto que en este contexto *G. keule* sería la especie arbórea más amenazada de Chile, es una realidad que *N. alessandrii* debiera tener una alta prioridad de conservación y es urgente la elaboración de programas sobre bases científicas que aseguren la conservación del recurso genético de esta especie. La sustentabilidad de un ecosistema depende del mantenimiento de un flujo de genes diversos y sanos de los organismos que allí habitan, siendo los árboles las especies clave para mantener la biodiversidad de los bosques (Ipinza 2015). Una alternativa, además de la conservación *in situ* y *ex situ*, sería la utilización del método *circa situ*, es decir, la conservación en propiedades privadas de árboles aislados o en grupos que a través del flujo polínico sirvan de conectores con otros bosquetes.

En general, los resultados reportados son una contribución importante para considerar en los programas para la conservación de *N. alessandrii*, pero son solo una indicación preliminar de la real diversidad genética de la especie, debido al tipo de marcador molecular utilizado (isoenzimas y proteínas de reserva), y al bajo número de loci e individuos utilizados en las estimaciones de la diversidad genética. Por ello, y considerando además la condición de especie endémica y amenazada, se debería profundizar este tipo de estudios mediante el uso de técnicas más modernas, considerando muestrear un área mayor a la de los estudios ya reportados, y estimar el tamaño efectivo de la población. Teniendo un mayor conocimiento de la estructura genética de las diferentes poblaciones de *N. alessandrii*, se podrían diseñar programas de conservación específicos para la especie, considerando por ejemplo la restauración de los bosquetes degradados con material vegetal genéticamente compatible para así evitar los procesos de exogamia y, en consecuencia, la eventual pérdida de algunos alelos responsables de la adaptación de la especie a ese sitio en particular.

## CONSIDERACIONES FINALES

La información presentada muestra la variabilidad intra-específica en varios rasgos funcionales de *N. alessandrii*. Los hechos descritos previamente en relación con

su distribución (espacial, ecológica y en relación con tipología forestal) indican que *N. alessandrii* está sometido a condiciones climáticas relativamente uniformes, lo que debería manifestarse en una leve variabilidad fenotípica y genotípica; la variabilidad debe ser corroborada mediante estudios genéticos, siendo un desafío la elaboración de mapas de procedencias en donde se conjuguen variables genéticas y ecológicas. El estado actual del conocimiento permite iniciar una fase experimental, que debiera comparar los distintos genotipos y/o fenotipos en condiciones ambientales extremas. De esta forma se podrán seleccionar poblaciones que puedan hacer frente a este nuevo escenario de cambio climático global, dado que *N. alessandrii* es una especie poco adaptada a condiciones de estrés hídrico, y la supervivencia de sus bosques está en riesgo ante el aumento de la temperatura y de los periodos de sequía. Adicionalmente, una estrategia eco-amigable y efectiva para planes de restauración de bosques de ruil en peligro de extinción podría ser la inoculación de raíces de ruil con hongos endofitos antárticos, los cuales han mostrado mejorar el desempeño ecofisiológico y la sobrevivencia de plántulas tanto en invernadero como en campo (Torres-Díaz *et al.* 2021b).

En esta misma línea, otra variable a considerar para futuros estudios es el microbioma asociado a esta especie vegetal (Trivedi *et al.* 2020). Por ejemplo, las raíces de las plantas del género *Nothofagus* forman asociaciones simbióticas obligadas con una gran cantidad de especies de hongos del suelo, generando un órgano clave para la nutrición y tolerancia a estresores bióticos y abióticos. Este órgano conocido como ectomicorriza constituye una fuente de variación importante que también permitirá seleccionar individuos capaces de enfrentar de mejor forma con un futuro escenario de cambio climático (Santelices Moya *et al.* 2020). En consecuencia, es urgente el estudio próximo en situaciones experimentales que contemplen el microbioma de *N. alessandrii*, para así tener herramientas concretas que sirvan en los programas de conservación y restauración de bosques. Sin embargo, en el corto plazo, es fundamental garantizar la regeneración de todos los bosques de *N. alessandrii* a través de la repoblación artificial utilizando material de reproducción forestal proveniente de los mismos sitios. La repoblación con material genéticamente adecuado es esencial para mantener la diversidad genética de la especie y fomentar su adaptación a las condiciones locales. Además, es importante seguir excluyendo especies invasoras como *Pinus radita* D. Don y *Acacia dealbata* Link para preservar la integridad de los ecosistemas y asegurar el éxito de la regeneración de *N. alessandrii*.

#### CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

RS-M diseñó el trabajo, realizó la búsqueda de referencias bibliográficas y redactó un documento base de trabajo, AC-A, PS-F y PR-C contribuyeron complementando las

referencias bibliográficas y con la discusión e interpretación de información recogida. Los cuatro autores prepararon el manuscrito.

#### FINANCIAMIENTO

Este trabajo se realizó con el apoyo de la Vicerrectoría de Investigación y Posgrado y de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Católica del Maule.

#### REFERENCIAS

- Acevedo M, C Alvarez, E Cartes, RK Dumroese, M Gonzalez. 2020. Production and establishment techniques for the restoration of *Nothofagus alessandrii*, an endangered keystone species in a Mediterranean forest. *New Forests* 51:159-174. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-019-09724-x>
- Armesto J, J Martínez. 1978. Relations Between Vegetation Structure and Slope Aspect in the Mediterranean Region of Chile. *Journal of Ecology* 66(3):881-889. DOI: <https://doi.org/10.2307/2259301>
- Barstow M, C Echeverría, H Baldwin, MC Rivers. 2017. *Nothofagus alessandrii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T32033A2808995. Consultado mar. 2018. Disponible en <http://www.iucnredlist.org/details/32033/0>
- Cabrera-Ariza AM, P Silva-Flores, M González-Ortega, M Acevedo-Tapia, E Cartes-Rodríguez, G Palfner, P Ramos, RE Santelices-Moya. 2023. Early Effects of Mycorrhizal Fungal Inoculum and Fertilizer on Morphological and Physiological Variables of Nursery-Grown *Nothofagus alessandrii*. *Plants* 12(7):1521. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12071521>
- Deus R, R Bravo. 1984. Ensayo de raleo, regeneración y semillación en renovales de ruil. Primera Parte: Instalación, Inventario y Resultados Preliminares. Talca, Chile. CONAF, VII Región. 135 p.
- Di Castri F, E Hajek. 1976. Bioclimatología de Chile. Santiago, Chile. Imprenta-Editorial Universidad Católica de Chile. 129 p.
- DMC (Dirección Meteorológica de Chile, CL). 2021. Reporte Anual de la Evolución del Clima en Chile. Chile. Oficina de Cambio Climático de la Sección de Climatología de la Dirección Meteorológica de Chile. 46 p.
- Donoso C. 1975. Distribución ecológica de la especies de *Nothofagus* en la zona mesomórfica. Boletín Técnico 33. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile. 21 p.
- Donoso C. 1993. Bosques templados de Chile y Argentina. Variación, estructura y dinámica. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 484 p.
- Donoso C, L Landrum. 1976. *Nothofagus leonii*: hibridación e introgresión en poblaciones de *Nothofagus obliqua* y *Nothofagus glauca*. Boletín Técnico N° 36. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile. 29 p.
- Donoso P, C Donoso, P Marchelli, L Gallo, B Escobar. 2013. *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. Otros nombres científicos usados: *Nothofagus alpina*, *Nothofagus procera*. Raulí. Familia *Nothofagaceae*. In Donoso C ed. Las especies arbóreas de

- los bosques templados de Chile y Argentina: Autoecología. Valdivia, Chile. Marisa Cuneo Ediciones. p. 448-461.
- Echeverría C, D Coomes, J Salas, JM Rey-Benayas, A Lara, A Newton. 2006. Rapid deforestation and fragmentation of Chilean Temperate Forests. *Biological Conservation* 130(4):481-494. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.01.017>
- Espinosa M. 1928. Dos especies nuevas de *Nothofagus*. *Revista chilena de historia natural* 22:171-197.
- Gajardo R. 1983. Sistema básico de clasificación de la vegetación nativa chilena. Santiago, Chile. Universidad de Chile y Corporación Nacional Forestal (CONAF). 315 p.
- Ipinza R. 2015. El Papel de la Conservación Genética. In Gutiérrez B, R Ipinza, S Barros eds. Conservación de Recursos Genéticos Forestales, Principios y Prácticas. Concepción, Chile. Instituto Forestal. p. 11-16.
- Lander TA, SA Harris, DH Boshier. 2009. Flower and fruit production and insect pollination of the endangered Chilean tree, *Gomortega keule* in native forest, exotic pine plantation and agricultural environments. *Revista chilena de historia natural* 82(3):403-412. DOI: <http://doi.org/10.4067/S0716-078X2009000300007>
- Lander TA, DP Bebbler, CTL Choy, SA Harris, DH Boshier. 2011. The Circe Principle Explains How Resource-Rich Land Can Waylay Pollinators in Fragmented Landscapes. *Current Biology* 21(15):1302-1307. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.06.045>
- Marchelli P, L Gallo. 1999. Annual and geographic variation in seed traits of Argentinean populations of southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. *Forest Ecology and Management* 121(3):239-250. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00004-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00004-3)
- Martín MA, S Muñoz, F Muñoz, M Uribe, JR Molina, MA Herrera, LM Martín, JB Alvarez. 2010. Primeros resultados en el desarrollo de un marcador genético basado en las proteínas de reserva en dos especies del género *Nothofagus*. *Bosque* 31(3):252-257. DOI: <http://doi.org/10.4067/S0717-92002010000300010>
- Peralta M. 1976. Uso y clasificación de los suelos. Santiago, Chile. Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Agricultura. 340 p.
- Pineda G. 1998. Determinación de los patrones de variabilidad genética en poblaciones de raulí (*Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst.) y ruil (*Nothofagus alessandrii* Espinosa), por medio de electroforesis horizontal en geles de almidón. Tesis Memoria Ingeniero Forestal. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. 79 p.
- Premoli AC. 1997. Genetic variation in a geographically restricted and two widespread species of South American *Nothofagus*. *Journal of Biogeography* 24:883-892. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1997.00115.x>
- Premoli AC. 2003. Isozyme polymorphisms provide evidence of clinal variation with elevation in *Nothofagus pumilio*. *Journal of Heredity* 94(3):218-226. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/esg052>
- Premoli AC, CP Souto, TR Allnutt, AC Newton. 2001. Effects of population disjunction on isozyme variation in the widespread *Pilgerodendron uviferum*. *Heredity* 8:337-343. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00906.x>
- Quiroz IA, SE Espinoza, MA Yanez, CR Magni. 2021. The use of shelters improves growth and survival of the endangered *Nothofagus alessandrii* after 5 years in a Mediterranean drought-prone site. *Ecological Engineering* 164:106220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2021.106220>
- Riquelme A. 2010. Hongos micorrízicos asociados a bosques de ruil (*Nothofagus alessandrii* Esp.) en las Comunas de Chanco y Empedrado. Tesis Ingeniero forestal. Talca, Chile. Departamento de Ciencias Forestales, Universidad Católica del Maule. 83 p.
- Roberts R, C Díaz. 1959-1960. Los grandes grupos de suelos de Chile. *Agricultura Técnica* XIX-XX. INIA. p. 7-36.
- Rodríguez R, M Quezada. 2003. *Fagaceae*. In Marticorena C, R Rodríguez eds. Flora de Chile 2. Concepción, Chile. Universidad de Concepción. p. 64-76.
- San Martín J, C Ramírez. 1986. Los bosques de ruil de Chile Central. Sus especies vegetales y sus formas de vida. *Maule UC* 10:85-91.
- San Martín J, H Figueroa, C Ramírez. 1984. Fitosociología de los bosques de ruil (*Nothofagus alessandrii* Espinosa) en Chile central. *Revista chilena de historia natural* 57:171-200.
- San Martín J, V Mourgues, A Villa, C Carreño. 1991. Catastro actualizado de la distribución y estado de conservación de los bosques de ruil en la VII Región. Informe Proyecto Investigación y Desarrollo Forestal CHI/89/003. Talca, Chile. CONAF. 30 p.
- San Martín J, R Santelices, R Henríquez. 2013. *Nothofagus alessandrii* Espinosa, Ruil. Familia: *Nothofagaceae*. In Donoso C ed. Las Especies Arbóreas de los Bosques Templados de Chile y Argentina: Autoecología. Valdivia, Chile. Marisa Cuneo Ediciones. p. 391-401.
- Santelices R, M Riquelme. 2007. Antecedentes dasométricos de *Nothofagus alessandrii* de la procedencia Coipué. *Bosque* 28(3):281-287. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002007000300014>
- Santelices R, RM Navarro-Cerrillo, F Drake. 2009. Caracterización del material forestal de reproducción de cinco procedencias de *Nothofagus alessandrii* Espinosa una especie en peligro de extinción. *Interciencia* 34(2):113-119.
- Santelices R, RM Navarro-Cerrillo, F Drake. 2011a. Propagation and seedling cultivation of the endemic species *Nothofagus alessandrii* Espinosa in Central Chile. *Restoration Ecology* 19:177-185. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2009.00550.x>
- Santelices R, RM Navarro Cerrillo, F Drake, C Mena. 2011b. Efecto de la cobertura y de la fertilización en el desarrollo de plantas de *Nothofagus alessandrii* cultivadas en contenedor. *Bosque* 32(1):85-88. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002011000100010>
- Santelices R, F Drake, C Mena, R Ordenes, RM Navarro-Cerrillo. 2012a. Current and potential distribution areas for *Nothofagus alessandrii*, an endangered tree species from central Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 39(3):521-531. DOI: <http://doi.org/10.4067/S0718-16202012000300011>
- Santelices R, F Drake, RM Navarro-Cerrillo. 2012b. Establishment of a *Nothofagus alessandrii* plantation using different levels of shade and weed control methods in Talca province, central Chile. *Southern Forests* 74(1):71-76. DOI: <https://doi.org/10.2989/20702620.2012.686215>
- Santelices Moya R, R Vergara, A Cabrera Ariza, S Espinoza Meza, P Silva Flores. 2020. Variación intra-específica en *Nothofagus glauca* una especie endémica de los bosques mediterráneos de Chile. *Bosque* 41(3):221-231. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002020000300221>

- Santibáñez F, J Uribe. 1993. Atlas agroclimático de Chile, regiones VI, VII, VIII y IX. Santiago, Chile. Ediciones de la Universidad de Chile. 99 p.
- Torres-Díaz C, E Ruiz, F González, G Fuentes, LA Cavieres. 2007. Genetic diversity in *Nothofagus alessandrii* (Fagaceae), an endangered endemic tree species of the coastal maulino forest of central Chile. *Annals of Botany* 100(1):75-82. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm073>
- Torres-Díaz C, MA Valladares, IS Acuña-Rodríguez, GI Ballesteros, A Barrera, C Atala, MA Molina-Montenegro. 2021a. Symbiotic Interaction Enhances the Recovery of Endangered Tree Species in the Fragmented Maulino Forest. *Frontiers Plant Science*. 12:663017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.663017>
- Torres-Díaz C, MA Valladares, MA Molina-Montenegro, F Mora-Poblete. 2021b. Isolation and characterization of microsatellites for the endangered endemic tree *Nothofagus alessandrii* (Nothofagaceae). *Molecular Biology Reports* 48:3877-3883. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06291-3>
- Trivedi P, JE Leach, SG Tringe, T Sa, BK Singh. 2020. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology* 18:607-621. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Valencia D, J Saavedra, J Brull, R Santelices. 2018. Severidad del daño causado por los incendios forestales en los bosques remanentes de *Nothofagus alessandrii* Espinosa en la región del Maule de Chile. *Gayana botánica* 75(1):531-534. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-66432018000100531>
- Villar-Salvador P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. In Rey-Benayas JM, T Espigares-Pinilla, JM Nicolau-Ibarra eds. Restauración de Ecosistemas Mediterráneos. Alcalá de Henares, España. Universidad de Alcalá. p. 65-86.

Recibido: 10.05.22  
Aceptado: 27.03.23

