

UCH-FC  
Doc-EBE  
S454  
C1

**Gradiente de riqueza de especies leñosas a lo largo de Chile:  
efectos de los cambios climáticos del último ciclo glacial**

**Tesis**

**Entregada A La**

**Universidad De Chile**

**En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos**

**Para Optar Al Grado De**



**Doctor en Ciencias con Mención en Ecología Y Biología Evolutiva  
Facultad De Ciencias**

**Por  
Ricardo Segovia Cortés**

**Septiembre, 2013**

**Directores de Tesis Drs:  
Luis Felipe Hinojosa  
María Fernanda Pérez**

**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**INFORME DE APROBACION**  
**TESIS DE DOCTORADO**



Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato:

Ricardo Segovia Cortés

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Biología Molecular Celular y Neurociencias, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 26 de Septiembre de 2013

Director de Tesis:

Dr. Luis Felipe Hinojosa .....

Co-Director de Tesis:

Dra. María Fernanda Pérez .....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Elie Poulin .....

Dra. Carolina Villagrán .....

Dr. Juan Armesto .....

Dr. Pablo Marquet .....

A collection of handwritten signatures in blue and black ink. The blue ink signatures are for Luis Felipe Hinojosa, María Fernanda Pérez, Elie Poulin, and Carolina Villagrán. The black ink signature is for Juan Armesto. There is also a large, stylized signature in black ink at the bottom, likely for Pablo Marquet.



***La Natura es un templo donde vivos pilares  
dejan salir a veces sus confusas palabras;  
por allí pasa el hombre entre bosques de símbolos  
que lo observan atentos con familiar mirada...***

Charles Baudelaire  
Correspondencias  
De Las Flores del Mal (1857)

## RESEÑA



Soy Ricardo Andrés Segovia Cortés. Nací el 10 de abril de 1983 en Santiago de Chile. Estudié biología en la Universidad de Concepción entre los años 2002 y 2006. Ahí me encontré por primera vez con la investigación científica. Pasé por los laboratorios de Dr. Jorge Artigas, Dr. Ernesto Gianoli y Dr. Pedro Victoriano.

El año 2007 ingresé al programa de Magíster en Ciencias mención Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de Chile, donde me integré al equipo de investigación liderado por el Dr. Felipe Hinojosa y la Dra. Fernanda Pérez. En este espacio humano encontré libertad, respeto por las ideas y un respaldo realmente fraterno que, a pesar de las dificultades que implican los primeros pasos en el sistema científico, me permitieron alcanzar una relación de amor con la ciencia y su modo de vida. El año 2009 ingresé al doctorado del mismo programa y seguí formando parte del mismo grupo de investigadores.

En este paso por la Universidad de Chile, también conocí a la Dra. Carolina Villagrán, quien ha ejercido una gran influencia sobre mi modo de entender la historia natural de los organismos vivos y la ciencia como actividad humana fundamental.

Ahora pretendo seguir creciendo como investigador científico y continuar buscando explicaciones para los patrones biogeográficos del sur de Sudamérica.

## AGRADECIMIENTOS

**A todos quienes conforman mi mundo,**

A mis padres y hermanos, a mi compañera, a mis amigos y a mis compañeros de ideas, a mis maestros y a mis colegas.

Un especial agradecimiento a mis tutores, Felipe y Fernanda, por el respaldo y la confianza, y a los integrantes de mi comisión evaluadora por la comprensión.

A las instituciones que han prestado el respaldo económico: Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) (P05-002 - PFB 23); CONICYT, a través de los proyectos FONDECYT 1090339, 1120215 y de mi beca doctoral; y a MINEDUC-MECESUP.

**ÍNDICE DE MATERIAS**

<b>Lista de Tablas</b>	v
<b>Lista de Figuras</b>	vi
<b>Resumen</b>	1
<b>Abstract</b>	3
<b>Introducción General</b>	4
<b>Capítulo 1</b>	26
"Comparative phylogeography of two key species from southern South American forests"	
<b>Capítulo 2</b>	59
"Biogeographic anomalies in the species richness of Chilean forests: incorporating evolution into a climatic-historic scenario"	
<b>Conclusión</b>	93
<b>Literatura Citada</b>	101

## LISTA DE TABLAS

**Capítulo 1**

**Tabla 1** Ubicación geográfica, altitud (alt), tamaño muestral (n), y medidas de la diversidad genética de 13 poblaciones de *Cryptocarya alba* y 17 poblaciones de *Myrceugenia planipes* en Chile. Los índices de ADN cloroplastidial son: K = número de haplotipos;  $H$  = diversidad haplotípica; y  $\pi$  = diversidad nucleotídica.

**Tabla 2** Diversidad media dentro de las poblaciones y diversidad total en tres grupos geográficos por especies (*Cryptocarya alba*: Norte, Sur-Andes, y Sur-Costa; *Myrceugenia planipes*: Sur, Norte-Andes, Norte-Costa). K = número de haplotipos;  $H$  = diversidad haplotípica; y  $\pi$  = diversidad nucleotídica. La Desviación Estándar es indicada entre paréntesis.

## LISTA DE FIGURAS

### Introducción General

**Figura 1** Concentración de especies de la flora vascular de bosques (árboles, epífitas y enredaderas) en la interfase climática Mediterráneo-Templada, de acuerdo con Villagrán 1995.

**Figura 2** Diagrama que representa las respuestas de los taxa frente a cambios climáticos glacial-interglaciales (tipos de Refugio), en términos de distribución y abundancia. El color azul (y azul pálido) representa la distribución glacial y el rojo la interglacial. a) Refugio clásico (Macrorefugio), b) Refugio Críptico (baja abundancia, no necesariamente continua), c) Múltiples Refugios, d) Refugio Interglacial, e) Refugios separados en poblaciones disyuntas, desde las cuales expande durante el interglacial, también representa un modelo de fragmentación de rango. Modificado de Provan & Bennet (2008).

### Capítulo 1

**Figura 1** Distribución actual de *Cryptocarya alba* y *Myrceugenia planipes*.

**Figura 2** Distribución geográfica y relaciones genealógicas de siete haplotipos de ADN cloroplastidial encontradas en *Cryptocarya alba* y cuatro haplotipos encontrados en *Myrceugenia planipes*. Los gráficos de torta reflejan la frecuencia de ocurrencia de cada haplotipo en cada localidad. El color de los haplotipos corresponde a aquellos mostrados en la red. El tamaño de los



gráficos de torta es proporcional al número de individuos analizados en cada población. La red construida con criterio de parsimonia liga los haplotipos de cada especie. El tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo. Cada línea representa un paso mutacional.

**Figura 3** Variación latitudinal en el número de haplotipos ( $K$ ), diversidad haplotípica ( $H$ ) y diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) para poblaciones de *Cryptocarya alba* y *Myrceugenia planipes*. Regresiones lineales y no-lineales fueron ajustadas.

**Figura 4** Paisaje genético de *Cryptocarya alba* y *Myrceugenia planipes*. El paisaje es estandarizado con grillas de celdas de  $50 \times 50$ , Comprendiendo el rango geográfico de todas las localidades colectadas. Los picos y depresiones de la superficie indican la magnitud de las distancias genéticas.

## Capítulo 2

**Figura 1** a) Patrón de la riqueza de especies de árboles en grillas de  $10 \times 10$  km.  
b) Distribución espacial de la edad media de las familias.

**Figura 2** Patrón de riqueza de especies de árboles agrupadas de acuerdo a la afiliación biogeográfica del género en grillas de  $50 \times 50$  km: a) Endemico. b) Austral (Austral-Antarctico y Australasiano). c) Tropical (Neotropical y Pantropical).

**Figura 3** Coeficientes de regresión estandarizada desde regresiones geográficamente pesadas (GWR) de: a) riqueza de árboles y Temperatura Anual; b) riqueza de árboles y Precipitación Anual; c) Edad promedio de las familias y precipitación anual.

**Figura 4** Árbol de regresiones para riqueza de especies de árboles. El porcentaje de variación explicada por cada *split* es provisto en cada nodo, pero son mostrados sólo los *splits* que dan cuenta de >2% de la varianza en la riqueza. También se informa la *variance improvements* de cada predictor sumado sobre el árbol entero, y los valores de importancia de la variable basados en competencia por *splits*. El error relativo refleja la proporción de casos (celdas) mal asignados de un "brazo" terminal.

**Figura 5** Árbol de regresión para la edad promedio de las Angiospermas, calculado asignando a cada especie la edad de su familia. Presentación igual que en Figura 4.

## RESUMEN

Los bosques del sur de Sudamérica presentan interesantes anomalías biogeográficas, incluyendo su gradiente latitudinal de riqueza de especies, con concentración de especies leñosas en una estrecha banda latitudinal, y un abrupto empobrecimiento de la riqueza tanto hacia el sur como hacia el norte de esta región. En general, los gradientes de riqueza de especies han sido asociados con temperatura y disponibilidad de agua. Sin embargo, procesos históricos y evolutivos también podrían haber contribuido a modelar estos patrones actuales de diversidad, creando "anomalías" entre ambientes con gradientes ecológicos comparables. En esta tesis nos enfocamos, por una parte, en las influencias potenciales de las glaciaciones del Pleistoceno sobre los rangos de distribución de dos especies representativas de dos tipos forestales de los bosques del cono sur de Sudamérica, *Myrceugenia planipes* y *Cryptocarya alba*. Por otra parte, evaluamos cuantitativamente la influencia de relativa de variables ambientales y de una variable histórica (extensión del área glaciada durante el Último Máximo Glacial) sobre el gradiente de diversidad de especies forestales en Chile. Para esto, realizamos estudios de la distribución geográfica de la variabilidad genética y análisis de regresiones.

Los resultados de la filogeografía de *M. planipes* muestran evidencias de contracción de rango de distribución, asociado probablemente con el impacto de la última glaciación, y una subsecuente expansión de rango, asociado al incremento de la temperatura y retroceso de los hielos durante el tardiglacial. Por su parte, la filogeografía de *C. alba* muestra evidencia de que esta especie habría sufrido procesos de fragmentación de su rango distribucional,

probablemente asociado al incremento de la temperatura e intensificación de la aridez en Chile Central durante el Holoceno Temprano. Los árboles de regresión permitieron identificar a la Temperatura Anual y la Precipitación Anual como las variables que más probablemente determinan el actual gradiente de riqueza de especies en los bosques del sur de Chile. La cobertura de hielo durante el Último Máximo Glacial también presentó una importancia relativamente alta, pero presenta colinealidad con las variables predictoras contemporáneas. De este modo, la influencia de las glaciaciones sobre el gradiente de riqueza de especies no pudo ser determinada, pero tampoco puede ser descartada.

### ABSTRACT

Southern South American forests show interesting biogeographic anomalies, including their latitudinal species richness gradient, with a concentration of woody species in a narrow latitudinal band and an abrupt pauperization toward both southern and northern of this region. In general, species richness gradients are closely associated with temperature and water availability. However, historical and evolutionary processes have also contributed to shape current diversity patterns, creating diversity "anomalies" among ecologically comparable environments. In this thesis we focused on the potential influences of Pleistocene glaciations on the distributional range of two key species, *Myrceugenia planipes* and *Cryptocarya alba*, and we quantified the climatic and historical correlates of the tree diversity gradient in Chile. For this, we carry out phylogeographic studies of genetic variability and regression analyses.

The results of the phylogeography of *Myrceugenia planipes* shows a contraction of its range associated with the last glaciation, from where it would have subsequently expanded its range during the Holocene. In turn, *Cryptocarya alba* underwent a process of fragmentation of its range, probably associated with the increase of temperature and the intensification of aridity in Central Chile during the early Holocene. Regression tree analysis identified annual precipitation and annual temperature as the primary probable drivers of this gradient. Ice cover during the Last Glacial Maximum was also identified as an important variable, but the contemporary and historical predictors are strongly collinear. The influence of recent Pleistocene glaciation remains

## INTRODUCCIÓN GENERAL

## Patrones generales de riqueza de especies y relevancia de refugios pleistocénicos de la biota

El gradiente latitudinal de riqueza de especies, con disminución gradual desde el ecuador hacia los polos, ha sido por mucho tiempo un foco de interés de investigación en ecología y biogeografía (Currie 1991, Oberdorff 1995, Roy *et al.* 1998). Se ha demostrado que este gradiente está altamente correlacionado con la variación geográfica de variables climáticas contemporáneas, como temperatura y precipitación anual (Wright *et al.* 1993; Francis & Currie 2003; Hawkins & Porter 2003; Hawkins *et al.* 2003). Los mecanismos propuestos como explicación para estas correlaciones pueden ser clasificados en tres grupos principales: hipótesis neutrales (Hubbell 2001), hipótesis energéticas (Allen *et al.* 2002) e hipótesis históricas (Wiens & Donoghue 2004).

Dada las altas correlaciones entre variables climáticas contemporáneas y el gradiente de riqueza de especies de un alto número de taxa, algunos autores sostienen que el patrón de distribución de la riqueza de especies puede ser comprendido sin recurrir a procesos históricos o evolutivos (Francis & Currie 2003). Sin embargo, esta posición ha sido criticada sobre la base de la colinearidad de procesos históricos y factores ambientales que determinarían el actual gradiente latitudinal de riqueza de especies (Qian & Ricklefs 2004; Hawkins *et al.* 2011). Por otra parte, análisis comparativos de patrones de diversidad local son consistentes con la idea de que procesos evolutivos relevantes a escalas regionales (relacionados con

tasas de especiación y extinción), como asimismo acontecimientos históricos (por ejemplo, cambios climáticos que afectan los rangos de distribución de plantas y animales), también podrían incidir sobre la generación y conservación de los patrones actuales de riqueza de especies (Latham and Ricklefs, 1993; McGlone, 1996; Qian and Ricklefs, 1999, 2000). Tales eventos podrían explicar aparentes "anomalías" en la distribución de la riqueza en gradientes ambientales ecológicamente comparables (Ricklefs *et al.* 1999).

Tanto a escala global como regional, se han propuesto numerosas hipótesis históricas que han sido usadas para explicar los gradientes de riqueza de especies (Graham *et al.* 2009, Wiens *et al.* 2011, Lessard *et al.* 2012; Condamine *et al.* 2012). Por ejemplo, los potenciales refugios de la biota, definidos como la persistencia en áreas climáticamente estables por largo tiempo, han sido considerados importantes en la generación y conservación de los actuales gradientes de riqueza de especies (Prance, 1978). El rol de los cambios histórico-biogeográficos asociados a las glaciaciones del Plesitoceno, sobre los gradientes de riqueza, ha sido evaluado con más frecuencia en el hemisferio norte (Hastings, 2003; Hawkins *et al.*, 2003; Hawkins, 2004; Rodriguez, *et al.*, 2006; Svenning *et al.*, 2011). Por ejemplo, en zonas templadas de Europa se ha documentado que los modelos que dan cuenta del gradiente de riqueza de especies arbóreas y su relación con el clima, se perfeccionan al incorporar, como legado histórico, el tiempo de retroceso de los mantos de hielo glacial (Montoya *et al.*, 2007). Un comportamiento similar tienen los patrones latitudinales de diversidad de



taxa de aves y mamíferos en Norteamérica (Hawkins and Porter, 2003).

En el Hemisferio Sur, aunque sobre la base de menos estudios, los patrones regionales de distribución de la riqueza de especies difieren marcadamente de los encontrados en el Hemisferio Norte. Un ejemplo es la evaluación del gradiente de riqueza de especies de aves en Australia, donde se concluye que cambios biogeográficos y climáticos pasados, en este caso, asociados a procesos de desertificación, habrían influido en la configuración actual del patrón de diversidad continental (Hawkins *et al.* 2005). Aún no se ha propuesto una hipótesis general que dé cuenta de las características biogeográficas distintivas del Hemisferio Sur, sino que las diferencias han sido consideradas "anomalías" regionales y usualmente han sido atribuidas a cambios climáticos propios de cada región (e.g., Markgraf *et al.* 1995) y a la peculiar historia filogenética de su biota (McGlone *et al.* 2010; Hinojosa *et al.* 2011).

Los bosques del sur de Chile y Argentina se extienden entre los 30°S y 55°S, actualmente aislados de otras formaciones forestales del continente por más de 1000 km de formaciones áridas y semiáridas (Armesto *et al.*, 1996; Villagrán, 1993; 1995, Villagrán & Hinojosa, 1997). Estos bosques presentan un escenario biogeográfico para el estudio y desarrollo de modelos de diversidad aplicables al hemisferio sur. Esta región forestal del cono sur exhibe un gradiente de incremento de las precipitaciones y disminución de la temperatura con la latitud (Arroyo *et al.* 1993; Armesto *et al.*, 1996). La zona se encuentra bajo la influencia del cinturón de los vientos del oeste, sistema climático responsable de la mayor parte de las

précipitaciones a latitudes medias y altas en Chile. El límite norte de la influencia de los vientos del oeste está sujeto a una dinámica estacional, controlada por el desplazamiento anual del Anticiclón Subtropical del Pacífico Sur (Aceituno, 1990). Como consecuencia de esta dinámica, los bosques distribuidos en la zona subtropical chilena, entre los 30° S y 38° S, experimentan una marcada estacionalidad de las lluvias, con intensas sequías de verano y lluvias invernales (Clima Mediterráneo).

De acuerdo a Schmitúsen (1956), las principales formaciones vegetales de la zona forestal subtropical de Chile corresponden, de norte a sur, a Espinal Xérico, Bosque Esclerófilo y Bosque Deciduo Maulino, que se distribuyen aproximadamente entre 30°S y 38°S. Al sur de los 38°S, en la zona templada y subantártica, con precipitaciones durante todo el año (más del 10% de la lluvia anual se recibe en verano, Alaback 1991; Arroyo *et al.* 1993), se distribuyen los Bosques Laurifolios, tipo Valdiviano, Nordpatagónico y Subantártico deciduo y siempreverde.

Los máximos de riqueza de especies de los bosques se encuentran en la interfase entre las zonas subtropical-mediterránea y templado-lluviosa (36°S y 40°S, Villagrán & Hinojosa 1997). El gradiente de riqueza de especies de plantas vasculares muestra la mayor concentración de taxa en una restringida banda latitudinal. Así, una proporción de 66% a 77% de las especies vasculares forestales se encuentra presente entre 36°S y 40°S, decayendo abruptamente a proporciones entre 33% y 40% hacia norte y el sur de esas latitudes, respectivamente (Fig. 1, Villagrán 1998, Villagrán and Hinojosa, 1997). Este patrón unimodal es una característica distintiva que no

tiene equivalente en los bosques del Hemisferio Norte (Burns 2007), ni tampoco en el resto de los bosques del Hemisferio Sur, en Nueva Zelanda y Australia (Cabrera & Willink 1973, Huek 1966, Markgraf *et al.*, 1995).

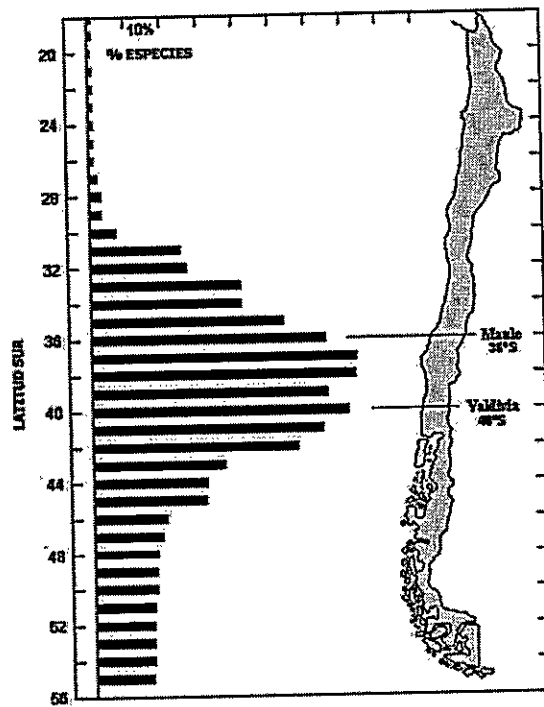


Fig. 1 Concentración de especies de la flora vascular de bosques (árboles, epífitas y enredaderas) en la interfase climática Mediterráneo-Templada, de acuerdo con Villagrán 1995.

Este patrón de concentración de riqueza de especies forestales en latitudes medias del sur de América ha sido interpretado como consecuencia de cambios climáticos relacionados con las glaciaciones del Cuaternario y el proceso de aridización de Chile centro-norte, este último proceso que viene ocurriendo desde fines del Terciario hasta la actualidad, pero cuya intensificación es reciente (Plioceno) como producto del alzamiento andino y la glaciación Antártica (Villagrán *et al.* 1996, Hinojosa & Villagrán 1997, Villagrán & Hinojosa 1997). Otra hipótesis, sugerida a partir de patrones similares de diversidad en otros taxa del sur de América, como mamíferos y

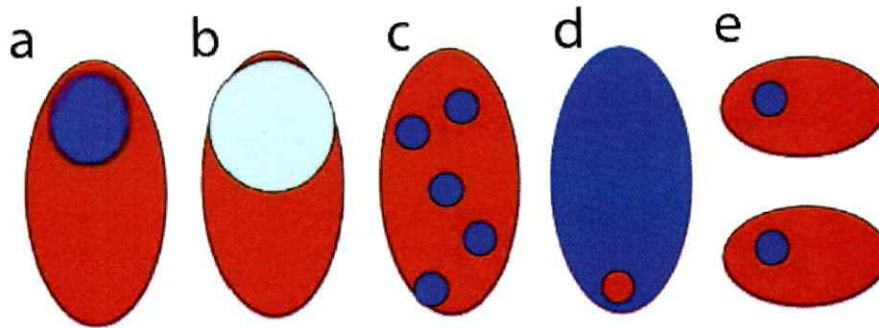
mariposas, es la influencia de factores relacionados con las diferencias en productividad primaria, pero modificado por factores históricos de la misma naturaleza que los propuestos para plantas vasculares (Samaniego & Marquet 2009).

### **Refugios**

La biogeografía histórica ha usado frecuentemente el concepto de "refugio" glacial para describir las contracciones distribucionales que habría sufrido la biota durante las fases frías del Pleistoceno y su persistencia en zonas relativamente menos afectadas por el clima glacial. En el hemisferio norte, este concepto fue acuñado por Heusser (1955) para explicar registros polínicos del oeste de Canadá, que sugerían la persistencia de vegetación en una zona intensamente afectada por la expansión de los glaciares, y ha sido muy importante en estudios paleoecológicos posteriores en otras regiones, basados en el análisis de polen y otros proxies de localidades situadas en latitudes altas, como es el caso del cono sur de Sudamérica (Auer 1958). Desde la masificación de los estudios filogeográficos usando datos genéticos moleculares en la última década, el concepto de refugio ha sido frecuentemente citado en una variedad de contextos (Jackson 2006, Petit *et al.* 2008, Hu *et al.* 2009, Nogués-Bravo 2009). Así por ejemplo, en las regiones templadas, el concepto se ha usado para explicar patrones biogeográficos actuales, tales como distribución geográfica de la riqueza de especies, así como de rasgos y de adaptaciones locales de los taxa (Dynesius and Jansson 2000, Davis and Shaw 2001, Hewitt 2004, Petit *et al.*

2005). Así también, el concepto de refugio ha sido utilizado para describir cambios en la distribución y patrones de diversidad de especies que habitan en regiones tropicales (Keppel *et al.* 2012).

Recientemente, se ha propuesto definir más rigurosamente el concepto de refugio, precisando así su uso en una variedad de situaciones y contextos biogeográficos (Fig. 2). Así por ejemplo, Bennet & Provan (2010) lo definen como un "cuello de botella temporal" en la distribución espacial o geográfica de la biota de una región. Por otra parte, otros autores han distinguido refugios localizados fuera del área de distribución de un taxa (refugio *ex situ*), desde donde las poblaciones expanden por procesos de emigración, y refugios localizados al interior del rango distribución del taxa de interés (refugio *in situ*) (Ashcroft 2010). Los refugios muy restringidos espacialmente, y/o distribuidos en forma acotada, son considerados microrefugios (Fig. 2c), mientras que distribuciones extensas comparables a distribuciones modernas pueden considerarse macrorefugios (Fig. 2a, Rull 2009). El término "refugio críptico" también ha sido aplicado para microrefugios, porque detectar su localización específica desde el registro fósil es muy improbable, pero su existencia puede ser postulada a través de estudios filogeográficos (Fig. 2b, Bennett 1988, Stewart and Lister 2001).



**Fig. 2** Diagrama que representa las respuestas de los taxa frente a cambios climáticos glacial-interglaciales (tipos de Refugio), en términos de distribución y abundancia. El color azul (y azul pálido) representa la distribución glacial y el rojo la interglacial. a) Refugio clásico (Macrorefugio), b) Refugio Críptico (baja abundancia, no necesariamente continua), c) Múltiples Refugios, d) Refugio Interglacial, e) Refugios separados en poblaciones disyuntas, desde las cuales expande durante el interglacial, también representa un modelo de fragmentación de rango. Modificado de Provan & Bennet (2008).

Sobre la base de las nuevas ideas de refugio climático se han propuesto mecanismos alternativos para la comprensión de las dinámicas del rango de distribución de las especies durante los procesos de cambio climático. Por ejemplo, varios estudios han propuesto que refugios crípticos a altas latitudes, durante el periodo glacial, habrían sido más comunes de lo que previamente se pensaba (Willis *et al.* 2000; Provan and Bennett 2008; Hu *et al.* 2009; Stewart *et al.* 2010, Stewart and Lister 2001). Los microrefugios, o áreas con un microclima excepcional en relación con el ambiente regional, habrían permitido la persistencia de pequeñas poblaciones, desde donde podrían haber recolonizado a medida que las condiciones ambientales regionales (o globales) se tornaron favorables



después de un periodo de estrés (Mosblech *et al.* 2011). La ocupación de estos microrefugios estaría determinado por tolerancias ecológicas de las especies (i.e. tolerancia al frío) y daría cuenta de la rápida recolonización de algunas especies arbóreas durante los cortos intervalos interglaciales (Segovia *et al.* 2012). De acuerdo a Rull (2009), los microrefugios son una hipótesis alternativa a la dinámica a gran escala de contracción de rangos de algunas especies intolerantes al frío hacia latitudes bajas, y serían una "necesidad teórica" para explicar algunas distribuciones actuales, teniendo en cuenta las limitaciones en capacidad de dispersión de las especies en periodos cortos de tiempo.

#### **Patrones de riqueza de especies forestales y clima de Chile: Perspectivas palinológicas y filogeográficas**

Para explicar la abrupta disminución de la riqueza de especies de plantas vasculares hacia el sur de los 40°S se ha sugerido un repetido proceso de contracción y expansión del rango de distribución de las principales comunidades laurifolias de bosques de la región, Valdiviano, Nordpatagónico y Subantártico, como respuesta a los cambios climáticos asociados a los ciclos glacial-interglaciales del Pleistoceno (Villagrán, 2001; Villagrán *et al.* 2005). Este modelo, basado en registros palinológicos del último ciclo glacial-postglacial procedentes principalmente de la Región de Los Lagos y Chiloé (40°S – 43°S) (registros glaciales Taiquemó, Heusser & Heusser, 2006; Río Negro, Villagrán 1988; Loncomilla, Villagrán 1990,

Abarzúa *et al.* 2004), muestra que los taxa más termófilos de los bosques Bosque Laurifolios Valdiviano y Nordpatagónico habrían contraído sus rangos hacia el norte de la región de Los Lagos durante las fases frías, restringiéndose a zonas de baja a mediana altitud de la Cordillera de la Costa, posiblemente al norte de los 40°S, desde donde habrían expandido para ocupar su actual área durante el Holoceno. En contraste a estos tipos de bosques, el modelo muestra que los taxa templado-fríos de los bosques laurifolios Nordpatagónico y Subantártico (Coníferas, Tundras, bosques caducifolios Subantárticos) habrían ocupado extensas áreas adyacentes al borde noroeste de las masas glaciares que cubrieron gran parte de la región, al sur de Chiloé. Esta hipótesis se basa en abundantes registros de madera subfósil de *Pilgerodendron* y *Fitzroya*, fechadas entre 40 y 50.000 años, en los sitios bajos de la costa nor-oriental de Chiloé y Seno del Reloncaví, durante los interestadiales de la última glaciación (Roig *et al.*, 2001; Villagrán *et al.* 2003). La abundante presencia de taxa indicadores de un mosaico de tundras magallánicas (*Donatia*, *Astelia*, *Lepidothamnus*), Coníferas y *Nothofagus* durante el Último Máximo Gacial está documentada en los registros de Taiquemó, Río Negro y Loncomilla, ya citados.

Por otra parte, evidencias genéticas sugieren la existencia de refugios crípticos para algunas especies de coníferas y *Nothofagus*, especialmente del bosque Subantártico que no estuvieron restringidas a regiones fuera del área de influencia glacial (Marchelli *et al.* 1998; Premoli, 1998, 2004; Marchelli & Gallo, 2006). Este modelo de sobrevivencia de especies en altas latitudes es consistente con lo propuesto por propuesto por



Villagrán *et al.* (2005), para explicar las curvas bimodales de riqueza de especies de Briófitas de bosques fríos, con máximos actuales en Magallanes y Chiloé. Para algunas especies herbáceas de la patagonia argentina, también se han propuesto refugios periglaciales, definidos como áreas ubicadas fuera de la línea de glaciares, pero que están afectados directamente por ellos (Cosacov *et al.*, 2010). Esta hipótesis es, sin embargo, altamente improbable para los bosques Valdivianos y NordPatagónicos del sur de Chile, donde los suelos fueron completamente denudados en gran parte del Llano Longitudinal, por la actividad glacio-fluvial, y en las cumbres de la Cordillera de la Costa por procesos de solifluxión resultantes de las bajas temperaturas (Veit 1994; Veit & Garleff 1996).

Por su parte, la escala espacial y temporal de los procesos históricos que han determinado la pérdida de especies de plantas vasculares hacia el norte de la distribución de los bosques del margen oeste de Sudamérica han sido relativamente menos explorados. Los registros palinológicos de Chile centro-norte, en la zona subtropical situada al norte de 39°S (Registro Tagua Tagua, Heusser, 1983, 1990) muestran una combinación de taxa tales como *Nothofagus*, coníferas y Poaceas, espectro que sugiere que imperaron condiciones relativamente más frías y húmedas que las actuales durante la última glaciación. En contraste, durante el Holoceno temprano a medio, las condiciones climáticas en este intervalo latitudinal habrían sido cálidas y secas (Lamy *et al.*, 1999). Los registros palinológicos muestran una notable pobreza de taxa, con dominancia de indicadores de extrema aridez, principalmente herbáceas (Maldonado y Villagran, 2002; Villa-Martinez *et al.*,

2003). Un registro polínico de fundamental importancia por su ubicación (Purén, 38°S – 73°W – ~100 m.s.n.m) en zonas de bajas altitud de la interfase mediterráneo-templada ha sido presentado por Abarzúa *et al.* (*en prep.*). Este registro sugiere condiciones frías y húmedas sobre la base de la presencia de *Araucaria* y *Nothofagus* entre 26 y 18 Ka AP en el valle central de Chile, consistente con el registro de Heusser (1983, 1990) más al norte. A partir de los 16 ka. se produce la expansión de *Prumnopitys* y Mirtaceas, y a los 11 ka. se registra abundancia de Chenopodiaceas, indicando condiciones más cálidas y secas que la actualidad. A partir de los 7 ka. y bajo condiciones de mayor humedad se produce la expansión al norte de *Eucryphia cordifolia*, una especie del bosque Valdiviano. Taxa asociados al bosque esclerófilo no aparecen en el registro sino hasta los últimos mil años AP.

En la región se han realizado escasos estudios filogeográficos, aunque existe evidencia indirecta de los cambios postglaciales. Por ejemplo, la distribución de la variabilidad genética de *Eucryphia cordifolia*, muestra empobrecimiento genético hacia el norte de su rango, en el sur de la región mediterránea (~ entre 36° S y 40° S). Dados los requerimientos ecológicos de mayor humedad de *E. cordifolia*, la colonización del área mencionada podría haber ocurrido después del periodo seco que caracterizó el Holoceno Temprano, cuando se comenzaron a configurar las condiciones actuales de humedad (Segovia *et al.*, 2012).

### Conciliando la evidencia palinológica y filogeográfica

Para los taxa de los bosques laurifolios tipo Valdiviano y Nordpatagónico del sur de Sudamérica, el concepto de refugio durante el último ciclo glacial es una hipótesis que daría cuenta de la concentración de la riqueza de especies vasculares forestales en la interfase mediterráneo-templada (Fig. 1, Villagrán, 2001). La reciente investigación genética de una serie de taxa forestales ha motivado aparentes controversias en la interpretación de los refugios. Sin embargo, para evaluar la validez general de las hipótesis en torno a la dirección y magnitud de los cambios areales de los diferentes tipos de bosques en cuestión, es necesario tener en cuenta algunas consideraciones previas. Como se trata de tipos de bosques templado-lluviosos heterogéneos en su composición florística y área de distribución (Villagrán & Armesto 2005), parece necesario incorporar distinciones en el comportamiento y los requerimientos ecológicos de los taxa.

Un ejemplo paradigmático es la aparente discrepancia entre los datos paleobotánicos y filogeográficos acerca de los cambios glaciales y tardiglaciales en la distribución de *Fitzroya cupressoides* (Alerce) y *Pilgerodendron uviferum*, ambas Coníferas resistentes al frío. Por un lado, estudios filogeográficos sugieren que el alerce ocupó múltiples refugios a ambos lados de los Andes, acontecimiento interpretado como consecuencia del clima prevalente durante la edad glacial, aunque sin control temporal (Premoli *et al.*, 2000, 2003). Por otro lado, la evidencia paleobotánica y

palinológica muestra una notable expansión de ambas especies en el Valle longitudinal de la Región de Los Lagos y Chiloé, especialmente durante el interestadial correspondiente al estadio isotópico III en la misma región (60 a 40 mil años atrás), asociado a formaciones de Tundras y herbáceas, también durante el último máximo glacial, UMG, 21000 años atrás aprox. (Villagrán *et al.* 2003). La evidencia palinológica sugiere también que el rango de distribución de alerce y otras coníferas tolerantes al frío se habría contraído hacia las cimas de cerros costeros y andinos, áreas que ahora ocupa, durante el Tardiglacial y Holoceno temprano (entre 14.000 y 7.000 años atrás aprox.). De manera concomitante, los bosques laurifolios nordpatagónico y valdiviano se encontraban en proceso de expansión en los sitios bajos de la región, anteriormente ocupados por coníferas y tundras (Villagrán *et al.*, 1998). Como el concepto refugio implica la contracción del rango por efectos climáticos, la interpretación de múltiples refugios para el alerce sería razonable, aunque, de acuerdo a evidencias paleobotánicas, los refugios deberían retrotraerse al Tardiglacial y Holoceno, periodo de aumento de temperaturas. En contraste, las pequeñas poblaciones de alerce que aún subsisten en el Valle Longitudinal deberían calificarse de "relictos glaciales" del periodo en que la especie tuvo una paleodistribución más amplia en el valle. Esta interpretación es concordante con los estudios genéticos de Alnutt y colaboradores (1999) que muestran mayor diversidad y divergencia genética en una pequeña población de alerce del Valle Longitudinal, Astilleros, situada en el límite oeste de los glaciares durante el UMG.

En la misma línea, la evidencia filogeográfica ha sugerido múltiples refugios glaciales también para especies del género *Nothofagus* (Premoli, 1997; 2003 Marchelli *et al.*, 1998; 2000; Premoli *et al.*, 2001, 2002), mientras que los registros de polen muestran presencia del tipo polínico *N. dombeyi* durante la última glaciación, en asociación con las coníferas y las tundras. Es preciso aclarar que las especies de *Nothofagus* no pueden ser distinguidas polínicamente y el "tipo dombeyi" incluye prácticamente a todas ellas, con excepción de *N. obliqua* y *N. alpina*. En los registros de polen de la Región de Los Lagos y la Isla Grande de Chiloé, el tipo-dombeyi aumenta sus abundancias hacia el Tardiglacial y en el Holoceno, en cambio, experimenta una disminución gradual (Villagrán, 1991; Heusser *et al.*, 1999; Villagrán, 2001; Abarzua *et al.*, 2004; Moreno, 2004). En este caso, los estudios filogeográficos podrían enriquecer las interpretaciones si incorporan de manera adecuada las evidencias procedentes de distintas series de indicadores paleoambientales (proxy data) y si consideran las diferencias en los requerimientos ecológicos de los taxa de diferentes tipos de bosques, especialmente en tolerancias a la sequía y al frío.

### **Hipótesis sobre los gradientes de riqueza de especies**

Como se definió anteriormente, la "anomalía" que exhibe el gradiente latitudinal de la riqueza de especies de leñosas de la vegetación de bosques del cono sur de Sudamérica, respecto al patrón general del hemisferio nortel, ha sido explicada fundamentalmente como un legado de los cambios

climáticos del Cuaternario. Esta interpretación, sintetizada en la idea de Refugio Climático, como hipótesis histórica, ha sido muy influyente en la biogeografía de esta región. La predicción fundamental que surge de esta hipótesis es que la riqueza de especies sería menor en áreas afectadas directamente por los glaciares y sus efectos periglaciales asociados (solifluxión, excorrentía y acumulación de sedimentos glacio-fluviales), en relación con áreas que quedaron alejadas de estos efectos (Refugios). Sin embargo, nuevos datos filogeográficos de la región del cono sur de Sudamérica incorporan hipótesis alternativas para explicar los procesos de contracción-expansión de los rangos de distribución de los taxa. Entre estas, la existencia de múltiples microrefugios y refugios periglaciales. Estos nuevos modelos no estarían relacionados causalmente con el gradiente actual de riqueza de especies. En esta tesis nos proponemos poner a prueba ambas hipótesis, sin considerarlas excluyentes, usando una aproximación filogeográfica basada en datos genéticos y también evaluando mediante correlaciones múltiples la influencia relativa del clima actual y el clima glacial en los gradientes de riqueza.

En el cono sur de Sudamérica, los estudios filogeográficos se han concentrado principalmente en especies tolerantes al frío (Premoli, 1997; 2003; Marchelli *et al.*, 1998; Allnutt *et al.*, 1999; Premoli *et al.*, 2000, 2001; 2002, 2003; Bekessy *et al.*, 2002; Allnutt *et al.*, 2003). Por esta razón, esta tesis se concentra en el estudio de especies con tolerancias ecológicas contrastantes para examinar las hipótesis sobre refugios glaciales y

microrefugios, tal como han sido propuestas, como asimismo la relación entre posibles cambios de distribución de los taxa seleccionados y el actual gradiente de riqueza de especies. A través de esta investigación, nos interesa fundamentalmente generar predicciones que den cuenta de la relación entre patrones de distribución actual de la diversidad genética, como herencia de dinámicas históricas, y el patrón actual de la distribución de la riqueza de especies de diferentes tipos de bosques del margen suroeste de Sudamérica.

Para abordar la problemática expuesta, en este proyecto nos proponemos responder las siguientes preguntas:

- i) El gradiente actual de especies forestales, con mayor concentración de la riqueza en interfase mediterráneo-templada y disminución hacia el norte y hacia el sur, ¿está influenciado por los cambios areales de las diferentes comunidades de bosques durante las glaciaciones del Cuaternario?
- ii) ¿De qué modo los cambios climáticos asociados a los ciclos glaciales afectaron la distribución de *Myrceugenia planipes*, una especie representativa del Bosque Valdiviano, relativamente intolerante al frío?
- iii) ¿De qué modo los cambios biogeográficos asociados al incremento de la aridización de Chile centro-norte afectaron la distribución de *Cryptocarya alba*, una especie típica del Bosque Esclerófilo mediterráneo, relativamente intolerante a las condiciones de sequía?

## HIPÓTESIS

**¿De qué modo los cambios biogeográficos asociados al incremento de la aridificación de Chile Centro-Norte afectaron la distribución de *Cryptocarya alba*, una especie característica del bosque Esclerófilo mediterráneo?**

Si el empobrecimiento de especies hacia el norte del rango está ligado al incremento de la aridez en Chile centro norte, que data desde el Terciario y se ha intensificado durante el Tardiglacial y Holoceno, entonces se espera encontrar señales genéticas de fragmentación del rango, principalmente hacia el norte de su distribución, en *Cryptocarya alba*, una especie característica del bosque esclerófilo húmedo (Armesto *et al.* 1978, 1997). Es decir, se espera obtener señales de cuello de botella poblacional. La diversidad genética de cada población debería ser más alta que lo esperado por tamaño poblacional.

**¿De qué modo los cambios biogeográficos asociados al Último Máximo Glacial afectaron la distribución de *Myrceugenia planipes*, una especie típica del Bosque templado tipo Valdiviano?**

Si el empobrecimiento hacia el sur está relacionado con los eventos de contracción glacial del bosque tipo Valdiviano y su posterior expansión



postglacial hacia el área que actualmente ocupa, entonces el patrón de distribución de la diversidad genética de *Myrceugenia planipes*, especie intolerante a la sequía y al frío (Rodríguez *et al.* 1983) y característica del bosque Valdiviano (Villagrán *et al.* 1991; Armesto *et al.* 1996), tendría que mostrar señales de colonización reciente en la parte sur de su rango de distribución. Es decir, señales de expansión demográfica, concentración de la diversidad genética al norte de su rango y un gradiente de disminución de la diversidad genética hacia el sur.

**El patrón actual de pérdida de especies desde la interfase mediterráneo-templada hacia el sur, ¿está influenciado por cambios biogeográficos asociados a los ciclos glaciales?**

Si el gradiente de disminución de la riqueza de especies leñosas de los bosques del sur de Sudamérica, desde la región de concentración de especies entre 36° S y 40° S hacia el sur, corresponde a un legado de contracciones areales asociadas a la última glaciación del Cuaternario; entonces se espera encontrar una correlación positiva entre el tiempo en que el área de recolonización quedó disponible tras el retroceso de los glaciares y la riqueza de especies.

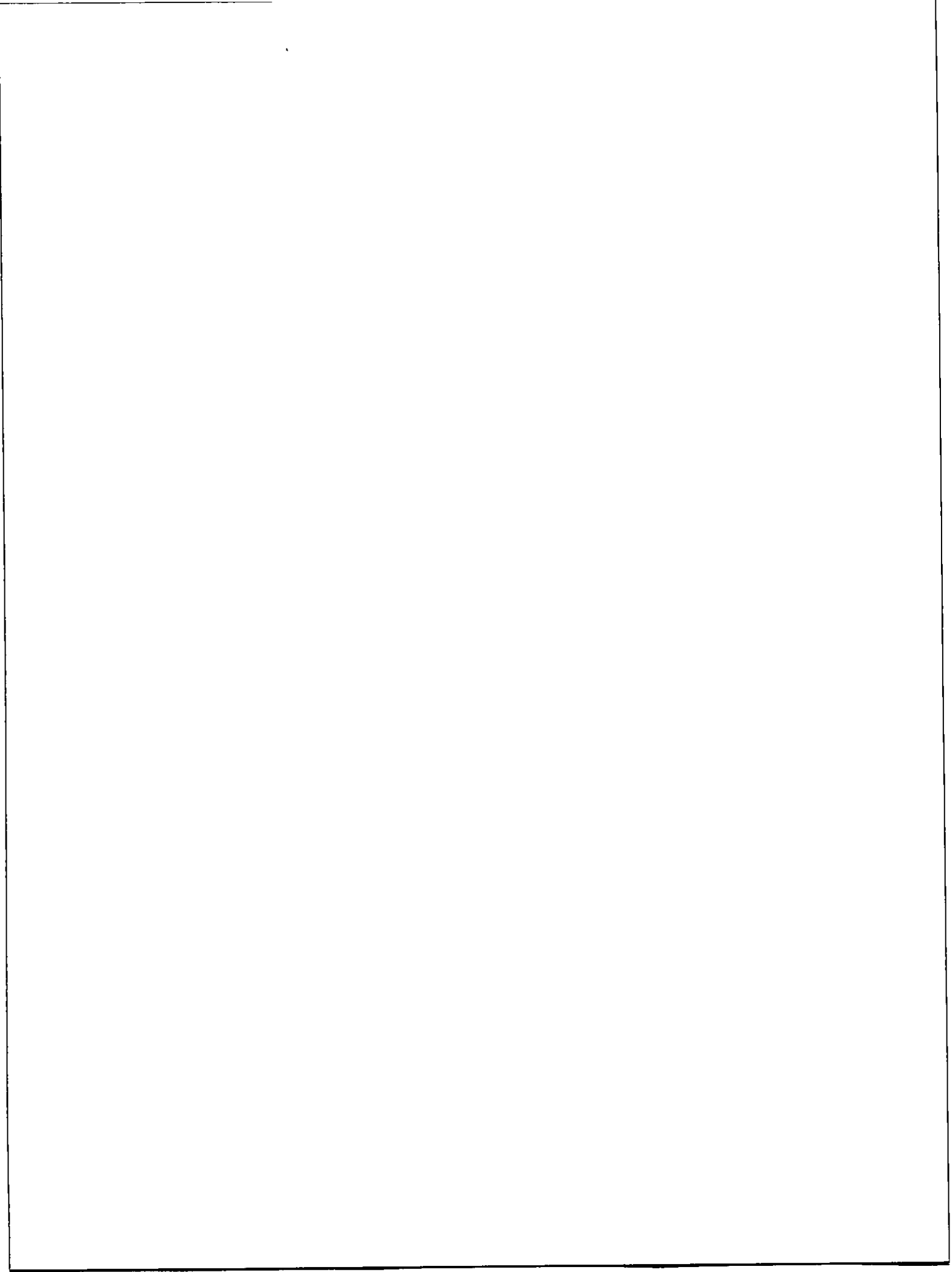
## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar la incidencia de cambios histórico-biogeográficos sobre el patrón de concentración de la riqueza de especies forestales en la interfase mediterráneo-templada (36° y 40° S) y su abrupto descenso tanto hacia el norte como hacia sur, sobre la base de a) un análisis filogeográfico de dos especies características de los bosques Valdiviano y Esclerófilo, con requerimientos ecológicos contrastantes. b) un análisis detallado del gradiente de diversidad de especies de plantas leñosas, asociadas a distintos tipos de bosques.

### Objetivos específicos

1. Correlacionar el patrón latitudinal actual de riqueza de especies con variables ambientales y con un modelo de reducción del área forestal, basado en el modelo de extensión de los glaciares durante el Último Máximo Glacial de Holling & Schilling (1981).
2. Establecer el patrón de distribución espacial de la variabilidad genética de *Myrceugenia planipes*, una especie higrófila intolerante a la sequía y a las bajas temperaturas.



3. Establecer el patrón de distribución espacial de la variabilidad genética de *Cryptocarya alba*, una especie esclerófila con requerimientos ecológicos adaptados al clima estacional mediterráneo.
4. Interpretar la distribución espacial de la variabilidad genética de ambas especies investigadas en un contexto geográfico, con vías a la interpretación del rol de los factores histórico-biogeográficos del patrón distribucional investigado.
5. Elaborar mapas individuales de distribución geográfica para cada una de las especies leñosas de los bosques de Chile.
6. Construir un modelo de la restricción del área forestal durante la última glaciación asociada a la presencia de glaciares y efectos periglaciales.

**CAPÍTULO 1**

**Comparative phylogeography of two key species from southern  
South American forests**

RICARDO A. SEGOVIA<sup>1,2\*</sup>, LUIS F. HINOJOSA<sup>1,2</sup> AND MARÍA F. PÉREZ<sup>2,3</sup>

*<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) (segovia@ug.uchile.cl) and <sup>3</sup>Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile*

\*Corresponding author: Ricardo Segovia, Las Palmeras #3425, Ñuñoa, Santiago de Chile 7800024.

Phone number: 56-2-9787359

Email: segovia@ug.uchile.cl

## Abstract

Southern South American forests show interesting biogeographic anomalies, including their richness gradient, with a concentration of woody species richness in a narrow latitudinal band and an abrupt pauperization both south and north of this region. How past biogeographic changes have influenced these biogeographic patterns could be evaluated by studying the responses of its component species, both in the Mediterranean Forest and the Temperate Forest. In this study we used intergenic cpDNA to explore the genetic diversity and geographic structure of 13 populations of *Cryptocarya alba* and 17 of *Myrceugenia planipes*. The results indicate that *Myrceugenia planipes* underwent a contraction of its range associated with the last glaciation, and would have subsequently expanded its range during the Holocene. In turn, *Cryptocarya alba* underwent a process of fragmentation of its range, probably associated with the increase of temperature and intensification of aridity in Central Chile during the early Holocene.

## INTRODUCTION

Present-day patterns of temperate species richness have been shaped by strong Quaternary climatic oscillations (McGlone, 1996; Qian and Ricklefs, 1999; Ricklefs *et al.*, 1999; Qian and Ricklefs, 2000). Southern South American forests show interesting biogeographic anomalies, including their richness gradient, with a concentration of woody species richness in a narrow latitudinal band and an abrupt pauperization both south and north of this region (Villagrán *et al.* 1993, 1998; Markgraf *et al.* 1995; Villagrán 1995; Villagrán and Hinojosa 1997). This pattern has been explained by the influence of Quaternary climate dynamics over the distributional ranges of these forests (Villagrán 1993, 1995; Markgraf *et al.* 1995; Villagrán and Hinojosa 1997; Villagrán *et al.* 1998).

At present, the region of these forests exhibits a gradient of increasing rainfall and temperature decrease with latitude (Armesto *et al.*, 1996), explained by the influence of the climatic belt of westerly winds, the system responsible for most of the subtropical rainfall west of the Andes. The northern boundary of the westerly winds is subject to seasonal dynamics, controlled by the annual shift of the South Pacific subtropical anticyclone (Aceituno, 1990). As a result of this dynamic, forests distributed in the subtropical zone, between 30°S and 38°S, are associated with a marked influence of seasonal rainfall with summer drought (Mediterranean climate). The main vegetation units in this area are: Xeric Espinal, and Sclerophyllous, and Deciduous Forests. In the temperate zone,



southern of 38°S, with rainfall throughout the year, the main units correspond to Valdivian, North Patagonian and Subantarctic Forest (Schmithusen, 1956).

In general, the response of the biota in high latitudes to the expansion of ice sheets during the cold phases of glacial cycles has been associated with regions where modern elements may have survived glacial periods with greatly reduced abundance and distribution, the so-called glacial refugia (Hewitt, 2000; Willis and Whittaker, 2002; Bennett and Provan, 2008). In southern South America, the pattern of species richness concentration has been attributed to the repetitive role of the west Coastal Range as a glacial refugium (Villagrán, 2001; Villagrán and Hinojosa, 1997). This hypothesis is supported by geomorphologic data showing that this area remained unglaciated during the Last Glacial Maximum (LGM) (Veit, 1994; Veit and Garleff, 1996), dated between 28 and 16 kyr BP (Denton *et al.* 1999; Kaplan *et al.* 2008), as well as by palynological evidence, which indicates that many species responded to glaciations by contracting their ranges to suitable refugia in mid and low elevations of the Coastal Range (Villagrán, 1991). However, this historical process would not explain the pauperization of species distributed to the north of these forests.

The processes that determine the loss of species towards the north of the distribution of these forests have been even less explored. For north-central Chile (north of 39°S) conditions cooler and wetter than today have been described for the last glaciation, represented mainly by *Nothofagus*, conifers and Poaceae (Heusser, 1983, 1990). In contrast, hot and dry conditions are

proposed for the early and mid Holocene (Lamy *et al.* 1999). Under these conditions the species richness and forest cover decreased, and semiarid - herbaceous vegetation dominated the landscape (Maldonado and Villagran, 2002; Villa-Martinez *et al.* 2003). In this region, phylogeographic studies show a northward reduction in genetic diversity (that would reflect range contraction during warmer periods), which has been detected only in some species that reach semiarid latitudes in the present. For example, in *D. winteri*, which is distributed discontinuously from semiarid central Chile to the subantarctic forest (30-55°S), genetic diversity increases southwards (Jara-Arancio *et al.* 2012). Genetic depletion to the north of its range is also observed in *Eucryphia cordifolia*, a thermophilous species of the temperate forest (Segovia, 2012). In contrast, in *Aextoxicon punctatum*, which is distributed from 30-43°S, genetic diversity tends to remain constant over most of its range, decreasing south of 40°S (Nuñez-Ávila & Armesto *et al.* 2006). These results suggest that *A. punctatum* was less affected by Holocene drier episodes than *D. winteri* and *E. cordifolia*, and accordingly, ecophysiological data suggest that *A. punctatum* is more tolerant to drought conditions than the other two species (Salgado *et al.* 2013; Figueroa *et al.* 2010).

In this study, we used cpDNA sequences to explore the genetic diversity and geographic structure of populations of two species, *Myrceugenia planipes*, a characteristic species of Temperate Rainforest, and *Cryptocarya alba*, a typical species of Sclerophyllous forest. *M. planipes*, with a current distribution between 36° S and 47° S (Fig. 1) (Rodríguez *et al.* 1983), is sensitive to low temperatures and, therefore, an ideal model to study the distributional changes

associated with LGM. *Cryptocarya alba*, which is currently distributed between 32°S and 39°S (Fig. 1) (Rodríguez *et al.* 1983) is a sclerophyllous species relatively sensitive to drought (Armesto and Martínez, 1978; Fuentes *et al.* 1984) that could be a good model to understand the responses of Mediterranean forest to increased aridity in North Chile during LGM. If the current populations of *M. planipes* were derived post glaciation from coastal areas, southern and Andean populations should be genetically similar to coastal populations, i.e. *M. planipes* populations should show genetic structure across its distributional range. Furthermore, if this is the case, within-population genetic diversity should be lower in Andean and southern populations than in coastal populations, and it should decrease with latitude because of founder effects. For its part, if current populations of *C. alba* were linked to increasing aridity in north central Chile, which dates from the Tertiary and has been intensified during the Quaternary, we should expect to find genetic structure associated to signals of range fragmentation, that is, signals of multiple population bottlenecks. The genetic diversity of each population should be higher than expected by population size.

## Materials and Methods

**Sampling and DNA extraction**—We sampled 237 individuals of *Cryptocarya alba* from 17 populations and 160 individuals of *Myrceugenia planipes* from 13 populations between 32°S and 45°S in Coastal Range, Longitudinal Valley, Andes Range, and Isla Grande de Chiloé (Fig. 1, Table 1). We collected foliar

tissue from six to fifteen individuals per population. Selected trees were at least 50 m apart to avoid sampling from clones or closely related individuals. Total genomic DNA was isolated from silica-dried foliar tissue with the DNAeasy Plant Mini Kit from QIAGEN (Valencia, California, USA).

**Chloroplast DNA**—We screened six individuals from three populations in both species to test polymorphism in several cpDNA regions, including the intergenic spacers trnT-trnF (Taberlet *et al.* 1991), trnD-trnT, trnC-trnD (Demesure *et al.* 1995), trnG-trnS (Wakasugi *et al.* 1994), orf184-petA, trnS-trnR (Grivet *et al.* 2001), trnV-ndhC, trnQ-rps16, ndhF-rpl32R, trnL-rpl32F (Shaw *et al.* 2007). We selected the intergenic spacer trnD-trnT for *Cryptocarya alba* and trnL-rpl32 for *Myrceugenia planipes* because of their higher levels of polymorphism. Polymerase chain reactions (PCR) were carried out in 25- $\mu$ L reaction volumes containing 7  $\mu$ L of DNA template, 1 mM of dNTP mix, 0.5 U of Taq polymerase, 1X reaction buffer supplied with the enzyme, 0.1  $\mu$ M of each primer, and 5  $\mu$ g bovine serum albumin. Amplifications were carried out using the following conditions: 94 °C (4 min), 30 cycles of 94°C (45 s), 50°C (45 s), 72°C (3 min), and a final extension at 72°C for 10 min. The fragments were purified and sequenced at the Macrogen sequencing center (Seoul, South Korea).

#### **Genetic data analyses**

The cpDNA sequences were edited and aligned with the program Bioedit v. 7.0.9 (Hall, 1999). Two multibase indels were found and were coded as binary characters. The method of parsimony was employed to evaluate the relationships among haplotypes and to construct a haplotype network (TCS

1.21; Clement *et al.* 2000)). In the analysis, both site mutations and indels were hypothesized to be equally likely to evolve, and each indel was assumed to have originated independently from other indels. The following index of genetic diversity were estimated for each population and also for each region separately using the program DNASp v. 5 (Librado and Rozas, 2009): number of haplotypes (K), haplotype diversity (H), and nucleotide diversity ( $\pi$ ). To examine possible founder effects and explore the distribution of genetic diversity peaks, we analyzed the variation of within-population genetic diversity with latitude using linear and nonlinear regression models. We subdivided the populations of each species in three regions (*Cryptocarya alba*: Northwest, South – Coastal Range, South – Andean Range; *Myrceugenia planipes*: North – Coastal Range, North – Andean Range, and South). Then we compared the within-population genetic parameters among groups. In addition, we tested for evidence of expansion and contraction by calculating Tajima's D and Fu and Li's F statistics using the program DNASp v. 5 (Librado and Rozas, 2009).

**Estimation of genetic structure**— Genetic differentiation by cpDNA among populations was evaluated using the  $G_{ST}$  and  $N_{ST}$  coefficients (Pons and Petit, 1995, 1996). Both coefficients estimate the ratio between the mean within-population genetic diversity ( $u_s$  and  $h_s$ ) and total genetic diversity ( $u_T$  and  $h_T$ ), but whereas  $N_{ST}$  takes into account the genetic distances between haplotypes (ordered alleles),  $G_{ST}$  ignores them (unordered alleles). A test of 1000 permutations was used to evaluate whether  $N_{ST}$  was significantly greater than  $G_{ST}$ . A greater  $N_{ST}$  means that more closely related haplotypes occur in the same population, indicating phylogeographic structure (Pons and Petit, 1996). A

permutation test was conducted in the program PERMUT (Pons and Petit, 1996; Burban *et al.* 1999). To visualize spatial patterns of genetic distances over the study area, a genetic landscape shape was constructed with the program Alleles in Space, version 1.0 (Miller, 2005). This procedure uses a Delaunay triangulation connectivity network based on each sampling location and assigns a genetic distance at the geographic midpoint of each sample pair. Genetic distances are then interpolated uniformly across the entire geographic sampling area, and a 3-dimensional surface plot is constructed, with the surface heights representing genetic distance. Analysis was performed with a grid size of 50 × 50 and a range of interpolation parameters ( $a = 0.1 - 3.0$ ).

Genetic differentiation among populations was also explored with a spatial analysis of molecular variance implemented in the program SAMOVA v.1.0 (Dupanloup *et al.* 2002). This method defines partitions of local populations, maximizing the proportion of genetic variance explained by differences between groups of populations ( $F_{CT}$  coefficient of the analysis of molecular variance, AMOVA; Excoffier *et al.* 1992). Analyses were performed with 2–5 groups, and the significance of  $F_{CT}$  was tested for each partition in the program Arlequin, using AMOVA (Excoffier *et al.* 1992).

## Results

The *trnD-trnT* alignment for *Cryptocarya alba* was 626 bp in length and the *trnL-rpl32* for *Myrceugenia planipes* was 650 bp. *C. alba* shows seven haplotypes with five substitutions and two indels of six and seven bp.

*Myrceugenia planipes* shows four haplotypes with only one substitution and three indels of six, seven and ten bp. Three haplotypes from *C. alba* (denoted H1, H4 and H7) were present in high frequency: H1 in 12 of 13 localities (Fig. 2); H4 was detected in all northern localities and H7 in 4 out of 5 from the southern Coastal Range and Chiloé. The other four haplotypes (denoted H2, H3, H5, H6) were present in fewer than 20% of the total individuals and were found principally in the northern localities and in the Andean locality CA8 of *C. alba*. For its part, one haplotype from *M. planipes* (H1) was present in all localities (Fig. 2). The other three haplotypes (denoted H2, H3 and H4) were present in fewer than 10% of the total individuals and were found principally in the northern localities. H4 is the single haplotype present in only one locality, restricted to Coastal Range in 40°S.

The haplotype network of each species (Fig. 2) suggested that the widespread haplotypes (H1 in *Cryptocarya alba*, and H1 in *Myrceugenia planipes*) could be the ancient haplotypes, due to the high number of connections observed. In *C. alba* there is some geographically restricted haplotypes. For example, haplotype H4 is restricted to northern Coastal range (CA1, CA2, CA3, CA4 populations). Haplotypes H3 and H5 are restricted to two (CA2 and CA3) of this four populations in the northern Coastal range. Haplotypes (H3 and H5) are separated only by one mutational step from H4 (the principal haplotype of northern populations). *C. alba* has another population with restricted and differentiated haplotypes. Haplotypes H6 and H2 are restricted to CA8 population and are separated only by one mutational step from H1 (the ancestral haplotype). For its part, *M. planipes* shows a more simple pattern. All

haplotypes are restricted to northern populations in its distributional range and the infrequent haplotype H4 is restricted to population MP8 in the Coastal range.

The number of haplotypes per population (K), haplotype diversity (H), and nucleotide diversity ( $\pi$ ) varied substantially among populations (Table 1). The highest levels of diversity in *Cryptocarya alba* were found in two regions: northern localities and CA8 ("Rucalhue"), a southern Andean population. Significant quadratic correlations between number of haplotypes, haplotypic diversity and nucleotidic diversity and latitude were detected ( $N = 13$ ,  $r^2 = 0.647$ ,  $P < 0.001$  for K;  $r^2 = 0.521$ ,  $P < 0.001$  for H;  $r^2 = 0.519$ ,  $P < 0.001$  for  $\pi$  Fig. 3). This tendency shows two principal peaks of genetic diversity throughout the latitudinal range. On the other hand, the highest levels of genetic diversity in *M. planipes* were found in the Coastal Range near 40°S. Also, linear correlations show a significant tendency to the decrease towards the south ( $N = 17$ ,  $r = -0.558$ ,  $P = 0.02$ ;  $r = -0.595$ ,  $P = 0.012$  for H;  $r = -0.559$ ,  $P = 0.019$  for  $\pi$  Fig. 3). No significant difference between geographic groups of populations was found for any genetic diversity measure in *C. alba* ( $N = 17$ ,  $F = 0.44$  for K;  $F = 3.09$  for H, and  $F = 2.88$  for  $\pi$ ; Table 2). Whereas in *M. planipes* significant difference was found only in number of haplotypes ( $F = 6,38$ ,  $P = 0,01$ ). This is related to the abrupt decline in genetic diversity of *M. planipes* towards south. Values of Tajima's D (*C. alba* = -0,48639,  $P =$  not significant; and *M. planipes* = -1,48595,  $P =$  not significant) and Fu and Li's F (*C. alba* = -2,04671,  $P =$  not significant and *M. planipes* = 0,17072) did not differ significantly from zero; thus, the hypothesis of neutral variation was not rejected.



The coefficients of differentiation  $G_{ST}$  and  $N_{ST}$  were significantly different from zero for *Cryptocarya alba* ( $G_{ST} = 0.21$ ,  $N_{ST} = 0.28$ ,  $p < 0.001$ ), but not for *Myrceugenia planipes* ( $N_{ST} = 0.13$ ,  $G_{ST} = 0.13$ ). Also, only in *C. alba* the permutation test showed that  $N_{ST}$  was significantly greater than  $G_{ST}$  ( $P = 0.04$ ), suggesting the existence of phylogeographic structure. SAMOVA analysis was congruent with these results, and shows a clear geographic grouping of *C. alba* populations, but not of *M. planipes* populations. In the case of *C. alba*, SAMOVA identified three groups ( $F_{ct} = 0.67673$ ): the northernmost populations, CA1, CA2 and CA3 comprise one group; the coastal southern populations, CA9, CA10, CA12, conformed another group; and the remaining populations comprise the third group. At increasing values of K (from 4 to 8), each new delimited group was comprised by a single population. In the case of *M. planipes*, the plateau for  $F_{ct}$  value was found at  $K = 3$ , but in this case, delimited groups were comprised by a single population, MP6 (the most diverse) and MP8 (the most differentiated). Genetic landscape analysis was congruent with these results and showed a high genetic distance among *C. alba* populations and a tendency to reduction towards southern latitudes, and no latitudinal tendencies in *M. planipes*.

## Discussion

The sclerophilous species *Cryptocarya alba* and the mesothermic species *Myrceugenia planipes* showed relatively low levels of genetic diversity

and population differentiation in the chloroplast genome (Table 1) compared with other temperate trees more tolerant to cold conditions, such as *Podocarpus nubigena* (Quiroga and Premoli, 2010), *N. alpina* (Marchelli *et al.* 1998; Marchelli and Gallo, 2006), and *Fitzroya cupresoides* (Allnutt *et al.* 1999; Premoli *et al.* 2000; Premoli *et al.* 2003), and also with thermophilous species such as *Colliguaja odorifera* (Bull-Hereñu *et al.* 2005) *Aextoxicon punctatum* (Núñez-Ávila *et al.* 2006) and *Eucryphia cordifolia* (Segovia *et al.* 2012).

The concentration of rare haplotypes and the relatively high levels of genetic diversity found in Coastal Range around 39 – 40°S (Fig. 2) suggest that *Myrceugenia planipes* populations contracted to these latitudes during glacial periods. The coastal areas located between 36–40°S were previously proposed by Villagrán and Hinojosa (1997) as glacial refugia on the basis of the presence of Quaternary nitisols (Veit, 1994; Veit and Garleff, 1996) and endemism with narrow distributions. Accordingly, we found high levels of genetic diversity in southern Coastal Range (MP6 and MP8, Fig. 2, Table 3). Considering all populations, this region presented all haplotypes detected for *M. planipes*. MP8 shows the non-shared haplotype H4, i.e. it is highly differentiated. This differentiation between nearby localities agrees with the predictions for glacial refugia in mountain regions by Hewitt (1999), who proposed that altitudinal migrations induced by glacial – interglacial changes might have been rather slow and therefore may have promoted population divergence at a regional scale. In fact, Cordillera Pelada and Cordillera del Sarao (Sarao Oeste) are particularly steep and reach altitudes higher than 1000 m.a.s.l, with presence of conifers and Magellanic moorlands in the top of the hills. The complex

topography of south Coastal Range probably restricted gene flow between nearby localities.

We detected a decrease in within-population genetic diversity in *Myrceugenia planipes* populations to northern Coastal Range (Table 1, Fig. 2), as predicted by a series of founder effects in which successive population bottlenecks during range expansion reduce diversity (Hewitt, 1996; Comps *et al.* 2001; Petit *et al.* 2002). This result is consistent with the scenario proposed by Villagrán (1994), who suggested a southward contraction of the Valdivian Rainforest during Mid and Late Holocene (between approximately 10 000 and 6000 yr BP), when conditions were drier than today, followed by a re-expansion northward that probably started about 3000 yr BP, when modern climatic conditions were established. However, we detected no significant  $F_u$  and Li's  $F$  nor Tajima's  $D$  indices that would indicate expansion. It is possible that the genetic footprint of postcolonization expansion was eroded by the posterior contraction that *M. planipes* could be experienced during the Mid-Holocene. Indeed, the fossil record shows a rapid expansion of Temperate Rainforest in northern Patagonia (40–42°S) during the Holocene between 10000 and 8000 yr BP, but it also shows a significant reduction in pollen abundance after 6900 yr BP (Abarzúa *et al.* 2004; Moreno, 2004).

*Cryptocarya alba* populations show two regions with concentration of rare haplotypes (Fig. 2): northwest coastal localities (CA2 and CA3) and one locality in the Andean Range (CA8). Also, genetic diversity in *C. alba* is distributed in several peaks throughout its distributional range (Fig. 3). Also, the analysis of

differences in genetic diversity among population groups shows no significant differences between geographic regions (Table 2). These results support the hypothesis that sclerophyllous forests species suffer fragmentation of their populations in response to the arid pulses of the Quaternary. Probably, current areas holding the greatest genetic diversity were microrefugia where individuals of *C. alba* found sufficient water availability to survive the hot and dry periods of early Holocene. The lack of significance of Fu and Li ' s F and Tajima's D indices also could indicate long-lasting persistence in multiple refugia in a range fragmentation scenario.

The differentiation coefficients  $G_{ST}$  and  $N_{ST}$  were significantly higher than zero only for *C. alba*, but not for *M. planipes*. Accordingly, SAMOVA analysis show a clear geographic grouping of populations only for *C. alba*. These results are consistent with the hypothesis of fragmentation in response to pulses of aridity of mediterranean species during the Pleistocene (Villagrán 1995; Villagrán *et al.* 1998), and also with the single contraction process to the coast and low-latitude of species in South-Central Chile. Landscape analyses showed that high levels of differentiation are distributed across the entire range (Fig. 4).

Overall, the lack of phylogeographic structure and the concentration of genetic diversity in the north of the latitudinal range of *Myrceugenia planipes*, and the prominent structure and multiple areas of genetic concentration in *Cryptocarya alba*, suggest that different processes would have affected forest species during the Quaternary climatic oscillations. While *M. planipes* presented a process of contraction of its range during phases of glacial advance, *C. alba*

presented fragmentation of its range during warm and dry periods of the Holocene. Our results highlight the importance of studying species with different ecological tolerances to explain individual responses to climatic changes ( Stewart, 2008 ; Stewart *et al.* 2010, Segovia *et al.* 2012 ).

#### Liteture cited

Abarzúa, A. M., C. Villagrán, and P. I. Moreno. 2004. Deglacial and postglacial climate history in east-central Isla Grande de Chiloé, southern Chile (43 degrees S). *Quaternary Research* 62: 49 – 59.

Aceituno, P. 1990. Anomalías climáticas en la Región Sudamericana durante los extremos de la Oscilación Austral. *Revista de Geofísica* 32: 65-78.

Allnutt, T. R. , A. C. Newton, A. Lara, A. Premoli, J. J. Armesto, R. Vergara , And M. Gardner. 1999. Genetic variation in *Fitzroya cupressoides* (alerce), a threatened South American conifer. *Molecular Ecology* 8: 975 – 987.

Armesto, J.J. & J.A. Martinez. 1978. Relations between vegetation structure and slope aspect in the mediterranean region of Chile. *Journal of Ecology* 66: 881-889.

Armesto, J.J., León P. & Arroyo M. K. (1996) Los bosques templados del sur de Chile y Argentina: una isla biogeográfica. In: *Ecología de los bosques nativos de Chile* (eds J. J. Armesto, C. Villagrán and M. K. Arroyo) pp. 23-8. Vicerrectoría Académica y Estudiantil, Universidad de Chile. Editorial Universitaria, Santiago.

- Bull-Hereñu K, Martínez EA, Squeo FA (2005) Structure and genetic diversity in *Colliguaja odorifera* Mol. (Euphorbiaceae), a shrub subjected to Pleistocene-Holocene natural perturbations in a Mediterranean South American region. *Journal of Biogeography* 32: 1129–1138.
- Bennett, K. D., And J. Provan. 2008. What do we mean by “refugia”? *Quaternary Science Reviews* 27: 2449 – 2455.
- Burban, C. , R. J. Petit, E. Carcreff, And H. Jactel. 1999. Rangewide variation of the maritime pine bast scale *Matsucoccus feytaudi* Duc. (Homoptera: Matsucoccidae) in relation to the genetic structure of its host. *Molecular Ecology* 8: 1593 – 1602.
- Clement, M. , D. Posada, And K. A. Crandall. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657 – 1659.
- Comps, B. , D.Gömö Ry, J. Letouzey, B. ThiéBaut, And R. J. Petit. 2001. Diverging trends between heterozygosity and allelic richness during postglacial colonization in the European beech. *Genetics* 157: 389 – 397.
- Demesure, B. , N. Sodzi, And R. J. Petit. 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.
- Denton, G. H. , T. V. Lowell, C. J. Heusser, C. Schluchter, B. G. Andersen, L. E. Heusser, P. I. Moreno, And D. R. Marchant. 1999. Geomorphology, stratigraphy, and radiocarbon chronology of Llanquihue drift in the area of the southern Lake

District, Seno Reloncavi, and Isla Grande de Chiloe, Chile. *Geografiska Annaler Series a-Physical Geography* 81A: 167 – 229.

Dupanloup, I., S. Schneider, and L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11 : 2571 – 2581.

Excoffier, L., P. E. Smouse, and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes — Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131 : 479 – 491 .

Figueroa, J.A., H.M. Cabrera, C. Queirolo & L.F. Hinojosa. 2010. Variability of water relations and photosynthesis in *Eucryphia cordifolia* Cav. (Cunoniaceae) over the range of its latitudinal and altitudinal distribution in Chile. *Tree Physiology* 30 (5): 574-585.

Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.

Fuentes, E.R., R.D. Otaiza, M.C. Alliende, A. Hoffman & A. Poiani. 1984. Shrub clumps in the Chilean matorral vegetation: structure and possible maintenance mechanisms. *Oecologia* 62: 405-411.

Grivet, D. , B. Heinze, G. G. Vendramin , And R. J. Petit. 2001. Genome walking with consensus primers: Application to the large single copy region of chloroplast DNA. *Molecular Ecology Notes* 1: 345 – 349.

- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequences alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95 – 98.
- Heusser, C. J. 1983. Quaternary pollen record from Laguna de Tagua Tagua, Chile. *Science* 219: 1429-1432.
- Heusser, C. J. 1990. Ice-Age Vegetation and Climate of Subtropical Chile. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 80: 107-127.
- Hewitt, G 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*.
- Hewitt, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. Linnean Society of London 58: 247 – 276.
- Jara-Arancio, P., M.R. Carmona, C. Correa, F.A. Squeo and G. Arancio. 2012. Leaf morphological and genetic divergence in populations of *Drimys* (Winteraceae) in Chile. *Genetics and Molecular Research* 11(1): 229-243.
- Kaplan, M. R. , P. I. Moreno, And M. Rojas. 2008. Glacial dynamics in southernmost South America during Marine Isotope Stage 5e to the Younger Dryas chron: A brief review with a focus on cosmogenic nuclide measurements. *Journal of Quaternary Science* 23: 649 – 658.
- Lamy, F., D. Hebbeln, And G. Wefer. 1999. High-resolution marine record of climatic change in mid-latitude Chile during the last 28,000 years based on terrigenous sediment parameters. *Quaternary Research* 51: 83-93.



- Librado, P. , And J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics (Oxford, England)* 25: 1451 – 1452.
- Maldonado, A., And C. Villagran. 2002. Paleoenvironmental changes in the semiarid coast of Chile (similar to 32 degrees S) during the last 6200 cal years inferred from a swamp-forest pollen record. *Quaternary Research* 58: 130-138.
- Marchelli, P. , And L. Gallo. 2006. Multiple ice-age refugia in a southern beech of South America as evidenced by chloroplast DNA markers. *Conservation Genetics* 7: 591 – 603.
- Marchelli, P. , L. Gallo, F. Scholz, And B. Ziegenhagen. 1998. Chloroplast DNA markers reveal geographical divide across Argentinean southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. distribution area. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 642 – 646.
- Markgraf V., McGlone M. & Hope, G. (1995) Neogene paleoenvironmental and paleoclimatic change in southern temperate ecosystems – a southern perspective. *Trends Ecol. Evol.* 10, 143-7.
- McGlone, M. S. 1996. When history matters: Scale, time, climate and tree diversity. *Global Ecology and Biogeography Letters* 5: 309 – 314.
- Miller, M.P. 2005. Alleles In Space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information . *Journal of Heredity*, 96 , 722 – 724 .

- Moreno, P. I. 2004. Millennial-scale climate variability in northwest Patagonia over the last 15000 yr. *Journal of Quaternary Science* 19: 35 –47.
- Núñez- Ávila, M. C., And J. J. Armesto. 2006. Relict islands of the temperate rainforest tree *Aextoxicon punctatum* (Aextoxicaceae) in semiarid Chile: Genetic diversity and biogeographic history. *Australian Journal of Botany* 54: 733 – 743.
- Petit, R. J. , U. M. Csaikl, S. Bordacs, K. Burg, E. Coart, J. Cottrell, B. Van Dam, *et al.* 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks — Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management* 156: 5 – 26.
- Pons, O., And R. J. Petit. 1995. Estimation, variance and optimal sampling of gene diversity. 1. Haploid locus. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 462 – 470.
- Pons, O., And R. J. Petit. 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144:1237 – 1245.
- Premoli, A. C. , T. Kitzberger , And T. T. Veblen. 2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography* 27: 251 – 260.
- Premoli, A. C. , R. Vergara, C. P. Souto, A. Lara, And A. C. Newton. 2003. Lowland valleys shelter the ancient conifer *Fitzroya cupressoides* in the Central Depression of southern Chile. *Journal of the Royal Society of New Zealand* 33: 623 – 631.

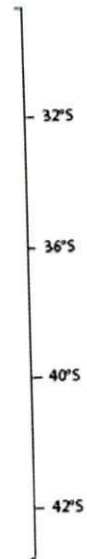
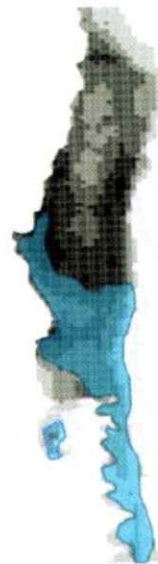
- Qian, H., and R. E. Ricklefs. 1999. A comparison of the taxonomic richness of vascular plants in China and the United States. *American Naturalist* 154: 160-181.
- Qian, H., And R. E. Ricklefs. 2000. Large-scale processes and the Asian bias in species diversity of temperate plants. *Nature* 407: 180 – 182.
- Quiroga, M. P. , And A. C. Premoli. 2010. Genetic structure of *Podocarpus nubigena* (Podocarpaceae) provides evidence of Quaternary and ancient historical events. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 285: 186 – 193.
- Ricklefs, R. E. , R. E. Latham, And H. Qian. 1999. Global patterns of tree species richness in moist forests: Distinguishing ecological influences and historical contingency. *Oikos* 86: 369–373. '
- Rodríguez, R.R. O, J. Matthei, and M. Quezada. 1983. *Flora arbórea de Chile*. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Salgado, B., F. Pérez, L. Markesteijn, M. Jiménez, J.J. Armesto. 2012. Diverging drought-tolerance strategies explain tree species distribution along a fog-dependent moisture gradient in a temperate rain forest. *Oecología*. DOI 10.1007/s00442-013-2650-7
- Shaw, J., E. B. Lickey, E. E. Schilling, and R. L. Small. 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.

- Schmithüsen J. (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen Vegetation. Bonn. Geogr. Abh. 17, 1-86.
- Segovia, R.A., Pérez, M.F. and Hinojosa, L.F. 2012. Genetic Evidence For Glacial Refugia Of The Temperate Tree *Eucryphia Cordifolia* (CUNONIACEAE) In Southern South America. American Journal of Botany 99(1): 121-129.
- Taberlet, P. , L. Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 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.
- Veit, H. 1994. Estratigrafía y suelos en el centro-sur de Chile. Revista Chilena de Historia Natural (Valparaiso, Chile) 67: 395 – 403.
- Veit, H., and K. Garleff. 1996. Evolución del paisaje Cuaternario y los suelos en Chile central-sur. In J. J. Armesto, C. Villagrán, and M. Kalin [eds.], Ecología de los bosques nativos de Chile, 23–49. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Villa-Martinez, R., C. Villagran, and B. Jenny. 2003. The last 7500 cal yr BP of westerly rainfall in Central Chile inferred from a high-resolution pollen record from Laguna Aculeo (34 degrees S). Quaternary Research 60: 284-293.
- Villagrán, C. 1991. History of the temperate forests of southern Chile during the Late-Glacial and Holocene, Revista Chilena de Historia Natural (Valparaiso, Chile) 64: 447 – 460.

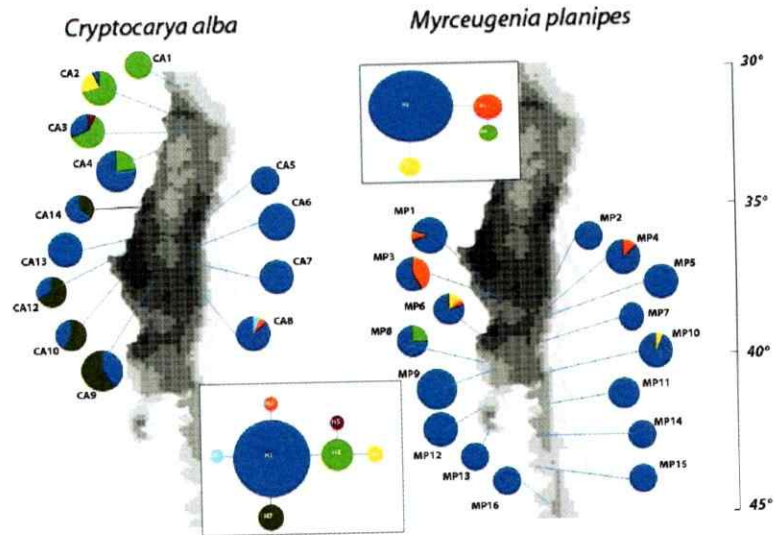
- Villagrán, C. 1994. Quaternary history of the Mediterranean vegetation of Chile. In M. Kalin, P. Zedler, and M. Fox [eds.], Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystem in Chile, California and Australia, 3–20. Springer-Verlag, New York, USA.
- Villagrán C. 2001. A model for the history of vegetation of the Coastal Range of central-southern Chile: Darwin's glacial hypothesis. *Revista Chilena De Historia Natural* 74: 793-803.
- Villagrán C. & Hinojosa L. F. (1997) History of the forests of southern South America II: Phytogeographical analysis. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 70, 241-67.
- Villagrán C., Varela J., Fuenzalida H., Veit H., Armesto, J.J. & Aravena J.C. (1993b) Geomorphological and vegetational background for the analysis of the Quaternary of the Lake District. In: Field guide of International Workshop "The Quaternary of Chile" (ed C. Villagrán) pp. 1-50. Red Latinoamericana de Botánica edition, Santiago de Chile.
- Villagrán C., Le-Quesne C., Aravena J.C., Jiménez H. & Hinojosa L. F. (1998) El rol de los cambios de clima del Cuaternario en la distribución actual de la vegetación de Chile central-sur. *Bam. Geograph.* 15, 227–42.
- Wakasugi, T., J. Tsudzuki, S. Ito, K. Nakashima, T. Tsudzuki, and M. Sugiura. 1994. Loss of all *ndh* genes as determined by sequencing the entire chloroplast genomes of the black pine *Pinus thunbergii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 91: 9794 – 9798.

Willis, K. J., And R. J. Whittaker. 2002. Ecology: Species diversity—Scale matters. *Science* 295: 1245–1248.

## Figures

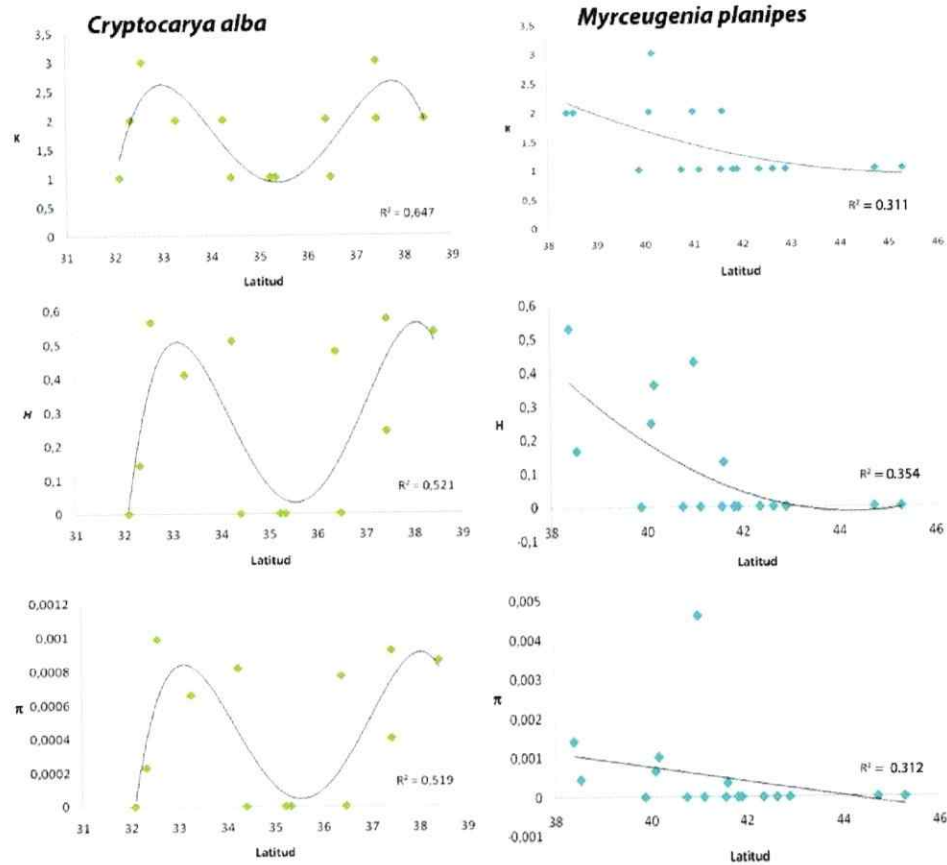
*Cryptocarya alba**Myrceugenia planipes*

**Figure 1.** Present distribution of *Cryptocarya alba* and *Myrceugenia planipes*.



**Figure 2.** Geographic distribution and genealogical relationships of the seven cpDNA haplotypes found in *Cryptocarya alba* and four cpDNA haplotypes found in *Myrceugenia planipes*. Pie charts reflect the frequency of occurrence of each haplotype in each locality. Haplotype colors correspond to those shown in the network. Pie chart sizes are proportional to the number of individuals analyzed in each population. Statistical parsimony network linking the haplotypes for each species. Circle sizes are proportional to haplotype frequencies. Each line represents one mutational step.





**Figure 3.** Latitudinal variation in the number of haplotypes (K), Haplotypic diversity (H) and Nucleotidic diversity for *Cryptocarya alba* and *Myrceugenia planipes* population. A linear and nonlinear regression function were adjusted.

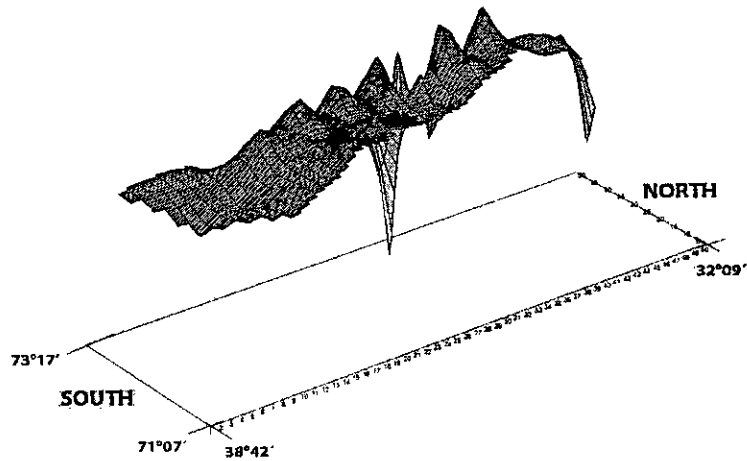
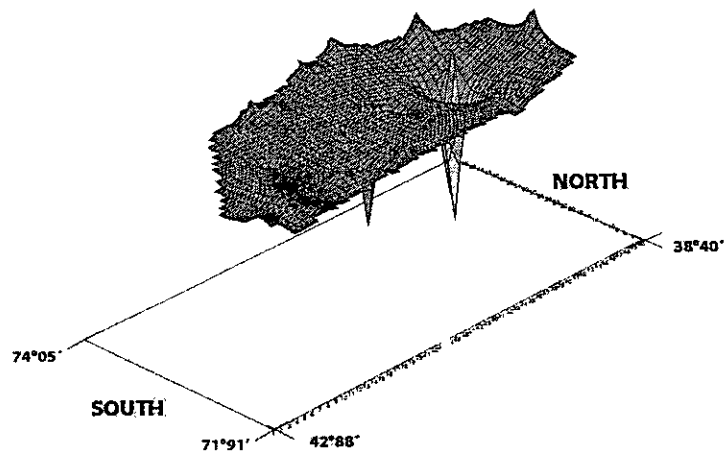
*Cryptocarya alba**Myrceugenia planipes*

Figure 4. Genetic landscape of *Cryptocarya alba* and *Myrceugenia planipes*. The landscape is standardized with a grid of 50 × 50 cells, comprising the geographic range covering all localities collected. The peaks and depressions of the surface indicate the magnitude of genetic distance.



Tables

Code	Locality	Latitude S	Longitude W	Alt	cpDNA			$\pi$
					n	K	H	
CA1	Cerro Santa Inés	32.094	71.288	443	13	1	0	0
CA2	Zapallar	32.329	71.273	76	14	2	0.143	0.00023
CA3	La Campana	32.671	71.071	450	13	3	0.564	0.00099
CA4	Quebrada de Córdoba	33.266	71.397	70	12	2	0.409	0.00066
CA14	Pichilemu	34.245	71.583	91	11	2	0.509	0.00082
CA5	Sierras de Bellavista	34.407	49.613	629	12	1	0	0
CA13	Constitución	35.217	72.263	306	12	1	0	0
CA6	Mariposa - San Clemente	35.326	71.217	314	12	1	0	0
CA12	Bellavista - Tomé	36.387	72.569	12	15	2	0.478	0.00077
CA7	Los Pellines	36.479	71.442	597	8	1	0	0
CA8	Rucalhue	37.428	71.539	275	16	3	0.242	0.0004
CA10	Carmávida - Cayucupil	37.436	73.175	300	7	2	0.571	0.00092
CA9	Cerro Nielol	38.425	71.555	190	15	2	0.533	0.00086
					160			
MP3	Rucamanque	38.396	72.363	339	12	2	0.53	0.00142
MP1	Las Nochas	38.541	73.336	631	12	2	0.167	0.00045
MP2	Puerto Fuy	39.877	71.906	650	15	1	0	0
MP4	Caunahue	40.092	72.095	541	15	2	0.248	0.00066
MP6	Cordillera Pelada	40.161	73.608	280	15	3	0.362	0.00102
MP5	Puyehue	40.742	72.299	487	14	1	0	0
MP8	Sarao Oeste	40.967	73.649	465	8	2	0.429	0.0046
MP7	La Picada	41.105	72.176	600	14	1	0	0
MP9	Lolcura	41.558	73.556	20	15	1	0	0
MP10	Alerce Andino	41.594	72.596	126	15	2	0.133	0.00036
MP12	Senda Darwin	41.811	73.831	24	15	1	0	0
MP11	Homoplén	41.891	72.391	197	14	1	0	0
MP14	Pumalín	42.342	72.353	9	15	1	0	0
MP12	Cucao	42.623	74.085	5	14	1	0	0
MP13	Detico	42.885	73.531	44	14	1	0	0
MP15	Puerto Cisnes	44.721	72.674	22	15	1	0	0
MP16	Aiken	45.281	72.436	41	15	1	0	0
					237			

Table 1. Geographic location, altitude (Alt), sample size (n) and measurements of genetic diversity of 13 population of *Cryptocarya alba* and 17 populations of *Myrceugenia planipes* in Chile. The index of cpDNA diversity are: K = number of haplotypes; H = haplotype diversity;  $\pi$  = nucleotide diversity.

	Individuals	Populations	Mean within-population diversity			Total diversity		
			K	H	$\pi$	K	H	$\pi$
<i>Cryptocarya alba</i>								
Northwest	53	4	2 (0,82)	0,273 (0,251)	0,00046 (0,00044)	3	0,440 (0,056)	0,00073
South - Coastal			1,8		0,00067		0,082	
Range	48	5	(0,45)	0,418 (0,236)	(0,00038)	3	(0,054)	0,00013
South - Andean							0,501	
Range	55	4	1,5 (1)	0,06 (0,121)	0,0001 (0,0002)	2	(0,021)	0,00081
<i>Myrceugenia planipes</i>								
North - Coastal							0,314	
Range	62	5	2 (0,71)	0,298 (0,203)	0,0015 (0,00182)	4	(0,072)	0,00219
North - Andean			1,4				0,081	
Range	73	5	(0,55)	0,0762 (0,112)	0,0002 (0,0003)	3	(0,044)	0,00036
South	79	7	1 (0)	0	0	1	0	0

**Table 2.** Mean within-population diversity and total diversity in three delimited geographic regions. K = number of haplotypes; H = haplotypic diversity;  $\pi$  = nucleotide diversity. Standard deviations are indicated in parentheses.

**CAPÍTULO 2**

**Biogeographic anomalies in the species richness of Chilean forests: incorporating evolution into a climatic-historic scenario**

RICARDO A. SEGOVIA<sup>1,2\*</sup>, LUIS F. HINOJOSA<sup>1,2</sup>, MARÍA F. PÉREZ<sup>2,3</sup> AND  
BRADFORD A. HAWKINS<sup>4</sup>

*<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) (segovia@ug.uchile.cl); <sup>3</sup>Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, and <sup>4</sup>Department of Ecology & Evolutionary Biology, University of California, Irvine, USA*

\*Corresponding author: Ricardo Segovia, Las Palmeras #3425, Ñuñoa, Santiago de Chile 7800024.

Phone number: 56-2-9787359

Email: segovia@ug.uchile.cl

Running title: Tree richness gradient in Chile

**Abstract** Broad-scale richness gradients are closely associated with temperature and water availability. However, historical and evolutionary processes have also contributed to shape current diversity patterns. In this paper we focus on the potential influences of Pleistocene glaciation and phylogenetic niche conservatism (the tendency for traits to be maintained during diversification) on the tree diversity gradient in Chile, and we quantify its primary climatic correlates. Tree species richness is greatest at mid latitudes, particularly in the Andes and Coastal ranges, and decreases abruptly to the south and north. Regression tree analysis identified annual precipitation and annual temperature as the primary probable drivers of this gradient. Ice cover during the Last Glacial Maximum was also identified as an "important" variable, but the contemporary and historical predictors are strongly collinear. Geographically weighted regression indicated that the relationships between richness and environmental variables vary regionally: the relationship between tree richness and precipitation is stronger in north-central Chile, whereas tree richness and temperature is most strongly associated in south-central Chile. By assigning each species the age of the family to which it belongs and averaging all species in each geographical unit, we also found that species from the oldest families are distributed mainly in mid to high latitudes and species from younger families are distributed mainly at lower latitudes. This pattern is closely associated with annual precipitation. Thus, the ecological component of tree richness follows contemporary climatic gradients of both energy and water, but the aridification of the Atacama Desert was an important driver over evolutionary

time. The influence of recent Pleistocene glaciation remains unresolved but it cannot be discounted.



## INTRODUCTION

Broad-scale species richness gradients are closely associated with contemporary climate, primarily temperature and water availability (Wright *et al.* 1993, Hawkins and Porter 2003; Hawkins *et al.* 2003). This relationship, however, is not stationary: temperature tends to drive diversity gradients at high latitudes, whereas precipitation is more important at low latitudes (Hawkins *et al.* 2003). Some authors claim that the richness of species assemblages can be understood without recourse to historical or evolutionary processes (Francis and Currie 2003). However, this position has been criticized because ecological and evolutionary processes generating correlations between climate and taxon richness can be strongly collinear (Qian and Ricklefs 2004; Hawkins *et al.* 2011). Besides, regional effects in comparisons of local diversity are consistent with the idea that regional evolutionary processes and historical events may also influence species richness, creating diversity "anomalies" among ecologically comparable environments (Ricklefs *et al.* 1999).

One prominent historical hypothesis is related to distributional changes associated with Quaternary glaciations (Currie 1991; Montoya *et al.* 2007). The expectation is that species richness in areas that were covered by ice during the last glacial period (ca. 21 kya) will be lower than in areas that were not covered by ice, due to recolonization lags by some taxa. Recent support for this hypothesis has been reported for northern North American mammals and birds (Hawkins and Porter 2003); southern South American mammals and butterflies (Samaniego and Marquet 2009); and Holarctic trees (Montoya *et al.* 2007),

although historical effects are expected to be relatively small compared to those of current climate.

A hypothesis that appeals to an evolutionary mechanism, phylogenetic niche conservatism, is becoming increasingly invoked to explain global diversity gradients based on their phylogenetic structures (Hawkins *et al.* 2008; Wiens *et al.* 2010). For example, Hawkins *et al.* (2011) found that the spatial pattern of average ages of arboreal angiosperm families is fully consistent with the Tropical Conservatism Hypothesis (TCH, Wiens and Donoghue 2004). That is, the age of the families is positively correlated with the diversity gradient equator-poles. Assuming a tropical origin for angiosperms (Crane and Lidgard 1989), and that, at biogeographic scales, the evolution of cold tolerance represents the key innovation that permitted only a limited number of clades to persist in temperate zones after the global cooling initiated at the end of the Eocene (Latham and Ricklefs 1993; Ricklefs 2005; Donoghue 2008), older clades should be located in lower latitudes and younger clades in higher latitudes (Wiens and Donoghue 2004, Ricklefs 2006). Although this pattern has been described on a global scale, it appears to be clearer in the northern hemisphere than in the southern hemisphere. Apparently, the southern temperate forests presented similar or even older average ages than the tropical regions of the same continent (see Hawkins *et al.* 2011). Spatial structure in clade sorting and radiations due to historical patterns of climate change can at least partially underlie correlations between richness and current climate, however, a more detailed analysis of the characteristics of each region may show anomalous

relationships between attributes that could explain the evolutionary history of their associated biota.

In this paper we focus the analysis of plant diversity on the Pacific margin of southern South America (between 18°S and 55°S), encompassing a diversity of climate and vegetation formations. The presence of the Atacama Desert in the north of Chile generates a strongly non-linear latitudinal climatic gradient with respect to energy and water, very cold and wet to the south, relatively warm and wet in the mid-latitudes, and hot and dry in the tropics (Di Castri and Hajek 1979, Luebert and Pliscoff 2006). Thus, trees are dense enough to form closed canopy forest only from mid latitudes to the south (30°S to 55°S). Due to the climatic structure of Chile (and of southern South America in general), its forests represent a biogeographic "island", separated from other forest formations by more than 1000 km of arid and semiarid zones (Villagrán 1993a, 1995; Armesto et al. 1996; Villagrán and Hinojosa 1997; Hinojosa et al. 2006). These forests were, however, continuous with other Neotropical forests before the development of the arid diagonal of South America (Garleff et al. 1991; Villagrán and Hinojosa 1997; Abraham 2000). The interruptions in the distribution of these forests date back to the Plio-Pleistocene transition, resulting from the strong rain shadow effect produced by the Andean uplift (Villagrán; 1993a, 1995; Villagrán and Hinojosa 1997). Due to their prolonged isolation, these forests are characterized by a high proportion (32%) of endemic genera (Arroyo *et al.* 1995; Villagrán and Hinojosa 1997; Hinojosa *et al.* 2006). Further, the emergence of arid and semiarid climates in this region have triggered a set of evolutionary processes to adapt to these new conditions (Arroyo et al. 1995).

Southern South American forests are composed of a mixture of paleofloras with variable origins and histories (Schmithüsen 1956; Villagrán and Hinojosa 1997). Fossil records indicate that during the Paleocene this region supported a widespread tropical flora (Hinojosa and Villagrán 1997). Then, a flora preadapted to cool temperate conditions, which was widely distributed in Gondwana (Poole *et al.* 2003), joined in this area during the mid-Eocene, associated with a northward displacement of vegetational belts (Hinojosa 2005a; Hinojosa *et al.* 2006). During the late Eocene and early Miocene, a mixed paleoflora, with similar proportions of Neotropical, Australasian and Australantarctic elements, established in response to colder and drier conditions arising from Antarctic glaciation and the drop of global temperature (Zachos *et al.* 2001; Hinojosa 2005b). At present, one third of the woody genera in southern South America are related to ancient paleofloras that occupied southern South America in pre-Quaternary times (Villagrán and Hinojosa 1997; Wardle *et al.* 2001; Hinojosa *et al.* 2006).

In general, the vegetation of the southern hemisphere has a number of features that differentiate it from those of equivalent latitudes in the northern hemisphere, and their distinctiveness is usually attributed to a historical legacy associated with differing climatic (Markgraf *et al.* 1995) and phylogenetic histories (McGlone *et al.* 2010; Hinojosa *et al.* 2011). For example, southern South American forests show interesting biogeographic anomalies, including their richness gradient, with the concentration of woody species richness between 36°S and 40°S and an abrupt pauperization both south and north of this region (Villagrán 1993b, 1995; Markgraf *et al.* 1995; Villagrán and Hinojosa

1997 Villagrán *et al.* 1998). This pattern has been explained by the influence of Quaternary climate dynamics over the distributional ranges of these forests, both by the impact of the drop in temperature and the presence of piedmont glaciers to the south (Villagrán 1993b; Markgraf *et al.* 1995; Villagrán and Hinojosa 1997), and the fragmentation in response to pulses of aridity to the north (Villagrán 1995; Villagrán *et al.* 1998). Other anomalous patterns have also been described, such as a high incidence of entire margin leaves (Hinojosa *et al.* 2011), and plant–animal mutualisms (Armesto and Rozzi 1989; Aizen and Ezcurra 2008). These anomalies have been explained as historical legacies associated with the persistence of lineages of Neotropical origins.

In this study we assess geographical patterns in tree species richness (total and distinguished by phytogeographic affinities) and family ages in order to understand how the current biogeographic patterns of this region represent the influence of current climate and historical or evolutionary legacies, both from Quaternary and pre-Quaternary periods. Specifically, we ask: (1) Do the environmental correlates of species richness vary spatially across the climatic structure of Chile? (2) Have Pleistocene glaciations affected the tree richness gradients? (3) Is the species richness gradient associated with the history of successions of paleofloras with different origins during the pre Quaternary? (4) Is the diversity gradient correlated with the age of the families? Particularly, we expect that, as has been shown globally, rainfall should be the most influential variable on the gradient of species richness in lower latitudes, and that temperature should gain influence to the south. Secondly, we expect that if the forests experienced areal contractions in response to the climate changes of ice

ages, then a historical variable as the extent of glaciers during the LGM should correlate positively with the loss of species richness in the affected area. Also, because deserts are relatively new, and these forests show a mixed floristic composition, we expect an anomalous pattern in this region with respect to the global distribution of family ages, i.e., newer families in the deserts, and more ancient families in the central areas, which have the highest species richness.

## **METHODS**

### **Data**

**Species richness**— The geographic richness pattern was derived from the 102 tree species (>2 m tall) recognized by FLORA ARBOREA (Rodriguez *et al.* 1983). A GIS database was constructed using the collection points registered in the Herbarium of University of Concepción (CONC) and the records of the Laboratory of Paleoecology of the University of Chile. The geographic distribution of each species was represented by the minimum area polygon that best fitted the distribution of collection points. Species richness was then calculated using a grid with a 50 by 50 km grain for analysis. Only cells that had at least 75 % of their area within Chile were used for analysis. A finer grain of 10 x 10 km was used for mapping.

Genus phylogeographic affiliation— Each genus was grouped according to its biogeographic affiliation. Thus, species richness was calculated for each of the groups as classified by Hinojosa (2005b, 2006): Endemic, Tropical (the sum of Neotropical and Pantropical genera) and Austral (the sum of Austral-Antarctic and Australasian genera). These affiliations are defined by Hinojosa *et al.* (2006) as following: (1) Austral-Antarctic – temperate elements (AA): genera with disjunct distributions at mid and high latitudes of the southern hemisphere, including New Zealand, Tasmania, south-east and southern Australia, and southern South America (e.g. *Eucryphia*, *Laurelia*). (2) Australasian tropical elements (AU): genera distributed in southern hemisphere areas, occasionally extending their range into tropical regions of the Americas. (3) Neotropical elements (N): genera with disjunct distributions in southern South American forests and montane forests of the eastern Andes (NW Argentina, Bolivia and Peru) and/or the Atlantic coast of southern Brazil, sometimes extending to Central America (e.g. *Azara*, *Myrceugenia*). (4) Pantropical elements (P): genera occurring in the circumtropical belt, incorporating South America, Indo-Malaysia, Africa and Madagascar (e.g. *Prosopis*, *Cryptocarya*). Some of these genera are absent from tropical Australasia. (5) Endemic elements (E): genera presently restricted to Chilean subtropical and temperate forests, south of 30°S. Widespread elements were not included in the classification.

Families average ages— Family ages were obtained from a dated version of the megatree of Davies *et al.* (2004) (available at [http://www.phylodiversity.net/phyloomatic/davies\\_dated.new](http://www.phylodiversity.net/phyloomatic/davies_dated.new); accessed March,

2012). Each species was assigned the age of its family, and ages were averaged across all species in each grid cell.

**Environmental data**— Six climatic variables expected to potentially influence tree diversity were extracted from the 30 arc second database in WorldClim (Hijmans *et al.* 2005): Annual Mean Temperature; Minimum Temperature of Coldest Month; Annual Precipitation; Precipitation Seasonality (Coefficient of Variation in Monthly Precipitation); Precipitation of Warmest Quarter; and cell Range in Temperature (the highest Annual Temperature pixel – the lowest Annual Temperature pixel in each cell). To explore possible glacial influences on the richness gradient, cells under ice at the Last Glacial Maximum (LGM, 21 kya) were registered based on the model put forward by Holling and Schilling (1981). A total of 33% cells would have been covered by ice.

### **Analytical protocols**

We combined two analytical approaches to evaluate climatic and historical influences on tree richness patterns. First, spatial heterogeneity in the relationships between tree richness and climate variables (non-stationarity) was quantified with geographically weighted regressions (GWR, Fotheringham *et al.* 2002). For all models a Gaussian function was assumed for the decay of the weight with distance, with a fixed bandwidth obtained using the AIC-based optimization algorithm (Burnham and Anderson 2002) included in SAM 4.0 (Rangel *et al.* 2010). Because of the extreme non-stationarity of the relationships among predictors and response variables identified by the GWR's



(see below), neither OLS regression nor spatially explicit autoregression would be informative and so were not used.

Regression trees (Breiman *et al.* 1984) were generated for species richness and average family age patterns to evaluate the detailed structure of the data. Regression trees are well suited for data that contains both continuous and categorical predictors and complex response surfaces. They also work well for spatially structured data and can explicitly partition trans-scalar relationships between environmental variables and ecological response variables. Because all possible alternative variable splits are evaluated at each branch of the tree, the relative contributions of collinear predictors can be quantified using variable importance values. The tree was pruned using v-fold cross validation, and we reported variance improvement (the sum of variances explained across the entire tree by each variable), variable importance (the degree of masking of collinear predictors), and cross-validated relative error (a metric of model fit). The trees were generated using CART v. 6.6 (Salford Systems, San Diego, CA).

## RESULTS

### Geographic patterns

Tree species richness is greatest at mid-latitudes, particularly in mid-altitudes of the Andes and coastal ranges, and decreases abruptly to the south and north (Fig. 1a). The distribution of species richness calculated for the biogeographic affinity groups is similar to the general pattern, that is, most

species near the centre of the country and few to the north and to the south (Fig. 2). Furthermore, this pattern indicates that the Tropical flora is the only element present in the Atacama Desert, with a tendency to be distributed mainly in north-central Chile, while Austral flora shows a tendency to be distributed mainly in south-central Chile (Fig. 2). In contrast, the gradient of average family age is monotonic, with older average ages in the south and younger ages in the north (Fig. 1b).

### **Species richness and current environmental variables**

Relation between species richness is non stationary with climate (Fig. 3a, 3b). The correlation between tree richness and temperature (measured by the local regression coefficient) is most strongly positive in south-central Chile (Fig. 3a). This is associated with the drop in tree species richness from the centre of diversity to the south. In the rest of Chile the relationship between temperature and richness is weakly negative. The relationship between tree richness and precipitation is strongest in north-central Chile (Fig. 3b). As with temperature, this precipitation gradient represents a drop in diversity from the central richness peak, but towards north rather than south. The steep rainfall gradient from the central region to the Atacama Desert accounts for this. In the rest of Chile the relationship between precipitation and richness is close to zero or weakly negative in the extreme north and south.

### **Richness and glacial influence**

The environmental regression tree for species richness had 26 terminal branches and identified annual precipitation as having the most explanatory power, with ice cover at the LGM ranking second (Fig. 4). The model had a relatively low error rate of <8%. Although the final tree was dominated by precipitation, the variable importance values indicated that the "effect" of annual temperature on tree richness was the strongest across all alternative splits in the tree, whereas LGM ice cover had a moderate importance. Thus, the contemporary and historical predictors are substantially collinear, making it difficult to evaluate unambiguously relationships between species richness and past vs. present environmental drivers or the dominant contemporary variable. On the other hand, cell range in temperature—our measure of the strength of climatic gradients up the sides of the mountains—was essentially absent from our best model and had by far the lowest variable importance, indicating that the richness gradient across the entire country is dominated by macroscale climatic gradients rather than mesoscale gradients associated with the Andean and Coastal ranges.

### **Average family age and current environmental variables**

The regression tree for average age was substantially simpler than the regression tree for species, with 10 terminal branches (Fig. 5), indicating that

the data contained less structure than the richness regression tree across a wide range of scales. Model fit was also weaker than in the richness tree (relative error ca. 23%). Annual precipitation dominated the optimal tree and was clearly identified as the strongest predictor of average age of families among all alternative splits. As with the GWR's of richness, average age has a highly localized positive relationship with climate, with a strong local relationship with precipitation only in the Atacama Desert (Fig. 3c). This is consistent with the spatial pattern of age (Fig. 1b).

## DISCUSSION

Tree species richness is concentrated in the interface of the Mediterranean subtropical and temperate wet regions (36° S and 40° S), particularly in mid-altitudes of the Andes and Coastal ranges, and decreases abruptly to the south and north. This pattern has been previously described and has been considered a legacy of Quaternary glacial oscillations and the development of the Arid Diagonal of South America (Villagrán 1993b, 1995; Markgraf *et al.* 1995; Villagrán and Hinojosa 1997; Villagrán *et al.* 1998). A similar pattern, previously reported for mammals and butterflies, has been found to be strongly correlated with environmental variables (Samaniego and Marquet 2009; Hawkins 2010).

Annual temperature was the most important explanatory variable over the tree richness gradient of Chile based on the regression tree, but other variables, including annual precipitation, were also important; and the relationship between

each variable and the gradient changed with latitude (Fig. 3a, 3b). In northern Chile, where the Tropical elements of the flora tend to dominate (Fig. 2c; Schmithüsen 1956), changes in diversity were associated primarily with the rainfall gradient (see Fig 5b); whereas south of the richness centre, where the Austral elements (taxa with Australasian and Antarctic distributions, Hinojosa 2005b, Hinojosa *et al.* 2006) of the flora tend to dominate (Fig. 2b; Schmithüsen 1956), changes in diversity were associated primarily with annual temperature (Fig 5a). The latitudinal differences in diversity–environment relationships could reflect the biogeographic history of the region and the evolutionary responses of the species, but a latitudinal shift from temperature-driven diversity gradients at high latitudes to rainfall-driven diversity gradients at low latitudes has been hypothesized to be a global phenomenon (Hawkins *et al.* 2003).

Ice cover in the Last Glacial Maximum was the unique historical variable incorporated in our analysis, but covariation with current temperature gradients (the coldest areas during the Pleistocene remain the coldest areas today), makes it difficult to evaluate it unambiguously. This variable did enter the regression tree for richness where annual precipitation is high (at high latitudes), but current annual temperature still explained more variation over all competing splits (Fig 3). Patterns of southwards richness pauperization in southern South America (Villagrán and Hinojosa 1997) as well as in other southern hemisphere forests (Markgraf *et al.* 1995), have been attributed to the repeated process of range contraction and expansion in response to the glacial-interglacial cycles of the Pleistocene. In the case of Chile, pollen records from the Lake District and Chiloé (40°S–43°S) (Villagrán 1988; 1990; Heusser and Heusser 2006) and

phylogeographic studies (Segovia *et al.* 2012) show that the thermophilous taxa of the Temperate Rainforest contracted their ranges during cold phases, restricting themselves to areas of low to medium altitude of the Coastal range north of 40°S, whereas cold tolerant species were able to survive near the ice line and even further south (Mathiasen & Premoli 2010, Villagrán *et al.* 1998). Therefore, distributional changes associated with the LGM may not be sufficient to explain the contemporary gradient. Perhaps this hypothesis should be extended to repeated distributional changes associated with multiple Quaternary glacial cycles, but evaluating this would require an assessment of the extinction rates in the region during this period.

We found that the pattern of distribution of average ages in southern South America (defined at the family level) opposes the pattern described at the global scale (Hawkins *et al.* 2011). That is, trees from older families are distributed mainly in high latitudes; while trees from younger families are distributed mainly towards lower latitudes (see Fig 1b). This average age pattern did not follow the bell-shaped pattern of species richness, inconsistent with the TCH hypothesis, where the distribution of older families is expected to correlate with the richest areas. This could be explained by the extratropical origins of part of the flora (20% of Austral elements, Villagrán and Hinojosa 1997). When South America and Antarctica were connected during late Cretaceous, the area became a centre of floral diversification, with taxa often originating there before spreading to other southern areas (Hill 1994; Mildenhall 1980; Markgraf *et al.* 1995, 1996), a fact that would account for previous adaptations to cold in these lineages. These extratropical floras persisted in South America with

diversification and extinction rates lower than in the rest of the southern hemisphere, because this region showed more moderated climatic changes after the separation of Antarctica (Markgraf *et al.* 1995).

An alternative explanation for the pattern of average ages of families can be associated to the relatively recent development of extreme aridity in the tropics and the establishment of the Arid Diagonal of South America during the Neogene (between 15 and 10 Myr) (Hinojosa and Villagrán 1997). Hawkins *et al.* (2011) found that angiosperm families in the wet tropics were older, as expected by tropical niche conservatism hypothesis, but that deserts were occupied globally by species of younger families. Aridification and the establishment of the South American arid diagonal would have promoted evolutionary processes *in situ* associated with adaptation to aridity (Axelrod 1979; Arroyo *et al.* 1995). Meanwhile, the emergence of a Mediterranean climate in response to a trend to drier climates from Oligocene onwards progressively produced an essentially modern-looking flora with numerous arid and semi-arid sclerophyllous species evolving from the tropical-subtropical pool of taxa (Arroyo *et al.* 1995, Markgraf *et al.* 1995, 1996), which could be also contributing to the gradient of average family ages. There could be bias in using an arbitrary classification criterion, as the family rank, as well as in assigning ages to the origins of these families. However, this bias should be relatively low, since the definition of the clades and their relative ages are derived from a single phylogenetic megatree.

In sum, the contemporary species richness gradient for Chilean trees shares a number of commonalities with those of other regions, with strong associations of diversity and contemporary climatic gradients. The shift in the relative influences of temperature and rainfall on richness moving from high to low latitudes found in other parts of the world would also occur in the Southern Hemisphere. Besides, Pleistocene glaciations may have left a lingering influence on the contemporary tree richness gradient, as has been suggested for Northern Hemisphere forests. On the other hand, some aspects of Chilean tree richness may be unique to the region, including the tendency for species from older clades to dominate extra-tropical forests, and a flora comprising a complex mix of cool Austral, tropical and endemic elements with different origins. It is necessary to conduct quantitative comparisons to assess whether the age pattern found in Chile is repeated in the rest of the southern temperate forests, which would represent a Gondwanic legacy. But it is clear that to understand current distribution patterns we need to take into account the origins and evolution of the lineages that form these forests.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

We are grateful to Alicia Marticorena, for access to the collection of CONC Herbarium at Universidad de Concepción. The authors received support from



FONDECYT 1090339, 1120215; the Millennium Institute of Ecology and Biodiversity (IEB), grants P05-002 from Mideplan, and PFB 23 from CONICYT. Ricardo A. Segovia acknowledges CONICYT doctoral fellowship and MINEDUC-MECESUP funding.

## REFERENCES

- Abraham E.M., Garleff K., Liebricht H., Regairaz A.C., Schäbitz F., Squeo F.A., Stingl H. & Villagrán C. (2000) Geomorphology and paleoecology of the Arid Diagonal in southern South America. *Z Angew Geol.* **SH1**: 55-61.
- Aizen M. A. & Ezcurra C. (2008) Do leaf margins of the temperate forest flora of southern South America reflect a warmer past? *Glob. Ecol. Biogeogr.* **17**, 164-74.
- Armesto J. J. & Rozzi R. (1989) Seed dispersal syndromes in the rain-forest of Chiloe: evidence for the importance of biotic dispersal in a temperate rain forest. *J. Biogeogr.* **16**, 219-26.
- Armesto J. J., León P. & Arroyo M. K. (1996) Los bosques templados del sur de Chile y Argentina: una isla biogeográfica. In: *Ecología de los Bosques Nativos de Chile* (eds J. J. Armesto, C. Villagrán and M. K. Arroyo) pp. 23-8. Vicerrectoría Académica y Estudiantil, Universidad de Chile. Editorial Universitaria, Santiago.
- Arroyo M. T. K., Cavieres L. A., Marticorena C. & Muñoz-Schick M. (1995) Convergence in the Mediterranean floras in central Chile and California: insights

- from comparative biogeography. In: *Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California and Australia* (eds M. T. K. Arroyo, P. H. Zedler, M. D. Fox) pp. 43-88. Springer-Verlag, New York.
- Arroyo M. T. K., Riveros M., Peñaloza A., Cavieres L. A. & Faggi A. M. (1996) Phytogeographic relationships and regional richness patterns of the cool temperate rainforest flora of southern South America. In: *High-Latitude Rainforests and Associated Ecosystems of the West Coast of the Americas* (eds R. G. Lawford, P. B. Alaback and E. Fuentes) pp. 134-72. Springer-Verlag, New York.
- Axelrod D. (1979) Desert vegetation, its age and origin. In: *Arid Land Resources. International Center for Arid and Semi-Arid Land Studies* (eds J. R. Goodin and D. K. Northington) pp. 1-72. Texas University, Lubbock, Texas.
- Breiman L., Friedman J., Olshen R. & Stone C. (1984) *Classification and Regression Trees*. Chapman & Hall, New York.
- Burnham K. P. & Anderson D. R. (2002) *Model Selection and Inference: A Practical Information-theoretical Approach*. Springer-Verlag, New York.
- Crane P. R. & Lidgard S. (1989) Angiosperm diversification and paleolatitudinal gradients in Cretaceous floristic diversity. *Science* **246**, 675-8.
- Currie D. J. (1991) Energy and large-scale patterns of animal-species and plant-species richness. *Amer. Naturalist*. **137**, 27-49.
- Davies T. J., Barraclough T. G., Chase M. W., Soltis P. S., Soltis D. E. & Savolainen V. (2004) Darwin's abominable mystery: insights from a supertree of the angiosperms. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **101**, 1904-9.

- Di Castri F. and Hajek E. (1976) Bioclimatología de Chile. Vicerrectoría académica. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Donoghue M. J. (2008) A phylogenetic perspective on the distribution of plant diversity. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 11549-55.
- Fotheringham A. S., Brundson C. & Charlton M. (2002) Geographically Weighted Regression: The Analysis of Spatially Varying Relationship. John Wiley & Sons, Chichester.
- Francis A. P. & Currie D. J. (2003) A globally consistent richness-climate relationship for angiosperms. *Amer. Naturalist*. **161**, 523-36.
- Garleff K., Schäbitz F., Stingl H. & Veit H. (1991) Jungquartäre Landschaftsentwicklung und Klimageschichte beiderseits der Ariden Diagonale Südamerikas. *Bam. Geograph* **11**: 359-394.
- Hawkins B. A. (2010) Multiregional comparison of the ecological and phylogenetic structure of butterfly species richness gradients. *J. Biogeogr.* **37**, 647-56.
- Hawkins B. A. & Porter E. E. (2003) Relative influences of current and historical factors on mammal and bird diversity patterns in deglaciated North America. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **12**, 475-81.
- Hawkins B. A., Porter E. E. & Diniz J. A. F. (2003) Productivity and history as predictors of the latitudinal diversity gradient of terrestrial birds. *Ecology* **84**, 1608-23.
- Hawkins B. A., Rueda M. & Rodriguez M. A. (2008) What do range maps and surveys tell us about diversity patterns? *Folia Geobot.* **43**, 345-55.

- Hawkins B. A., Rodriguez M. A. & Weller S. G. (2011) Global angiosperm family richness revisited: linking ecology and evolution to climate. *J. Biogeogr.* **38**, 1253-66.
- Heusser C. J. & Heusser L. E. (2006) Submillennial palynology and palaeoecology of the last glaciation at Taiquemo (similar to 50,000cal yr, MIS 2-4) in southern Chile. *Quaternary Sci. Rev.* **25**, 446-54.
- Hijmans R. J., Cameron S. E., Parra J. L., Jones P. G. & Jarvis A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* **25**, 1965-78.
- Hill R. S. (ed.) (1994) History of the Australian vegetation: Cretaceous to Recent. University Press, Cambridge, 433 pp.
- Hinojosa L. F. (2005a) Did South American mixed paleofloras evolve under thermal equability or in the absence of an effective Andean barrier during the Cenozoic? *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* **27**, 1-23.
- Hinojosa L. F. (2005b) Climatic and vegetational changes inferred from Cenozoic southern South America paleoflora. *Rev. Geol. Chile* **32**, 95-115.
- Hinojosa L. F., Armesto J. J. & Villagran C. (2006) Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. *J. Biogeogr.* **33**, 331-41.
- Hinojosa L. F., Perez F., Gaxiola A. & Sandoval I. (2011) Historical and phylogenetic constraints on the incidence of entire leaf margins: insights from a new South American model. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **20**, 380-90.

Holling J. T. & Schilling D. H. (1981) Late Wisconsin-Wichselian mountain glaciers and small ice caps. In: *The Last Great Ice Sheets* (eds G. H. Denton and T. J. Hughes) pp. 179-206. Wiley, New York.

Latham R. E. & Ricklefs R. E. (1993) Continental comparisons of temperate-zone tree species diversity. In: *Species Diversity in Ecological Communities. Historical and Geographical Perspectives* (eds R.E. Ricklefs and D. Schluter) pp. 294-314. University of Chicago Press, Chicago.

Luebert F. & Pliscoff P. (2006) *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.

Markgraf V., McGlone M. & Hope, G. (1995) Neogene paleoenvironmental and paleoclimatic change in southern temperate ecosystems – a southern perspective. *Trends Ecol. Evol.* **10**, 143-7.

Markgraf V., Romero R. J. & Villagrán C. (1996) History and paleoecology of South American *Nothofagus* forests. In: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests* (eds T. T. Veblen, R. S. Hill and J. Read) pp. 354-86. New Haven, Yale University Press.

Mathiasen P. & Premoli A.C. (2010) Out in the cold: genetic variation of *Nothofagus pumilio* provides evidence for latitudinally distinct evolutionary histories in austral South America. *Mol. Ecol.* **19**, 371-385.

McGlone M. S., Richardson, S. J. & Jordan G. J. (2010) Comparative biogeography of New Zealand trees: species richness, height, leaf traits and range sizes. *N. Z. J. Ecol.* **34**, 137-51.

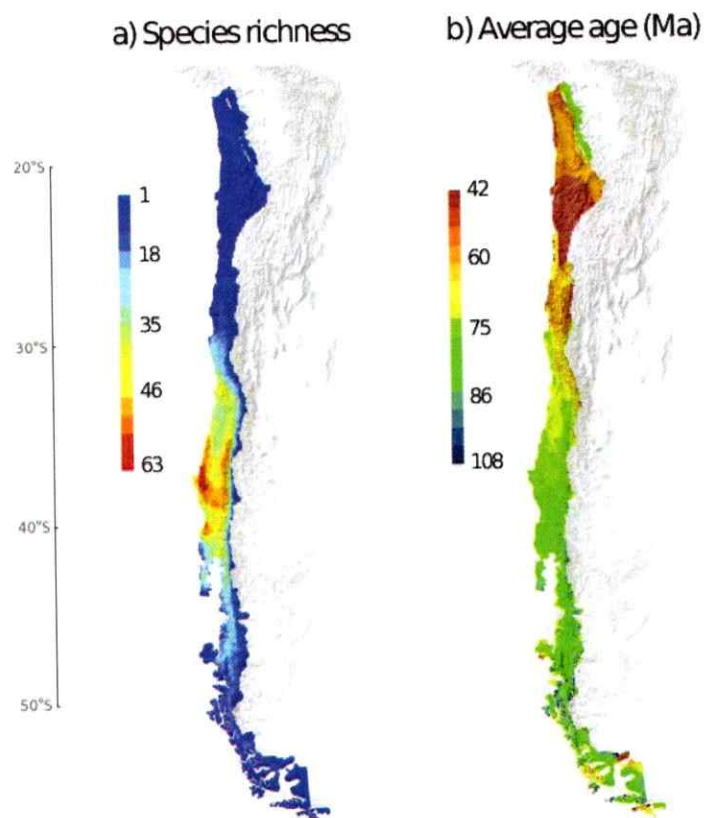
- Mildenhall D. C. (1980) New Zealand late Cretaceous and cenozoic plant biogeography: a contribution. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* **31**, 197-233.
- Montoya D., Rodríguez M. A., Zavala M. A. & Hawkins B. A. (2007) Contemporary richness of holarctic trees and the historical pattern of glacial retreat. *Ecography* **30**, 173-82.
- Poole I., Mennega A. M. W. & Cantrill D. J. (2003) Valdivian ecosystems in the Late Cretaceous and Early Tertiary of Antarctica: further evidence from myrtaceous and eucryphiaceous fossil wood. *Rev. Palaeobot. Palyno.* **124**, 9-27.
- Qian H. & Ricklefs R. E. (2004) Taxon richness and climate in angiosperms: Is there a globally consistent relationship that precludes region effects? *Amer. Naturalist.* **163**, 773-9.
- Rangel T. F., Diniz J. A. F. & Bini L. M. (2010) SAM: a comprehensive application for spatial analysis in macroecology. *Ecography* **33**, 46-50.
- Ricklefs R. E. (2005) Historical and ecological dimensions of global patterns in plant diversity. *Biologiske Skrifter* **55**, 583-603.
- Ricklefs R. E. (2006) Evolutionary diversification and the origin of the diversity-environment relationship. *Ecology* **87**, S3-S13.
- Ricklefs R. E., Latham R. E. & Qian H. (1999) Global patterns of tree species richness in moist forests: distinguishing ecological influences and historical contingency. *Oikos* **86**, 369-73.
- Rodríguez R. R., Matthei J. O. & Quezada M. M. (1983) Flora Arbórea de Chile. Universidad de Concepción, Concepción.

- Samaniego H. & Marquet P. A. (2009) Mammal and butterfly species richness in Chile: taxonomic covariation and history. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **82**, 135-51.
- Segovia R., Pérez M.F., Hinojosa, L.F. (2012) Genetic evidence for glacial refugia of the temperate tree *Eucryphia cordifolia* (Cunoniaceae) in southern South America. *Am. J. Bot.* **99**, 121-129.
- Schmithüsen J. (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen Vegetation. *Bonn. Geogr. Abh.* **17**, 1-86.
- Villagrán C. (1988) Late Quaternary vegetation of southern Isla Grande-de-Chiloe, Chile. *Quaternary Res.* **29**, 294-306.
- Villagrán C. (1990) Glacial climates and their effects on the history of the vegetation of Chile; a synthesis based on palynological evidence from Isla de Chiloe. Truswell, E. M., Owen, J. A. The proceedings of the 7th international palynological congress; Part II. Bur. Miner. Resour. Geol. and Geophys., Canberra, Australia. *Rev. Palaeobot. Palyno.* **65**. (1-4). 17-24.
- Villagrán C. (1993a) Una interpretación climática del registro palinológico del último ciclo glacial-postglacial en Sudamérica. *Bull. Inst. fr. étud. Andin.* **22**, 243-58.
- Villagrán C., Varela J., Fuenzalida H., Veit H., Armesto, J.J. & Aravena J.C. (1993b) Geomorphological and vegetational background for the analysis of the Quaternary of the Lake District. In: Field guide of International Workshop "The Quaternary of Chile" (ed C. Villagrán) pp. 1-50. Red Latinoamericana de Botánica edición, Santiago de Chile.
- Villagrán C. (1995) Quaternary history of the Mediterranean vegetation of Chile. In: Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystem in Chile, California

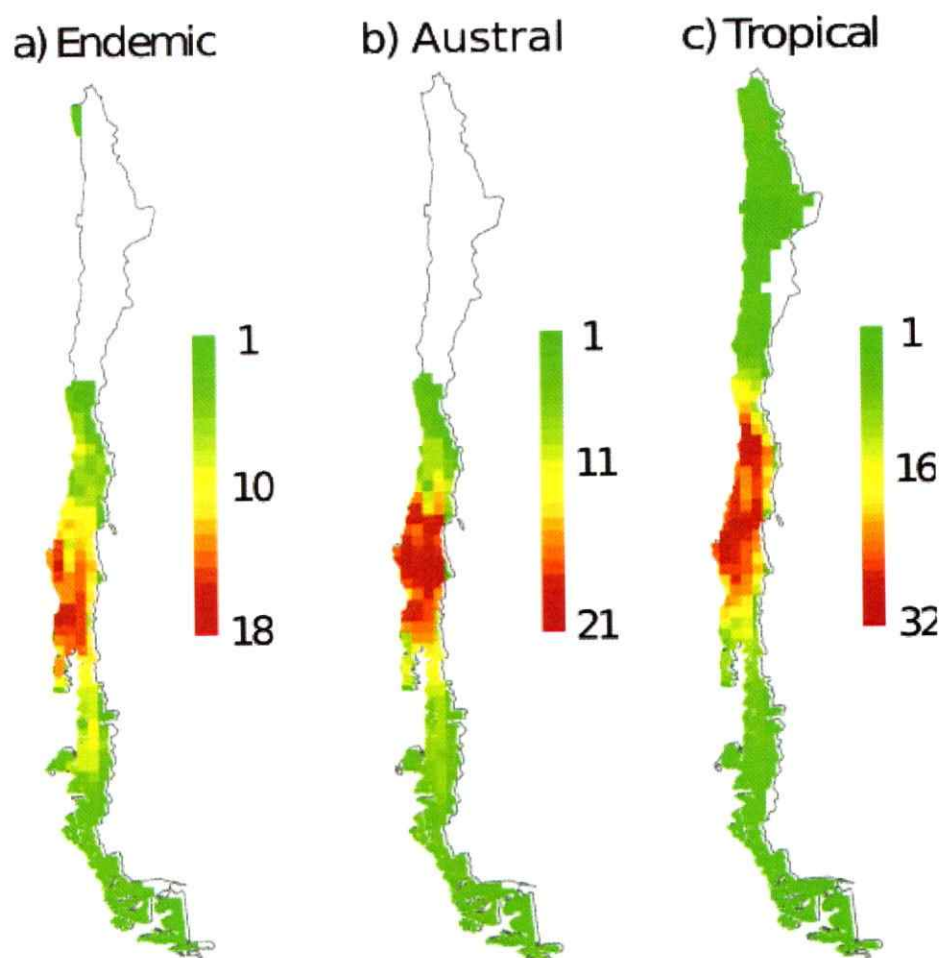
- and Australia (eds M. Kalin, P. Zedler and M. Fox) pp. 3-20. Springer Verlag, New York.
- Villagrán C. & Hinojosa L. F. (1997) History of the forests of southern South America II: phytogeographical analysis. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **70**, 241-67.
- Villagrán C., Le-Quesne C., Aravena J. C., Jiménez H. & Hinojosa L. F. (1998) El rol de los cambios de clima del Cuaternario en la distribución actual de la vegetación de Chile central - sur. *Bam. Geograph.* **15**, 227 - 42.
- Wardle P., Ezcurra C., Ramirez C. & Wagstaff S. (2001) Comparison of the flora and vegetation of the southern Andes and New Zealand. *N. Z. J. Bot.* **39**, 69-108.
- Wiens J. J., Ackerly D. D., Allen A. P., Anacker B. L., Buckley L. B., Cornell H. V., Damschen E. I., Davies T. J., Grytnes J. A., Harrison S. P., Hawkins B. A., Holt R. D., McCain C. M. & Stephens P. R. (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecol. Lett.* **13**, 1310-24.
- Wiens J. J. & Donoghue M. J. (2004) Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends Ecol. Evol.* **19**, 639-44.
- Wright D. H., Currie D. J. & Maurer B. A. (1993) Energy supply and patterns of species richness on local and regional scales. In: *Species Diversity in Ecological Communities: Historical and Geographical Perspectives* (eds R. E. Ricklefs and D. Schluter) pp. 66-74. University of Chicago Press, Chicago.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., Billups, K. (2001) Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* **292**, 686-693.



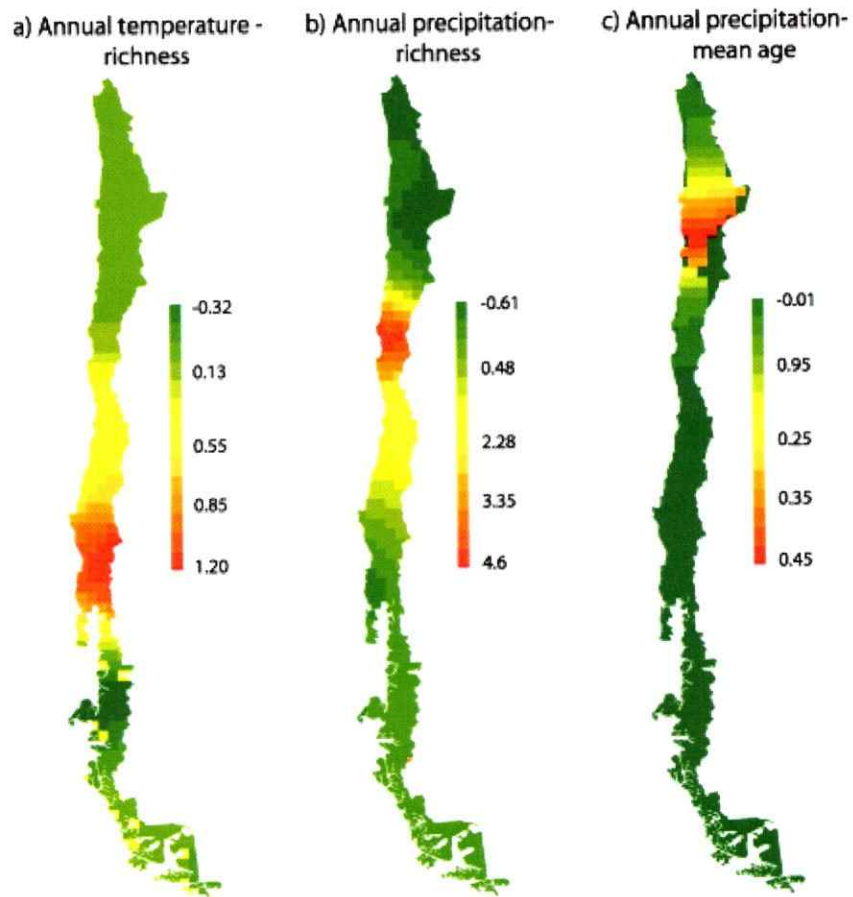
## FIGURES



**Fig. 1.** a) Pattern of tree species richness in a 10x10 km grid. b) Spatial distribution of mean family age.



**Fig. 2.** Pattern of tree species richness grouped by generic biogeographic affiliations in a 50x50 km grid: a) Endemic. b) Austral (Austral-Antarctic and Australasian). c) Tropical (Neotropical and Pantropical).



**Fig. 3.** Standardized regression coefficients from geographically weighted regressions (GWR) of: a) tree richness and annual temperature; b) tree richness and annual precipitation; c) average family age and annual precipitation.

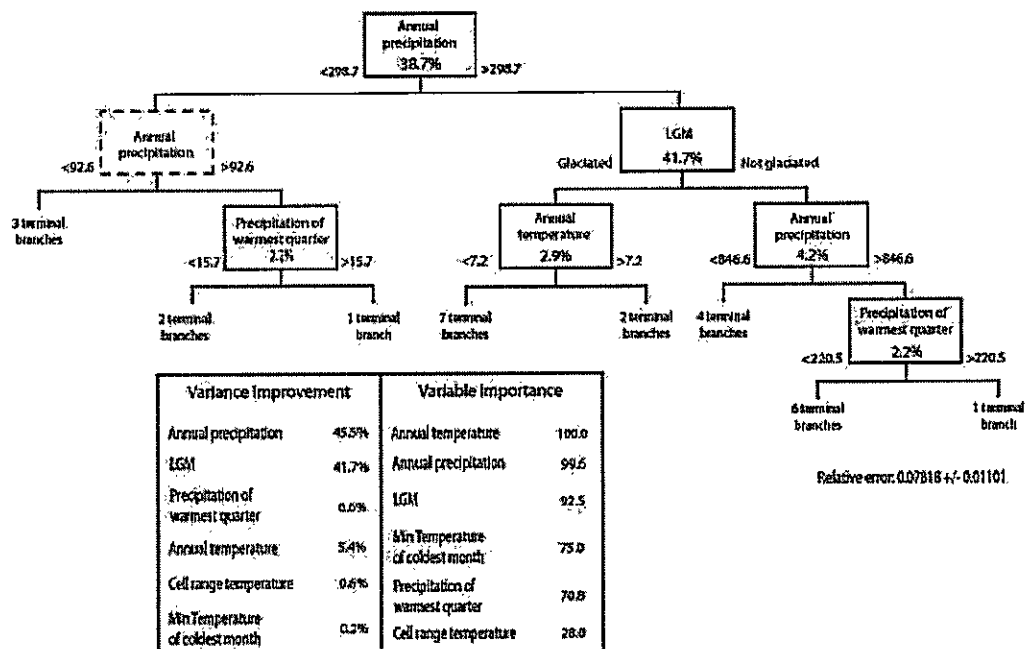


Fig. 4. Regression tree for tree species richness. The percentage of variation explained by each split is provided at each node, but only splits accounting for > 2% of the variance in richness are shown. Also provided are the variance improvements of each predictor summed over the entire tree, and the variable importance values based on competing splits. Relative error reflects the proportion of cases (cells) misassigned to a terminal branch.

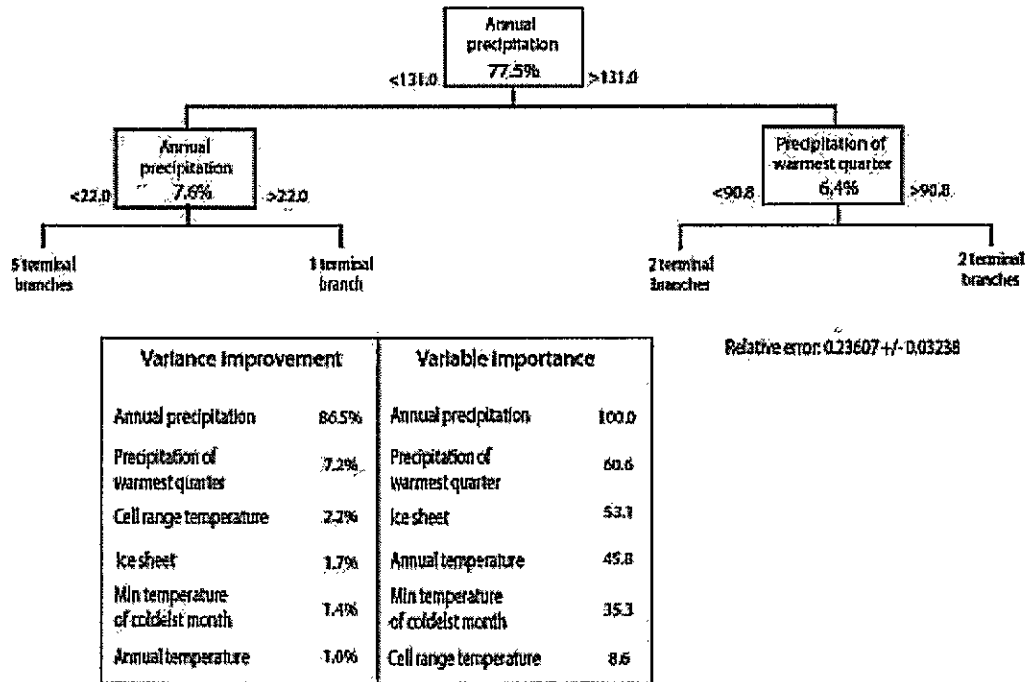


Fig. 5. Regression tree for angiosperm average age, calculated by assigning each species the age of its family. Presentation as in Figure 3.

**CONCLUSIÓN GENERAL**

Esta tesis aborda la incidencia de los cambios biogeográficos asociados a las glaciaciones del Cuaternario en el patrón latitudinal de la riqueza de especies de plantas vasculares en la vegetación forestal de Chile y su impronta en la filogeografía de dos taxa representativos de los bosques templado Valdiviano y esclerófilos de la región, *Myrceugenia planipes* y *Cryptocarya alba*.

Ante la pregunta ¿De qué modo los cambios biogeográficos asociados al incremento de la aridización de Chile Centro-Norte afectaron la distribución de *Cryptocarya alba*, una especie característica del bosque esclerófilo mediterráneo?, abordado en el Capítulo 1 de esta tesis, los resultados del análisis genético muestran que *Cryptocarya alba* presenta un patrón de distribución de la diversidad genética y concentración de haplotipos raros en dos regiones, a saber: las localidades ubicadas al noroeste de su rango de distribución, y una localidad andina, ubicada en el sur de su rango geográfico. En otras palabras, la diversidad genética es máxima en ambos extremos del eje de la Diagonal Árida que marca actualmente el límite norte de la formación de bosque esclerófilo en Chile central, indicando dos áreas de diferenciación de poblaciones. Además, los análisis de estructuración genética muestran que existen al tres grupos genéticos diferenciados dentro del rango de distribución de la especie esclerófila. Este patrón se ajusta a la hipótesis de fragmentación del rango de las especies forestales más afectadas por la sequía en Chile Centro-Norte, eventos probablemente asociados a los pulsos de aridez que

afectaron la región durante los interglaciales, especialmente durante el período con altas temperaturas y sequía intensa del Holoceno Temprano. Por otra parte, la intensificación de los vientos del oeste documentada para el UMG (Caviedes 1972; Heusser 1989) y la altura de los Andes de Chile Central (más de 5000 metros) habría incrementado el efecto orográfico sobre la lluvia y favorecido una zonificación marcada de la vegetación en el sentido longitudinal, además de restricción de las especies arbóreas a las quebradas.

De igual modo, y ante la pregunta ¿De qué modo los cambios biogeográficos asociados al Último Máximo Glacial afectaron la distribución de *Myrceugenia planipes*, una especie típica del Bosque templado tipo Valdiviano? Los resultados del análisis filogeográfico en *Myrceugenia planipes* muestran un patrón de distribución de la variabilidad genética y concentración de haplotipos en zonas costeras, al norte de su rango de distribución actual. Asimismo, los análisis de estructuración genética muestran que no habrían grupos genéticos diferenciados entre las poblaciones de *M. Planipes* estudiadas en un amplio rango geográfico. Esto se ajusta a lo esperado bajo un escenario de contracción pasada del bosque tipo Valdiviano hacia zonas que no habrían sido afectadas por la influencia del último ciclo glacial. El patrón filogeográfico descrito para *M. planipes* es consistente con lo encontrado en *Eucryphia cordifolia*, otro taxa intolerante el frío y a la sequía perteneciente al Bosque Valdiviano (Segovia *et al.* 2012).



Los resultados de esta tesis destacan la importancia de ampliar los estudios filogeográficos e incluir especies con diferentes tolerancias ecofisiológicas para entender respuestas individuales a los cambios en el clima pasado (Stewart 2008, Stewart *et al.* 2010). Esta distinción permite identificar la influencia de las dinámicas distribucionales del Cuaternario sobre la composición de las comunidades boscosas – y de los patrones biogeográficos que de esta relación se derivan- comparando entre diferentes regiones climáticas (Marske *et al.* 2013). En este sentido, la evaluación de hipótesis de refugios glaciales, mediante análisis filogeográficos de especies definidas de acuerdo a sus tolerancias ecológicas, permitirá comprender la influencia de los procesos históricos sobre los patrones biogeográficos presentes, y conciliar propuestas aparentemente contrastantes (microrefugios vs. contracciones de distribución glacial).

El Capítulo 2 aborda el problema del patrón actual de pérdida de diversidad de especies desde la interfase mediterráneo-templada hacia el sur, y si esta ha sido influenciado por cambios biogeográficos asociados a los ciclos climáticos glaciales. Los resultados de las relaciones del patrón latitudinal actual de riqueza de especies forestales con distintas variables climáticas muestran una estrecha correlación. Las variables ambientales más importantes obtenidas con el análisis de árbol de regresiones son la temperatura anual y la precipitación anual. Es muy difícil separar la influencia relativa de estas variables, porque ambas operan concertadamente en un escenario caracterizado por un gradiente de

incremento latitudinal de las precipitaciones y disminución de la temperatura (Armesto *et al.* 1996).

Los resultados del modelo de reducción del área forestal, basado en la incorporación de la extensión de cobertura de hielo durante el Último Máximo Glacial (UMG) como única variable histórica en el análisis, reveló que la covariación que presenta esta cobertura con todas las variables predictoras asociadas a temperatura dificulta su evaluación. De todos modos, la cobertura de hielo presenta una influencia importante cuando la precipitación anual es alta (es decir, en altas latitudes donde la acumulación de hielo es mayor y más permanente). Aún así, resulta difícil explicar mediante un simple proceso de contracción de rangos de un conjunto de especies arbóreas, el gradiente actual de reducción de diversidad hacia el sur. Los patrones de pauperización en el sur de América del Sur (Villagrán e Hinojosa 1997), así como en otros bosques del hemisferio sur (Markgraf *et al.* 1995), se han atribuido al repetido proceso de contracción y expansión rangos en respuesta a los ciclos glaciales del Pleistoceno. En el caso de Chile, los registros de polen de los Lagos y Chiloé (40 ° S-43 ° S) (Villagrán 1988; 1990; Heusser y Heusser 2006) y evidencia proveniente de estudios filogeográficos (Segovia *et al.* 2012) muestran que los taxa termófilos del Bosque laurifolio valdiviano efectivamente habrían reducido sus rangos a latitudes bajas durante las fases frías, limitándose a las zonas de baja a media altura de la Cordillera de la Costa, en torno a los 40°S. En contraste, las especies tolerantes al frío habrían sido capaces de sobrevivir cerca de la

línea de hielo e incluso más al sur en un sistema de microrefugios (Mathiasen y Premoli 2010, Villagrán et. al 1998), como lo hacen hasta hoy, en torno a los hielos de Aysén y Tierra del Fuego, especies como *Nothofagus* y *Pilgerodendron*. Probablemente, para evaluar con mayor propiedad la hipótesis de la influencia de los cambios distribucionales de cada taxa sobre el gradiente de riqueza de especies, sea necesario extender el efecto de la cobertura de hielo sobre los rangos de distribución a una escala temporal mayor, es decir, a los múltiples ciclos glaciales del Cuaternario. Esto requiere otro despliegue metodológico que permita incorporar las tasas de extinción y especiación asociadas a estos cambios ambientales.

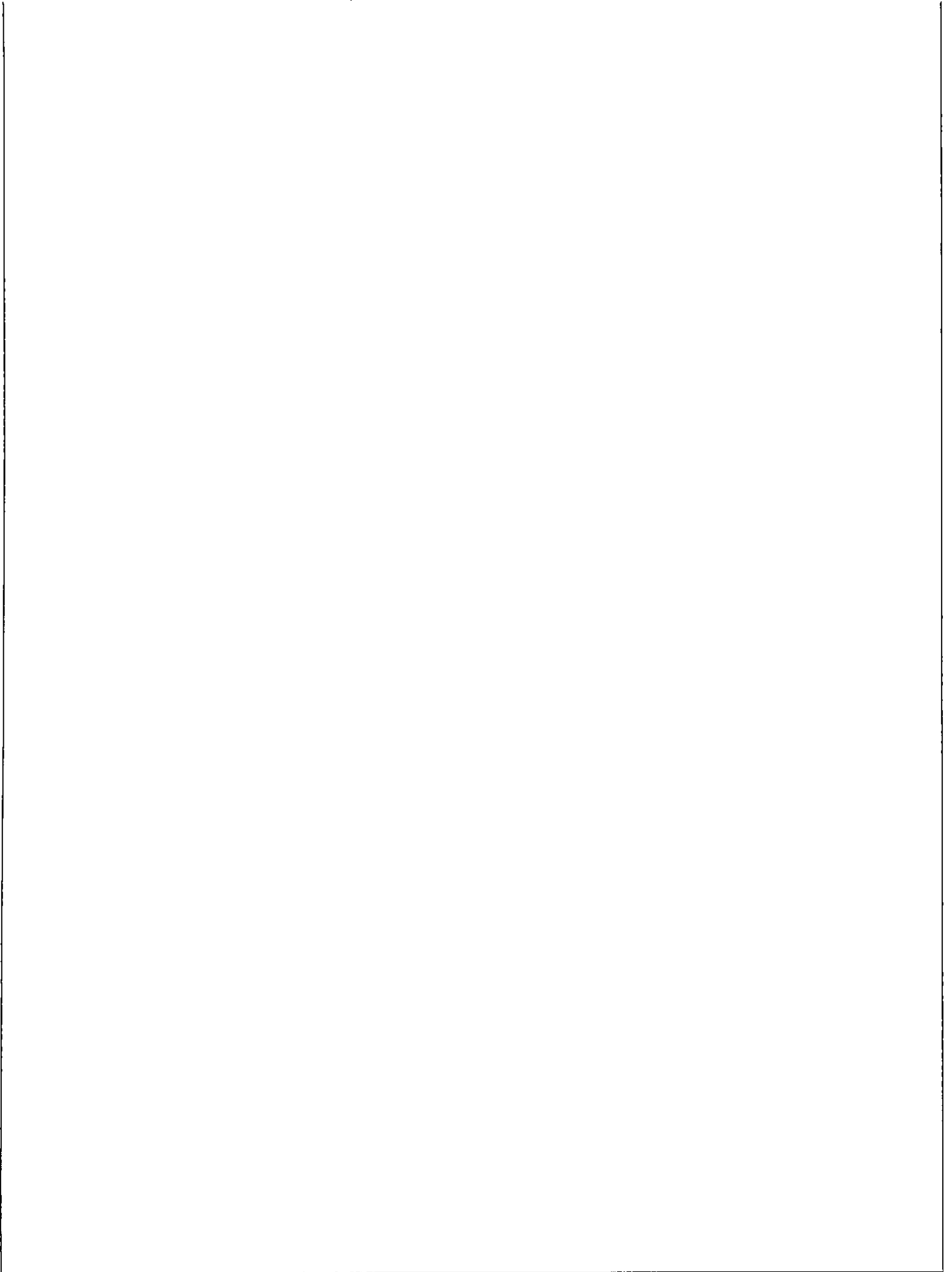
Un aspecto adicional abordado en este último capítulo muestra que el patrón de distribución espacial de la antigüedad de los clados, incorporado en el segundo capítulo, muestran que la distribución espacial de las edades promedio de las angiospermas arbóreas del sur de Sudamérica (definido a nivel de familia) no está correlacionada con el gradiente de riqueza de especies y presenta un patrón opuesto a lo predicho por la hipótesis de conservatismo de nicho tropical (Hawkins *et al.* 2011). Esto es, los árboles de familias antiguas están distribuidos preferentemente hacia altas latitudes, en zonas de baja riqueza de especies, mientras que árboles de familias jóvenes están distribuidos preferentemente hacia latitudes medias y bajas. Este patrón anómalo de edad promedio de los ensamblajes forestales en Sudamérica podría ser explicado por el origen extratropical de gran parte de

la flora de los bosques del Cono Sur (Villagrán & Hinojosa 1997). La paleoflora Gondwánica Occidental que pobló la región durante el paleógeno presenta una alta singularidad, en relación con paleofloras tropicales observadas en el registro fósil (Jaramillo & Cárdenas 2013) Ella ha sido caracterizada en dos unidades paleobiogeográficas: las floras Gondwánicas y Subtrópicas Gondwánicas (Hinojosa 2005, Hinojosa *et al.* 2006). Un aspecto adicional abordado en este último capítulo muestra que el patrón de distribución espacial de la antigüedad de los clados muestran que la distribución espacial de las edades promedio de las angiospermas arbóreas del sur de Sudamérica (definido a nivel de familia) no está correlacionado con el gradiente de riqueza de especies y presenta un patrón opuesto a lo predicho por la hipótesis denominada 'conservatismo de nicho tropical' (Hawkins *et al.* 2011), acuñada para explicar patrones de edad filogenética en el hemisferio norte. Esto es, los árboles de familias antiguas están distribuidos preferentemente hacia altas latitudes, en zonas de baja riqueza de especies, mientras que árboles de familias jóvenes están distribuidos preferentemente hacia latitudes medias y bajas, en la zona de transición templado-mediterránea. Este patrón de edad promedio de los ensambles forestales en Sudamérica podría ser explicado por el origen extratropical de gran parte de la flora de los bosques del Cono Sur (Villagrán & Hinojosa 1997). La paleoflora Gondwánica-Ántártica Occidental que pobló la región durante el paleógeno presenta una alta singularidad, en relación con paleofloras tropicales observadas en el registro fósil (Jaramillo & Cárdenas

2013) Ella ha sido caracterizada en dos unidades paleobiogeográficas: las floras Gondwánicas y Subtrópicul Gondwánica (Hinojosa 2005, Hinojosa *et al.* 2006).

Los registros paleobotánicos del Hemisferio sur muestran que, durante el Cretácico Tardío, la región occidental del Gondwana habría sido un centro de diversificación floral, con taxa originándose y dispersando a otras áreas del sur (Mildenhall 1980; Hill 1994; Markgraf *et al.* 1995, 1996). Luego del desmembramiento del Gondwana, y como consecuencia de los cambios climáticos del Cenozoico, esta flora de origen extratropical habría persistido en los continentes en formación y se habría integrado a la biota que conforma los bosques templados de Sudamérica, Nueva Zelanda, Australia, Nueva Guinea, Nueva Caledonia y Tasmania. Este hecho podría dar cuenta de las pre-adaptaciones de los linajes que evolucionaron en esta región y explicar los patrones biogeográficos actuales, pese a que la biota asociada a cada una de estas regiones habría experimentado historias independientes de diversificación y extinción asociadas a la magnitud de los cambios ambientales. Por ejemplo, la biota de Australia y Nueva Zelanda habría presentado tasas de extinción (Markgraf *et al.* 1995) e inmigración mayores (Armesto & McGlone *in prep.*) que las de Sudamérica, debido a que la migración de esas masas de tierra hacia latitudes tropicales habría sido más drástica (Markgraf *et al.* 1995).

En este sentido, a modo de proyección de la investigación, resultaría interesante un análisis comparativo de los patrones biogeogeográficos de la



biota del hemisferio sur y su relación con las dinámicas distribucionales de sus taxa componentes. Este estudio permitiría comprender la naturaleza de la impronta biogeográfica del origen y evolución extratropical de parte de la biota que actualmente compone bosques templados de Sudamérica, Nueva Zelanda, Australia, Nueva Guinea, Nueva Caledonia y Tasmania.

#### Literatura citada

Abarzúa, A. M., C. Villagrán, and P. I. Moreno. 2004. Deglacial and postglacial climate history in east-central Isla Grande de Chiloé, southern Chile (43 degrees S). *Quaternary Research* 62: 49 – 59.

Aceituno, P. 1990. Anomalías climáticas en la Región Sudamericana durante los extremos de la Oscilación Austral. *Revista de Geofísica* 32: 65-78.

Alaback, P.B. 1991. Comparative ecology of temperate rainforest of the Americas along analogous climatic gradients. *Revista Chilena de Historia Natural* 64: 399-412.

Allen, A. P., J. H. Brown, and J. F. Gillooly. 2002. Global biodiversity, biochemical kinetics, and the energetic-equivalence rule. *Science* 297:1545–1548.

Allnutt, T. R. , A. C. Newton, A. Lara, A. Premoli, J. J. Armesto, R. Vergara, and M. Gardner. 1999. Genetic variation in *Fitzroya cupressoides* (alerce), a threatened South American conifer. *Molecular Ecology* 8: 975–987.

Armesto, J.J. & J.A. Martínez. 1978. Relations between vegetation structure and slope aspect in the mediterranean region of Chile. *Journal of Ecology* 66: 881-889.

Armesto J. J., León P. & Arroyo M. K. (1996) Los bosques templados del sur de Chile y Argentina: una isla biogeográfica. In: *Ecología de los bosques nativos de Chile* (eds J. J. Armesto, C. Villagrán and M. K. Arroyo) pp. 23-8. Vicerrectoría Académica y Estudiantil, Universidad de Chile. Editorial Universitaria, Santiago.

Arroyo, M.T.K., Armesto, J.J., F. Squeo & J.R. Gutiérrez (1993). Global change: The flora and vegetation of Chile. In: *Earth system responses to global change. Contrasts between North and South America* (H. Mooney, E.R. Fuentes & B.I. Kronberg, eds.), Academic Press, New York, pp. 239-263.

Ashcroft, M. B. 2010. Identifying refugia from climate change. *Journal of Biogeography* 37: 1407–1413.

Auer, V. (1958). The Pleistocene of Fuego-Patagonia. Part II. The history of the flora and vegetation. *Annales Academiae Scientiarum Fennicae, Series A* 50, 1-239.

Bekessy, S.A., T.R. Allnutt, A.C. Premoli, A. Lara, R.A. Ennos, M.A. Burgman, M.Cortes, and A.C. Newton. 2002. Genetic variation in the



vulnerable and endemic Monkey Puzzle tree, detected using RAPDs. *Heredity* 88: 243–249.

Bennett, K. D. 1988. Holocene pollen stratigraphy of central East Anglia, England, and comparison of pollen zones across the british-isles. *New Phytologist* 109(2): 237-253.

Bennett, K. D., and J. Provan. 2008. What do we mean by 'refugia'? *Quaternary Science Reviews* 27: 2449–2455.

Burns, K.C. 2007. Is tree diversity different in the Southern Hemisphere? *Journal of Vegetation Science* 18: 307-312.

Cabrera, A.L. and A. Willink. 1973. *Biogeografía de América Latina*. Colecc. Monogr. Cient. O.E.A., serie Biol., nº13, pp. I-VI, 1-117.

Caviedes (1972) *Geomorfología del Cuaternario en el Valle del Aconcagua*. *Freiburger Geographische Schriften*, Hefte 11.

Condamine, F.L., Sperling, F.A.H., Wahlberg, N., Rasplus, J.Y. & Kergoat, G.J. 2012. What causes latitudinal gradients in species diversity? Evolutionary processes and ecological constraints on swallowtail biodiversity. *Ecology Letters*, 15,267–277.

Cosacov, A., A. N. Sersic, V. Sosa, L. A. Johnson, And A. A. Cocucci. 2010. Multiple periglacial refugia in the patagonian steppe and pos-glacial colonization of the Andes: the phylogeography of *Calceolaria polyrhiza*. *Journal of Biogeography* 37: 1463-1477.

Currie D.J. 1991. Energy and Large-Scale patterns of animal- and plant-species richness. *The American Naturalist* 137: 27-49.

Davis, M. B., and R. G. Shaw. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science*. 292 (5517): 673-679.

Dynesius, M., and R. Jansson. 2000. Evolutionary consequences of changes in species' geographical distributions driven by Milankovitch climate oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:9115–9120.

Francis A. P. & Currie D. J. (2003) A globally consistent richness-climate relationship for angiosperms. *Amer. Naturalist*. 161, 523-36.

Graham, C. H. *et al.* 2009. Phylogenetic structure in tropical hummingbird communities. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 106: 19673–19678.

Hastings, A. 2003. Metapopulation persistence with age-dependent disturbance or succession. *Science* 301: 1525-1526.

Hawkins B. A. & Porter E. E. (2003) Relative influences of current and historical factors on mammal and bird diversity patterns in deglaciated North America. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 12, 475-81.

Hawkins B. A., Porter E. E. & Diniz J. A. F. (2003) Productivity and history as predictors of the latitudinal diversity gradient of terrestrial birds. *Ecology* 84, 1608-23.

Hawkins, B. A., J. A. F. Diniz, And S. A. Soeller. 2005. Water links the historical and contemporary components of the Australian birds diversity gradient. *Journal of Biogeography* 32: 1035-1042.

Hawkins B. A., Rodriguez M. A. & Weller S. G. (2011) Global angiosperm family richness revisited: linking ecology and evolution to climate. *J. Biogeogr.* 38, 1253-66.

Hawkins B. A., Rodriguez M. A. & Weller S. G. 2011. Global angiosperm family richness revisited: linking ecology and evolution to climate. *J. Biogeogr.* 38, 1253–66

Heusser, C.J., 1955. Pollen profiles from the Queen Charlotte Islands, British Columbia. *Canadian Journal of Botany* 33, 429–449.

Heusser, C.J. 1983. Quaternary pollen record from Laguna de Tagua Tagua, Chile. *Science* 219: 1429-1432.

Heusser, C.J. 1989. Southern westerlies during the last glacial maximum. *Quaternary Research* 31: 423-425.

Heusser, C.J. 1990. Ice-Age Vegetation and Climate of Subtropical Chile. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 80: 107-127.

Heusser C. J. and L. E. Heusser. 2006. Submillennial palynology and palaeoecology of the last glaciation at Taiquemó (□50.000 cal yr, MIS 2–4) in southern Chile. *Quaternary Science Reviews* 25: 446–454.

Heusser, C. J., L. E. Heusser, and T. V. Lowell. 1999. Paleoecology of the southern Chilean Lake District-Isla Grande de Chiloe during middle-late Llanquihue glaciation and deglaciation. *Geografiska Annaler Series a-Physical Geography* 81A: 231-284.

Hill R. S., ed. 1994. *History of the Australian Vegetation: Cretaceous to Recent*. University Press, Cambridge.

Hinojosa L. F. (2005) Climatic and vegetational changes inferred from Cenozoic southern South America paleoflora. *Rev. Geol. Chile* 32, 95–115.

Hinojosa LF, Villagrán 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.

Hinojosa L. F., Armesto J. J. & Villagran C. 2006. Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. *J. Biogeogr.* 33, 331–41.

Hinojosa L. F., Perez F., Gaxiola A. & Sandoval I. (2011) Historical and phylogenetic constraints on the incidence of entire leaf margins: insights from a new South American model. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20, 380-90.

Hu, F. S., A. Hampe, and R. J. Petit. 2009. Paleoecology meets genetics: deciphering past vegetational dynamics. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7: 371–379.

Hueck, K. 1966. Die Wälder Südamerikas. Vegetationsmonographien der einzelnen Großräume (Walter, H. ed.), 21-422, G. Fischer, Stuttgart.

Hubbell, S.P. 2001. The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Jackson, S. T. 2006. Forest genetics in space and time. *New Phytologist* 171:1-3.

Jaramillo C. & Cárdenas A. (2013) Global warming and Neotropical Rainforests: A historical perspective. *The Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 41: 28.1-28.26.

Keppel, G., K. P. Van Niel, G. W. Wardell-Johnson, C. J. Yates, M. Byrne, L. Mucina, A. G. T. Schut, S. D. Hopper, and S. E. Franklin. 2012. Refugia: identifying and understanding safe havens for biodiversity under climate change. *Global Ecology and Biogeography* 21:393-404.

Lamy, F., D. Hebbeln, and G. Wefer. 1999. High-resolution marine record of climatic change in mid-latitude Chile during the last 28,000 years based on terrigenous sediment parameters. *Quaternary Research* 51: 83-93.

Latham, R. E., and R. E. Ricklefs. 1993. Global patterns of tree species richness in moist forests-energy-diversity theory does not account for variation in species richness. *Oikos* 67: 325-333.

Lessard, J.-P. *et al.* 2012. Strong influence of regional species pools on continent-wide structuring of local communities. – *Proc.R. Soc. B* doi: 10.1098/rspb.2011.0552

Maldonado, A., And C. Villagran. 2002. Paleoenvironmental changes in the semiarid coast of Chile (similar to 32 degrees S) during the last 6200 cal years inferred from a swamp-forest pollen record. *Quaternary Research* 58: 130-138.

Marchelli, P., and L. Gallo. 2006. Multiple ice-age refugia in a southern beech of South America as evidenced by chloroplast DNA markers. *Conservation Genetics* 7: 591 – 603.

Marchelli, P., L. Gallo, F. Scholz, and B. Ziegenhagen. 1998. Chloroplast DNA markers reveal a geographical divide across Argentinean southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. distribution area. *Theoretical and Applied Genetics* 97 : 642 – 646.

Marske KA, Rahbek, C. Nongués-Bravo D. 2013. Phylogeography: spanning the ecology-evolution continuum. *Ecography* 36: 001-013.

Mathiasen, P., & A. C. Premoli. 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.

- McGlone, M. 1996. When history matters: scale, time, climate and tree diversity. *Global Ecology and Biogeography Letters* 5: 309-314.
- Montoya D., Rodríguez M. A., Zavala M. A. & Hawkins B. A. 2007. Contemporary richness of holarctic trees and the historical pattern of glacial retreat. *Ecography* 30, 173-82.
- Moreno, P. I. 2004. Millennial-scale climate variability in northwest Patagonia over the last 15000 yr. *Journal of Quaternary Science* 19: 35 – 47.
- Mildenhall D. C. 1980. New Zealand late Cretaceous and cenozoic plant biogeography: a contribution. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 31, 197–233.
- Mosblech, N. A., M. B. Bush, and R. van Woesik. 2011. On metapopulations and microrefugia: paleoecological insights. *J. Biogeogr.* 38:419–429.
- Nogués-Bravo, D. (2009). Predicting the past distribution of species climatic niches. *Global Ecology and Biogeography*, 18, 521–531.
- Oberdorff, T. J. F. Guegan, and B. Hugueny. 1995. Global scale patterns of fish species richness in rivers. *Ecography* 18: 345–352.
- Petit, R. J., F. S. Hu, and C. W. Dick. 2008. Forests of the past: A window to future changes. *Science* 320:1450–1452.
- Prance, G. T. 1978. Origin and evolution of Amazon flora. *Interciencia* 3: 207-222.

Premoli, A. C. 1998. The use of genetic markers to conserve endangered species and to design protected areas of more widespread species In International Foundation for Science [ed.], Proceedings International Workshop "Recent Advances in Biotechnology for Tree conservation.

Premoli, A.C., T. Kitzberger, and T.T. Veblen. 2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography*. 27: 251–260.

Premoli, A. C. , R. Vergara, C. P. Souto, A. Lara, and A. C. Newton. 2003. Lowland valleys shelter the ancient conifer *Fitzroya cupressoides* in the Central Depression of southern Chile. *Journal of the Royal Society of New Zealand* 33: 623 – 631.

Provan, J., Bennett, K.D., 2008. Phylogeographical insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology and Evolution* 23, 564–571.

Qian H. and Ricklefs R. E. (2004) Taxon richness and climate in angiosperms: Is there a globally consistent relationship that precludes region effects? *Amer. Naturalist*. 163, 773-9.

Qian, H., and R. E. Ricklefs. 1999. A comparison of the taxonomic richness of vascular plants in China and the United States. *American Naturalist* 154: 160-181.

Qian, H., and R. E. Ricklefs. 2000. Large-scale processes and the Asian bias in species diversity of temperate plants. *Nature* 407: 180-182.



Ricklefs R. E., Latham R. E. and Qian H. (1999) Global patterns of tree species richness in moist forests: distinguishing ecological influences and historical contingency. *Oikos* 86, 369-73.

Rodriguez, M. A., I. L. Lopez-Sanudo, and B. A. Hawkins. 2006. The geographic distribution of mammal body size in Europe. *Global Ecology and Biogeography* 15: 173-181.

Roig, F. A., C. Le-Quesne, J. A. Boninsegna, K. R. Briffa, A. Lara, H. Grudd, P. D. Jones and C. Villagrán. 2001. Climate variability 50.000 years ago in mid-latitude Chile as reconstructed from tree rings. *Nature* 410: 567-570.

Roy, K., Jablonski, D., Valentine, J. W. and Rosenberg, G. 1998. Marine latitudinal diversity gradients: Tests of causal hypotheses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3699-3702.

Rull V. 2009. Microrefugia. *Journal of Biogeography* 36: 481-484.

Samaniego H. and Marquet P. A. 2009. Mammal and butterfly species richness in Chile: taxonomic covariation and history. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 82, 135-51.

Schmithüsen J. (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen Vegetation. *Bonn. Geogr. Abh.* 17, 1-86.

Segovia, R.A., Pérez, M.F. and Hinojosa, L.F. 2012. Genetic Evidence For Glacial Refugia Of The Temperate Tree *Eucryphia Cordifolia*

(CUNONIACEAE) In Southern South America. *American Journal of Botany* 99(1): 121-129.

Stewart, J. R., and A. M. Lister. 2001. Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology & Evolution* 16:608-613.

Stewart, J. R., A. M. Lister, I. Barnes, and L. Dalen. 2010. Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 277:661-671.

Svenning, J. C., C. Flojgaard, and A. Baselga. 2011. Climate, history and neutrality as drivers of mammal beta diversity in Europe: insights from multiscale deconstruction. *Journal of Animal Ecology* 80: 393-402.

Veit, H. 1994. Estratigrafía y suelos en el centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural (Valparaiso, Chile)* 67: 395 – 403.

Veit, H., and K. Garleff. 1996. Evolución del paisaje Cuaternario y los suelos en Chile central-sur. In J. J. Armesto, C. Villagrán, and M. Kalin [eds.], *Ecología de los bosques nativos de Chile*, 23-49. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.

Villa-Martinez, R., C. Villagran, and B. Jenny. 2003. The last 7500 cal yr BP of westerly rainfall in Central Chile inferred from a high-resolution pollen record from Laguna Aculeo (34 degrees S). *Quaternary Research* 60: 284-293.

Villagrán C. 1988. Expansion of Magellanic moorland during the late Pleistocene; palynological evidence from northern Isla de Chiloe, Chile. *Quaternary Research* 30: 304-314.

Villagrán, C. 1990. Glacial, late glacial and post-glacial climate and vegetation of the Isla Grande de Chiloé, Chile. *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula* 8: 1-15.

Villagrán, C. 1991. History of the temperate forests of southern Chile during the Late-Glacial and Holocene. *Revista Chilena De Historia Natural* 64: 447-460.

Villagrán C. 1993. Una interpretación climática del registro palinológico del último ciclo glacial-postglacial en Sudamérica. *Bull. Inst. fr. étud. andin.* 22, 243-58.

Villagrán C. 1995. Quaternary history of the Mediterranean vegetation of Chile. In: *Ecology and Biogeography of Mediterranean ecosystem in Chile, California and Australia* (eds M. Kalin, P. Zedler and M. Fox) pp. 3-20. Springer Verlag, New York.

Villagrán C. 2001. A model for the history of vegetation of the Coastal Range of central-southern Chile: Darwin's glacial hypothesis. *Revista Chilena De Historia Natural* 74: 793-803.

Villagrán C. & Hinojosa L. F. 1997. History of the forests of southern South America II: Phytogeographical analysis. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 70, 241-67.

Villagrán C., Armesto J.J. (2005) Fitogeografía histórica de la cordillera de la costa de Chile. En: Smith-Ramírez, C., Armesto J. J., Valdovinos C. eds. Biodiversidad y Ecología de los Bosques de la Cordillera de la Costa, Chile. Editorial Universitaria.

Villagrán C., Le-Quesne C., Aravena J. C., Jiménez H. & Hinojosa L. F. 1998. El rol de los cambios de clima del Cuaternario en la distribución actual de la vegetación de Chile central-sur. *Bam. Geograph.* 15, 227–42.

Villagran, C, G. Hássel de Menéndez & E. Barrera. 2005. Hepáticas y Antocerotes del Archipiélago de Chiloé. Una introducción a la flora briofítica de los ecosistemas templados lluviosos del sur de Chile. Corporación de Amigos del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago, Chile. 160 pp.

Wiens J. J. and Donoghue M. J. 2004. Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends Ecol. Evol.* 19, 639–44.

Wiens, J. J. *et al.* 2011. Phylogenetic origins of local-scale diversity patterns and the causes of Amazonian megadiversity. *Ecol. Lett.* 14: 643–652.

Willis, K. J., and R. J. Whittaker. 2000. Paleoeology-The refugial debate. *Science* 287 (5457): 1406-1407.

Wright D. H., Currie D. J. and Maurer B. A. 1993. Energy supply and patterns of species richness on local and regional scales. In: *Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives* (eds R. E. Ricklefs and D. Schluter) pp. 66-74. University of Chicago Press, Chicago.