

UCH-FC  
DOC-EBE  
D. 687  
C.1



**DEMOGRAFÍA, MOVIMIENTO Y DIVERSIDAD  
GENÉTICA DE *CEROGLOSSUS CHILENSIS* EN EL  
BOSQUE MAULINO FRAGMENTADO**

**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**

**Denise Sandra Donoso Fernández**

**Diciembre, 2011**

**Director de Tesis: MsC. Audrey A. Grez**

**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.

**DENISE SANDRA DONOSO FERNÁNDEZ**

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el 12 de agosto de 2011.

**Director de Tesis:**

**Msc. Audrey A. Grez**

.....



**Comisión de Evaluación de la Tesis**

**Dr. Cristian Estades**

.....

**Dr. Elie Poulin**

.....

**Dr. Rodrigo Vásquez**

.....

**Dr. Claudio Veloso**

.....



*A La Tierra*

## BIOGRAFÍA



Denise Sandra Donoso Fernández es Médico Veterinario de la Universidad de Chile. El interés que ha dirigido su investigación es la conservación de la diversidad biológica con énfasis en la ecología de ambientes fragmentados. Ingresó al Programa de Doctorado en Ciencias mención Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de Chile, con apoyo de la Beca CONICYT para estudios de postgrado, realizando una pasantía con Don Driscoll y David Lindenmayer en Australia con apoyo de MECESUP. Actualmente, realiza estudios de línea de base y docencia en ecología de ambientes fragmentados para pre y postgrado en la Universidad de Chile

## AGRADECIMIENTOS



Agradezco enormemente a mi directora de tesis Audrey Grez por su gran apoyo y guía durante este largo proceso. Agradezco también a los integrantes de mi comisión por los valiosos comentarios que mejoraron esta tesis, particularmente a Cristián Estades y Elie Poulín por su gran ayuda. A Javier Simonetti por su apoyo financiero en la realización de varias salidas a terreno y asistencias a congresos.

A todos los que me ayudaron en terreno, especialmente a Fernando Campos, guardaparque de la reserva Los Queules, el que fue imprescindible para el desarrollo de esta tesis y me apoyó tanto con su amistad y compañía como con la instalación de trampas, traslados en moto y sus cursos 4x4. Además, él amplió el alcance de mi estadía en Los Queules al permitirme apoyar algunas actividades educativas con los niños de la escuela rural San Alfonso de Canelillo y su profesora Ana María Cifuentes, a los que también agradezco profundamente. A Paula Henríquez y Nicolás Lagos, con los que trabajamos sacando adelante nuestras tesis, por su gran entusiasmo y alegría. A mi primo Mauricio Fernández, el que me acompañó en incontables terrenos y a mi hermana Karina Donoso, Oscar Rodríguez, José Medina, Rubén Moreno, Loreto Jofré y Yendery Cerda que me ayudaron desinteresadamente. A todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología Terrestre, especialmente a Yuri Zuñiga, las M & M, Paola, Ronny, Carlitos, Xaviera y Renzo y a mis amigos del Laboratorio de Ecología de Vida Silvestre: Roberto, Martín, Sandra, Anita, Nélica y Mary los que me apoyaron muchas veces.

Agradezco también a todos los que me ayudaron con los análisis de laboratorio y de datos. A todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología Molecular, especialmente a

Andrea y Angie por su paciencia y ayuda en el uso de los equipos, y a David, Pamela M. y Carola por su apoyo. A Paz Acuña del GEPS que me ayudo en el manejo de SIG y a Juan Luis Celis y Laurent Crespin, por la asesoría en los análisis de datos demográficos. A Don Driscoll y David Lindenmayer, los que me aportaron una visión diferente para enfrentar los problemas en ecología y conservación.

A mis compañeros del curso de Conservación Biológica RLB 2003, que me brindaron la inspiración inicial para iniciar este doctorado y a mis compañeros del inolvidable curso Conservación y Sociedad 2007, que me enseñaron que es posible trabajar en conjunto y con pasión por la conservación. También quiero agradecer a Claudia y Adriana mis compañeras de estudio por toda su compañía y consejos, a Benito por su apoyo moral, intelectual y filosófico cuando terminar la tesis parecía algo muy lejano y difícil. A mis amigos del LEAF, por su compañía y amistad y a los de Ecodiversidad, especialmente a Gabriel por darme trabajo. A Andrea, Sebastian, Daniela y Felipe, que me acogieron en su casa en los últimos meses de terreno brindándome compañía y amistad. A mi familia: mis padres, hermanas y sobrinas que me han apoyado inmensamente y me dan incontables alegrías. Finalmente, quiero agradecer a la hermosa y mágica Reserva Los Queules, que me ha entregado infinitas experiencias enriquecedoras tanto intelectuales como espirituales.

Esta tesis fue realizada con el apoyo financiero de DI MULT 06/22-2, FONDECYT 1050745 y 1095046, FIA-PI-C-2003-1-F-51, ICM P05-002, PFB 023 y Programa Domeyko en Biodiversidad IT III. También agradezco a las becas CONICYT para estudio de Postgrado y término de tesis, y a la beca MECESUP para estancias cortas en el extranjero.

# INDICE DE MATERIAS



Resumen.....	xvii
Abstract.....	xix
Introducción general.....	1
Capítulo I. Demografía de <i>Ceroglossus chilensis</i> en el bosque Maulino fragmentado: rol de los factores microclimáticos, bióticos y de configuración del paisaje.....	4
Introducción.....	4
Materiales y métodos.....	9
Resultados.....	24
Discusión.....	42
Capítulo II. Movimiento de <i>Ceroglossus chilensis</i> en el bosque Maulino fragmentado.....	48
Introducción.....	48
Materiales y métodos.....	53
Resultados.....	59
Discusión.....	65

Capítulo III. Diversidad y diferenciación genética de <i>Ceroglossus chilensis</i> en el Bosque Maulino: rol de la fragmentación del hábitat y la configuración del paisaje.....	70
Introducción.....	70
Materiales y métodos.....	74
Resultados.....	83
Discusión.....	96
Conclusiones generales.....	100
Referencias.....	104



# LISTA DE TABLAS



## Capítulo I

Tabla 1. Modelos y estadísticas para estimar la probabilidad de captura ( $p$ ) y la sobrevivencia ( $\phi$ ).  $i$  = parámetro constante, hábitat = diferencias entre bosque continuo (BC), fragmentos (F) y plantación (P), tiempo = variación entre muestreos, estación = variación entre otoño, primavera y verano, año = variación entre el 2007, 2008 y 2009. # P= número de parámetros estimados. AICc = criterio de información de Akaike, modelo con menor valor y marcado con asterisco indica el modelo más parsimonioso.....27

Tabla 2. Modelos y estadísticas para estimar antigüedad (i.e. seniority  $\gamma$ ) (Tasa de Reclutamiento =  $1-\gamma$ ) y Tasa de crecimiento ( $\lambda$ ).  $i$  = parámetro constante, estación = variación entre otoño, primavera y verano, hábitat = diferencias entre bosque continuo (BC), fragmentos (F) y plantación (P), año = variación entre el período 2007 - 2008 y 2008 - 2009. # P= número de parámetros estimados. AICc = criterio de información de Akaike, modelo con menor valor y marcado con asterisco indica el modelo más parsimonioso.....28

Tabla 3. Efecto del hábitat sobre las variables de estructura del microhábitat. En negrita  $p < 0,05$ . Las letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey.....31

Tabla 4. Efecto del hábitat sobre métricas y variables de configuración del paisaje. En **negrita**  $p < 0,05$ , subrayado  $p < 0,1$ . Las letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey.....33

Tabla 5. Análisis de RDA de la relación entre la densidad de *C. chilensis* y variables de microclima, bióticas y de paisaje. En vegetación las letras corresponden a la Tabla 3. NS = sin variables significativas en el modelo. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) 1 =  $p < 0,1$ , 2 =  $p < 0,05$ , 3 =  $p < 0,01$ , 4 =  $p < 0,001$ .....35

Tabla 6. Porcentaje de variación explicada (100 x eigenvalue canónico) y significancia estadística de los análisis RDA para la densidad de *C. chilensis* para los pasos en el análisis de partición de varianza. Significancia estadística con 2000 permutaciones de Monte Carlo: en **negrita**  $p < 0,05$ , subrayado  $p < 0,1$ .....36

Tabla 7. Resumen de los cálculos de la partición de la variación de los efectos de las variables de microclima, hábitat y estación sobre la densidad de *C. chilensis*. Los números entre paréntesis cuadrados corresponden a los pasos numerados en el análisis descrito en la Tabla 6.....37

Tabla 8. Porcentaje de variación explicada (100 x eigenvalues canónicos) y significancia estadística de los análisis RDA para la densidad de *C. chilensis* para los pasos en el análisis de partición de varianza. Significancia estadística con 2000 permutaciones de Monte Carlo: en negrita  $p < 0,05$ .....38

Tabla 9. Resumen de los cálculos de la partición de la variación de los efectos de las variables de hábitat, bióticas y paisaje sobre la densidad de *C. chilensis*. Los números entre paréntesis cuadrados corresponden a los pasos numerados en el análisis descrito en la Tabla 8.....39

## Capítulo II

Tabla 1. Resumen de las actividades de *C. chilensis* observadas para los 66 individuos a los que se les siguió su trayectoria. Número (porcentaje) de pasos de 30 segundos ocupados en cada actividad, para cada hábitat por separado y para todos combinados.....59

Tabla 2. Resultados del ANDEVA para el efecto del hábitat (bosque nativo, plantación de pino y área cosechada) sobre los componentes del movimiento de *C. chilensis* evaluados en el análisis de sendas. Se indica la media y 1 error estándar para cada componente. Letras distintas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey.....60

Tabla 3. Reacción a distintos tipos de borde evaluada por observación directa y radiotelemetría. n = número de individuos finales en habitat 1 – habitat 2.  $X^2$  = valor de  $X^2$  observado versus esperado,  $g^1 = 1$ . \* =  $p < 0,05$  y \*\*\* =  $p < 0,001$ .....60

### Capítulo III

Tabla 1. Alineamiento de sitios polimórficos para 46 haplotipos (H) de *C. chilensis* obtenidos de 629 pb de la secuencia de COI.....84

Tabla 2. Índices de diversidad genética de los distintos sitios de muestreo en el bosque continuo y en los fragmentos. Se indican estos mismos índices para cada tipo de hábitat y para el total de secuencias.....87

Tabla 3. Parámetro  $\theta$  ( $N\mu$ ), tamaños efectivos poblacionales ( $N_e = \theta/\mu$ ) y densidad poblacional (individuos/trampa) de cada sitio de muestreo, del conjunto de sitios del bosque continuo, de los fragmentos y del total.....88

Tabla 4. Valores de  $F_{st}$  pareados, calculado a partir de las frecuencias de haplotipos ( $F_{stf}$ ) y desde el número absoluto de diferencias ( $F_{std}$ ) (sobre y bajo la diagonal respectivamente), entre cada par de sitios de muestreo. En verde se muestra la diferenciación entre sitios de bosque continuo, en rosado entre fragmentos y en celeste entre sitios de bosque continuo y fragmentos. En amarillo, se muestra el  $F_{st}$  con el grupo externo. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se indican en negrita y significancia marginal ( $0,05 > p < 0,1$ ) en subrayado (10.100 permutaciones).....89

Tabla 5. Porcentaje de variación dentro y entre los grupos en que se dividió la muestra total de secuencias. Se indica el número de grupos seleccionado = porcentaje de variación <i>entre grupos</i> fue mayor (en negrita).....	90
Tabla 6. Tabla de AMOVA después de haber realizado el análisis de SAMOVA que permitió separar la muestra en cuatro grupos para maximizar la diferencia entre ellos.....	90
Tabla 7. Prueba de Mantel individual y por sitio, coeficientes de correlación (r) y nivel de significancia (p: probabilidad de obtener ese valor de r o uno mayor, por simple azar, 10.000 permutaciones).....	91
Tabla 8. Efecto del hábitat sobre las variables de paisaje (ANDEVA). En negrita se indican diferencias significativas entre bosque continuo y fragmentos ( $p < 0,05$ ) y en subrayado la significancia marginal ( $0,05 > p < 0,1$ ).....	92
Tabla 9. Análisis de RDA de la relación entre la diversidad genética de <i>C. chilensis</i> y variables de paisaje. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) ns= no significativo, 1 = $p < 0,05$ , 2 = $p < 0,01$ , 3 = $p < 0,001$ . Acrónimos en tabla 8.....	93

Tabla 10. Análisis de RDA de la relación entre la distancia genética (p distance) de *C. chilensis* y variables de paisaje para la ruta de distancia euclidiana (DE) y la ruta de mínimo costo (MC). NQUEB = número de quebradas, ANAT = área bosque nativo, DIST = distancia total entre sitios. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) ns= no significativo, 1 =  $p < 0,1$ , 2 =  $p < 0,05$ , 3 =  $p < 0,01$ , 4 =  $p < 0,001$ . \*Mejor modelo según el criterio de Akaike (AICc).....93

Tabla 11. Índices F de Fu (FS) y D de Tajima (D) de los distintos sitios de muestreo en el bosque continuo y en los fragmentos. Se indican estos mismos índices para cada tipo de hábitat y para el total de secuencias. En negrita  $p < 0,05$  (significancia basada en 10.000 simulaciones).....95

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

- Figura 1. A) Trampa usada para capturar *C. chilensis* y B) larva.....9
- Figura 2. A) Distribución original (verde claro) y actual (verde oscuro) del bosque Maulino, el recuadro muestra la ubicación del sitio de estudio. B) Sitios de muestreo: BC = sitios en el bosque continuo, F = fragmentos y P = plantaciones de pino.....10
- Figura 3. Individuo de *Ceroglossus chilensis* con marcaje individual.....11
- Figura 4. A) Experimentos de depredación: *Ceroglossus chilensis* muerto amarrado a una estaca para evaluar la frecuencia de depredación en el bosque continuo, fragmentos y plantaciones de pino. B) *Ceroglossus chilensis* consumido parcialmente.....17
- Figura 5. Imagen del área de estudio post-cosecha. En verde claro el bosque nativo, en verde oscuro las plantaciones de pino y en café claro las áreas cosechadas. Los cuadros rojos indican los fragmentos rodeados por áreas cosechadas (F3, F8, F10) y los amarillos los rodeados por plantaciones de pino (F1, F4).....23
- Figura 6. Densidad de *Ceroglossus chilensis* en bosque continuo, fragmentos y plantaciones de pino en las distintas estaciones del año (V = verano, O = otoño, I = invierno y P = primavera), entre 2006 y 2009.....25

Figura 7. Temperatura y humedad en los muestreos de distintas estaciones y años para el sitio de estudio (bosque continuo, fragmentos y plantaciones combinadas).....29

Figura 8. Partición de la variación total explicada por un grupo de RDA parciales para la densidad de *C. chilensis*. Niveles de significancia de acuerdo a la prueba de permutaciones de Monte Carlo con 2000 permutaciones: \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns no significativo. La variación total explicada por los tres grupos de variables es 29,2%.....37

Figura 9. Partición de la variación total explicada por un grupo de RDA parciales para la densidad de *C. chilensis*. Niveles de significancia de acuerdo a la prueba de permutaciones de Monte Carlo con 2000 permutaciones: \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = no significativo. La variación total explicada por los tres grupos de variables es 98,7%.....39

Figura 10. Efecto de la cosecha sobre la densidad de *C. chilensis* para verano y otoño del 2007 ajustada según la densidad previa a la cosecha (verano y otoño 2006).....40

## Capítulo II

Figura 1. Sitio de estudio, en verde claro el bosque nativo, en verde oscuro las plantaciones de pino y en café claro las áreas cosechadas.....53

Figura 2. Diagrama de los componentes del movimiento de *C. chilensis* evaluados. La línea punteada representa el camino trazado por el coleóptero. Los círculos abiertos representan los puntos que fueron marcados con banderillas. Los números dentro de los círculos indican cuantos intervalos el individuo estuvo en ese punto (número de periodos de 30 s). Entonces, el dibujo representa un periodo de movilidad que duró dos intervalos, un periodo de inmovilidad que duro cinco intervalos y un periodo de movilidad que duró tres intervalos. La flecha punteada representa como se determinó el ángulo de giro ( $\theta$ ) (modificado de Goodwin y Fahrig 2002a).....55

Figura 3. *Ceroglossus chilensis* con radiotransmisor.....56

Figura 4. Distancia diaria total y efectiva (m/día) recorrida por machos y hembras en el bosque continuo y los fragmentos.....61

Figura 5. Distancia recorrida en 12 horas durante el día y la noche por machos y hembras en el bosque continuo y los fragmentos de Bosque Maulino.....62

Figura 6. Ángulos de giro promedio de machos y hembras en el bosque continuo y los fragmentos de Bosque Maulino.....63

### Capítulo III

- Figura 1. A) Distribución original (verde claro) y actual (verde oscuro) del bosque Maulino, el recuadro muestra la ubicación del sitio de estudio. B) Sitios de muestreo: en recuadros rojos los de Bosque Continuo (BC1, BC2, BC3, BCLEJ) y en recuadros blancos los de Fragmentos (F2, F3, F8, F10). En verde claro el bosque nativo y en verde oscuro las plantaciones de pino.....74
- Figura 2. Red de haplotipos de COI para *C. chilensis* (629 pb) en el bosque Maulino. El tamaño de los círculos representa el número de individuos en cada haplotipo. Distintos colores representan distintos sitios de muestreo: BC = sitios en el bosque continuo, F = fragmentos, Quirigüe = grupo externo.....85
- Figura 3. Red de haplotipos A) sitios de bosque continuo y B) fragmentos.....86
- Figura 4. Relación de diferencia genética según distancia geográfica por sitio (aislamiento por distancia). Los distintos símbolos representan distintas comparaciones entre sitios. La línea continua representa la regresión entre la distancia geográfica y la diferenciación genética para el bosque continuo y la línea punteada para los fragmentos.....91
- Figura 5. Distribución observada de mismatch de COI de *Ceroglossus chilensis* para el total de muestras.....94

## RESUMEN

La fragmentación del hábitat es una de las mayores amenazas a la biodiversidad. En Chile, el bosque Maulino es uno de los bosques más amenazados y subsiste actualmente como fragmentos pequeños y aislados rodeados por plantaciones de *Pinus radiata*. *Ceroglossus chilensis*, carábido no volador endémico de los bosques de *Nothofagus*, está en mayor densidad en los fragmentos pequeños de bosque Maulino que en el bosque continuo y en las plantaciones de pino. En esta tesis estudiamos la demografía, el movimiento y la genética de *C. chilensis*, para identificar los mecanismos responsables de su patrón de distribución y para conocer el estado de conservación de sus poblaciones en el paisaje del bosque Maulino fragmentado.

Entre el 2006 y el 2009 estudiamos las poblaciones de *C. chilensis* en el bosque continuo, fragmentos y plantaciones de pino. Estimamos parámetros demográficos a partir de datos de captura-recaptura y evaluamos la relación del microclima, factores bióticos y configuración del paisaje con la densidad. Además, estudiamos el movimiento de *C. chilensis* mediante observación directa y radiotelemetría y su genética usando Citocromo Oxidasa I.

La concentración de *C. chilensis* en los fragmentos se asoció a una mayor sobrevivencia y crecimiento poblacional. La riqueza de árboles, la cobertura de laurel y lingue en el sotobosque y la densidad de bordes se relacionaron positivamente con la densidad de *C. chilensis*. Por otro lado, *C. chilensis* permaneció más tiempo inmóvil y se movió a tasas

menores en el bosque nativo que en las plantaciones de pino y las áreas cosechadas, moviéndose de manera similar en el bosque continuo y los fragmentos. Además, *C. chilensis* solo percibió los bordes entre áreas sin y con cobertura arbórea, a las que prefiere. Esto podría aumentar la permanencia y la inmigración en los fragmentos, lo que aumentaría la densidad allí, particularmente cuando están al lado de áreas sin cobertura. Además, la diversidad genética de *C. chilensis* es similar entre el bosque continuo y los fragmentos, siendo mayor en los bosques menos aislados y más alejados de los caminos, probablemente porque evitan cruzarlos. La diferenciación genética fue menor entre bosques separados por una mayor área de plantaciones de pino, lo que podría estar asociado a las altas tasas de desplazamiento allí.

Por lo tanto, la mantención del sotobosque nativo en las plantaciones de pino permitiría la mantención de poblaciones viables y disminuiría los posibles efectos negativos del empaquetamiento en los fragmentos, ayudando a la conservación de *C. chilensis* en el bosque Maulino fragmentado.

Un análisis integrado de los aspectos conductuales, demográficos y genéticos, como el que se adoptó en esta tesis, ha sido escasamente realizado en ecología de la fragmentación y es esencial para avanzar en el entendimiento de las causas y consecuencias biológicas de la fragmentación del hábitat.

## ABSTRACT

Habitat fragmentation is one of the highest threats to biodiversity. The Maulino forest is one of the most threatened forests in Chile, and it remains as a mosaic of small fragments surrounded by pine plantations. *Ceroglossus chilensis*, is an endemic no flying carabid beetle associated with *Nothofagus* Forest. In small forests fragments this specie subsists in higher densities than in continuous Maulino forest and pine plantations.

We studied demography, movement and genetics of *C. chilensis* to identify mechanisms responsible of its distribution patterns and to know its population conservation status in the fragmented Maulino forest landscape.

We collected information in continuous and fragmented Maulino forest and in pine plantations between 2006 and 2009. Demographic parameters were estimated using mark-recapture methods and we assessed the relationship between microclimatic, biotic elements and landscape structure with the population density. *C. chilensis* movement data was obtained through direct observation and radio telemetry. Genetics of *C. chilensis* populations was evaluated using cytochrome oxidase I.

High population density of *C. chilensis* in fragments was associated to higher individual survival rate and population growth rate. Understory tree richness, specially laurel and lingue, and edge density were positively related with *C. chilensis* density.

*Ceroglossus chilensis* movement was similar in fragments and continuous forest, and its remained more time immobile and it shown a slower rate of movement there than in pine

plantations and harvested sites. *C. chilensis* showed preference for tree cover areas and edges were perceived only between areas with and without tree cover. This preference might increase the time residence in the fragments and also the immigration from open areas which ultimately might increase population density in Maulino fragments surrounded by harvested areas.

Genetic diversity of *C. chilensis* was similar in fragments and continuous forest, being higher when forests were less isolated and distant from roads, probably due its rejection to cross roads. Also, genetic differentiation was lower when fragments were separated by a bigger area of pine plantation and this might be consequence of the higher rate of movement in that habitat.

Our results suggest that maintenance of the native understory in pine plantations allows supporting viable populations, reducing negative effects of high densities in fragments and therefore promotes conservation of *C. chilensis* in the fragmented Maulino forest.

An integrated analysis of behavior, demographic and genetics aspect, as we develop in this study, has rarely been done in ecology and it is essential to understand the biological mechanism of population's trends in fragmented ecosystems.

## INTRODUCCION GENERAL

Hoy en día, la pérdida y la fragmentación del hábitat son las mayores amenazas para la conservación de la biodiversidad a nivel mundial (Ewers y Didham 2006). Gran parte de los paisajes naturales han sido convertidos en campos de cultivo, plantaciones forestales, praderas u otro tipo de ecosistemas para satisfacer las necesidades humanas. La fragmentación del hábitat es la conversión de un hábitat continuo en numerosos parches pequeños y aislados que quedan rodeados por una matriz distinta en estructura y composición al hábitat original (Didham 1997, Fahrig 2003). Este fenómeno en la naturaleza va acompañado de pérdida de hábitat. Producto de estos procesos, disminuye el área de los parches remanentes y se incrementa su aislamiento, ya sea porque aumenta la distancia que los separa ó porque el tipo de matriz que los rodea constituye una barrera para el movimiento de los organismos que habitan los fragmentos (Bustamante y Grez 1995, Magura *et al.* 2001). Tanto el tamaño de los fragmentos remanentes como el aislamiento que presenten aumentará la probabilidad de extinción de las especies que allí residan, pues las poblaciones son más proclives a la acción de diversos factores ambientales y demográficos (Cronin 2004) y el flujo génico entre las poblaciones locales se dificulta, disminuyéndose el efecto rescate (Brown y Kodrik-Brown 1977, Baguette y Schtickzelle 2003). Por otro lado, en fragmentos pequeños se incrementa la proporción del área que está en estrecho contacto con la matriz (i.e., bordes), lo que intensifica los llamados Efectos de Borde (Heliölä *et al.* 2001). Éstos se han definido como las acciones abióticas y bióticas que ejerce la matriz sobre los fragmentos remanentes

(Murcia 1995). Así, fragmentos más pequeños sufren frecuentemente incrementos en la temperatura, disminución en la humedad relativa, cambios en la composición y abundancia de especies, cambios en la estructura del hábitat y alteraciones en la naturaleza o intensidad de las interacciones y procesos ecológicos, particularmente en los primeros metros cercanos al borde (Didham 1997, Peltonen 1999).

En Chile, el bosque Maulino ha sido intensamente fragmentado y es uno de los bosques más amenazados. Éste se caracteriza por altos niveles de biodiversidad y endemismo (34% de las especies presentes), sin embargo, presenta un alto grado de degradación debido a la continua e intensa explotación a la que se ha visto sometido desde el siglo XIX, la que ha continuado durante las últimas décadas (Echeverría *et al.* 2006). De hecho, entre los años 1978 y 1987 cerca del 18% de su extensión fue sustituida por plantaciones de pino (*Pinus radiata*) (Bustamante y Castor 1998). Hoy en día, este bosque subsiste como un mosaico de fragmentos pequeños y aislados, insertos en una matriz dominada por plantaciones de pino, con solo 190 ha protegidas en dos reservas nacionales (i.e., 0,35% del total remanente), lo que hace a este bosque altamente vulnerable (San Martín y Gómez 2010).

Dentro del bosque Maulino habitan las poblaciones más septentrionales de *Ceroglossus chilensis* (Coleoptera: Carabidae) (Jiroux 1996), siendo crucial su conservación ya que tendrían una alta diversidad genética producto de la condición de refugio glacial de esta área (Smith-Ramírez 2004, Villagrán y Armesto 2005). Además, esta especie es depredadora, consumiendo una variedad de insectos y frutos. Los depredadores están entre los grupos tróficos más sensibles a la fragmentación de hábitats, de manera que si sus poblaciones son afectadas, muy probablemente ello genere efectos en cascadas hacia

el resto del ecosistema (Ewers y Didham 2006). Estudios previos muestran que *C. chilensis* respondería a la fragmentación del bosque Maulino, presentando una distribución desigual en el paisaje, concentrando altas densidades en los fragmentos y menores densidades en el bosque continuo y en las plantaciones de pino (Grez 2005). A pesar de la alta densidad de las poblaciones de *C. chilensis* en los fragmentos, es posible que ellas estén aisladas y sujetas a estrés ambiental y/o genético. Si las poblaciones en los fragmentos se encuentran aisladas, debido a su comportamiento de movimiento (baja probabilidad de cruzar hacia la matriz) o a factores demográficos (alta mortalidad en la matriz), el tamaño poblacional efectivo sería menor con respecto al bosque continuo, disminuyendo su diversidad genética y aumentando su estructuración poblacional (Keighobady 2007). Estas respuestas podrían estar siendo moduladas por los cambios producidos por la fragmentación en la estructura del hábitat, las condiciones abióticas, los recursos alimentarios disponibles y/o la presión de depredación. Por lo tanto, para conocer el real estado de conservación de las poblaciones de *C. chilensis* en el bosque Maulino fragmentado es necesario aproximarse al fenómeno de una manera más holista, como el desarrollado en esta tesis, incluyendo distintos indicadores tales como la demografía, el movimiento y la diversidad genética (Noss 1990).

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la fragmentación del bosque Maulino sobre a) la demografía y el movimiento de *C. chilensis*, para identificar los mecanismos responsables de sus patrones de distribución y b) su diversidad genética, para conocer el estado de conservación de sus poblaciones.

## CAPITULO I

### DEMOGRAFÍA DE *CEROGLOSSUS CHILENSIS* EN EL BOSQUE MAULINO FRAGMENTADO: ROL DE LOS FACTORES MICROCLIMÁTICOS, BIÓTICOS Y DE CONFIGURACIÓN DEL PAISAJE.

#### INTRODUCCION

La fragmentación del hábitat es una de las mayores amenazas a la biodiversidad regional y global (Foley *et al.* 2005, Fischer y Lindenmayer 2007). La reducción en el área del hábitat original que ocurre luego de la fragmentación generalmente produce una reducción en el tamaño de las poblaciones que habitan los fragmentos, pudiendo producirse extinciones locales (Goodman 1987, Turner 1996). Sin embargo, eventualmente los individuos de estas poblaciones reducidas pueden estar en alta densidad en los fragmentos (i.e., empaquetados), lo que se produciría porque al remover hábitat desde un paisaje, los individuos sobrevivientes en la porción de paisaje transformado a matriz se moverán hacia los fragmentos de hábitat remanentes (Collinge y Forman 1998, Debinski y Holt 2000). Este aumento en la densidad no implica necesariamente un incremento en las abundancias poblacionales y dependerá no solo de la cantidad de hábitat removido del paisaje, sino también del patrón de remoción de hábitat (Collinge y Forman 1998).

Adicionalmente, en los fragmentos remanentes las condiciones del hábitat original son alteradas a través del efecto borde. El efecto borde es la influencia que ejerce la matriz sobre los fragmentos, produciendo cambios en el microclima (temperatura, humedad, radiación), en la estructura y composición de la vegetación y permitiendo eventualmente la invasión de especies desde la matriz. La influencia del efecto borde es mayor en fragmentos pequeños y de formas irregulares (Murcia 1995, Turner 1996, Harper *et al.* 2005). Estos cambios en las condiciones del hábitat pueden producir cambios en los patrones de abundancia de las poblaciones, debido a fenómenos demográficos que modifican el crecimiento de las poblaciones que habitan los fragmentos (Dooley y Bowers 1998, Jules 1998, Lennartsson 2002, Bruna y Oli 2005). Los mecanismos subyacentes incluyen cambios en la sobrevivencia, producto por ejemplo, de cambios en los niveles de depredación (Roland 1993, Robinson 1996, Tallmon *et al.* 2003), en la reproducción por cambios en la calidad del hábitat y en la probabilidad de encuentro entre machos y hembras (Goodman 1987, Turner 1996).

Entre los organismos afectados frecuentemente por la fragmentación del hábitat están los carábidos (Coleoptera: Carabidae), los que han sido ampliamente usados como bioindicadores debido a que son especialmente sensibles a la degradación del suelo, a los cambios en las condiciones ambientales y a la homogeneización de su hábitat (Samways 1994, Niemelä 1997, 1999, Desender *et al.* 1999, Magura *et al.* 1997, 2001, 2002, 2003, Koivula 2002, Koivula *et al.* 2002, Rainio y Niemelä 2003). Sin embargo, distintas especies son afectadas de distinta forma por la fragmentación. Estudios en bosques en distintas latitudes han mostrado que algunas especies de carábidos disminuyen en abundancia en fragmentos más pequeños, en cambio otras no son

afectadas o aumentan en abundancia (Davies y Margules 1998). Igualmente, algunas especies son afectadas negativamente por el efecto borde mientras otras no lo son (Davies y Margules 1998, Heliola *et al.* 2001). En general, las especies de carábidos especialistas de bosque, de mayor tamaño y con baja capacidad de dispersión son afectadas negativamente por la fragmentación de su hábitat, mientras que las especies generalistas o de hábitats abiertos no son afectadas o aumentan con la fragmentación (Heliola *et al.* 2001, Magura *et al.* 2001, Magura 2002, Huber y Baumgarten 2005). Sin embargo, existen pocos antecedentes sobre el efecto de la fragmentación y pérdida de hábitat sobre los carábidos en América latina (Niemelä 2001).

La fragmentación de hábitat ha ocurrido a una escala global y Chile no es una excepción. En la costa de Chile central, el bosque Maulino ha sido fuertemente fragmentado y gran parte de él subsiste como fragmentos pequeños y aislados rodeados por plantaciones de *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus* (Echeverría *et al.* 2006, San Martín y Gómez 2010). Dentro de los carábidos que habitan este bosque amenazado se encuentra *Ceroglossus chilensis* el que al ser un depredador de gran tamaño (peso vivo: media  $\pm 1$  ee =  $0,68 \pm 0,005$  g; n = 578) y no tener alas, tendría las características de una especie susceptible a la fragmentación de su hábitat (With y Crist 1995, Gilbert *et al.* 1998, Van Nouhuys 2005). Estudios anteriores, realizados en la Reserva Nacional los Queules y fragmentos vecinos (Región del Maule, Chile), han demostrado que *C. chilensis* es más denso en fragmentos pequeños de bosque Maulino que en el bosque continuo y que en las plantaciones de pino aledañas (Grez 2005). Sin embargo, no existe claridad respecto los mecanismos que determinan este patrón. Por una parte, los fragmentos presentan una mayor acumulación de hojarasca que el bosque continuo, lo

que determina una mayor complejidad estructural del suelo (Palacios-Bianchi 2002). Esto podría estar brindando una mayor disponibilidad de refugios lo que aumentaría su permanencia allí. Por otra parte, en los fragmentos existe una mayor abundancia de insectos (media  $\pm 1$  ee:  $47,9 \pm 4,5$  insectos/trampa vs.  $26,7 \pm 2,7$  en bosque continuo y  $19,68 \pm 1,92$  en plantaciones; A. Pérez y L. Panes, datos no publicados), algunos de los cuales podrían estar siendo utilizados como presa por *C. chilensis*, permitiéndole mantener poblaciones más numerosas en los fragmentos. La mayor abundancia de *C. chilensis* en los fragmentos ocurre a pesar de que existe también una mayor abundancia de vertebrados que consumen insectos, tanto roedores (Saavedra y Simonetti 2005), como aves (González-Gómez *et al.* 2006) y zorros (Acosta y Simonetti 2004, Correa y Roa 2005), que podrían estar depredando a *C. chilensis* y por lo tanto aumentado su mortalidad allí. Sin embargo, se ha descrito que este insecto sería poco depredado, por lo menos en su estado adulto, debido a los sistemas químicos de defensa que posee, propios de la familia Carabidae (Ruiz 1936, Roig-Juñent y Domínguez 2001). Por otro lado, debido a que los fragmentos tienen mayor cantidad de bordes y por lo tanto una mayor superficie de entrada de individuos desde las plantaciones, la alta densidad en los fragmentos puede ser producida por una mayor tasa de inmigración en ellos (Bowman *et al.* 2002).

Lo anterior sugiere que una serie de variables pueden ser responsables del cambio en los patrones de densidad observados en *C. chilensis*. Estas incluyen variables abióticas, bióticas y de paisaje que están siendo modificadas por la fragmentación del hábitat y que podrían estar correlacionadas. El entendimiento de la importancia de cada grupo de variables por separado y su efecto conjunto en explicar la variación observada en la

densidad, puede ayudar a diseñar mejores medidas de manejo de las poblaciones para la conservación en los paisajes fragmentados (Margules y Usher 1991, Coppeto *et al.* 2006).

La densidad poblacional en un determinado hábitat no necesariamente es un buen indicador del estado de conservación de las poblaciones (Van Horne 1983), a pesar de que es una variable fácil de medir y que responde rápidamente a los cambios antropogénicos del paisaje (e.g. Niemelä *et al.* 2002, Van Dongen y Scott 2002, Krauss *et al.* 2003). Una mejor visión del estado de las poblaciones y de su probabilidad de persistencia en los paisajes fragmentados puede ser obtenida a través de la estimación de parámetros demográficos en los distintos hábitats, tales como fecundidad, sobrevivencia y crecimiento poblacional (Brawn y Robinson 1996, Holsinger 2000).

El objetivo de este estudio fue determinar la demografía de *C. chilensis* en el bosque Maulino fragmentado y sus posibles causas. Los objetivos específicos fueron: 1) determinar la abundancia y distribución de *C. chilensis* en el paisaje, 2) estimar los parámetros demográficos de las poblaciones y 3) estimar el efecto de la fragmentación, del microclima, de los factores bióticos (recursos alimenticios, frecuencia de depredación y estructura del microhábitat) y de la configuración del paisaje sobre la densidad de *C. chilensis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Capturas*

Para coleccionar individuos de *C. chilensis* usamos recipientes plásticos de 11 cm de diámetro y 8 cm de profundidad, enterrados a nivel del suelo (Fig. 1 A). Estas trampas permanecieron abiertas por 72 h continuas. Los individuos capturados fueron sexados, marcados y contados, liberándolos posteriormente en la proximidad de la trampa donde fueron capturados. También contamos el número de larvas de la especie como una estimación de la tasa de reproducción (Fig. 1 B).

A)

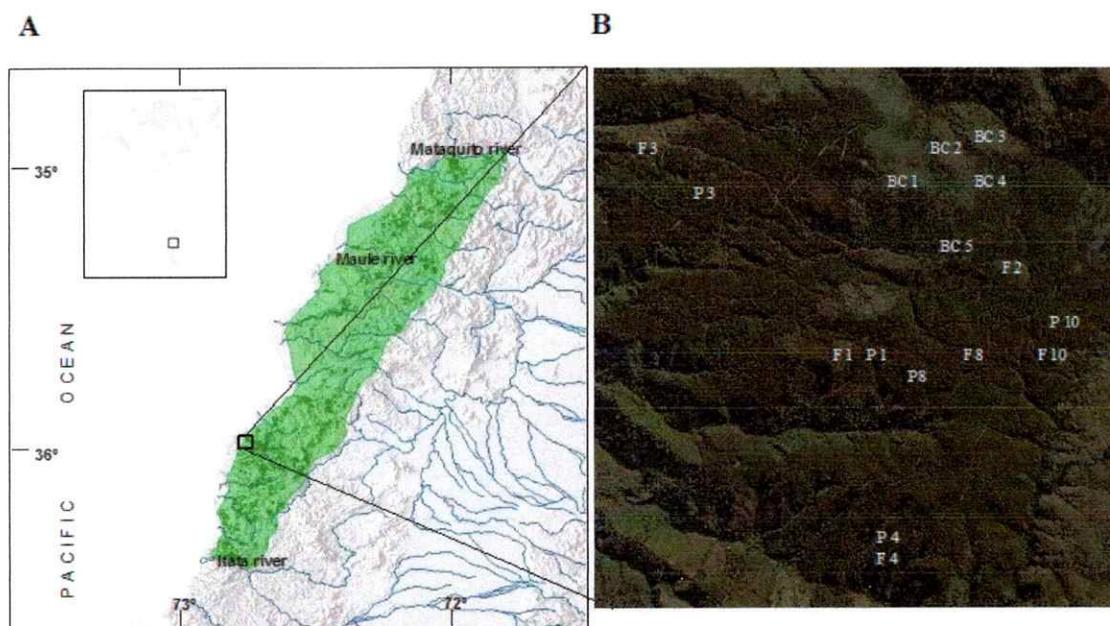


B)



**Fig. 1.** A) Trampa usada para capturar *C. chilensis* y B) larva.

Durante el 2006 realizamos un muestreo por estación (12 de enero, 23 de abril, 12 julio y 16 de octubre). Para estudiar si existía efecto borde sobre las poblaciones de *C. chilensis* ubicamos las trampas en el centro y borde de cinco sitios del bosque continuo (BC), en el centro y borde de cinco fragmentos (F) y de cinco plantaciones de pino (P; Fig. 2). En cada borde, instalamos dos líneas de trampas a 5 y 10 m hacia el interior de cada hábitat. Cada línea tenía 10 trampas separadas por 5 m, con un total de 20 trampas por borde. En los centros, instalamos 20 trampas en el centro geométrico de los fragmentos, mientras que en el bosque continuo y las plantaciones de pino, 20 trampas fueron ubicadas al menos a 60 m desde el borde, debido a que es la distancia donde la mayoría de los efectos borde son atenuados (Heliölä *et al.* 2001). El primer punto de muestreo de cada línea fue determinada al azar, activándose un total de 200 trampas en el bosque continuo, 200 en los fragmentos y 200 en las plantaciones de pino.



**Fig. 2.** A) Distribución original (verde claro) y actual (verde oscuro) del bosque Maulino, el recuadro muestra la ubicación del sitio de estudio. B) Sitios de muestreo: BC = sitios en el bosque continuo, F = fragmentos y P = plantaciones de pino,

Con el objetivo de aumentar la tasa de captura para disminuir el error de estimación de los parámetros demográficos (Cooch y White 2010, p ideal ~ 0,2 - 0,3, L. Crespin Com. Pers.), entre el otoño del 2007 y del 2008 realizamos 10 muestreos separados por aproximadamente un mes solo en el centro de cada sitio, aumentando el número de trampas de 20 a 60 por sitio (tres trampas por estación de trampeo), cubriendo un área aproximada de 300 m<sup>2</sup> en cinco sitios de bosque continuo (BC1 a BC5), cinco fragmentos (F1, F2, F3, F8, F10) y dos plantaciones de pino (P1, P8), con un total de 720 trampas. Posteriormente, para aumentar aun más el éxito de captura muestreamos más intensivamente en otoño del 2009, dado que es la estación del año con mayor densidad. En esta ocasión, realizamos un total de 4 muestreos cada 15 días aprox. en tres sitios de bosque continuo (BC3, BC4, BC5), tres fragmentos (F3, F8, F10) y dos plantaciones de pino (P1, P8), con un total de 480 trampas. Los individuos capturados fueron marcados individualmente con números para abejas reinas de distintos colores según campaña y sitio de captura (Fig. 3).



**Fig. 3.** Individuo de *Ceroglossus chilensis* con marcaje individual.

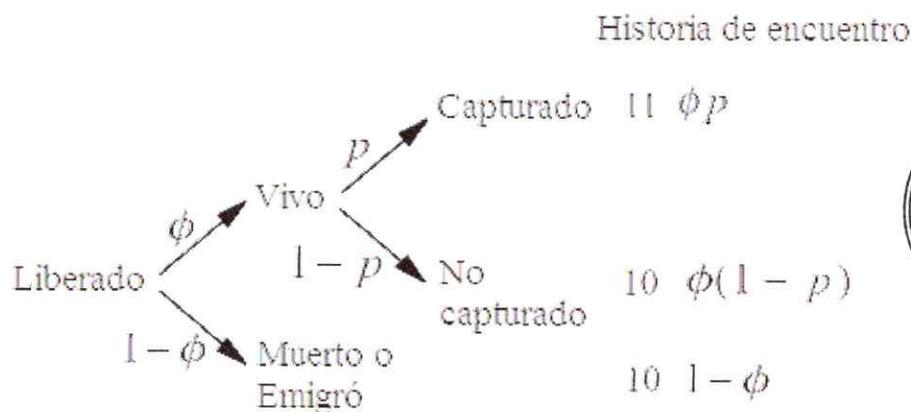
### *Efecto estación, hábitat y ubicación*

Para evaluar el efecto de la estación del año y del hábitat sobre la densidad de *C. chilensis* realizamos un análisis de varianza de medidas repetidas (ANDEVAmr) en STATISTICA 6.0 (StatSoft 2001), con los datos de un muestreo por estación entre el verano del 2006 y el otoño del 2008 y un muestreo del 2009 de los centros de cada sitio, estandarizando las densidades por número de trampas. En los casos en que los efectos fueron significativos, utilizamos la prueba *a posteriori* de Tukey y comparaciones planeadas para determinar el efecto de la estación de muestreo. Para que los datos cumplieran con los supuestos del Análisis de Varianza (ANDEVA), aplicamos la transformación de Box-Cox, la que a través de la utilización de un parámetro  $\lambda$  convierte los datos de manera que cumplan con la homogeneidad de varianzas y se ajusten a una distribución normal. Sin embargo, dicha transformación no opera con valores igual a cero, razón por la cual se le debió sumar 0,5 a cada uno de los datos. Esta transformación la realizamos en el programa Rndom BC 1.0 (Jadwiszczak 2004). Para evaluar el efecto de la ubicación (centro y borde), sobre la densidad y la razón de sexos de *C. chilensis* realizamos un ANDEVAmr con los datos del año 2006 (Henríquez *et al.* 2009).

### *Selección de modelos y parámetros demográficos*

Estimamos los parámetros demográficos con máxima verosimilitud usando procedimientos de captura-marcaje-recaptura (CMR) (Lebreton *et al.* 1992). Las recapturas de individuos vivos son la base del modelo estándar de Cormack-Jolly-Seber (CJS). Para ello, los animales capturados y marcados son liberados en la población,

capturados nuevamente y re-liberados. Si los individuos son liberados en la ocasión 1 cada captura subsiguiente es una ocasión de encuentro o recaptura. Considerando el siguiente escenario:



(modificado de White y Burnham 1999)

Donde los animales sobreviven desde la liberación inicial al segundo encuentro con probabilidad  $S_1$ , del segundo encuentro al tercer encuentro con probabilidad  $S_2$ , y así sucesivamente. La probabilidad de recaptura al segundo encuentro es  $p_2$ , al tercer encuentro  $p_3$ , y así sucesivamente. Para estimar la probabilidad de sobrevivencia ( $S$ ) entre la primera ocasión de liberación y el siguiente encuentro en el modelo completamente dependiente del tiempo se requieren al menos 2 ocasiones de recaptura. La probabilidad de sobrevivencia entre los últimos dos encuentros no es estimable debido a que solo el producto de la sobrevivencia y la probabilidad de recaptura para esa ocasión es identificable. Generalmente, como se ve en el diagrama, las probabilidades de sobrevivencia del modelo de CJS son denotadas como  $\phi_1$ ,  $\phi_2$ , y así sucesivamente., ya que es la probabilidad de permanecer disponible para la recaptura. Esto debido a que los

animales que emigran del área de estudio no están disponibles para la recaptura, entonces aparentan haber muerto en este modelo. Por lo tanto  $\phi_i = S_i (1 - E_i)$ , donde  $E_i$  es la probabilidad de emigrar del área de estudio, y  $\phi$  es denominada sobrevivencia “aparente”, ya que este parámetro técnicamente no es la sobrevivencia de los individuos marcados en la población sino la probabilidad de los animales de permanecer vivos y disponibles para la recaptura (White y Burnham 1999).

Entonces a partir de las diferentes historias de encuentros de los individuos se pueden estimar las probabilidades de  $\phi$  y  $p$ :

<i>Historia de encuentro</i>	<i>Probabilidad de historia de encuentro</i>
111	$\phi_1 p_2 \phi_2 p_3$
110	$\phi_1 p_2 [\phi_2 (1 - p_3) + (1 - \phi_2)]$ $= \phi_1 p_2 (1 - \phi_2 p_3)$
101	$\phi_1 (1 - p_2) \phi_2 p_3$
100	$(1 - \phi_1) + \phi_1 (1 - p_2) (1 - \phi_2) + \phi_1 (1 - p_2) \phi_2 (1 - p_3)$ $= 1 - \phi_1 p_2 - \phi_1 (1 - p_2) \phi_2 p_3$

(modificado de White y Burnham 1999)

Donde:  $\phi_i$  = probabilidad de sobrevivir del tiempo ( $i$ ) al ( $i+1$ )  
 $(1 - \phi_i)$  = probabilidad de no sobrevivir del tiempo ( $i$ ) al ( $i+1$ )  
 $p_i$  = probabilidad de encuentro (captura) al tiempo ( $i$ )  
 $(1 - p_i)$  = probabilidad de no encontrar el individuo al tiempo ( $i$ ).

Nuestros datos consistieron en historias de captura y recaptura para 11 ocasiones entre el año 2007 y el 2009, de tres sitios de bosque continuo, tres fragmentos y dos plantaciones de pino. Se estimó la sobrevivencia aparente ( $\phi$ ) entre muestreos usando modelos poblacionales abiertos (Lebreton *et al.* 1992). La estimación de la sobrevivencia fue

estandarizada a un mes. Una prueba de bondad de ajuste para el modelo general fue realizado en el programa MARK (versión 5.0, White y Burnham 1999) usando la prueba bootstrapped GOF (Cooch y White 2010). Para todos los parámetros demográficos construimos un grupo de modelos para probar la hipótesis de diferencia entre hábitats (i.e. bosque continuo, fragmentos y plantaciones), entre estaciones (otoño, primavera y verano) y años (2007, 2008 y 2009). Las probabilidades de capturas ( $p$ ) también fueron evaluadas en función de la variación espacial y temporal. Además, evaluamos el efecto de la presencia de transientes (i.e. individuos migrantes que después del marcaje dejan el área de estudio permanentemente, lo que equivale a que hubieran muerto), incorporando un modelo donde la sobrevivencia difiere entre los capturados por primera vez (i.e., mezcla de residentes y transientes) y los marcados previamente (i.e., solo residentes, modelo a2, Pradel *et al.* 1997). Solo se incluyeron en el grupo de modelos a evaluar aquellos modelos donde todos los parámetros fueron estimables dada la calidad/cantidad de los datos disponibles (Burnham y Anderson 1998, Ginzburg y Jensen 2004).

Todos los parámetros fueron analizados por la modelación estadística de CMR basada en el criterio de información de Akaike (AIC; Lebreton *et al.* 1992) corregido para muestras pequeñas (AICc), en el programa MARK. Entre el grupo de modelos evaluados se seleccionó el modelo con el menor AICc y con una diferencia ( $\Delta$  AICc) > 2; de otra manera los modelos fueron considerados estadísticamente idénticos (Burnham y Anderson 1998). En ese caso seleccionamos el modelo con el menor número de parámetros asumiendo un criterio de parsimonia (Crespin y Lima 2006). Posteriormente, consideramos diferentes a los valores de los parámetros si no se sobreponían los límites de confianza al 95% (White y Burnham 1999).

La tasa de reclutamiento ( $1-\gamma$ ) fue estimada con el método desarrollado por Pradel (1996) leyendo hacia atrás las historias de captura (método captura-recaptura reverse-time). Esto permite estimar la probabilidad de que un individuo capturado en el tiempo  $t+1$  haya estado presente en la población al tiempo  $t$ , la que se denomina probabilidad de antigüedad (seniority  $\gamma$ ; Pradel 1996) y representa una fracción de la población. Finalmente, estimamos la tasa de crecimiento poblacional anual (Lambda:  $\lambda$ ) usando el estimador de Pradel en el programa MARK, considerando solo una sesión de captura por año en otoño (i.e., mayo), que es la época de mayor denso-actividad de *C. chilensis*.

#### *Factores microclimáticos*

Una vez por estación evaluamos la humedad del suelo estimada a partir de dos muestras de 80 cc de suelo por sitio, las que fueron secadas en horno por 2 días a 80°C, calculando el porcentaje de agua existente por las diferencias de peso pre y post secado. Medimos la temperatura ambiental usando termómetros de máxima y mínima durante los tres días de colecta. Comparamos la humedad del suelo y la temperatura entre hábitats y estaciones a través de un ANDEVA factorial. Como prueba *a posteriori* se usó la prueba de Tukey.

#### *Factores bióticos*

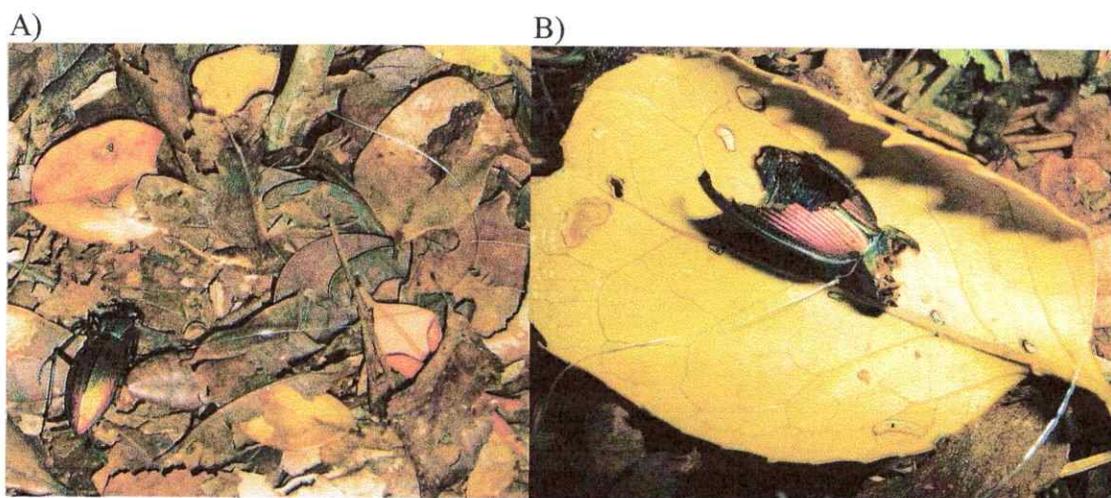
##### *1.- Disponibilidad de recursos alimenticios*

En abril del 2008 evaluamos la disponibilidad de recursos alimenticios (i.e. invertebrados) en los distintos hábitats. En cada sitio, recolectamos en mallas de tul el contenido de las trampas de caída sin captura de *C. chilensis* y las dispusimos en una cámara con acetato de etilo. Posteriormente, los invertebrados presentes en las muestras

fueron separados y secados en una cámara a 50°C por 48 h y pesados en una balanza de precisión (AA200DS Denver Instrument Company). Finalmente, corregimos el peso en miligramos por el número de trampas y realizamos un ANDEVA, evaluando el efecto hábitat.

## 2.- Depredación

Para evaluar la frecuencia de depredación de *C. chilensis* en el bosque continuo, los fragmentos y las plantaciones de pino, en el otoño e invierno del 2007 y verano y otoño del 2008 evaluamos la remoción o señas de depredación (Fig. 4 B) en cinco individuos muertos por sitio en cada tipo de hábitat. Cada individuo fue expuesto sobre el suelo atado a una estaca con hilo transparente separado por lo menos 15 m de los otros individuos experimentales durante 3 días (Fig. 4 A). Realizamos un ANDEVA factorial con efecto hábitat y estación, previa transformación Box-Cox de la frecuencia de depredación.



**Fig. 4.** A) Experimentos de depredación: *Ceroglossus chilensis* muerto amarrado a una estaca para evaluar la frecuencia de depredación en el bosque continuo, fragmentos y plantaciones de pino. B) *Ceroglossus chilensis* consumido parcialmente

### *3.- Estructura del microhábitat*

En el 2009 realizamos la descripción del microhábitat basada en 35 métricas de hábitat evaluadas en cinco estaciones de trampeo en tres sitios de bosque continuo (BC3, BC4, BC5), tres fragmentos (F3, F8, F10) y dos plantaciones de pino (P1, P8). En cada estación de trampeo ubicamos cuatro cuadrantes de 1 x 1 m, en los que evaluamos siete grupos de variables. Posteriormente, promediamos los datos de los cuadrantes obteniendo un valor por estación de trampeo. Las métricas evaluadas en cada grupo de variables son las siguientes:

- a) Número de troncos y tocones y profundidad de hojarasca: en el suelo contamos el número de troncos pequeños (< 7,5 cm de diámetro), troncos medianos (7,5 - 15 cm), troncos grandes (> 15 cm), el número de tocones naturales y cortados y medimos la profundidad de la hojarasca.
- b) Cobertura a nivel del suelo (< 50 cm): evaluamos el porcentaje del área cubierta por hojarasca, ramas, troncos, arbustos, herbáceas, acículas, suelo desnudo, roca y otros.
- c) Cobertura a nivel de arbustos (50 cm a 2 m): evaluamos el porcentaje cubierto por árboles juveniles, ramas, arbustos y hierbas.
- d) Cobertura a nivel de árboles (> 2 m): evaluamos el porcentaje cubierto por ramas, nativo, pino y el diámetro a la altura del pecho del árbol más cercano > a 7,5 cm.
- e) Densidad de follaje arbustivo: la evaluamos poniendo una regla en forma vertical y estimando la cobertura a 1 - 10 cm, 11 - 25 cm y a 1 - 2 m y midiendo la altura máxima de herbáceas y arbustos.
- f) Riqueza de especies: contamos el número de especies presentes de helechos, hierbas, arbustos, árboles y enredaderas.

g) Cobertura por especie de árbol: dentro de un cilindro de 2 m de diámetro y 2 m de altura evaluamos el porcentaje cubierto por distintas especies de árboles.

La cobertura a nivel de suelo, de arbustos y de árboles la evaluamos por medio de una estimación visual en una escala de 0 a 5 (0= 0%, 1= de 0 - 25%, 2= 26 - 50%, 3= 51 - 75%, 4= 76 -100% y 5= 100%).

Para evaluar si la estructura del microhábitat variaba entre hábitats realizamos en STATISTICA 6.0 un Análisis de Varianza Multivariado (ANDEVAM) y posteriormente un ANDEVA para cada variable medida.

### *Configuración del paisaje*

Para determinar la relación entre la configuración del paisaje y la densidad de *C. chilensis* incorporamos la información de distintas variables de paisaje en un Sistema de Información Geográfico (SIG) elaborado en ArcMap 8.1 (Environmental Systems Research Institute). Las capas incorporadas incluyeron: uso de suelo, caminos, quebradas, altura y pendiente. Alrededor de cada punto de muestreo elaboramos un buffer de 100 m de radio debido a que esta fue la distancia máxima de desplazamiento diario registrada. En cada buffer calculamos métricas de paisaje: densidad de bordes (BORDE), área de parche promedio (AREA), heterogeneidad del paisaje (HPAI, caracterizado a través del índice de Shannon) e índice de forma promedio (FORMA) usando FRAGSTAT 3.3 (McGarigal *et al.* 2002, Barbaro *et al.* 2007). Además, calculamos el promedio de la altitud (i.e. msnm, ALT), la pendiente en grados (PEND) la distancia a los caminos (DCAM), distancia a las quebradas (DQUEB) y el porcentaje de área cubierta por bosque nativo (ANAT), plantaciones de pino (APIN) y caminos

(ACAM). Para evaluar si las variables de paisaje difieren entre hábitats realizamos un ANDEVAM y posteriormente un ANDEVA para cada variable medida en STATISTICA 6.0.

*Relación de la densidad de C. chilensis con los factores microclimáticos, bióticos y de configuración del paisaje.*

Evaluamos la relación de la densidad de *C. chilensis* con cada grupo de factores por separado (microclima, bióticos y de paisaje) a través de regresiones simples y múltiples de rango reducido (i.e. Análisis de Redundancia, RDA), que corresponden a la forma canónica del análisis de componentes principales. Dentro de cada grupo de variables, seleccionamos aquellas que contribuyen más a la explicación de la variación usando el procedimiento de selección hacia adelante (forward) en CANOCO para Windows 4.53 (ter Braak 1988, Leps y Smilauer 2003), permitiendo la entrada de una variable cuando  $p < 0,10$ , con un máximo de tres variables por grupo. La significancia de cada variable y del modelo total seleccionado se evaluó a través de 2000 permutaciones de Monte Carlo. Para el grupo de factores bióticos evaluamos por separado el efecto de la disponibilidad de recursos, la frecuencia de depredación y la estructura del microhábitat. En el caso de la estructura del microhábitat construimos modelos para cada grupo de variables (a – g) y posteriormente construimos un modelo general seleccionando entre las variables retenidas en cada uno de los grupos anteriores. Debido a que no todas las variables fueron medidas en todos los sitios y en todas las estaciones del año realizamos los análisis para cada grupo de variables con el máximo de información disponible.

*Importancia de la fragmentación del hábitat versus los factores microclimáticos, bióticos y de paisaje sobre la densidad de C. chilensis*

Debido a que las variables microclimáticas, bióticas y de paisaje pueden estar relacionadas entre sí y además ser modificadas por la fragmentación del hábitat y la estacionalidad, la variación en la densidad de *C. chilensis* explicada por los distintos grupos de variables puede estar correlacionada y entonces ser parcialmente redundante. Para determinar la proporción de variación explicada por cada grupo de variables determinamos sus efectos conjuntos e independientes en la densidad de *C. chilensis* a través del método de partición de la variación (Bordcard *et al.* 1992, Anderson y Gribble 1998, Coppeto *et al.* 2006, Barbaro *et al.* 2007). Para identificar la variación explicada por cada grupo de variables por si sola, la variación compartida y la variación residual, realizamos una serie de pasos que involucran análisis de redundancia parciales (i.e., con covariables) en CANOCO. Para cada análisis registramos el porcentaje de la variación explicada (i.e. 100 x eigenvalues canónicos) y la significancia estadística de los efectos evaluada a través de 2000 permutaciones de Monte Carlo del modelo completo (Anderson y Gribble 1998).

Para evaluar el efecto en conjunto y por separado de la estacionalidad, la fragmentación del hábitat y el microclima sobre la densidad de *C. chilensis* utilizamos los datos estacionales del año 2006 al 2009. Además, para evaluar el efecto en conjunto y por separado de la fragmentación del hábitat, las variables ambientales, bióticas y de paisaje sobre la densidad de *C. chilensis* utilizamos los datos de otoño del 2008. Previamente, dentro de cada grupo de variables, realizamos una selección de variables con el

procedimiento forward en CANOCO, permitiendo la entrada de una variable si  $p < 0,10$ . La significancia se evaluó a través de 2000 permutaciones de Monte Carlo.

*Efecto de la cosecha de las plantaciones sobre la densidad de C. chilensis*

Dado que en el invierno del 2006 se cosecharon algunas de las plantaciones de pino aledañas a los fragmentos estudiados (Fig. 5), evaluamos el efecto de esta cosecha sobre la densidad de *C. chilensis* en los fragmentos. Para esto, comparamos la densidad precosecha (verano y otoño 2006) y postcosecha (verano y otoño 2007) en los centros y los bordes de los fragmentos que quedaron rodeados por áreas cosechadas y los rodeados por plantaciones no cosechadas. Realizamos un Análisis de Covarianza (ANCOVA) usando la abundancia precosecha como covariable en STATISTICA 6.0 (Statsoft, Inc. 2001). Además, evaluamos si la cosecha se relacionaba con cambios en el microclima y la presión de depredación en los fragmentos a través de ANDEVAs de una vía. Por otro lado, para evaluar la densidad de *C. chilensis* en las áreas cosechadas y las plantaciones de pino aledañas a los fragmentos, muestreamos a través de trampas sus centros y bordes durante la primavera, verano y otoño siguientes a la cosecha. Posteriormente, comparamos las densidades en los centros y bordes de las áreas cosechadas y las plantaciones de pino a través de un ANDEVA.



**Fig. 5.** Imagen del área de estudio post-cosecha. En verde claro el bosque nativo, en verde oscuro las plantaciones de pino y en café claro las áreas cosechadas. Los cuadros rojos indican los fragmentos rodeados por áreas cosechadas (F3, F8, F10) y los amarillos los rodeados por plantaciones de pino (F1, F4).

## RESULTADOS

### *Densidad de larvas*

La densidad de larvas acumulada en todos los muestreos fue 6,5 veces mayor en los fragmentos (F) que en el bosque continuo (BC), mientras que en las plantaciones (P) la densidad fue intermedia (media  $\pm$  ee: F =  $5,2 \pm 1,77$ , BC =  $0,8 \pm 0,37$  y P =  $4,5 \pm 1,5$ ). Estas diferencias fueron marginalmente significativas ( $F_{(2,9)} = 3,32$ ,  $p = 0,08$ ). Sin embargo, la relación larvas/adulto acumulado no difirió entre hábitats (media  $\pm$  ee: F =  $0,012 \pm 0,007$ , BC =  $0,004 \pm 0,003$  y P =  $0,006 \pm 0,004$ ;  $F_{(2,12)} = 0,40$   $p = 0,68$ ).

### *Densidad de adultos*

La densidad de *C. chilensis* tuvo una marcada estacionalidad, siendo en general mayor en otoño que en primavera y verano. En invierno la densidad fue muy baja, no capturándose individuos en la mayoría de los sitios ( $F_{(9, 45)} = 24,01$   $p < 0,001$ ). Además, la densidad fue mayor en los fragmentos que en el bosque continuo, mientras que en las plantaciones de pino fue similar a ambos hábitats ( $F_{(2,5)} = 6,27$   $p = 0,04$ ; Fig. 6).

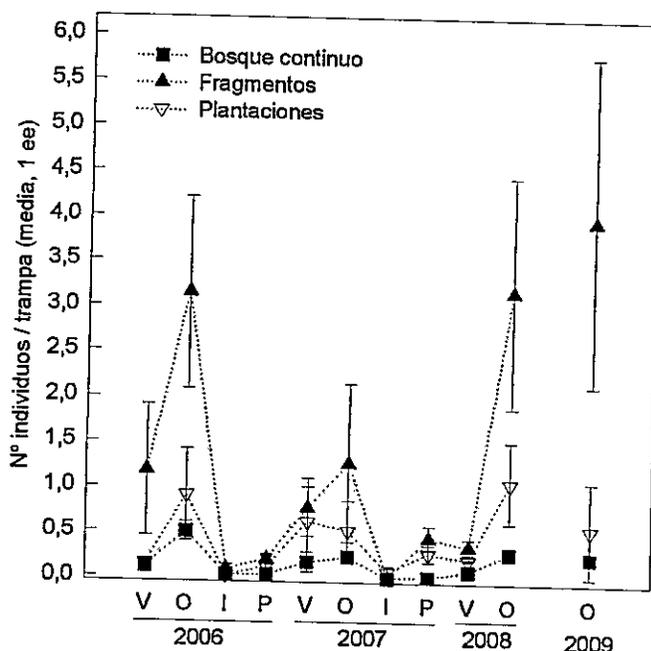


Fig. 6. Densidad de *Ceroglossus chilensis* en bosque continuo, fragmentos y plantaciones de pino en las distintas estaciones del año (V = verano, O = otoño, I = invierno y P = primavera), entre 2006 y 2009.

La densidad de *C. chilensis* en el año 2006 fue similar en centros y bordes ( $F_{(1,96)} = 0.78$ ,  $p = 0.38$ ), aunque la densidad en los bordes del bosque continuo fue similar a los centros y bordes de los fragmentos (ubicación x hábitat  $F_{(2,96)} = 3.77$ ,  $p = 0.03$ ). En cuanto a la razón de sexos esta no difiere de 1:1 en todos los hábitats (Henríquez *et al.* 2009).

#### *Selección de modelos y estimación de parámetros demográficos*

Las estimaciones de los parámetros demográficos se basaron en un total de 3269 *C. chilensis* capturados entre el otoño del 2007 y el otoño del 2009. En promedio cada individuo fue capturado 1,12 veces y el máximo de veces que se recapturó un individuo fue cuatro. La edad máxima registrada en este estudio fue de 24 meses en dos individuos, lo que se corresponde con la duración total del estudio.

Inicialmente, ajustamos modelos para estimar la probabilidad de captura manteniendo la sobrevivencia constante. La probabilidad de captura es un parámetro “ruidoso” (*sensu* Lebreton *et al.* 1992) ya que no es uno de los parámetros de interés, pero influye en las estimaciones de los parámetros demográficos. En el modelo seleccionado la probabilidad de captura difiere entre muestreos, siendo menor en el muestreo 10 que en los muestreos 1, 2, 5-9. En los muestreos 3 y 4 la captura es similar a ambos grupos (límites de confianza al 95%, Tabla 1).

Es necesario asegurar que el modelo más general (i.e. el con más parámetros) en el grupo de modelos a ser evaluados, se ajusta adecuadamente a los datos, para poder obtener una buena inferencia al comparar el ajuste relativo entre el modelo general y uno con reducción de parámetros (Cooch y White 2010). Debido a que el modelo general de Cormack Jolly Seber (CJS) -totalmente dependiente del tiempo (i.e. muestreos)- tuvo muchos parámetros no estimables, ajustamos como modelo general uno en el que la sobrevivencia varía según el hábitat y el tiempo agrupado en años, incluyendo la interacción hábitat x año. Probamos la bondad de ajuste de este modelo general a través de la prueba bootstrapped GOF en MARK. En este procedimiento el programa simula historias de captura que cumplen los supuestos de CJS usando los estimadores de los parámetros obtenidos en el modelo general evaluado (i.e.  $p$  y  $\phi$ ) y el número de individuos liberados en cada ocasión. Posteriormente evalúa el grado de ajuste del modelo general a los datos simulados, calculando su *devianza* (i.e. medida de cuanto se aleja del modelo con ajuste perfecto o modelo saturado, Lebreton *et al.* 1992). A menor devianza mejor es el ajuste del modelo. En este caso el 99% de las simulaciones tuvo una devianza igual o mayor a la del modelo general evaluado con los datos reales, por lo

que este modelo se ajusta bien a los datos (Cooch y White 2010). Posteriormente reducimos la cantidad de parámetros estimados eliminando el componente de la interacción, lo que disminuyó el AICc en 4,8, siendo elegido este modelo como el más parsimonioso (Crespin y Lima 2006). En este modelo la sobrevivencia varía entre hábitats y años (Tabla 1), siendo similar entre hábitats el año 2007 y el año 2009. Durante el año 2008 la sobrevivencia fue mayor en los fragmentos que en las plantaciones de pino y el bosque continuo.

**Tabla 1.** Modelos y estadísticas para estimar la probabilidad de captura ( $p$ ) y la sobrevivencia ( $\phi$ ).  $i$  = parámetro constante, hábitat = diferencias entre bosque continuo (BC), fragmentos (F) y plantación (P),  $a_2$  = diferencias entre los capturados por primera vez y los marcados previamente, tiempo = variación entre muestreos, estación = variación entre otoño, primavera y verano, año = variación entre el 2007, 2008 y 2009. # P = número de parámetros estimados. AICc = criterio de información de Akaike, modelo con menor valor y marcado con asterisco indica el modelo más parsimonioso.

Modelo	AICc	# P	Devianza	Valores de los parámetros (para el modelo más parsimonioso)
<b>Captura (<math>p</math>)</b>				
$\phi$ i p tiempo*	2875,73	10	246,50	$p_2= 0,11$ ; $p_3= 0,10$ ; $p_4= 0,04$ ;
$\phi$ i p hábitat	2956,79	4	339,61	$p_5= 0,06$ ; $p_6= 0,13$ ; $p_7= 0,18$ ;
$\phi$ i p año	2963,55	4	346,37	$p_8= 0,14$ ; $p_9= 0,06$ ; $p_{10}= 0,03$
$\phi$ i p i	2976,17	2	363,00	
$\phi$ i p estación	2978,44	4	361,26	
<b>Sobrevivencia (<math>\phi</math>)</b>				
$\phi$ hábitat+año p tiempo*	2794,23	14	156,93	$\phi$ 2007: BC= 0,94; F= 0,97; P= 0,94
$\phi$ hábitat.año p tiempo	2799,07	18	153,69	$\phi$ 2008: BC= 0,73; F= 0,86; P= 0,71
$\phi$ año p tiempo	2819,43	12	186,17	$\phi$ 2009: BC= 0,12; F= 0,24; P= 0,11
$\phi$ hábitat p tiempo	2863,62	12	230,35	
$\phi$ hábitat.a <sub>2</sub> p tiempo	2869,46	15	230,14	
$\phi$ hábitat.estación p tiempo	2870,96	18	225,58	
$\phi$ i p tiempo	2875,73	10	246,50	
$\phi$ a <sub>2</sub> p tiempo	2877,48	11	246,22	
$\phi$ estación p tiempo	2878,30	12	245,04	

Para las tasas de reclutamiento ( $1-\gamma$ ), el mejor modelo solo incluyó el efecto del tiempo pero no del hábitat (Tabla 2). El reclutamiento mostró variabilidad estacional, con

mayores valores en primavera y verano (0,33 y 0,29, respectivamente) que en otoño (0,14).

La tasa de crecimiento poblacional anual ( $\lambda$ ) varió entre hábitats y años, siendo mayor en los fragmentos que en el bosque continuo. En las plantaciones de pino, el crecimiento fue similar a los fragmentos en el período 2007- 2008, sin embargo en el 2008-2009 fue el más bajo de los tres hábitats. En general, en los fragmentos y plantaciones la tasa de crecimiento poblacional fue mayor en el período 2007-2008 que en el 2008-2009, en cambio en el bosque continuo fue similar entre ambos períodos, teniendo una población más estable ( $\lambda \sim 1$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Modelos y estadísticas para estimar antigüedad (i.e. seniority  $\gamma$ ) (Tasa de Reclutamiento =  $1-\gamma$ ) y Tasa de crecimiento ( $\lambda$ ).  $i$  = parámetro constante, estación = variación entre otoño, primavera y verano, hábitat = diferencias entre bosque continuo (BC), fragmentos (F) y plantación (P), año = variación entre el período 2007 - 2008 y 2008 - 2009. # P= número de parámetros estimados. AICc = criterio de información de Akaike, modelo con menor valor y marcado con asterisco indica el modelo más parsimonioso.

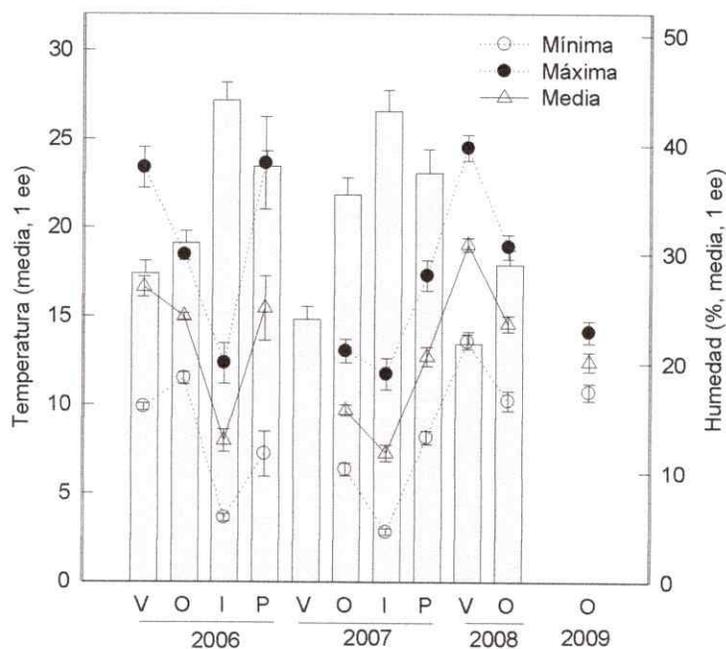
Modelo	AICc	# P	Devianza	Valores de los parámetros (para el modelo más parsimonioso)
<b>Seniority (<math>\gamma</math>) (Tasa de Reclutamiento = <math>1-\gamma</math>)</b>				
$\gamma$ estación p i*	3481,33	4		$\gamma$ otoño = 0,86
$\gamma$ estación.hábitat p i	3486,09	10		$\gamma$ primavera = 0,67
$\gamma$ hábitat p i	3510,24	4		$\gamma$ verano = 0,71
$\gamma$ i p i	3510,88	2		
<b>Tasa de crecimiento (<math>\lambda</math>)</b>				
$\lambda$ hábitat.año*	3558,18	8	276,96	$\lambda$ 2007-2008: BC = $1,00 \pm 0,02$
$\lambda$ hábitat	3613,10	5	337,92	F = $1,09 \pm 0,01$ P = $1,08 \pm 0,01$
$\lambda$ año	3641,53	4	368,37	$\lambda$ 2008-2009: BC = $1,00 \pm 0,02$
$\lambda$ i	3676,83	3	405,68	F = $1,04 \pm 0,005$ P = $0,95 \pm 0,01$

### *Factores microclimáticos*

#### *Humedad*

La humedad del suelo fue mayor en el bosque continuo que en los fragmentos y las plantaciones (media  $\pm$  ee: BC =  $37,16 \pm 1,23$ ; F =  $32,7 \pm 1,15$ ; P =  $29,54 \pm 1,51$ ;  $F_{(2, 117)}$ )

= 33,25  $p < 0,001$ ). Además, la humedad fue diferente en todas las estaciones siendo mayor en invierno, seguida de primavera, otoño y verano ( $F_{(3, 117)} = 94,26$   $p < 0,001$ , Fig. 7).



**Fig. 7.** Temperatura y humedad en los muestreos de distintas estaciones y años para el sitio de estudio (bosque continuo, fragmentos y plantaciones combinadas)

### *Temperatura*

La temperatura mínima, máxima, media y el rango ( $T^{\circ}$  min- $T^{\circ}$  máx) no varió entre hábitats ( $F_{(2, 86)} < 0,04$   $p > 0,96$ ), aunque todos estos índices de temperatura variaron entre estaciones. La temperatura mínima fue diferente en todas las estaciones, siendo menor en invierno, seguida por la primavera, otoño y verano ( $F_{(3, 86)} = 69,8$   $p < 0,001$ ). La temperatura máxima y la temperatura media fue mayor en verano, seguida por otoño y primavera (similar en ambas), siendo la más baja en invierno ( $F_{(3, 86)} = 39,38$  y  $62,83$  respectivamente  $p < 0,001$ ). El rango de temperaturas fue mayor en verano y primavera

y menor en otoño, en tanto en invierno fue similar a las otras estaciones ( $F_{(3, 86)} = 14,7$   $p < 0,001$ , Fig. 7).

### *Factores bióticos*

#### *a) Disponibilidad de recursos alimenticios*

La disponibilidad de invertebrados no difirió entre hábitats (mg/trampa: media  $\pm$  ee: BC =  $7,89 \pm 1,19$ ,  $F = 9,37 \pm 3,32$  y  $P = 2 \pm 1,33$ ;  $F_{(2,6)} = 2,36$   $p = 0,17$ ).

#### *b) Depredación*

La frecuencia de depredación no varió entre hábitats (media  $\pm$  ee: BC =  $0,20 \pm 0,07$ ,  $F = 0,34 \pm 0,05$  y  $P = 0,38 \pm 0,13$ ;  $F_{(2, 31)} = 2,24$   $p = 0,12$ ). Además, la depredación fue mayor en otoño que en verano, mientras que en invierno fue similar a las otras estaciones (media  $\pm$  ee: O =  $0,4 \pm 0,07$  V =  $0,14 \pm 0,05$  e I =  $0,2 \pm 0,06$ ;  $F_{(2,31)} = 3,93$   $p = 0,03$ ).

#### *c) Estructura del microhábitat*

La estructura del microhábitat difiere entre el bosque continuo, los fragmentos y las plantaciones de pino (ANDEVAM,  $F_{(74, 2)} = 30,5$   $p = 0,03$ ), tanto a nivel de cobertura del suelo como de arbustos y árboles (Tabla 3). El bosque continuo tiene mayor cobertura de herbáceas a nivel del suelo y de arbustos, y mayor altura y riqueza de estas. También tiene mayor porcentaje de suelo desnudo, mayor cobertura de árboles nativos particularmente de olivillo y más especies de enredaderas. Los fragmentos tienen más troncos pequeños, más ramas a nivel de suelo y de arbustos, más área sin cobertura a nivel de árboles, mayor altura de los arbustos y mayor riqueza de helechos, arbustos y árboles. Las plantaciones tienen mayor cobertura de acículas en el suelo, más ramas a

nivel de árboles, mayor cobertura de pino, más especies de hongos y mayor cobertura de maqui. Además, en el bosque nativo (i.e. continuo y fragmentos) hay mayor cobertura de hojarasca en el suelo y mayor densidad de follaje arbustivo entre 1 y 25 cm.

**Tabla 3.** Efecto del hábitat sobre las variables de estructura del microhábitat. En negrita  $p < 0,05$ , subrayado  $p < 0,1$ . Las letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey.

Variables	Acrónimo	Bosque continuo		Fragmentos		Plantaciones		F <sub>(2,37)</sub>	P
		Media	Ee	Media	ee	Media	ee		
<b>a) Troncos, tocones y profundidad de hojarasca</b>									
Troncos < 7,5 cm	TROPE	1,00 <sup>ab</sup>	0,17	1,70 <sup>a</sup>	0,25	0,65 <sup>b</sup>	0,21	5,90	<b>0,006</b>
Troncos 7,5 -15 cm	TROME	0,15	0,07	0,12	0,04	0,11	0,08	0,12	0,888
Troncos > 15 cm	TROGRA	0,07	0,04	0,00		0,10	0,06	2,11	0,135
Tocones naturales	TOCNAT	0,03	0,02	0,03	0,02	0,00		0,71	0,497
Tocones cortados	TOCORT	0,00		0,00		0,03	0,03	1,54	0,227
Prof. De hojarasca	PROFHOJ	5,74	0,44	6,59	0,71	6,49	1,04	0,47	0,630
<b>b) Cobertura a nivel del suelo (&lt; 50 cm)</b>									
Hojarasca	SUHOJ	3,48 <sup>a</sup>	0,13	3,17 <sup>a</sup>	0,24	0,63 <sup>b</sup>	0,18	55,66	<b>0,000</b>
Ramas	SURAM	0,93 <sup>b</sup>	0,06	1,43 <sup>a</sup>	0,10	1,13 <sup>ab</sup>	0,17	6,41	<b>0,004</b>
Troncos	SUTRO	0,68	0,08	0,90	0,08	0,51	0,19	3,01	0,062
Arbustos	SUARB	0,03 <sup>b</sup>	0,02	0,55 <sup>a</sup>	0,17	0,59 <sup>a</sup>	0,09	7,46	<b>0,002</b>
Herbáceas	SUHERB	1,05 <sup>a</sup>	0,17	0,30 <sup>b</sup>	0,09	0,18 <sup>b</sup>	0,10	12,80	<b>0,000</b>
Acículas	SUACI	0,00 <sup>c</sup>		0,72 <sup>b</sup>	0,26	3,76 <sup>a</sup>	0,09	111,45	<b>0,000</b>
Suelo desnudo	SUDES	0,60 <sup>a</sup>	0,09	0,52 <sup>ab</sup>	0,12	0,10 <sup>b</sup>	0,10	5,54	<b>0,008</b>
Roca	SURO	0,18	0,12	0,27	0,10	0,10	0,08	0,55	0,579
Otros	SUO	0,10	0,07	0,10	0,06	0,00		0,76	0,475
<b>c) Cobertura a nivel de Arbustos (50 cm a 2 m)</b>									
Vacío	ARVAC	3,68	0,09	3,63	0,12	3,63	0,11	0,08	0,925
Árboles Juveniles	ARBAR	0,43	0,12	0,60	0,10	0,33	0,11	1,49	0,238
Ramas	ARBRAM	0,73 <sup>b</sup>	0,13	1,08 <sup>a</sup>	0,09	1,07 <sup>ab</sup>	0,09	3,36	<b>0,046</b>
Arbustos	ARBARB	0,02 <sup>b</sup>	0,02	0,37 <sup>a</sup>	0,14	0,56 <sup>a</sup>	0,13	6,37	<b>0,004</b>
Herbáceas	ARBHERB	0,70 <sup>a</sup>	0,13	0,15 <sup>b</sup>	0,07	0,00 <sup>b</sup>		13,75	<b>0,000</b>
<b>d) Cobertura a nivel de árboles (&gt; 2 m)</b>									
Vacío	ARVAC	1,02 <sup>b</sup>	0,02	1,55 <sup>a</sup>	0,19	1,43 <sup>ab</sup>	0,13	4,71	<b>0,015</b>
Ramas	ARRAM	0,27 <sup>b</sup>	0,08	0,28 <sup>b</sup>	0,07	1,48 <sup>a</sup>	0,40	11,69	<b>0,000</b>
Nativo	NAT	3,97 <sup>a</sup>	0,02	3,10 <sup>b</sup>	0,20	1,78 <sup>c</sup>	0,43	21,10	<b>0,000</b>
Pino	PINO	0,00 <sup>b</sup>		0,05 <sup>b</sup>	0,05	1,60 <sup>a</sup>	0,30	39,15	<b>0,000</b>
DAP	DAP	82,82 <sup>a</sup>	11,05	55,39 <sup>b</sup>	4,70	103,25 <sup>a</sup>	8,52	7,23	<b>0,002</b>
<b>e) Densidad de follaje arbustivo</b>									
Cob. 1-10 cm	COB110	1,10 <sup>a</sup>	0,17	1,05 <sup>a</sup>	0,12	0,25 <sup>b</sup>	0,10	9,98	<b>0,000</b>
Cob. 11-25 cm	COB1125	1,02 <sup>a</sup>	0,16	1,08 <sup>a</sup>	0,12	0,43 <sup>b</sup>	0,10	5,61	<b>0,007</b>
Cob. 1-2 m	COB12	0,93	0,16	1,02	0,11	0,70	0,13	1,19	0,314
Altura máx. herbáceas	ALTHER	112,33 <sup>a</sup>	26,26	23,33 <sup>b</sup>	8,53	7,80 <sup>b</sup>	2,71	9,95	<b>0,000</b>
Altura máx. arbustos	ALTARB	6,40 <sup>b</sup>	5,20	56,80 <sup>a</sup>	19,39	58,30 <sup>ab</sup>	13,18	4,50	<b>0,018</b>

<b>f) Riqueza</b>									
Helechos	SPHEL	0,73 <sup>ab</sup>	0,12	0,80 <sup>a</sup>	0,11	0,30 <sup>b</sup>	0,15	9,25	0,001
Herbáceas	SPHER	1,73 <sup>a</sup>	0,25	0,93 <sup>ab</sup>	0,23	0,70 <sup>b</sup>	0,30	4,15	0,024
Hongos	SPHONG	0,00 <sup>b</sup>		0,00 <sup>b</sup>		0,40 <sup>a</sup>	0,16	4,52	0,018
Arbustos	SPARB	0,13 <sup>b</sup>	0,09	1,40 <sup>a</sup>	0,36	1,00 <sup>ab</sup>	0,15	7,35	0,002
Árboles	SPAR	3,13 <sup>b</sup>	0,27	5,20 <sup>a</sup>	0,35	1,60 <sup>c</sup>	0,22	32,38	0,000
Enredaderas	ENRE	2,00 <sup>a</sup>	0,34	1,73 <sup>ab</sup>	0,25	0,60 <sup>b</sup>	0,27	5,36	0,009
<b>g) Cobertura especies de árboles 2m</b>									
<i>Cryptocarya alba</i>	PEU	0,47	0,13	0,40	0,13	0,50	0,22	0,10	0,901
<i>Nothofagus obliqua</i>	ROB	0,00		0,07	0,07	0,00		0,83	0,446
<i>Aextoxicon punctatum</i>	OLIVI	0,87 <sup>a</sup>	0,13	0,33 <sup>b</sup>	0,13	0,00 <sup>b</sup>		12,65	0,000
<i>Laurelia sempervirens</i>	LAUR	0,00		0,20	0,14	0,00		1,58	0,220
<i>Gevuina avellana</i>	AVELL	0,40	0,13	0,47	0,13	0,30	0,15	0,33	0,723
<i>Aristotelia chilensis</i>	MAQU	0,00 <sup>b</sup>		0,33 <sup>ab</sup>	0,13	0,80 <sup>a</sup>	0,25	7,96	0,001
<i>Azara integrifolia</i>	CORC	0,00		0,20	0,11	0,10	0,10	1,68	0,200
<i>Persea lingue</i>	LING	0,00		0,13	0,09	0,10	0,10	0,99	0,379
<i>Lomatia dentata</i>	PIÑOL	0,20	0,11	0,27	0,12	0,00		1,53	0,229
<i>Luma apiculata</i>	ARRAY	0,00		0,20	0,11	0,00		2,89	0,068
<i>Senna stipulacea</i>	QUEB	0,13	0,09	0,00		0,00		1,78	0,183
<i>Kageneckia oblonga</i>	BOLLE	0,07	0,07	0,00		0,00		0,83	0,446
<i>Acrisione denticulata</i>	PAYEG	0,00		0,07	0,07	0,00		0,83	0,446
<i>Lithraea caustica</i>	LITRE	0,00		0,13	0,09	0,00		1,78	0,183

### Configuración del paisaje

La configuración del paisaje en conjunto no difiere entre los sitios del bosque continuo, los fragmentos y las plantaciones de pino (ANDEVAM,  $F_{(20,6)} = 2,35$   $p = 0,15$ ). Sin embargo, el paisaje alrededor de los puntos de bosque continuo tiene mayor área de parche promedio, mayor porcentaje cubierto por bosque nativo y tienden a tener mayor distancia a los caminos que el de los fragmentos. Por otro lado, alrededor de los fragmentos hay mayor densidad de bordes, mayor heterogeneidad espacial y mayor porcentaje cubierto por plantaciones de pino que alrededor del bosque continuo. En general en las plantaciones los valores de estas variables son intermedios y similares a los de bosque continuo y fragmentos. El índice de forma promedio, la altura, la

pendiente, la distancia a las quebradas y el área cubierta con caminos no difieren entre hábitats (Tabla 4).

**Tabla 4.** Efecto del hábitat sobre métricas y variables de configuración del paisaje. En negrita  $p < 0,05$ , subrayado  $p < 0,1$ . Las letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey.

Variables	Acrónimo	Bosque continuo		Fragmentos		Plantaciones		F <sub>(2,12)</sub>	P
		Media	Ee	media	Ee	Media	Ee		
Densidad de bordes	BORDE	60,39 <sup>b</sup>	29,17	213,76 <sup>a</sup>	34,26	163,34 <sup>ab</sup>	44,62	4,56	<b>0,03</b>
Área de parche promedio	AREA	1,94 <sup>a</sup>	0,55	0,60 <sup>b</sup>	0,13	0,82 <sup>ab</sup>	0,22	4,26	<b>0,04</b>
Heterogeneidad de paisaje	HPAI	0,25 <sup>b</sup>	0,11	0,68 <sup>a</sup>	0,05	0,47 <sup>ab</sup>	0,12	4,94	<b>0,03</b>
Índice de forma promedio	FORMA	1,52	0,18	1,80	0,06	1,86	0,13	1,85	0,20
Altura	ALT	518,33	16,12	472,69	36,96	478,02	30,41	0,73	0,50
Pendiente	PENDGRA	15,59	2,44	14,03	1,93	11,26	2,56	0,89	0,44
Distancia a los caminos	DCAM	242,68 <sup>a</sup>	93,71	61,59 <sup>b</sup>	18,53	65,18 <sup>ab</sup>	10,80	3,48	<u>0,06</u>
Distancia a las quebradas	DQUEB	170,92	47,28	83,17	26,67	92,31	23,55	1,99	1,18
Área con Nativo	ANAT	92,73 <sup>a</sup>	3,48	37,43 <sup>b</sup>	12,71	11,75 <sup>b</sup>	5,18	25,61	<b>0,00</b>
Área con Pino	APIN	5,30 <sup>b</sup>	2,79	55,74 <sup>a</sup>	13,04	83,08 <sup>a</sup>	5,40	22,57	<b>0,00</b>
Área con Caminos	ACAM	1,97	1,36	6,83	2,93	5,17	2,70	1,03	0,39

*Relación de la densidad de C. chilensis con los factores microclimáticos, bióticos y de configuración del paisaje.*

#### *Variables microclimáticas*

La densidad de *C. chilensis* no se relacionó con la temperatura pero sí con la humedad, siendo mayor a menor humedad (HUM), lo que explica el 5,2% de la variación en la densidad (Tabla 5.1).

#### *Factores bióticos*

La densidad de *C. chilensis* no se relacionó significativamente con la disponibilidad de recursos alimenticios (eigenvalue canónico = 0,13, F = 0,92, p = 0,33) ni con la frecuencia de depredación (eigenvalue canónico = 0,005, F = 0,18, p = 0,67, Tabla 5.2).

En cuanto a la estructura del microhábitat, a nivel del suelo la densidad se relacionó positivamente con la cobertura de hojarasca (SUHOJ) y de ramas (SURAM) y

negativamente con la cobertura de acículas (SUACI) (Tabla 5.2.b). A nivel de arbustos, la densidad se relacionó negativamente con la cobertura por herbáceas (Tabla 5.2.c) y a nivel de árboles con el DAP (Tabla 5.2.d). Por otro lado, una mayor densidad de *C. chilensis* se asocia a una mayor riqueza de especies de arbustos (SPARB) y árboles (SPAR), y a un menor número de especies herbáceas (SPHER, Tabla 5.2.f). En el caso de la cobertura por especie de árboles en el sotobosque, la densidad de *C. chilensis* se relacionó positivamente con el porcentaje de cobertura por *Laurelia sempervivens* (LAUR), *Persea lingue* (LING) y *Luma apiculata* (ARRA) (Tabla 5.2.g). Ninguno de los modelos que incluyeron variables de: a) troncos, tocones y profundidad de hojarasca y e) densidad de follaje arbustivo se relacionaron significativamente con la densidad de *C. chilensis* ( $p > 0,1$ ). En cuanto a los modelos generales que integraron los distintos grupos de variables, el mejor fue el que incluyó el número de especies de árboles y la cobertura por laurel y lingue (Tabla 5.2.GE).

#### *Configuración del paisaje*

En cuanto al efecto del paisaje, solo la densidad de bordes se relacionó positiva y significativamente con la densidad de *C. chilensis* (Tabla 5.3).

**Tabla 5.** Análisis de RDA de la relación entre la densidad de *C. chilensis* y variables de microclima, bióticas y de paisaje. En vegetación las letras corresponden a la Tabla 3. NS = sin variables significativas en el modelo. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) 1 =  $p < 0,1$ , 2 =  $p < 0,05$ , 3 =  $p < 0,01$ , 4 =  $p < 0,001$ .

Grupos de variables	Modelo	Eigenvalues canónicos	F	P	
1.- Microclima	HUM (-)	0,052	4,70	0,029	
2.- Biótico	Recursos	NS			
	Depredación	NS			
	Vegetación	a) NS			
		b) SURAM (+++)	0,26	13,16	0,001
		SUHOJ (++)	0,10	6,23	0,022
		SUACI (--)	0,09	5,75	0,026
		Modelo total	0,45	9,89	0,0005
		c) ARBHERB(-)	0,07	2,91	0,093
		d) DAP(-)	0,10	4,08	0,051
		e) NS			
		f) SPAR(++++)	0,32	17,60	0,0005
		SPHER (---)	0,11	7,07	0,0095
		SPARB (+)	0,04	3,18	0,075
		Modelo total	0,47	10,76	0,0005
		g) LAUR (+++)	0,35	20,82	0,004
		ARRAY (++)	0,11	7,60	0,020
		LING (+++)	0,12	10,47	0,006
Modelo total	0,58	16,90	0,0005		
GE) LAUR (+++)	0,35	20,82	0,004		
SPAR (+++)	0,17	12,38	0,002		
LING (++)	0,08	7,26	0,018		
Modelo total	0,60	17,79	0,0005		
3.- Paisaje	BORDE(++)	0,30	4,95	0,048	

*Importancia de la fragmentación del hábitat versus los factores microclimáticos, bióticos y de paisaje sobre la densidad de C. chilensis*

Debido a que la fragmentación del hábitat y la estación del año tuvieron un efecto significativo sobre el microclima, evaluamos cómo estas variables podrían estar modulando el efecto del microclima sobre la densidad. Al realizar la selección de variables de microclima solo la humedad del suelo se relacionó significativamente con la densidad. Las pruebas de permutación mostraron que el microclima, el hábitat y la estación, al ser considerados por separado, contribuyen significativamente a explicar la variación en la densidad (Tabla 6: [1], [2] y [3]). Sin embargo, al hacer los análisis parciales incluyendo las otras variables como covariables, el hábitat y la estación siguen explicando un porcentaje significativo de la variación, no así el microclima (Tabla 6: [9], [12] y [6], respectivamente).

**Tabla 6.** Porcentaje de variación explicada (100 x eigenvalue canónico) y significancia estadística de los análisis RDA para la densidad de *C. chilensis* para los pasos en el análisis de partición de varianza. Significancia estadística con 2000 permutaciones de Monte Carlo: en negrita  $p < 0,05$ , subrayado  $p < 0,1$ .

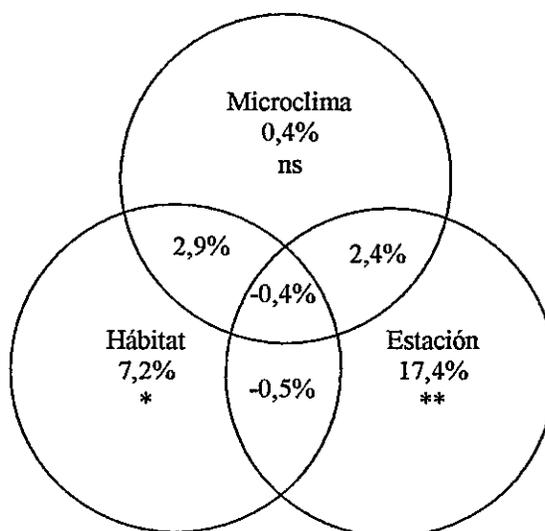
Paso	% Variación explicada	P
[1] Microclima	5,2	<b>0,029</b>
[2] Hábitat	9,0	<b>0,016</b>
[3] Estación	18,7	<b>0,0005</b>
[4] Microclima – covariable hábitat	2,8	0,108
[5] Microclima – covariable estación	3,3	<u>0,064</u>
[6] Microclima – covariable hábitat + estación	0,4	0,514
[7] Hábitat - covariable microclima	6,6	<b>0,041</b>
[8] Hábitat - covariable estación	10,0	<b>0,006</b>
[9] Hábitat - covariable microclima + estación	7,2	<b>0,017</b>
[10] Estación – covariable microclima	16,8	<b>0,001</b>
[11] Estación – covariable hábitat	19,8	<b>0,0005</b>
[12] Estación – covariable microclima + hábitat	17,4	<b>0,0005</b>

En total el 29,2% de la variación en los datos de densidad de *C. chilensis* fue explicado por los factores evaluados (Tabla 7). De ésta, la mayor variación fue explicada por el componente estacional y de hábitat, mientras que el componente de microclima fue el

que explicó la menor variación. De hecho los efectos combinados de microclima - hábitat y microclima - estación fueron más importantes que el microclima por si solo para explicar la densidad. Los efectos conjuntos de hábitat y estación fueron insignificantes (i.e. valores negativos, Tabla 7 y Figura 8).

**Tabla 7.** Resumen de los cálculos de la partición de la variación de los efectos de las variables de microclima, hábitat y estación sobre la densidad de *C. chilensis*. Los números entre paréntesis cuadrados corresponden a los pasos numerados en el análisis descrito en la Tabla 6.

Componente	Cálculo	Variación explicada (%)
Microclima (M)	[6]	0,4
Hábitat (H)	[9]	7,2
Estación (E)	[12]	17,4
MH	[1] - [4] - MHE	2,9
ME	[1] - [5] - MHE	2,4
HE	[2] - [8] - MHE	-0,5
MHE	[9] + ([2]-[7]) + ([2]-[8])-[2] o [6] + ([1]-[4]) + ([1]-[5])-[1] o [12] + ([3]-[10]) + ([3]-[11])-[3]	-0,4
Total explicado, $\Omega$	[1] + [7] + [12] o [1] + [7] + [12] o [1] + [7] + [12] o M + H + E + MH + ME + HE + MHE	29,2
No explicado	100 - $\Omega$	70,8



**Fig. 8.** Partición de la variación total explicada por un grupo de RDA parciales para la densidad de *C. chilensis*. Niveles de significancia de acuerdo a la prueba de permutaciones de Monte Carlo con 2000 permutaciones: \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns no significativo. La variación total explicada por los tres grupos de variables es 29,2%.

En cuanto al efecto en conjunto y por separado de la fragmentación del hábitat, las variables de microclima, bióticas y de paisaje sobre la densidad de *C. chilensis*, inicialmente al hacer la selección de variables, las de microclima no se relacionaron significativamente con la densidad por lo que no se incluyeron en los análisis posteriores. En cuanto a las variables bióticas, la variable significativa que explicó más variación fue la cobertura de lingue dentro de 2 m. En el caso de las variables de paisaje, la variable seleccionada fue la densidad de bordes.

Las pruebas de permutación mostraron que el hábitat, las variables bióticas y el paisaje, al ser considerados por separado, contribuyen significativamente a explicar la variación en la densidad (Tabla 8: [1], [2] y [3]). Sin embargo, al hacer los análisis parciales incluyendo las otras variables como covariables, solo el componente biótico por si solo sigue explicando un porcentaje significativo de la variación (Tabla 8: [9]), mientras que el hábitat y el paisaje no (Tabla 8: [6] y [12]).

**Tabla 8.** Porcentaje de variación explicada (100 x eigenvalues canónicos) y significancia estadística de los análisis RDA para la densidad de *C. chilensis* para los pasos en el análisis de partición de varianza. Significancia estadística con 2000 permutaciones de Monte Carlo: en negrita  $p < 0,05$ .

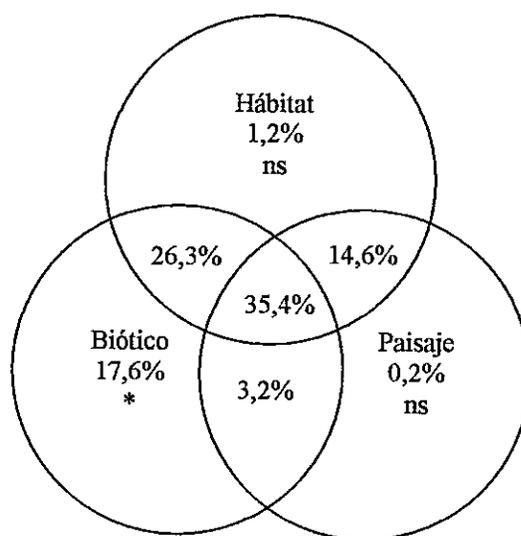
Paso	% Variación explicada	P
[1] Hábitat	77,6	<b>0,006</b>
[2] Biótico	82,7	<b>0,0005</b>
[3] Paisaje	53,6	<b>0,048</b>
[4] Hábitat- covariable biótico	15,8	<b>0,006</b>
[5] Hábitat - covariable paisaje	27,5	0,171
[6] Hábitat - covariable biótico + paisaje	1,2	0,405
[7] Biótico- covariable hábitat	20,9	<b>0,001</b>
[8] Biótico - covariable paisaje	44,0	<b>0,0005</b>
[9] Biótico - covariable hábitat + paisaje	17,6	<b>0,010</b>
[10] Paisaje - covariable hábitat	3,5	0,454
[11] Paisaje - covariable biótico	14,9	<b>0,004</b>
[12] Paisaje - covariable hábitat + biótico	0,2	0,520

Los factores evaluados explicaron el 98,7% de la variación total en los datos de densidad de *C. chilensis*. De ésta, la mayor variación fue explicada por el componente combinado

hábitat/biótico/paisaje y hábitat/biótico, mientras que el componente de paisaje por si solo fue el que explicó la menor variación (Tabla 9, Figura 9).

**Tabla 9.** Resumen de los cálculos de la partición de la variación de los efectos de las variables de hábitat, bióticas y paisaje sobre la densidad de *C. chilensis*. Los números entre paréntesis cuadrados corresponden a los pasos numerados en el análisis descrito en la Tabla 8.

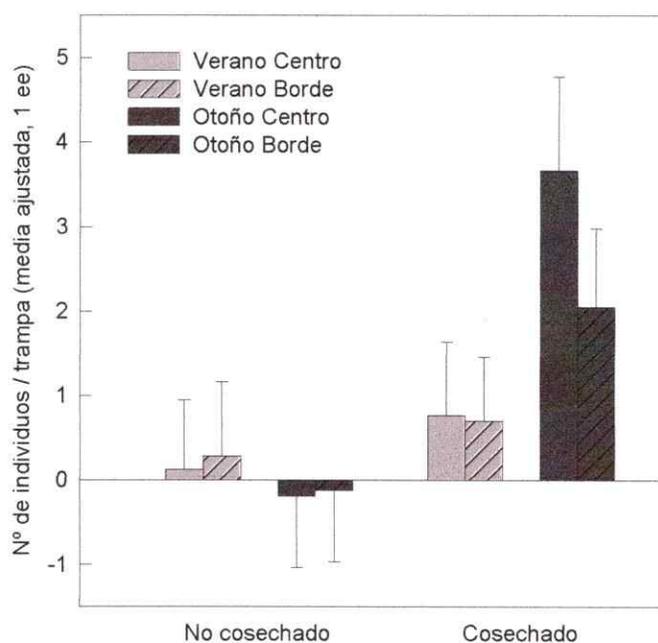
Componente	Cálculo	Variación explicada (%)
Hábitat (H)	[6]	1,2
Biótico (B)	[9]	17,6
Paisaje (P)	[12]	0,2
HB	[1] - [4] - HBP	26,3
HP	[1] - [5] - HBP	14,6
BP	[2] - [8] - HBP	3,2
HBP	[9] + ([2]-[7]) + ([2]-[8])-[2] o [6] + ([1]-[4]) + ([1]-[5])-[1] o [12] + ([3]-[10]) + ([3]-[11])-[3]	35,4
Total explicado, $\Omega$	[1] + [7] + [12] o [1] + [7] + [12] o [1] + [7] + [12] o H + B + P + HB + HP + BP + HBP	98,7
No explicado	100 - $\Omega$	11,3



**Fig. 9.** Partición de la variación total explicada por un grupo de RDA parciales para la densidad de *C. chilensis*. Niveles de significancia de acuerdo a la prueba de permutaciones de Monte Carlo con 2000 permutaciones: \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = no significativo. La variación total explicada por los tres grupos de variables es 98,7%.

### *Efecto de la cosecha de las plantaciones*

La densidad aumentó en los fragmentos rodeados por plantaciones cosechadas versus los fragmentos que permanecieron rodeados por plantaciones, en relación al año previo a la cosecha (ANCOVA:  $F_{(1,9)} = 7,252$ ,  $p = 0,025$ ), aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los centros y bordes ( $F_{(1,9)} = 0,42$ ,  $p = 0,53$ ), ni entre estaciones del año ( $F_{(1,9)} = 1,42$ ,  $p = 0,26$ ; Fig. 10).



**Fig. 10.** Efecto de la cosecha sobre la densidad de *C. chilensis* para verano y otoño del 2007 ajustada según la densidad previa a la cosecha (verano y otoño 2006).

Además, los fragmentos no cosechados no difirieron de los cosechados en la frecuencia de depredación (media  $\pm$  ee:  $0,3 \pm 0,1$  y  $0,5 \pm 0,1$ ,  $F_{(1,3)} = 4,2$   $p = 0,13$ ), la humedad del suelo ( $24,3 \pm 4,2$  y  $28,9 \pm 2,6$ ,  $F_{(1,5)} = 1,02$   $p = 0,36$ ), ni la temperatura (Mínima =  $10 \pm 2$  y  $6,5 \pm 0,5$ ; Máxima =  $15,7 \pm 1,2$  y  $13,3 \pm 0,4$ ; Media =  $12,9 \pm 1,6$  y  $9,9 \pm 0,4$  y Rango =  $5,7 \pm 0,7$  y  $6,8 \pm 0,3$  respectivamente;  $p > 0,11$ ). Por otro lado, la densidad de

*C. chilensis* no difiere entre las áreas cosechadas y las plantaciones de pino, entre sus centros y bordes ni entre estaciones ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, la densidad fue menor en el centro de las áreas cosechadas que en el borde (media  $\pm$  ee =  $0,025 \pm 0,01$  y  $0,42 \pm 0,14$  respectivamente), mientras que en el centro y borde de las plantaciones las densidades fueron similares (media  $\pm$  ee:  $0,17 \pm 0,09$  y  $0,42 \pm 0,17$ ) y parecidas al borde de las áreas cosechadas (interacción hábitat \* ubicación  $F_{(1, 18)} = 5,77$   $p = 0,03$ ).

## DISCUSIÓN

*Estado de las poblaciones de C. chilensis en el bosque Maulino fragmentado*

Para estimar la probabilidad de persistencia de las poblaciones en los paisajes fragmentados es necesario tener indicadores del estado de conservación de las poblaciones en los distintos hábitats (Noss 1990). La densidad poblacional no necesariamente es un buen indicador, debido a que pueden encontrarse altas densidades de individuos en hábitats sub-óptimos en paisajes fragmentados sin que exista reproducción en ellos (Van Horne 1983, Tilman *et al.* 1994). Por otro lado, las trampas de caída usadas para estudiar insectos epigeos evalúan densidad y actividad, reflejando tanto las diferencias en las densidades como en las tasas de captura por diferencias en el grado de actividad (i.e. tasa de movimiento) de los individuos en los distintos hábitats (Koivula *et al.* 2003). Debido a esto, mayores capturas pueden reflejar actividad extra de los individuos como una respuesta de escape a un ambiente desfavorable (Brouat *et al.* 2004) y/o ser producto de cambios estacionales o climáticos en el comportamiento de los individuos (Firle *et al.* 1998). Sin embargo, en este estudio el número de individuos capturados no fue mayor en el hábitat en que *C. chilensis* tuvo la mayor tasa de movimiento (i.e., plantación de pino, véase capítulo II), y la probabilidad de captura ( $p$ ) fue similar en todos los hábitats, por lo que las diferencias en el número de individuos capturados por trampa se deberían a diferencias en densidad entre hábitats. La mayor densidad de adultos de *C. chilensis* en los fragmentos versus el bosque continuo y las plantaciones se asoció a una mayor reproducción (i.e. densidad de larvas totales),

sobrevivencia y crecimiento poblacional, aunque solo en algunos años. Por lo tanto, podríamos considerar que los fragmentos son un hábitat de mejor calidad para *C. chilensis*. Sin embargo hay algunas evidencias que apuntan en el sentido contrario. En primer lugar, los individuos que habitan los fragmentos no se estarían reproduciendo más ahí que en los otros hábitats ya que tienen tasas de reproducción *per capita* (i.e. larvas/adulto acumulado) y de reclutamiento equivalentes al bosque continuo y las plantaciones de pino. Además, los adultos de *C. chilensis* tienen un menor tamaño corporal en el centro de los fragmentos que en el bosque continuo lo que podría deberse a una menor calidad de este hábitat o a un mayor estrés ambiental (Weller y Ganzhorn 2004, Delgado-Acevedo y Restrepo 2008, Henríquez *et al.* 2009). Este menor tamaño corporal puede disminuir la fecundidad potencial y probablemente hacerlos más susceptibles a cambios en el microclima (Honěk 1993, Le Lagadec *et al.* 1998). Por otro lado, las poblaciones de los fragmentos y de las plantaciones fueron mucho más variables que las del bosque continuo, tanto en la densidad como en las tasas de crecimiento poblacional por lo que sus tamaños efectivos podrían estar reducidos (Holsinger 2000). De hecho, las abundancias poblacionales estimadas a través de la diversidad genética son similares entre fragmentos y bosque continuo (véase capítulo III).

#### *Importancia de los factores microclimáticos, bióticos y de paisaje*

En los carábidos, el microclima, la densidad de presas, la depredación, la estructura de la vegetación y la composición del paisaje son factores importantes que determinan la distribución de las especies (Niemelä *et al.* 1992, Antvogel y Bonn 2001, Thomas *et al.*

2001, Magura 2002, Brose 2003, Barbaro *et al.* 2007), factores que son modificados por la fragmentación del hábitat (Murcia 1995, Turner 1996, Harper *et al.* 2005).

Dentro de los factores microclimáticos, solo la humedad del suelo se relacionó significativamente con la densidad de *C. chilensis*. Sin embargo, este efecto estuvo modulado principalmente por la estacionalidad y la fragmentación del hábitat, por lo que su importancia como variable explicativa por sí sola es muy marginal.

En cuanto a los factores bióticos, la disponibilidad de presas (i.e. mg de invertebrados/trampa) no varió entre hábitats ni se relacionó con la densidad de *C. chilensis*. Esto a pesar de que previamente se había descrito una mayor abundancia de insectos en los fragmentos que en los otros hábitats (A. Pérez y L. Panes, datos no publicados). Probablemente, esta diferencia con los resultados previos se deba a que las variaciones en la abundancia no se reflejan en diferencias en materia seca (e.g., invertebrados más grandes en el bosque continuo que en los fragmentos). Por otro lado, en los fragmentos podría existir una mayor disponibilidad de otros recursos alimenticios para *C. chilensis*, adicionales a los invertebrados (e.g. frutos, carroña, Jiroux 1996), que permitirían la mantención de mayores densidades poblacionales.

En relación a la depredación como factor limitante, no hubo una mayor frecuencia de depredación en los fragmentos, a pesar de haber una mayor diversidad y abundancia de depredadores potenciales allí (i.e., micromamíferos, aves y zorros; Acosta y Simonetti 2004, Correa y Roa 2005, Saavedra y Simonetti 2005, González-Gómez *et al.* 2006) y una mayor densidad de *C. chilensis* en ese hábitat. La variación de la probabilidad de depredación se asoció a los cambios estacionales en la densidad de *C. chilensis*.

Durante el otoño la probabilidad de depredación aumentó probablemente en respuesta a la mayor disponibilidad de *C. chilensis* en el paisaje.

La estructura del microhábitat es la variable que por si sola explica una mayor variabilidad y se relaciona más significativamente con la densidad de *C. chilensis*. La cobertura a nivel del suelo con más hojarasca y ramas, podría estar relacionada a una mayor sobrevivencia y reproducción debido a una mayor disponibilidad de micrositios para oviposición, hibernación y refugios, y mayor estabilidad microclimática (Brose 2003, Magura *et al.* 2005). Además, la mayor riqueza de especies de árboles a nivel de sotobosque, con mayor cobertura de laurel, lingue y arrayán podrían estar asociadas a una mayor disponibilidad de recursos alternativos en comparación con lugares con menor diversidad (Brose 2003).

En cuanto a la configuración del paisaje, solo la densidad de bordes se relacionó significativa y positivamente con la densidad de *C. chilensis*. La mayor densidad de bordes en los fragmentos permitiría una mayor superficie de entrada de individuos desde la matriz, aumentando la inmigración (Bowman *et al.* 2002) y por lo tanto la densidad poblacional en los fragmentos (Collinge y Forman 1998, Debinski y Holt 2000). Este aumento en la densidad de individuos puede suceder aunque no exista preferencia por el bosque nativo versus las plantaciones de pino, ya que si por azar entran al bosque nativo los individuos se moverán más lento (véase capítulo II) y por lo tanto permanecerán más allí. Esto podría estar explicando la mayor densidad observada en el borde versus el centro del bosque continuo, similar a la de los fragmentos (Henríquez *et al.* 2009). De la misma manera, el aumento en la densidad de *C. chilensis* en los fragmentos posterior a la cosecha de las plantaciones aledañas probablemente se debería a la alta tasa de

inmigración desde las áreas cosechadas hacia los fragmentos, debido a que se mueven más rápido allí que en el bosque nativo y a que tienen una alta preferencia por las áreas con cobertura arbórea versus áreas sin cobertura (véase capítulo II).

El proceso de la fragmentación del hábitat conlleva cambios en distintos tipos de variables (Murcia 1995), las cuales probablemente están correlacionadas (e.g. los fragmentos generalmente tienen menor área, más borde, mayor temperatura y menor humedad que el bosque continuo). En experimentos naturales, es difícil encontrar todas las combinaciones de variables o tener las suficientes réplicas, para identificar la importancia de cada factor por separado en explicar la variación observada en la especie de estudio (Grez y Bustamante-Sánchez 2006). En este contexto la metodología de partición de la variación (Borcard *et al* 1992, Anderson y Gribble 1998) nos permite incorporar en el análisis la correlación entre variables y evaluar su importancia por separado y en conjunto. En este caso, la mayor explicación a la variabilidad en la densidad de *C. chilensis* esta dada por los efectos conjuntos de la fragmentación, la configuración el paisaje y las variables bióticas, habiendo mayor densidad en los fragmentos que tienen mayor densidad de bordes y mayor cobertura de lingue. Probablemente los patrones de densidad observados responden tanto a cambios en la sobrevivencia y el crecimiento poblacional debido a diferencias en la estructura del microhábitat, como a la inmigración desde las plantaciones y áreas cosechadas. Esto indica que los cambios provocados por la fragmentación son más complejos que simplemente los efectos directos de una variable en un proceso determinado, pudiendo ser las interacciones entre distintas variables y procesos aun más importantes en explicar los patrones observados (Margules *et al.* 1987).

Por lo tanto, considerando que los fragmentos de gran tamaño (i.e. bosque continuo) son pocos y cada vez más escasos (Echeverría *et al.* 2006, San Martín y Gómez 2010) y que las dinámicas de las poblaciones de *C. chilensis* en los fragmentos dependen de la matriz adyacente, es necesario considerar el paisaje bajo actividad productiva en el diseño de medidas de manejo que favorezcan la conservación a largo plazo. Las plantaciones de pino mantendrían poblaciones viables de *C. chilensis*, ya que tuvieron densidad, sobrevivencia, crecimiento poblacional y tasas reproductivas similares al bosque nativo. Sin embargo, dada la importancia de la estructura del microhábitat para *C. chilensis*, el manejo de estas plantaciones debería favorecer el desarrollo de un sotobosque similar en composición y estructura al del bosque nativo, para aumentar el uso de ellas como hábitat alternativo (Berndt *et al.* 2008). Además, el desarrollo de sotobosque nativo en las plantaciones aumentaría la cantidad de hojarasca favoreciendo la permanencia de *C. chilensis* en ese hábitat (véase capítulo II), reduciendo la intensidad del empaquetamiento en los fragmentos y sus posibles efectos negativos. Este manejo de las plantaciones también favorecería a una serie de especies del bosque Maulino (Vergara y Simonetti 2004, Acosta y Simonetti 2005, Estades y Escobar 2005) aumentando el valor para la conservación de este paisaje fragmentado.

## CAPITULO II

### CONDUCTA DE MOVIMIENTO DE *CEROGLOSSUS CHILENSIS* EN EL BOSQUE MAULINO FRAGMENTADO

#### INTRODUCCION

La fragmentación del hábitat es una de las mayores amenazas a la biodiversidad regional y global (Foley *et al.* 2005, Fisher y Lindenmayer 2007). La reducción en el área del hábitat original que ocurre luego de la fragmentación generalmente produce una reducción en el tamaño de las poblaciones que habitan los fragmentos, pudiendo producirse extinciones locales (Goodman 1987, Turner 1996). Sin embargo, eventualmente los individuos de estas poblaciones reducidas pueden estar en alta densidad en los fragmentos (i.e., empaquetados), lo que se produciría porque al remover hábitat desde un paisaje, los individuos sobrevivientes en la porción de paisaje transformado a matriz se moverán hacia los fragmentos de hábitat remanentes (Collinge y Forman 1998, Debinski y Holt 2000). Este aumento en la densidad no implica necesariamente un incremento en las abundancias poblacionales y dependerá no solo de la cantidad de hábitat removido del paisaje, sino también del patrón de remoción de hábitat (Collinge y Forman 1998).

Los patrones de abundancia y distribución en los paisajes fragmentados podrían estar siendo influidos por el comportamiento de movimiento de los individuos en distintos hábitats (e.g., fragmentos, bosque continuo, matriz) (With y Crist 1996, Turchin 1998, Russell *et al.* 2003) y por la reacción al borde (Schtickzelle y Baguette 2003). Por un lado, la tasa de movimiento de los organismos en los distintos hábitats del paisaje depende de características de las especies, tales como la capacidad de dispersión y el grado de especialización de hábitat. Así especies con mayor capacidad de dispersión (i.e. que vuelan) tienen tasas de movimiento mayores que especies que no vuelan. Además, en carábidos las especies más asociadas a los bosques se mueven más lentamente que especies más generalistas (Brouwers y Newton 2009). Por otro lado, el movimiento de los individuos en el paisaje también depende de las características de cada hábitat, tales como la oferta de recursos, la complejidad estructural y el riesgo de ser dañado o morir. Lugares con una alta concentración de recursos (e.g., alimento) pueden favorecer movimientos destinados a permanecer en el lugar, siendo menos frecuentes y más lentos. Además los individuos realizarían movimientos menos lineales o más tortuosos, con giros más frecuentes y ángulos mayores (Kareiva 1982, Zalucki y Kitching 1982, Root y Kareiva 1984, Lawrence 1988, Visser 1988, Wallin y Ekbohm 1988, Odendaal *et al.* 1989, Charrier *et al.* 1997, Goodwin y Fahrig 2002). Por otra parte, una alta complejidad estructural en los hábitats (e.g., alto número de ramas por unidad de área) puede interferir con los movimientos de los organismos, limitando los desplazamientos rápidos y de gran alcance (Yang 2000). Finalmente, lugares donde hay un alto riesgo de daño o muerte (e.g., alto estrés fisiológico o alta presión de depredación) pueden demandar comportamientos de movimiento orientados a minimizar el riesgo (Rijnsdorp 1980,

Taylor y Merriam 1995, Jonsen y Taylor 2000a). En el caso de lugares con alto riesgo de depredación, los organismos pueden tener que optar entre la estrategia de moverse rápido o ser suficientemente cautelosos, moviéndose lentamente o menos frecuentemente para evitar ser depredados (Zollner y Lima 1999).

En ambientes fragmentados, en general los organismos se mueven en forma más tortuosa y a menor velocidad en los hábitats con mayor disponibilidad de recursos y de estructura más compleja. Esto determina que permanezcan más allí que en los sitios más inhóspitos, donde se mueven de manera más lineal alcanzando rápidamente los bordes y abandonándolos (Crist *et al.* 1992, Riecken y Raths 1996, Collinge 2000, Jonsen y Taylor 2000a, Goodwing y Fahrig 2002a, pero véase Hein *et al.* 2003). Este comportamiento finalmente originará una distribución en el paisaje con una mayor abundancia de organismos en los sitios con más recursos y/o más complejos estructuralmente (Jonsen y Taylor 2000b).

Adicionalmente, los bordes entre hábitats pueden jugar un rol particularmente importante en modificar el movimiento en paisajes fragmentados. Para responder o reaccionar a un borde, un organismo primero debe ser capaz de detectar el borde entre hábitats y posteriormente decidir cual es el más "adecuado" atravesando hacia el nuevo hábitat con cierta probabilidad. Esta probabilidad de los organismos de atravesar el borde desde los fragmentos hacia la matriz, determina su capacidad de dispersión en los paisajes fragmentados. Así organismos que evitan abandonar los fragmentos estarían más aislados que los que tienen mayor probabilidad de cruzar hacia la matriz (Stamps *et al.* 1987). La probabilidad de atravesar los bordes depende del contraste entre hábitat vecinos (Cadenasso *et al.* 2003, Strayer *et al.* 2003). Bordes más contrastantes (e.g.

bosque - campo agrícolas) tendrán una menor probabilidad de ser atravesados que bordes entre hábitats de estructura similar (e.g. bosque - plantación forestal) (Collinge y Palmer 2002). Por lo tanto, la capacidad de dispersión no es una característica constante para la especie, sino que depende de la estructura del paisaje.

En consecuencia, para inferir la respuesta de la población a los cambios en el paisaje y su grado de aislamiento o la conectividad del paisaje (i.e., el grado en el cual el paisaje facilita o impide el movimiento entre parches de recursos), se necesitan conocer las diferencias en el comportamiento de movimiento de los individuos en los distintos hábitats (Taylor *et al.* 1993, With y Crist 1995, Tischendorf y Fahrig 2000, Goodwin y Fahrig 2002b).

La fragmentación de hábitat ha ocurrido a una escala global y Chile no es una excepción. En la costa de Chile central, el bosque Maulino ha sido fuertemente fragmentado y gran parte de él subsiste como fragmentos pequeños y aislados rodeados por plantaciones de *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus* (Echeverría *et al.* 2006, San Martín y Gómez 2010). Dentro de los carábidos que habitan este bosque amenazado se encuentra *Ceroglossus chilensis* el que al no tener alas membranosas tendría limitaciones al movimiento, lo que lo hace una especie susceptible a la fragmentación de su hábitat (With y Crist 1995, Brouwers y Newton 2009). Estudios anteriores, realizados en la Reserva Nacional los Queules y fragmentos vecinos (Región del Maule, Chile), han demostrado que *C. chilensis* es más denso en fragmentos pequeños de bosque Maulino que en el bosque continuo y en las plantaciones de pino aledañas (Grez *et al.* 2003, Grez 2005). Sin embargo, no existe claridad respecto los mecanismos que determinan este patrón. Por una parte, los fragmentos presentan una mayor acumulación

de hojarasca que el bosque continuo, lo que determina una mayor complejidad estructural del suelo (Palacios-Bianchi 2002), con mayor disponibilidad de refugios. Por otra parte, en los fragmentos existe una mayor abundancia de insectos (A. Pérez y L. Panes, datos no publicados). Nosotros hipotetizamos que ambos factores favorecerían movimientos que aumentarían la permanencia en los fragmentos. Sin embargo, la mayor densidad de *C. chilensis* en los fragmentos también podría ser producida por una conducta en los bordes de preferencia por el bosque nativo, que produciría una baja emigración y una alta inmigración hacia los fragmentos desde los otros hábitats, particularmente a fragmentos pequeños que tienen una mayor relación perímetro área (i.e., borde) que el bosque continuo.

El objetivo de este estudio fue determinar la conducta de movimiento de *C. chilensis* y su relación con la complejidad estructural en el bosque nativo (bosque continuo y fragmentos), plantaciones de pino, áreas cosechadas y en los bordes entre estos hábitats. Los objetivos específicos fueron determinar: 1) la conducta de movimiento de *C. chilensis* en los distintos hábitats, 2) la conducta de movimiento en los bordes entre hábitats y 3) la relación de la conducta de movimiento con la complejidad estructural de los distintos hábitats.

## MATERIALES Y METODOS

### *Sitio de estudio*

El movimiento de *C. chilensis* lo estudiamos entre el año 2006 y 2008 en el Sitio Prioritario para la Conservación “Quebradas de Tregualemu” (CONAMA *et al.* 2002). En este paisaje se encuentra la Reserva Nacional Los Queules, una reserva de 147,3 ha que en conjunto con terrenos privados conforma un bosque continuo de 600 ha, fragmentos de bosque Maulino que no exceden las 6 ha y plantaciones de pino maduras que rodean los fragmentos las que actualmente dominan el paisaje. Además, en el sector existen áreas cosechadas y caminos de tierra de 10 m de ancho aproximado con bajo flujo vehicular (Fig. 1).



**Fig. 1.** Sitio de estudio, en verde claro el bosque nativo, en verde oscuro las plantaciones de pino y en café claro las áreas cosechadas y caminos.

### *Evaluación de movimiento*

Para evaluar el movimiento de *C. chilensis* en los distintos hábitats y entre bordes utilizamos dos enfoques metodológicos que se corresponden con dos escalas espacio - temporales distintas: observación directa y radiotelemetría.

#### *1.- Observación directa*

##### *1.1.- Análisis de sendas*

Para evaluar el movimiento de *C. chilensis* en el bosque nativo, plantaciones de pino y áreas cosechadas realizamos análisis de sendas. Para esto, cada individuo fue seguido por cinco minutos marcando su ubicación cada 30 segundos con una banderilla numerada (Turchin 1998, Goodwin y Fahrig 2002a). Registramos el tiempo que los individuos emplearon en distintas actividades (e.g. esconderse, acicalarse, caminar) y analizamos si difería estadísticamente por medio de pruebas de  $\chi^2$ . Además, evaluamos el largo de paso promedio (i.e. distancia recorrida en 30 segundos), los ángulos de giro promedio, la tasa total de desplazamiento (suma de largos de paso / tiempo en minutos), la tasa efectiva de desplazamiento (distancia entre punto inicial y final / tiempo en minutos) y el promedio de la duración de los períodos de movilidad e inmovilidad (Fig. 2). Para comparar si estas variables diferían entre hábitats realizamos un análisis de varianza de una vía en STATISTICA 6.0. y como análisis *a posteriori* utilizamos la prueba de Tukey.

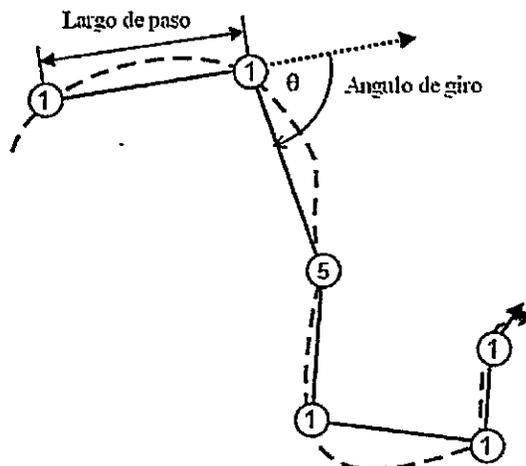


Fig.2. Diagrama de los componentes del movimiento de *C. chilensis* evaluados en una senda. La línea punteada representa el camino trazado por el coleóptero. Los círculos abiertos representan los puntos que fueron marcados con banderillas. Los números dentro de los círculos indican cuantos intervalos el individuo estuvo en ese punto (número de periodos de 30 s). Entonces, el dibujo representa un periodo de movilidad que duró dos intervalos, un periodo de inmovilidad que duro cinco intervalos y un periodo de movilidad que duró tres intervalos. La flecha punteada representa como se determinó el ángulo de giro ( $\theta$ ) (modificado de Goodwin y Fahrig 2002a).

## 1.2 Reacción a los bordes

Liberamos individuos en el borde entre distintos hábitats y registramos su ubicación después de cinco minutos de su liberación. Evaluamos la respuesta al borde bosque nativo - plantación (46 individuos), borde cosechado-plantación (20 individuos) y al borde bosque nativo-camino (20 individuos). En todos los casos consideramos como borde el límite definido por la cobertura arbórea. En el caso del borde nativo -plantación consideramos como borde el límite entre las coberturas arbóreas de distintos orígenes. En el caso del borde plantación-cosechado y borde nativo-camino consideramos como borde el límite entre el área con cobertura arbórea y el área sin cobertura. Para evaluar si el número de individuos que se dirigió hacia cada hábitat difería estadísticamente realizamos de pruebas de  $X^2$  observado vs esperado en STATISTICA 6.0. El número

esperado correspondió a la mitad de los individuos totales liberados en cada experimento.

## 2.- Radio- Telemetría

Para evaluar si existen diferencias en el movimiento de *C. chilensis* en distintos tipos de bosque nativo (bosque continuo y fragmentos) y si existe preferencia entre hábitats (nativo vs. plantación y nativo vs. camino) a una escala temporal mayor realizamos el seguimiento de los individuos con radio-telemetría. Para esto utilizamos radiotransmisores LB-2N de 0,3 g (Holohil Systems Ltda) con una antena de 5 cm de largo. Estos fueron adheridos a los élitros de *C. chilensis* con un pegamento a base de cianoacrilato (Fig. 3). Localizamos a los individuos dos veces al día, al amanecer y después del anochecer mediante un receptor (R-1000 de 148-152 MHz) y una antena direccional Yagi de tres elementos (RA-150, Jescom Communications International, Inc.), marcando su ubicación por medio de una cinta numerada y GPS.



Fig.3. *Ceroglossus chilensis* con radiotransmisor.

## 2.1.- Movimiento en fragmentos y bosque continuo:

En noviembre del 2007 (verano) y mayo – junio (otoño) del 2008 realizamos el seguimiento de un total de 24 individuos, 12 hembras y 12 machos, distribuidos equitativamente entre bosque continuo y fragmentos. Realizamos el seguimiento en cuatro sesiones de tres días de duración. En cada sesión de estudio seguimos tres individuos simultáneamente en ambos hábitat (i.e. bosque continuo y fragmentos). Medimos la distancia recorrida en 12 horas (día y noche), la distancia total en tres días y la orientación de cada paso de 12 horas con una brújula para evaluar los ángulos de giro. Para evaluar si la tasa de movimiento (total y efectiva) y los ángulos de giro difieren entre hábitat, sexo y estación del año realizamos análisis de varianza factoriales. Además, para evaluar si la tasa de movimiento en 12 horas difiere según el período del día (i.e. día o noche), hábitat y sexo realizamos análisis de varianza de medidas repetidas. Ambos análisis se realizaron en STATISTICA 6.0.

Para evaluar si la distancia efectiva recorrida y el ángulo de giro promedio se relaciona con la complejidad estructural del hábitat registramos la cobertura a nivel de suelo (hojarasca y palos), de arbustos y de árboles evaluada por medio de una estimación visual en una escala de 0 a 3 (0= 0 - 25%, 1= 26 - 50%, 2= 51 - 75%, 3= 76 -100%). Para analizar la relación de la complejidad estructural con la tasa de movimiento y ángulos de giro realizamos regresiones con el método de selección hacia adelante en STATISTICA 6.0. Además, para evaluar si la tasa de movimiento se relacionaba con la temperatura ambiental registramos esta mediante termómetros de mínima y máxima y realizamos correlaciones de Spearman con la temperatura mínima, máxima y el rango de temperatura.

## 2.2.- Reacción a los bordes

Para evaluar si *C. chilensis* seleccionaba entre hábitats, se evaluó la respuesta al borde bosque nativo – plantación y borde bosque nativo – camino. En el caso del borde bosque nativo – plantación evaluamos si la probabilidad de que *C. chilensis* se mantenga en un hábitat difiere de la probabilidad de que cruce hacia el otro hábitat según el hábitat de liberación (i.e. bosque nativo o plantación) y si es más probable que se ubique en uno de estos dos hábitats. Para esto, en noviembre del 2008 liberamos 10 individuos dentro de una franja de 10 m desde el borde hacia cada tipo hábitat y después de dos días evaluamos la ubicación de los individuos. Además, debido a que la percepción y la preferencia por bosque nativo o plantación puede variar por el tamaño del bosque nativo (i.e. bosque continuo o fragmento) colindante con la plantación, de los 20 individuos liberados 12 lo fueron en el borde bosque continuo-plantación y 8 en el borde fragmento-plantación. Para evaluar si existían diferencias estadísticas en las distintas comparaciones realizamos pruebas de  $X^2$  en STATISTICA 6.0.

Por otro lado, en noviembre del 2008 en el borde bosque nativo-camino, liberamos 9 individuos en el límite entre un bosque nativo continuo y un camino de 10 m de ancho. Al otro lado del camino había presencia de algunos arbustos nativos (e.g. maqui y peumo) y áreas cosechadas. Registramos la ubicación final de los individuos luego de 2 días. Para evaluar si el número de individuos que se dirigió hacia cada hábitat difería estadísticamente realizamos pruebas de  $X^2$  observado vs esperado en STATISTICA 6.0.

## RESULTADOS

### 1.- Observación directa

#### 1.1.- Análisis de sendas

Evaluamos el movimiento de 66 individuos: 28 en bosque nativo, 23 en plantación de pino y 15 en cosechado. Los insectos solo realizaron dos actividades, estar detenidos (escondidos o expuestos) y caminar. En todos los hábitats invirtieron la mayor parte del tiempo en estar detenidos y poco en desplazarse ( $X^2$  observado v/s esperado, nativo = 98,5,  $df = 1$ ,  $p < 0,0001$ , plantación = 39,2,  $df = 1$ ,  $p < 0,0001$  y cosechado = 4,8,  $df = 1$ ,  $p = 0,03$ ). Además, los individuos detenidos permanecieron más tiempo escondidos que expuestos en el bosque nativo y las plantaciones ( $X^2$  observado v/s esperado, nativo = 50,70,  $df = 1$ ,  $p < 0,0001$ , plantación = 18,  $df = 1$ ,  $p < 0,0001$ ), mientras que en el área cosechada permanecían tiempo similar ( $X^2$  observado v/s esperado = 0,55,  $df = 1$ ,  $p = 0,46$ ; Tabla 1).

Tabla 1. Actividades de *C. chilensis* observadas para los 66 individuos a los que se les siguió su trayectoria. Número (porcentaje) de pasos de 30 segundos ocupados en cada actividad, para cada hábitat por separado y para todos combinados.

Sitio	Escondido	Detenido expuesto	Caminando
Bosque nativo	177 (60,4)	66 (22,5)	50 (17,1)
Plantación de pino	108 (51,4)	54 (25,7)	48 (22,9)
Área cosechada	41 (29,9)	48 (35,0)	48 (35,0)
Todos	326 (50,9)	168 (26,2)	146 (22,8)

El largo de paso promedio, la tasa de desplazamiento total y la tasa de desplazamiento efectiva fue menor en el bosque nativo que en las plantaciones de pino y las áreas cosechadas. Además, la duración promedio de los períodos de inmovilidad fue mayor en el bosque nativo que en las plantaciones de pino y las áreas cosechadas, en tanto los ángulos de giro y la duración promedio de los períodos de movilidad fueron similares entre hábitats (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados del ANDEVA para el efecto del hábitat (bosque nativo, plantación de pino y área cosechada) sobre los componentes del movimiento de *C. chilensis* evaluados en el análisis de sendas. Se indica la media  $\pm$  1 error estándar para cada componente. Letras distintas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey.

	Bosque nativo	Plantación de pino	Área cosechada	F	P
Largo de paso (cm)	20,6 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	43,7 $\pm$ 5,9 <sup>b</sup>	54,0 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup>	9,1	0,000
Ángulo de giro (°)	66,4 $\pm$ 9,2	53,5 $\pm$ 7,8	46,1 $\pm$ 7,8	1,4	0,265
Tasa total desplazamiento (cm/min)	13,3 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>	37,3 $\pm$ 9,0 <sup>a</sup>	59,0 $\pm$ 12,0 <sup>a</sup>	8,5	0,001
Tasa efectiva desplazamiento (cm/min)	11,3 $\pm$ 2,9 <sup>b</sup>	33,4 $\pm$ 7,7 <sup>a</sup>	49,0 $\pm$ 10,3 <sup>a</sup>	8,0	0,001
Duración período movilidad (min)	0,8 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,1	2,0	0,137
Duración período inmovilidad (min)	3,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	2,4 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	1,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	9,9	0,000

### 1.2.- Reacción a los bordes:

Tanto en el borde entre bosque nativo y plantaciones de pino como el borde bosque nativo – camino, un número similar de individuos se movió hacia uno u otro hábitat (Tabla 3). En el borde entre una plantación y un área recientemente cosechada, se dirigieron más individuos hacia la plantación que hacia el área cosechada (Tabla 3).

Tabla 3. Reacción a distintos tipos de borde evaluada por observación directa y radiotelemetría. n = número de individuos finales en habitat 1 – habitat 2.  $X^2$  = valor de  $X^2$  observado versus esperado, gl = 1. \* =  $p < 0,05$  y \*\* =  $p < 0,001$ .

Tipo de Borde	Observación directa		Radiotelemetría	
	N	$X^2$	N	$X^2$
Bosque nativo – Plantación	17 – 29	3,13	11 – 8	0,5
Bosque nativo – Camino	13 – 7	1,8	7 – 1	4,5*
Plantación – Cosechado	18 – 2	12**		

## 2.-Radio-Telemetría

### 2.1.- Movimiento en bosque continuo y fragmentos

De los 24 individuos seguidos, uno se perdió al inicio del estudio probablemente debido a la desactivación del transmisor y otro se movió a una tasa mucho mayor que el promedio (i.e. *outlier*: 56,7 vs.  $2,7 \pm 0,38$  m/día, media  $\pm 1$  ee). Por lo anterior, los análisis subsiguientes se realizaron con 22 individuos.

Tanto la distancia total como la distancia efectiva recorrida en tres días fue similar en el bosque continuo y los fragmentos, independientemente del sexo ( $F_{(1,14)} = 1,22$  y  $2,42$   $p = 0,29$  y  $0,14$ , respectivamente, Fig. 4). Además, los machos tendieron a desplazarse más que las hembras ( $F_{(1,14)} = 3,78$  y  $4,17$ ,  $p = 0,07$  y  $0,06$  distancia total y efectiva respectivamente), lo que es significativo durante el otoño (interacción sexo x estación:  $F_{(1,14)} = 5,42$  y  $4,62$ ,  $p = 0,03$  y  $0,04$  para distancia total y efectiva, respectivamente, Fig. 4).

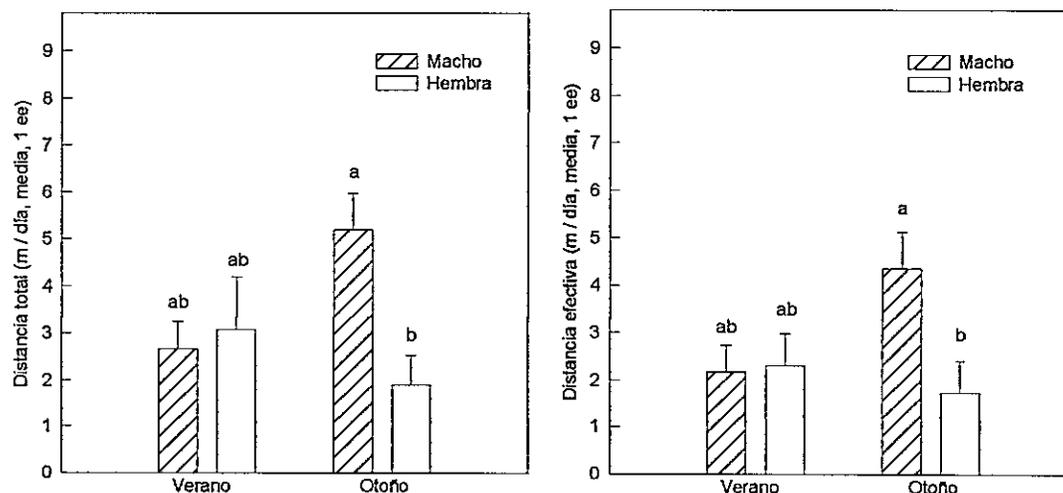


Fig. 4. Distancia diaria total y efectiva (m/día) recorrida por machos y hembras en bosque continuo y fragmentos del bosque Maulino. Letras distintas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey.

Por otro lado, los individuos de *C. chilensis* tuvieron más períodos de 12 horas inmóviles que en movimiento (61,4 % vs. 38,6 % del total de períodos,  $X^2$  observado vs. esperado = 6,82,  $p = 0,009$ ). Además, tuvieron más períodos inmóviles en la noche que en el día (64,2 % vs 35,8 % del total de períodos de inmovilidad,  $X^2$  observado vs. esperado = 6,53,  $p = 0,01$ ).

En cuanto al movimiento durante los períodos de 12 horas, este no difirió entre bosque continuo y fragmentos ( $F_{(1,18)} = 0,14$ ,  $p = 0,71$ ). Sin embargo, las hembras tendieron a moverse más en los fragmentos que en el bosque continuo mientras que los machos se desplazaron de manera similar en el bosque continuo y en los fragmentos (interacción hábitat x sexo:  $F_{(1,18)} = 3,5$ ,  $p = 0,08$ ). Por otro lado, durante los períodos de 12 horas diurnos estos carábidos se desplazaron más que en los nocturnos ( $F_{(1,18)} = 19,19$ ,  $p = 0,0004$ , Fig. 5). Esta diferencia fue más marcada en los machos que en las hembras (interacción período x sexo:  $F_{(1,18)} = 5,11$ ,  $p = 0,04$ , Fig. 5).

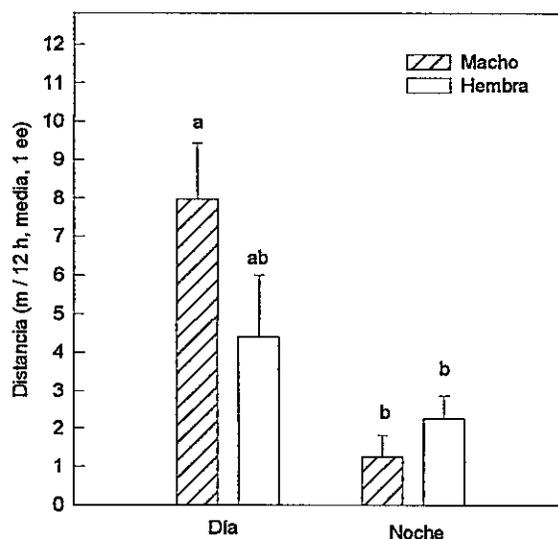
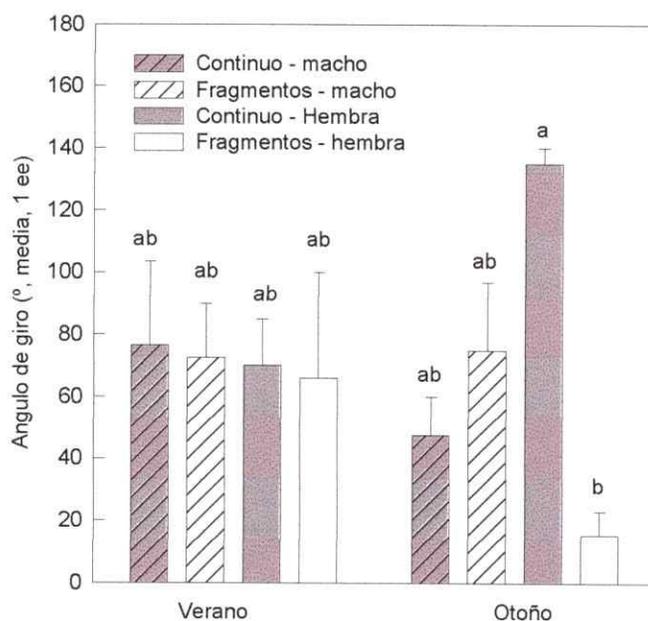


Fig. 5. Distancia recorrida en 12 horas durante el día y la noche por machos y hembras en el bosque continuo y los fragmentos de Bosque Maulino. Letras distintas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey.

Los ángulos de giro de *C. chilensis* no difirieron entre el bosque continuo y los fragmentos (hábitat:  $F_{(1, 11)} = 2,8$ ,  $p = 0,12$ ). Sin embargo, en el bosque continuo las hembras realizaron ángulos de giro mayores que en los fragmentos (interacción hábitat x sexo:  $F_{(1, 11)} = 6,04$ ,  $p = 0,03$ ), lo que fue más evidente durante el otoño (interacción sexo x hábitat x estación:  $F_{(1, 11)} = 6,07$ ,  $p = 0,03$ , Fig. 6).



**Fig. 6.** Ángulos de giro promedio de machos y hembras en el bosque continuo y los fragmentos de Bosque Maulino. Letras distintas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey.

Por otro lado, a mayor cobertura de hojarasca en el suelo menor fue la distancia efectiva recorrida ( $\text{Beta} = -0,66$ ,  $R^2$  ajustado = 0,37,  $p = 0,03$ ), mientras que la cobertura de palos, arbustos y árboles no se relacionaron significativamente con la distancia recorrida ( $p > 0,05$ ). En cuanto a la temperatura ambiental, a mayor promedio de temperatura máxima mayor fue la distancia promedio recorrida en 12 horas ( $R$  Spearman = 0,83,  $p =$

0,01), en tanto la temperatura mínima y el rango de temperatura no se relacionaron significativamente con la distancia recorrida ( $p > 0,05$ ).

## 2.2.- Reacción a los bordes

En el borde bosque nativo-plantación, el número de *C. chilensis* que permanecieron y el de los que cruzaron hacia el otro hábitat no difirieron según el hábitat de liberación (liberados en nativo: 5 permanecen y 4 cruzan hacia pino; liberados en pino: 4 permanecen y 6 cruzan hacia nativo,  $X^2 = 0,46$  gl = 1,  $p = 0,5$ ). Además, al considerar solamente la ubicación final, independiente del hábitat de liberación, los individuos tampoco se ubicaron más en un hábitat que en el otro (Tabla 3). Al separar por tipo de bosque nativo (i.e., fragmentos vs. bosque continuo) que colinda con la plantación ocurre algo similar. En el borde fragmento-plantación, 2 se ubicaron en el bosque nativo y 5 en plantación ( $X^2 = 1,28$ , gl = 1,  $p = 0,25$ ) y en el borde bosque continuo - plantación, 9 se ubicaron en el bosque nativo y 3 en plantación ( $X^2 = 3$ , gl = 1,  $p = 0,08$ ). En el caso del borde bosque nativo-camino, el número de *C. chilensis* que se dirigieron desde el borde hacia el bosque nativo fue significativamente mayor al de los que cruzaron el camino (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

Conocer la habilidades de movimiento de las especies es importante para predecir los impactos de la fragmentación del hábitat en la persistencia de sus poblaciones (Tscharrntke *et al.* 2002, Ranius 2006). En el paisaje del bosque Maulino fragmentado *C. chilensis* se movió a tasas mayores en las áreas cosechadas y las plantaciones de pino que en el bosque nativo, moviéndose de manera similar en el bosque continuo y los fragmentos. Además, solo los bordes de alto contraste serían percibidos por *C. chilensis*, como son los bordes entre áreas sin cobertura (i.e. áreas cosechadas y caminos) y áreas con cobertura arbórea (i.e. bosque nativo y plantación), a las que prefirió. En cambio, el borde de bajo contraste entre plantaciones de pino y bosque nativo sería un borde invisible para este carábido (*sensu* Jeanson *et al.* 2003).

Las diferencias en la tasa de movimiento de *C. chilensis* en los distintos hábitats pueden estar asociadas a diferencias en la disponibilidad de presas, la presión de depredación, las condiciones microclimáticas y la complejidad estructural del hábitat (Jonsen y Taylor 2000a, Yang 2000, Goodwin y Fahrig 2002a). Sin embargo, en este caso ninguno de los dos primeros factores parecen explicar la mayor permanencia de *C. chilensis* en el bosque nativo. El bosque nativo no tiene mayor abundancia de presas (i.e. insectos de suelo) que las plantaciones de pino (Grez *et al.* 2003); tampoco detectamos diferencias en la disponibilidad de materia seca (i.e. de invertebrados) entre el bosque nativo y las plantaciones de pino ni diferencias en la presión de depredación (véase capítulo I). En cuanto al microclima, los sitios con condiciones microclimáticas extremas serían desfavorables para *C. chilensis* (Jiroux 1996), por lo que tendrían en ellos mayores tasas

de movimiento para abandonarlos rápidamente (Baars 1979, Riecken y Rath 1996). Esto parece suceder en el bosque Maulino, la humedad del suelo fue menor en las áreas cosechadas y las plantaciones de pino que en el bosque nativo (media  $\pm$  1 ee: 25,64%  $\pm$  3,0 y 28,04%  $\pm$  2,6, vs. 34,53%  $\pm$  1,3, respectivamente,  $F_{(2,60)} = 12,68$ ,  $p < 0,001$ ). Además, el rango de temperatura (i.e. diferencia entre mínima y máxima) fue mayor en las áreas cosechadas que en las plantaciones de pino y el bosque nativo (media  $\pm$  1 ee: 17, 21°C  $\pm$  1,3 v/s 7,78°C  $\pm$  1,1 y 8,59°C  $\pm$  0,4, respectivamente,  $F_{(2,58)} = 28,69$ ,  $p < 0,001$ ). Por lo tanto, las áreas cosechadas (i.e. sin cobertura arbórea) tendrían las condiciones microclimáticas más extremas y probablemente más desfavorables para este carábido, lo que podría explicar que eviten cruzar hacia esas áreas. Por otra parte, debido a que estos carábidos son ectotermos, una mayor temperatura ambiental les permite aumentar la actividad locomotora, aumentando las tasas de desplazamiento. Esto coincide con lo observado dentro del bosque nativo, donde a mayores temperaturas máximas *C. chilensis* tuvo mayores tasas de movimiento lo que también se ha observado en otros estudios en carábidos (Baars 1979, Raworth y Choi 2001). Por otro lado, la mayor cobertura de hojarasca se asoció a una menor tasa de movimiento. Esto podría deberse a que la mayor complejidad estructural del suelo impondría dificultades al movimiento (Yang 2000, Goodwing y Fahrig 2002a, Thomas *et al.* 2006) o a que sitios con mayor cobertura de hojarasca tendrían mayor disponibilidad de refugios y estabilidad microclimática (Brose 2003, Magura *et al.* 2005), lo que favorecería movimientos que aumenten la permanencia en ellos. Efectivamente, en este estudio la cobertura de hojarasca fue mayor en el bosque nativo que en las plantaciones de pino (véase capítulo I), lo que explicaría que *C. chilensis* se moviera a tasas menores allí.

La actividad de *C. chilensis* fue principalmente diurna lo que coincide con lo descrito para la especie, siendo común verlo deambulando durante el día (Jiroux 1996). Además su tasa de movimiento en el bosque nativo fue similar a la de otros carábidos especialistas de bosque (2,7 vs 2,1 m/día, Brouwers y Newton 2009). Por otro lado, los machos se desplazaron más que las hembras principalmente durante la estación reproductiva (i.e. otoño). Esto se debería a que los machos avanzarían más rápido en el proceso de búsqueda de pareja mediado, probablemente como en muchos insectos, por las feromonas emitidas por las hembras, las que serían detectadas a gran distancia (Chapman 1982). Además, debido a que las hembras se mueven a tasas menores y con ángulos de giro mayores que los machos en el bosque continuo, ellas aumentarían su permanencia en ese hábitat. Esto explicaría la tendencia a una razón de sexos sesgada hacia las hembras en el centro del bosque continuo (Henríquez *et al.* 2009).

Los resultados de la observación directa difieren de los de telemetría, particularmente en la reacción al borde bosque nativo-camino, ya que en este caso solo se detectó una diferencia significativa mediante telemetría. Una limitación a los experimentos de observación directa es que el efecto se observa a corto plazo, pudiendo además existir efectos sobre el comportamiento por la perturbación que realiza el observador, sesgando los resultados (Turchin 1998). Por tanto, serían más confiables los resultados de los experimentos de telemetría, aún cuando para ellos hay restricciones económicas que dificultan un número mayor de repeticiones. La miniaturización de los radiotransmisores ha permitido el uso de radiotelemetría para estudiar el movimiento en insectos grandes a una mayor escala espacial y temporal (Riecken y Raths 1996, Hedin y Ranius 2002, Beaudolin - Ollivier *et al.* 2003, Lorch *et al.* 2005, Rink y Sinsch 2007, Negro *et al.*

2008). Sin embargo, aunque el peso y las dimensiones de los radiotransmisores son pequeños, estos podrían tener un efecto sobre el movimiento de *C. chilensis*. En otros estudios realizados en carábidos, el éxito de forrajeo y otras actividades (e.g. cópula) no fueron sustancialmente afectadas por la presencia del transmisor (Riecken y Raths 1996, Negro *et al.* 2008). Sin embargo, en nuestro estudio probablemente existe una reducción en el rango de movilidad de *C. chilensis*, debido a que el transmisor pegado en la parte superior de los élitros, puede restringir los movimientos a través de los sitios angostos (e.g. dentro de troncos, entre de ramas) y a que el peso del transmisor (0,3 g) es aproximadamente el 44% del peso promedio de los individuos, lo que es similar a otros estudios (30 a 50% Riecken y Raths 1996, Negro *et al.* 2008). Este efecto probablemente disminuye la dimensión del movimiento (i.e. menor tasa de desplazamiento), sin embargo, permitiría detectar diferencias en el movimiento entre los distintos hábitats (Riecken y Raths 1996, Negro *et al.* 2008).

El movimiento de *C. chilensis* podría explicar en parte los patrones de densidad y de diversidad y diferenciación genética de este insecto en el bosque Maulino fragmentado. Por una parte, la mayor densidad en los fragmentos que en el bosque continuo y las plantaciones de pino (véase capítulo I) podría deberse a que los fragmentos, al tener más bordes, tendrían una mayor superficie de entrada de individuos desde las plantaciones y por lo tanto una mayor tasa de inmigración (Collinge y Forman 1998, Debinski y Holt 2000, Jonsen y Taylor 2000, Bowman *et al.* 2002). Además, la mayor tasa de desplazamiento observada en las plantaciones produciría que los individuos las abandonarían más rápido, aumentando la inmigración hacia los bosques nativos aledaños. Dado que en el bosque nativo se mueven más lentamente y permanecen más tiempo

inmóviles, los individuos se acumularían allí, aumentando la densidad de *C. chilensis* tanto en los bordes del bosque continuo como en los fragmentos (Henríquez *et al.* 2009). De manera similar, el aumento en la densidad de *C. chilensis* en los fragmentos posterior a la cosecha de las plantaciones aledañas (véase capítulo I) probablemente se debe a que este carábido, además de moverse más rápido en las áreas cosechadas que en el bosque nativo, prefiere las áreas con cobertura arbórea, aumentando la tasa de inmigración desde las áreas cosechadas a los fragmentos, produciéndose una mayor acumulación de individuos que en los fragmentos rodeados por plantaciones de pino.

En cuanto a la genética de las poblaciones de *C. chilensis* en el bosque Maulino fragmentado, la diferenciación genética fue menor entre sitios separados por un porcentaje mayor de área cubierta por plantaciones de pino (véase capítulo III). Ello podría ser el resultado de la mayor tasa de desplazamiento de *C. chilensis* en las plantaciones, con el consiguiente mayor flujo génico que en los sitios separados por bosque nativo. Por otra parte, la diversidad genética de *C. chilensis* se asoció negativamente con la cercanía de los caminos (véase capítulo III), lo que podría deberse a que *C. chilensis* evita cruzar los caminos, reduciendo así el flujo génico, disminuyendo los tamaños poblacionales efectivos y acelerando la pérdida de diversidad genética en los sitios aledaños a ellos.

Lo anterior sugiere que el movimiento de *C. chilensis* sería un factor importante para explicar las respuestas demográficas y genéticas a la fragmentación del hábitat de este carábido, siendo las áreas sin cobertura arbórea las principales barreras para su desplazamiento en el paisaje.

## CAPITULO III

# DIVERSIDAD Y DIFERENCIACIÓN GENÉTICA DE *CEROGLOSSUS CHILENSIS* EN EL BOSQUE MAULINO: ROL DE LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT Y LA CONFIGURACIÓN DEL PAISAJE.

## INTRODUCCION

La fragmentación y pérdida del hábitat son consideradas entre las mayores amenazas a la persistencia de las especies, al reducir el tamaño y aumentar el grado de aislamiento de las poblaciones (Foley *et al.* 2005, Fisher y Lindenmayer 2007). Estos cambios pueden producir efectos a nivel genético, lo que aumenta la probabilidad de extinción de las poblaciones (Frankham 2005, Frankham 2006). Por esto, los atributos genéticos pueden servir como indicadores del estado de conservación de las poblaciones (Noss 1990). En general, en las poblaciones fragmentadas se reduce el tamaño poblacional efectivo y el flujo génico, lo que produce pérdidas de diversidad genética y una mayor diferenciación poblacional en comparación con poblaciones continuas (Allendorf y Luikart 2007). Sin embargo, la intensidad de este efecto depende de las características de las especies que habitan los paisajes fragmentados, tales como la capacidad de dispersión, la especialización de hábitat, el tiempo generacional y la fecundidad (Keighobadi 2007).

En insectos, las poblaciones fragmentadas de especies especialistas de hábitat tienen menor diversidad genética y están más diferenciadas que especies más generalistas (Brouat *et al.* 2003, Desender 2005, Keyghobadi 2007). Además, los insectos con poca capacidad de dispersión son más susceptibles a cambios genéticos producidos por la fragmentación del hábitat. En el grillo de baja movilidad *Stenopelmatus*, la fragmentación de su hábitat en California producto del desarrollo urbano produjo una reducción de la diversidad genética y una mayor diferenciación (Vandergast *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2009). Igualmente, en carábidos no voladores las poblaciones fragmentadas están más diferenciadas y tienen menor diversidad genética que poblaciones de paisajes más continuos (Brouat *et al.* 2003, Desender 2005). Sin embargo, también los insectos con mayor movilidad como mariposas y carábidos voladores especialistas de hábitat responden a la fragmentación de su hábitat con un aumento en la diferenciación genética (Dhuyvetter *et al.* 2005, Keyghobadi *et al.* 2005a, Keyghobadi *et al.* 2005b).

Por otro lado, el efecto de la fragmentación del hábitat sobre la diversidad y estructuración genética de las poblaciones puede ser modulado por la configuración del paisaje, la que facilita o dificulta el movimiento de los organismos (Manel *et al.* 2003, Storfer *et al.* 2007). La presencia de barreras al movimiento puede aumentar la diferenciación genética, produciendo una diferenciación mayor a la esperada solo por distancia (Garnier *et al.* 2004, Keyghobadi *et al.* 2005a). Así, los cursos de agua y las cumbres de montañas pueden determinar un mayor aislamiento genético entre poblaciones (Funk *et al.* 2005, Spear *et al.* 2005, Vignieri 2005). También, las áreas con ausencia de cobertura arbórea son una barrera parcial al flujo génico para especies de

bosque (Brouat *et al.* 2003), al igual que los caminos o áreas urbanas (Arens *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2007, 2009). Para los carábidos, incluso la reciente construcción de una carretera (31 años) es una barrera al flujo génico y determina pérdidas de diversidad genética (Keller y Largiadèr 2003).

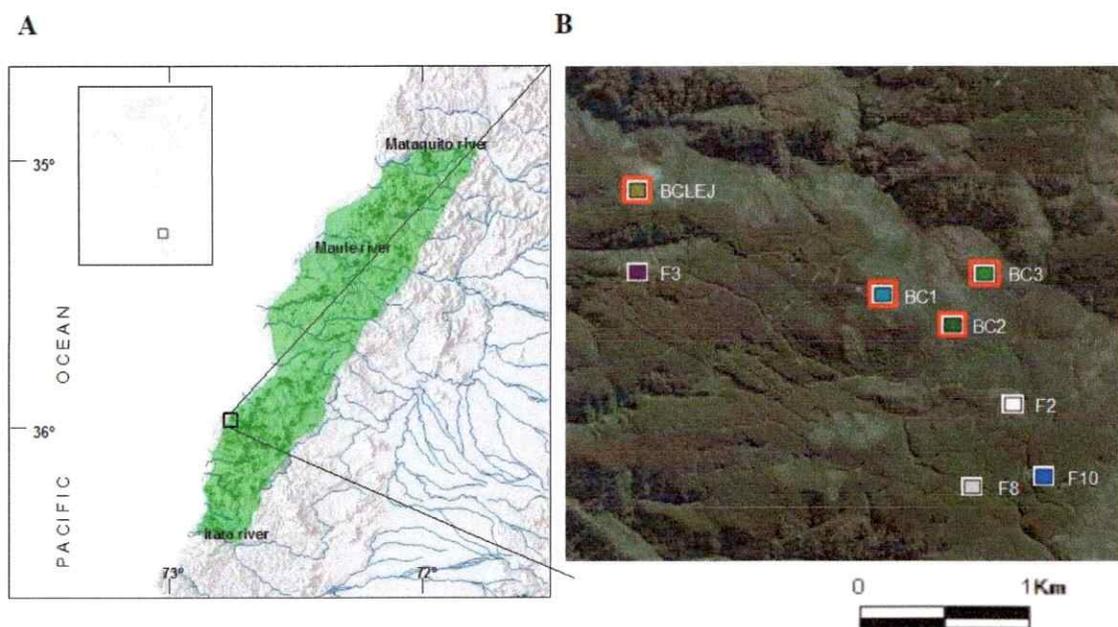
La fragmentación de hábitat ha ocurrido a una escala global y Chile no es una excepción. En Chile central, el bosque Maulino ha sido fuertemente fragmentado desde los inicios del siglo XIX. Su perturbación inicial fue motivada por la necesidad de terrenos para una agricultura de subsistencia y por la explotación para obtener madera de construcción, de exportación y material combustible (leña y carbón). Actualmente, gran parte de él subsiste como fragmentos pequeños y aislados rodeados por plantaciones de *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus*, continuando la extracción de árboles para astillas, leña y carbón (Echeverría *et al.* 2006). Este bosque posee especies únicas y en peligro de extinción, tales como *Nothofagus alessandrii* (ruil), *Gomortega keule* (queule) y *Pitavia punctata* (pitao) (San Martín 2005). Dentro de los insectos que habitan este bosque amenazado se encuentra *Ceroglossus chilensis*, un carábido no volador asociado a los bosques de *Nothofagus*. Esta especie alcanza mayores densidades en los fragmentos de bosque Maulino que en el bosque continuo y las plantaciones de pino, lo que sugiere que se empaquetarían en los fragmentos (Grez *et al.* 2003, Grez 2005, Henríquez *et al.* 2009), lo que podría disminuir el flujo génico y reducir su diversidad genética. Sin embargo, la configuración del paisaje circundante al bosque nativo puede influir en la distribución de la diversidad genética de esta especie. Por un lado, las plantaciones de pino que rodean los fragmentos son utilizadas en baja intensidad por *C. chilensis*, (Grez 2005, Henríquez *et al.* 2009), pudiendo existir intercambio de individuos entre las

poblaciones de fragmentos aledañas. Por otro lado, las áreas sin cobertura vegetal podrían estar actuando como barreras. Esto es sugerido por los resultados de experimentos de movimiento en los cuales *C. chilensis* evitó moverse hacia estas áreas. Esto podría producir un mayor grado de aislamiento de las poblaciones de los fragmentos que están rodeados por caminos u otras áreas sin cobertura de vegetación.

El objetivo de este trabajo fue determinar si la diversidad y estructuración genética de las poblaciones de *C. chilensis* difieren entre el bosque continuo y fragmentos de bosque Maulino, y evaluar el rol de la configuración del paisaje sobre estos atributos genéticos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la diversidad genética y la estructuración poblacional de *C. chilensis* en el Bosque Maulino, muestreamos cuatro sitios en el bosque continuo (Reserva Nacional Los Queules y terrenos privados aledaños) y cuatro fragmentos de más de 63 años ubicados a distancias equivalentes (Fig. 1). Entre el 2006 y el 2008 capturamos 30 individuos por sitio aprox. mediante trampas de caída, les extrajimos parte del tarso de la pata media y los liberamos en el sitio de captura original. Adicionalmente, usamos como grupo externo muestras de 15 individuos capturados en Quirigue (QUI, 30 Km al SE del sitio de muestreo). Todas las muestras fueron conservadas en alcohol 96°.



**Fig. 1.** A) Distribución original (verde claro) y actual (verde oscuro) del bosque Maulino, el recuadro muestra la ubicación del sitio de estudio. B) Sitios de muestreo: en recuadros rojos los de Bosque Continuo (BC1, BC2, BC3, BCLEJ) y en recuadros blancos los de Fragmentos (F2, F3, F8, F10). En verde claro el bosque nativo y en verde oscuro las plantaciones de pino.

A partir de las muestras de los tarsos obtuvimos ADN usando el método de extracción salina (Aljanabi & Martínez, 1997). Verificamos la calidad del ADN obtenido en un gel de agarosa al 1 % y medimos su concentración en un espectrofotómetro (Thermo Scientific NanoDrop™ 1000). Una región de la secuencia de Citocromo Oxidasa I (COI) fue amplificada usando los partidores universales LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG y HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA (Folmer *et al.* 1994). Las reacciones de amplificación de PCR (Polymerase Chain Reaction) consistieron en 2,0 µl de dNTP 2,5 mM, 1,25 µl de MgCl<sub>2</sub> 50 mM, 2,5 µl de Buffer de PCR 10X (50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH 8.0), 1,0 µl de cada partidor a 10 pm/µl, 16 µl de agua ultra pura, 0,25 µl de Taq Polimerasa (Invitrogen) a 5 U/ µl y 1 µl de DNA, alcanzando un volumen total de 25 µl. Utilizamos el siguiente ciclo térmico: una primera fase de denaturación a 94 °C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos compuestos por una fase de denaturación a 94 °C por 40 segundos, luego una fase de apareamiento a 41,8 °C por 40 segundos, y una etapa de extensión a 72 °C por 1 minuto. Finalmente se realizó una última fase de extensión a 72 °C por 10 min. Verificamos la presencia de producto de PCR en un gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio. Estos productos fueron purificados usando QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN), obteniendo una solución que contenía específicamente COI del ADN mitocondrial. La secuenciación fue realizada en un sentido utilizando el partidor LCO1490 en secuenciadores automáticos (ABI3730XL y ABI3700) por la compañía MacroGen Inc., en Corea del Sur ([www.macrogen.com](http://www.macrogen.com)). Las secuencias

resultantes fueron alineadas y chequeadas revisando los cromatogramas manualmente en el programa Processor of Sequences, Proseq (version 2.91, Filatov 2002).

### *Diversidad genética*

Para observar gráficamente la diversidad genética construimos redes de haplotipos utilizando el algoritmo median-joining network en el programa NETWORK 4.5.1.0 (Bandelt *et al.* 1999). Para caracterizar la diversidad genética calculamos distintos índices: el número de sitios polimórficos (S), el número de haplotipos (K), la diversidad haplotípica (H) y el promedio de diferencias entre par de secuencias ( $\pi$ ) con el programa DNA Sequence Polimorphism, DnaSP (Rozas *et al.* 2003). El número de sitios polimórficos (S), corresponde al número de sitios que presentan diferentes nucleótidos en diferentes secuencias. El número de haplotipos (K), corresponde al número total de haplotipos diferentes encontrados en la muestra. La diversidad haplotípica (H) indica la probabilidad de que al elegir dos haplotipos al azar, éstos sean diferentes. Para calcular este índice se utiliza la siguiente fórmula:

$$H = \frac{n}{n-1} \left( 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 \right) \quad (1)$$

En la ecuación (1),  $n$  representa el tamaño de la muestra,  $k$  es el número de haplotipos y  $p_i$  es la frecuencia relativa del haplotipo  $i$  (Nei 1987). Si  $H = 0$  significa que en una población todos los alelos son iguales, mientras que si  $H = 1$  todos los alelos son distintos, por lo tanto:  $0 < H < 1$ . El promedio de diferencias por par de secuencias ( $\Pi$ ),

indica el número de diferencias promedio que existe entre todos los pares de secuencias que hay en la muestra. Está dado por la siguiente relación:

$$\Pi = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j d_{ij} \quad (2)$$

En la ecuación (2),  $n$  es el tamaño de la muestra,  $d_{ij}$  es una estimación del número de mutaciones que han ocurrido desde la divergencia de los haplotipos  $i$  y  $j$ ,  $k$  es el número de haplotipos,  $p_i$  es la frecuencia relativa del haplotipo  $i$  y  $p_j$  es la frecuencia relativa del haplotipo  $j$  (Tajima 1983).

Posteriormente, comparamos estos índices entre el bosque continuo y los fragmentos a través de un Análisis de Varianza (ANDEVA) realizados en STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc. 2001). Debido a que los eventos poblacionales de cuello de botella eliminan de la población los alelos raros más rápidamente que los alelos comunes, se espera que  $K$  refleje eventos de fragmentación reciente más que  $\pi$  (Vandergast *et al.* 2007). Adicionalmente, a partir de la diversidad genética estimamos los tamaños poblacionales efectivos ( $N_e$ ). Para esto calculamos el parámetro poblacional  $\theta$  con un algoritmo de máxima verosimilitud en el programa LAMARC 2.1.5 (Kuhner 2006) y aplicamos la fórmula  $N_e = \theta/2u$ , donde  $u$  es la tasa mutacional. Asumimos una tasa de sustitución por sitio y por linaje de 0,0107 por millón de años (equivalente a una diferencia pareada de 2,15%/Ma), que es el promedio para el DNA mitocondrial de insectos (De Salle *et al.* 1987, Brower 1994).

### *Diferenciación genética*

Para examinar la diferenciación genética entre cada par de sitios de muestreo, se realizó una prueba de  $F_{ST}$  pareado con el programa ARLEQUIN Versión 3.11 (Excoffier *et al.* 2006). Se calculó tanto el índice de  $F_{ST}$  convencional a partir de las frecuencias haplotípicas ( $F_{ST}^h$ ) como el  $F_{ST}$  calculado a partir del número absoluto de diferencias entre pares de secuencias ( $F_{ST}^d$ ). Este análisis pone a prueba la hipótesis nula de no diferenciación genética entre dos grupos de poblaciones. El índice tiene valores entre cero y uno. Un valor de  $F_{ST} = 0$  indica que los grupos son genéticamente iguales, mientras que  $F_{ST} = 1$  indica que los grupos están completamente diferenciados. La significancia de cada índice  $F_{ST}$  pareado se obtuvo permutando 10.100 veces los haplotipos entre sitios (nivel de significancia,  $\alpha = 0,05$ ). Para determinar si el grado de diferenciación es mayor entre fragmentos que entre sitios del bosque continuo realizamos un ANDEVA. Posteriormente, la estructuración genética global se analizó mediante un Análisis de Varianza Molecular Espacial, SAMOVA (Spatial Analysis of MOlecular VAriance; Dupanloup *et al.* 2002). Este método permite encontrar estructuración basándose en los datos genéticos y geográficos disponibles, sin definir a priori los grupos en que se agrupan los sitios de muestreo. El total de secuencias se dividió en distinto número de grupos ( $k = 2$  a  $7$ ), y en cada una de estas divisiones se obtuvo el valor de  $F_{CT}$  (proporción de la varianza genética total debida a las diferencias entre grupos). Se eligió como la mejor división aquella que presentara un  $F_{CT}$  mayor, es decir donde la diferenciación entre grupos es máxima. La significancia de este índice y

de los otros índices de fijación ( $F_{SC}$  y  $F_{ST}$ ) se calculó permutando 1023 veces las poblaciones sin considerar su posición geográfica.

Posteriormente, para evaluar si existe un modelo de diferenciación de aislamiento por distancia realizamos una prueba de Mantel (Mantel 1967) en el programa ARLEQUIN Versión 3.11 (Excoffier *et al.* 2006). Esta prueba determina si hay más diferencias genéticas entre sitios lejanos que entre sitios cercanos, evaluando la correlación entre dos matrices de distancias: distancias geográficas y distancias genéticas. En este caso utilizamos como distancia genética  $F_{ST} / 1 - F_{ST}$  pareado entre sitios. La significancia de la correlación se obtuvo realizando 10.000 permutaciones (Smouse *et al.* 1986) y como distancia geográfica la distancia euclídeana entre sitios de muestreo calculadas en ArcMap 8.1 (Environmental Systems Research Institute). Realizamos la prueba de Mantel para todos los sitios de muestreo en conjunto y separados según tipo de hábitat, para evaluar si esta relación es más marcada en los fragmentos que en el bosque continuo. Esto ya que la matriz que rodea los fragmentos puede establecer mayores restricciones al flujo génico aumentando la diferenciación (Brouat *et al.* 2003, Caizergues *et al.* 2003, Jump y Peñuelas 2006). Adicionalmente, realizamos pruebas de Mantel entre individuos en el programa Alleles In Space, AIS (Miller 2005), usando como distancia genética las diferencias pareadas y estimando la significancia con 10.000 permutaciones.

### *Configuración del paisaje*

Para determinar el efecto de la configuración del paisaje sobre la diversidad y estructuración genética incorporamos la información de distintas variables de paisaje en un Sistema de Información Geográfico (SIG) elaborado en ArcMap 8.1 (Environmental Systems Research Institute). Las capas incorporadas incluyeron: uso de suelo, caminos, quebradas, altura y pendiente. Para evaluar las variables de paisaje que pueden tener incidencia sobre la diversidad genética, elaboramos un buffer de 100 m de radio alrededor de cada punto de muestreo debido a que esta es la distancia máxima de desplazamiento diario registrada. En cada buffer calculamos métricas de paisaje: densidad de bordes (BORDE), área de parche promedio (AREA), heterogeneidad del paisaje (HPAI, medido a través del índice de Shannon) e índice de forma promedio (FORMA), además de la distancia al bosque más cercano (DBMC) usando FRAGSTAT 3.3 (McGarigal *et al.* 2002, Barbaro *et al.* 2007). Adicionalmente, calculamos el promedio de la altitud (i.e. msnm, ALT), pendiente en grados (PEND), distancia a las quebradas (DQUEB), distancia a los caminos (DCAM) y el área cubierta por bosque nativo (ANAT), plantaciones de pino (APINO) y caminos (ACAM). Para comparar si las variables de paisaje difieren entre bosque continuo y fragmentos realizamos un ANDEVAM y posteriormente un ANDEVA para cada variable medida en STATISTICA 6.0.

Por otra parte, para evaluar si la pendiente puede tener algún rol en el grado de diferenciación genética debido a que podría modificar el movimiento de los individuos creamos dos rutas entre sitios de muestreo: una ruta de distancia euclidiana (i.e. en línea recta, DE) y una ruta de mínimo costo basada en la pendiente (MC). Posteriormente,

para evaluar qué variables de paisaje se relacionan con la diferenciación genética en cada ruta entre sitios de muestreo determinamos la distancia total entre puntos (DIST), el número de veces que es cruzada por caminos (NCAM) y quebradas (NQUEB) corregido por la distancia total y el porcentaje de la longitud de la ruta cubierta por bosque nativo (ANAT) y por plantación de pino (APINO). Como índice de diferenciación genética usamos la proporción de nucleótidos en los cuales dos secuencias son distintas entre sitios de muestreo (p distance, MEGA 4, Tamura *et al.* 2007), ya que este índice entrega solo valores positivos.

Finalmente, para evaluar la asociación entre la diversidad (S, K, H y  $\pi$ ) y la diferenciación genética (p distance) con el paisaje realizamos análisis de regresión múltiple de rango reducido (i.e. Análisis de Redundancia, RDA), que corresponde a la forma canónica del análisis de componentes principales. Seleccionamos las variables que contribuyen más a la explicación de la variación usando el procedimiento de selección hacia adelante (forward) en CANOCO para Windows 4.53 (ter Braak 1988, Leps y Smilauer 2003), permitiendo la entrada de una variable cuando  $p < 0,10$ . La significancia de cada variable y del modelo total seleccionado se evaluó a través de 2000 permutaciones de Monte Carlo.

Posteriormente, para evaluar si la diferenciación genética se asociaba mejor al modelo de la ruta de distancia euclidiana o al de la ruta de mínimo costo usamos el criterio de Akaike para muestras pequeñas (AICc) calculado en SAM 4.0 (Rangel *et al.* 2010). Seleccionamos como el mejor modelo al con menor valor de AICc, siempre que existiera una diferencia ( $\Delta$  AICc) mayor a 2 (Burnham y Anderson 1998).

### *Historia demográfica*

Para explorar la historia demográfica de *C. chilensis* en el sitio de estudio, examinamos la distribución de frecuencia de las diferencias pareadas entre las secuencias de los individuos (i.e. distribución mismatch, Rogers y Harpending 1992, Rogers 1995) para la muestra total y para cada sitio usando ARLEQUIN 3.11. Este método se basa en el supuesto que el crecimiento o declinación poblacional dejan señales distintivas en las secuencias de ADN en contraste con un tamaño poblacional constante. Los cambios en los tamaños poblacionales generan ondas en la distribución mientras que el tamaño poblacional constante no (Rogers y Harpending 1992). Adicionalmente, realizamos las pruebas de neutralidad de D de Tajima (Tajima 1989) y F de Fu (Fu 1997) usando ARLEQUIN 3.11. 1989), ambas pruebas son una medida estándar de las diferencias entre el número de sitios polimórficos (S) y el promedio de diferencias entre pares de secuencias ( $\Pi$ ), y sus índices toman valores distintos de cero y significativos cuando hay cambios en los tamaños poblacionales (Slatkin y Hudson 1991), la significancia de los índices fue evaluada a través de 10.000 simulaciones.

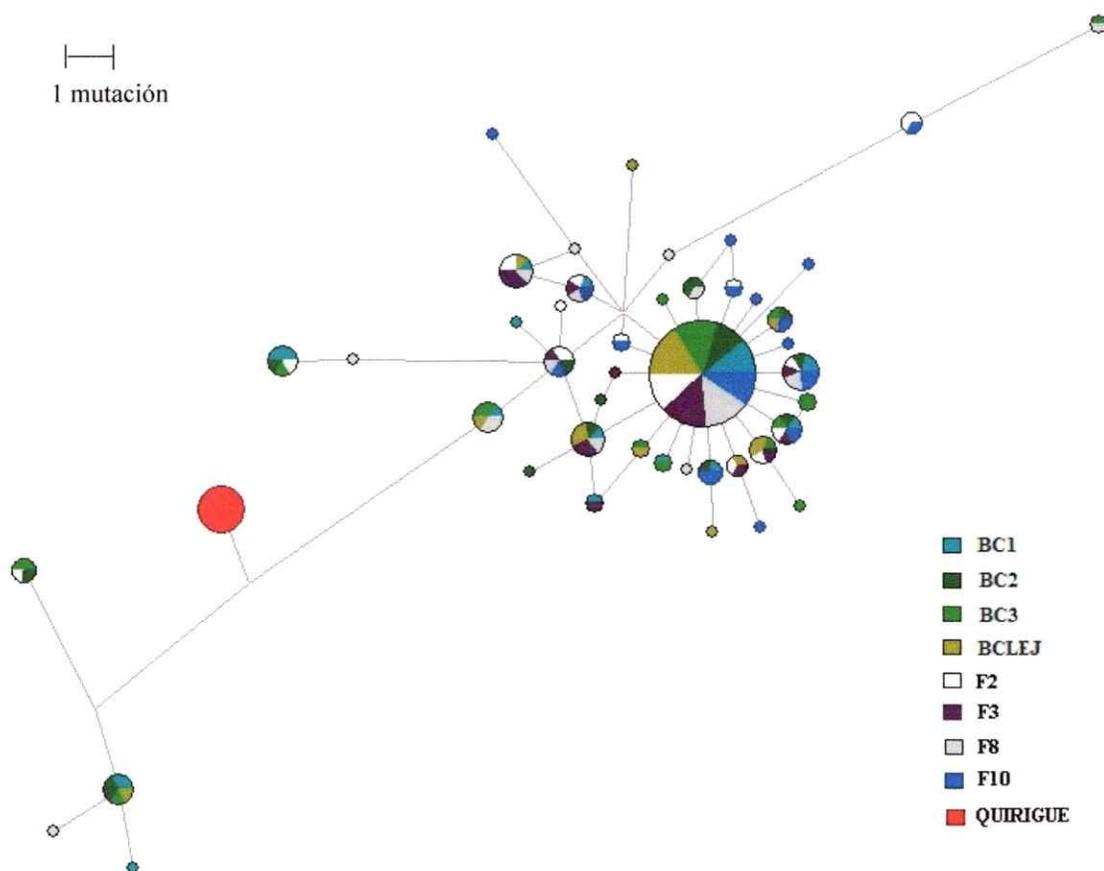
## RESULTADOS

Se analizó un total de 250 individuos. No se encontraron inserciones ni deleciones y las regiones ambiguas iniciales y finales fueron eliminadas, de forma tal que se obtuvo una secuencia de 632 pares de base de largo. Sin embargo, los sitios ubicados en las posiciones n° 45, 288 y 588 fueron eliminados de los análisis debido a su alta frecuencia de sustitución en haplotipos muy distantes, de forma tal que todos los individuos fueron analizados sobre una secuencia de 629 pares de base de largo.

### *Diversidad genética*

Cuarenta y cinco sitios variables definieron 45 haplotipos de COI (Tabla 1), 41 sitios involucraron transiciones y 7 involucraron transversiones (tasa: 5,86). La divergencia de secuencia entre haplotipos fue de 0,16 a 2,07 %. El haplotipo más común (H 1, Tabla 1, Fig. 2) fue compartido por el 49 % de los 235 individuos del bosque continuo y fragmentos y se encontró en todos los sitios. 22 haplotipos (48 %) fueron únicos de un sitio particular. La mayor frecuencia de un haplotipo único fue en BC3, donde el haplotipo 22 estuvo presente en 2 (6 %) de 31 muestras. El sitio con más haplotipos únicos (6 de 16) fue F10. En contraste, la muestra del grupo externo (QUI) solo presentó un haplotipo para 15 individuos (H 46), el que está emparentado con haplotipos antiguos presentes en el sitio de estudio (Tabla 1, Fig. 2).





**Fig 2.** Red de haplotipos de COI para *C. chilensis* (629 pb) en el bosque Maulino. El tamaño de los círculos representa el número de individuos en cada haplotipo. Distintos colores representan distintos sitios de muestreo: BC = sitios en el bosque continuo, F = fragmentos, Quirigüe = grupo externo.

La configuración de la diversidad observada en la red de haplotipos es similar en los sitios de bosque continuo y los fragmentos: una estrella con un haplotipo central de alta frecuencia seguido de haplotipos separados por pocas mutaciones. La presencia de haplotipos más antiguos separados por un alto número de mutaciones agrega complejidad a la topografía. Esta topografía se repite en los distintos sitios de muestreo, solo F3 presenta una configuración simplificada con un bajo número de mutaciones con los haplotipos más lejanos (Fig. 3 A y B).

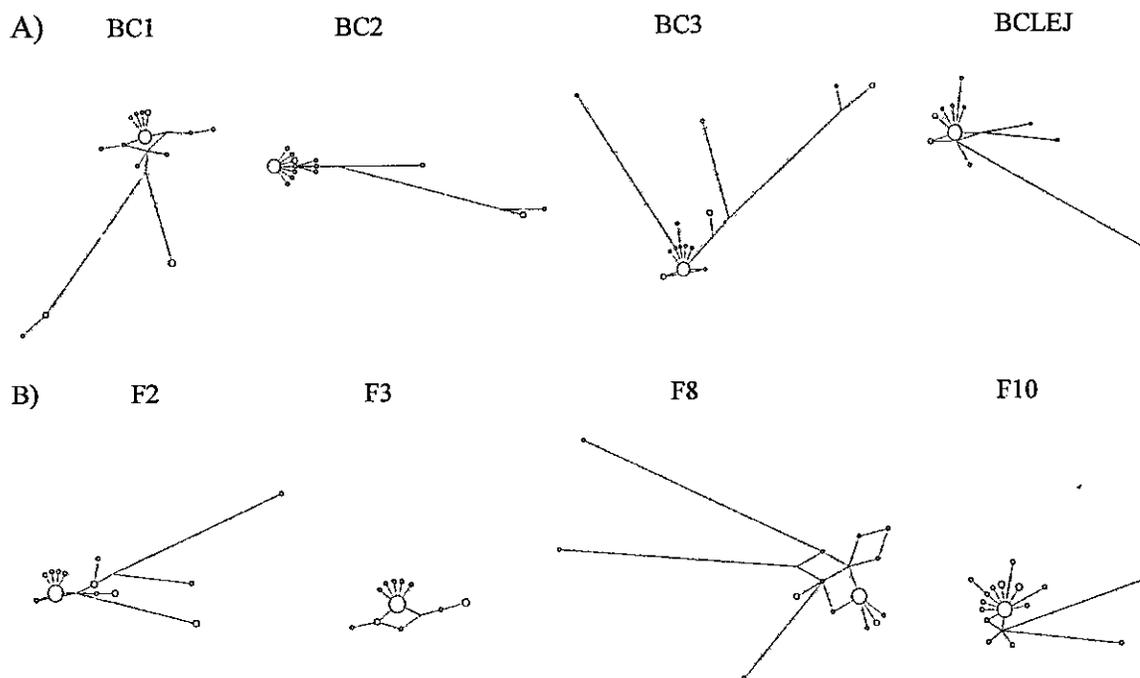


Fig. 3. Red de haplotipos A) sitios de bosque continuo y B) fragmentos

Al analizar los haplotipos de los individuos de todos los sitios de bosque continuo y fragmentos en conjunto, la diversidad genética ( $S$ ,  $K$ ,  $H$  y  $\pi$ , Tabla 2) es similar entre hábitats. Sin embargo, aunque los individuos de los fragmentos en conjunto contienen más haplotipos ( $k$ : 33 vs 30, Tabla 2), el promedio de diferencias por par de secuencias ( $\pi$ ) es menor que en el bosque continuo (2,48 vs 3,63 respectivamente). Al considerar los sitios de muestreo por separado la diversidad genética también es similar entre hábitats (Tabla 2, ANDEVA:  $S$ :  $F_{(1,6)} = 0,92$ ,  $p = 0,37$ ;  $K$ :  $F_{(1,6)} = 0,04$ ,  $p = 0,85$ ;  $H$ :  $F_{(1,6)} = 0,01$ ,  $p = 0,93$  y  $\pi$ :  $F_{(1,6)} = 2,56$ ,  $p = 0,16$ ). Sin embargo, la variabilidad en  $S$  y  $K$  entre sitios de muestreo es mayor en los fragmentos que en el bosque continuo (ee Tabla 2). Además, según el índice de diversidad analizado, el sitio de muestreo que presenta la mayor y la

menor diversidad varía. El sitio con mayor número de sitios polimórficos es BC3 y el con menor F3 (28 vs 10), en tanto la mayor diversidad haplotípica está en F10 y la menor en BCLEJ. El sitio con mayor promedio de diferencias por par de secuencias es el BC1 y el con menor F3 (Tabla 2). Sin embargo, el índice que reflejaría mejor los eventos de fragmentación reciente es el índice K (Número de haplotipos) debido a que los eventos poblacionales de cuello de botella eliminan de la población los alelos raros más rápidamente que los alelos comunes (Keyghobadi 2007, Vandergast *et al.* 2007). Este índice en general es similar en todos los sitios del bosque continuo (i.e. 14) y variable en los fragmentos (11 a 16), siendo el sitio más diverso el F10 y los menos diversos F3 y BCLEJ (Tabla 2).

**Tabla 2.** Índices de diversidad genética de los distintos sitios de muestreo en el bosque continuo y en los fragmentos. Se indican estos mismos índices para cada tipo de hábitat y para el total de secuencias.

Tipo de hábitat	Sitio	Tamaño muestral (N)	Nº Sitios Polimórficos (S)	Nº Haplotipos (K)	Diversidad Haplotípica (H)	Promedio de diferencias por par de secuencias ( $\pi$ )
Bosque Continuo	BC1	30	24	14	0,809	4,434
	BC2	26	24	14	0,825	4,006
	BC3	31	28	14	0,768	4,234
	BCLEJ	31	24	11	0,628	1,944
	Media $\pm$ ee		25 $\pm$ 1,0	13,2 $\pm$ 0,7	0,757 $\pm$ 0,04	3,654 $\pm$ 0,58
Fragmentos	F2	28	25	13	0,786	3,439
	F3	30	10	11	0,678	1,352
	F8	31	26	14	0,738	2,918
	F10	28	24	16	0,849	2,222
	Media $\pm$ ee		21,2 $\pm$ 3,7	13,5 $\pm$ 1,0	0,762 $\pm$ 0,04	2,483 $\pm$ 0,45
	B. Continuo	118	39	30	0,752	3,631
	Fragmentos	117	38	33	0,756	2,477
	Total	235	45	45	0,754	3,079

También los tamaños poblacionales efectivos ( $N_e$ ) estimados son similares entre hábitats (ANDEVA:  $F_{(1,6)} = 0,0001$ ,  $p = 0,994$ , Tabla 3) y no se relacionan significativamente con

la densidad de individuos en los sitios de muestreo (Análisis de regresión:  $R^2$  ajustado = 0,20,  $F_{(1,6)}=2,79$ ,  $p = 0,15$ ).

**Tabla 3.** Parámetro  $\theta$  ( $Nem\mu$ ), tamaños efectivos poblacionales ( $N_e = \theta/m\mu$ ) y densidad poblacional (individuos/trampa) de cada sitio de muestreo, del conjunto de sitios del bosque continuo, de los fragmentos y del total.

Tipo de hábitat	Sitio	$\Theta$	$N_e$ (IC 95%)	Densidad
Bosque Continuo	BC1	0,0117	1741 (989 - 3149)	0,22
	BC2	0,0121	1793 (1005 - 3314)	0,10
	BC3	0,0156	2304 (1338 - 4052)	0,44
	BCLEJ	0,0107	1586 (900 - 2803)	0,30
Fragmentos	F2	0,0134	1977 (1058 - 3603)	1,06
	F3	0,0063	927 (360 - 1928)	2,04
	F8	0,0146	2161 (1218 - 4017)	0,32
	F10	0,0159	2348 (1313 - 4157)	0,82
	B. Continuo	0,0188	2779 (1889 - 4276)	-
	Fragmentos	0,0217	3208 (2389 - 4483)	-
	Total	0,0229	3393 (2727 - 4932)	-

#### *Estructuración genética poblacional*

En general, la diferenciación genética entre sitios de muestreo es muy baja (rango  $F_{st}$  d: - 0,023 a 0,05) y no significativa ( $p > 0,05$ , Tabla 4). Solo un par de fragmentos se diferencian poco pero significativamente de algunos sitios del bosque continuo (F3 y F10, Tabla 4). Además, el nivel de diferenciación es similar entre los sitios de bosque continuo y los de fragmentos (rango: -0,023 a 0,034 y -0,022 a 0,016 respectivamente, ANDEVA  $F_{(1,10)} = 0,012$   $P = 0,91$ ). Solamente las comparaciones con el grupo externo alcanzan valores altos y significativos (rango  $F_{st}$  d: 0,72 - 0,912  $p < 0,001$ ).

**Tabla 4.** Valores de  $F_{st}$  pareados, calculado a partir de las frecuencias de haplotipos ( $F_{st,f}$ ) y desde el número absoluto de diferencias ( $F_{st,d}$ ) (sobre y bajo la diagonal respectivamente), entre cada par de sitios de muestreo. En verde se muestra la diferenciación entre sitios de bosque continuo, en rosado entre fragmentos y en celeste entre sitios de bosque continuo y fragmentos. En amarillo, se muestra el  $F_{st}$  con el grupo externo. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se indican en negrita y significancia marginal ( $0,05 > p > 0,1$ ) en subrayado (10.100 permutaciones).

	BC1	BC2	BC3	BCLEJ	F2	F3	F8	F10	QUI
BC1		-0,019	-0,010	0,013	-0,012	0,000	-0,009	-0,011	<b>0,516</b>
BC2	-0,020		-0,012	0,012	-0,012	0,004	-0,009	-0,017	<b>0,521</b>
BC3	-0,009	-0,023		-0,002	-0,009	0,001	-0,010	-0,001	<b>0,535</b>
BCLEJ	<u>0,034</u>	0,015	0,009		0,004	-0,017	-0,006	0,026	<b>0,612</b>
F2	-0,001	0,005	-0,007	0,015		-0,014	-0,012	-0,014	<b>0,535</b>
F3	<b>0,052</b>	<b>0,047</b>	<b>0,039</b>	-0,011	0,016		-0,014	0,010	<b>0,587</b>
F8	-0,001	0,002	-0,003	0,002	-0,022	0,005		-0,004	<b>0,551</b>
F10	<b>0,050</b>	<u>0,031</u>	<u>0,023</u>	-0,007	0,011	-0,001	0,004		<b>0,501</b>
QUI	<b>0,720</b>	<b>0,752</b>	<b>0,732</b>	<b>0,872</b>	<b>0,789</b>	<b>0,912</b>	<b>0,809</b>	<b>0,866</b>	

En cuanto al análisis de la estructuración genética global, en general independiente del número de grupos en que se divide la muestra, se obtiene un bajo porcentaje de variación entre grupos y con valores bajos y similares de  $F_{CT}$ , aunque significativos (Tabla 5). Inicialmente separa en 2 grupos; en el grupo 1 incluye a la mayoría de los sitios del bosque continuo (grupo 1= BC1, BC2 y BC3), y en el grupo 2 a los fragmentos y el sitio lejano del bosque continuo (grupo 2= fragmentos y BCLEJ). Al separar en tres grupos mantiene juntos la mayoría de los sitios de bosque continuo (grupo 1= BC1, BC2 y BC3) y separa los sitios de fragmentos (grupo 2= F2 y F8 y grupo 3= BCLEJ, F3 y F10). Finalmente, la agrupación de sitios de muestreo que optimiza la diferenciación

es la que origina cuatro grupos: grupo 1 = F2 y F8, grupo 2 = BC2 y BC3, grupo 3 = BC1 y grupo 4 = BCLEJ, F3 y F10. Al contrario de lo esperado, la conformación de estos grupos no asocia más a los sitios que provienen de bosque continuo que a los de fragmentos. El valor de Fcr obtenido al hacer esta división es de 0,032 y es significativo (la probabilidad de obtener un valor al azar mayor o igual que el observado es igual a cero, es decir,  $P(\text{rand. value} \geq \text{obs. value}) = 0,002 \pm 0,001$ ). El Fst global alcanza un valor de 0,014 y es no significativo ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 5.** Porcentaje de variación dentro y entre los grupos en que se dividió la muestra total de secuencias. Se indica el número de grupos seleccionado = porcentaje de variación *entre grupos* fue mayor (en negrita).

Grupos	Porcentaje de Variación DENTRO DE GRUPOS	Porcentaje de variación ENTRE GRUPOS
2	-0.75	2.98
3	-1.46	3.08
<b>4</b>	<b>-1.79</b>	<b>3.21</b>
5	-1.95	3.15
6	-2.07	3.15
7	-2.08	3.05

Los resultados del AMOVA muestran que el 3,21% de toda la variación haplotípica se encuentra entre los grupos y el 98,58% se encuentra dentro de los grupos. Por lo tanto, aunque el grado de estructuración es bajo hay evidencias de diferenciación geográfica significativa entre los grupos obtenidos a partir del análisis de SAMOVA ( $p < 0,05$ , Tabla 6).

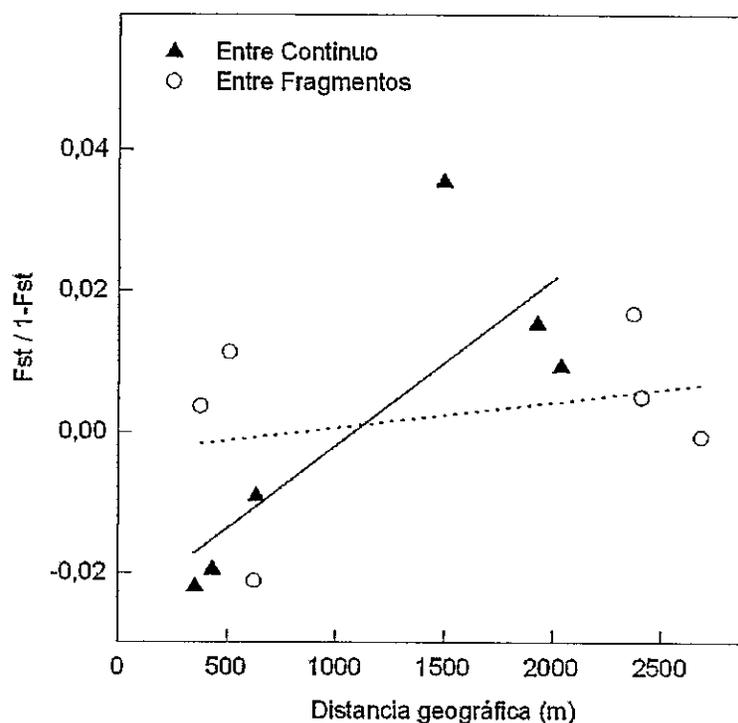
**Tabla 6.** Tabla de AMOVA después de haber realizado el análisis de SAMOVA que permitió separar la muestra en cuatro grupos para maximizar la diferencia entre ellos.

Fuente de variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	P
Entre grupos	3	10,54	0,05	3,21	0,002 ± 0,001
Entre poblaciones dentro de grupos	4	2,87	-0,03	-1,79	0,41 ± 0,014
Dentro de poblaciones	227	346,86	1,53	98,58	
Total	234	360,26	1,55		

En cuanto al modelo de diferenciación de aislamiento por distancia, la correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética es más alta entre los sitios de bosque continuo que entre los fragmentos (Tabla 7, Fig. 4). Sin embargo, estas correlaciones no son significativas (Test de Mantel por sitio y por individuo  $p > 0,05$ , Tabla 7). Solo se observa una tendencia al considerar el total de los sitios en conjunto ( $p < 0,1$ , Tabla 7).

**Tabla 7.** Prueba de Mantel individual y por sitio, coeficientes de correlación (r) y nivel de significancia (p: probabilidad de obtener ese valor de r o uno mayor, por simple azar, 10.000 permutaciones)

Tipo de prueba	Hábitat	R	P
Por sitio	B. continuo	0,801	0,209
	Fragmentos	0,301	0,212
	Total	0,317	0,084
Por individuo	B. continuo	-0,071	0,969
	Fragmentos	-0,086	0,978
	Total	-0,079	0,999



**Fig. 4.** Relación de diferencia genética según distancia geográfica por sitio (aislamiento por distancia). Los distintos símbolos representan distintas comparaciones entre sitios. La línea continua representa la regresión entre la distancia geográfica y la diferenciación genética para el bosque continuo y la línea punteada para los fragmentos.

### *Configuración del paisaje y diversidad genética*

La configuración del paisaje en conjunto no difiere entre los sitios del bosque continuo y los fragmentos (ANDEVAM,  $F_{(6,1)} = 61,44$   $p = 0,10$ ). Sin embargo, como es esperable el paisaje alrededor de los puntos de bosque continuo tiene mayor área cubierta por bosque nativo y menor por caminos que los fragmentos. Además, tiende a tener menor densidad de bordes, mayor área de parche promedio y menor área cubierta por plantaciones de pino que los fragmentos. En tanto en las otras variables de paisaje no existen diferencias significativas (Tabla 8).

**Tabla 8.** Efecto del hábitat sobre las variables de paisaje (ANDEVA). En negrita se indican diferencias significativas entre bosque continuo y fragmentos ( $p < 0,05$ ) y en subrayado la significancia marginal ( $0,05 > p > 0,1$ ).

Variable de paisaje	Acrónimo	Bosque Continuo		Fragmentos		$F_{(1,6)}$	P
		Media	Ee	media	Ee		
Altitud	ALT	489,30	45,53	485,92	50,49	0,002	0,96
Pendiente	PEND	19,10	2,6	12,56	2,19	3,71	0,10
Distancia a quebradas	DQUEB	186,00	52,83	117,11	32,02	1,24	0,31
Distancia a los caminos	DCAM	248,48	118,41	27,03	1,88	3,50	0,11
Distancia bosque más cercano	DBMC	10,00	0,00	13,34	1,79	3,48	0,11
Densidad de bordes	BORDE	93,68	56,67	242,34	27,50	5,57	<u>0,06</u>
Área de parche promedio	AREA	2,02	0,70	0,45	0,03	5,01	<u>0,07</u>
Índice de forma promedio	FORMA	1,59	0,27	1,80	0,07	0,58	0,48
Heterogeneidad del paisaje	HPAI	0,37	0,23	0,76	0,02	2,75	0,15
Área con plantación de pino	APINO	3193,50	1940,50	15539,10	4964,73	5,36	<u>0,06</u>
Área con bosque nativo	ANAT	28722,75	2132,88	12627,50	4609,40	10,04	<b>0,02</b>
Área con caminos	ACAM	385,10	234,17	4135,25	610,39	32,90	<b>0,001</b>

Los distintos índices de diversidad genética se asociaron de distinta manera a las variables de paisaje (Tabla 9). En general, la diversidad es mayor a mayor altitud (msnm) y distancia a las quebradas (K, H y  $\pi$ ). Por otro lado, la diversidad genética también se relacionó con algunas de las variables que son modificadas por la fragmentación del paisaje. A mayor distancia al bosque nativo más cercano (i.e. mayor

aislamiento) menor es la diversidad (S). Además, mientras más alejado de los caminos mayor es la diversidad (S y  $\pi$ , Tabla 9).

**Tabla 9.** Análisis de RDA de la relación entre la diversidad genética de *C. chilensis* y variables de paisaje. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) ns= no significativo, 1 =  $p < 0,05$ , 2 =  $p < 0,01$ , 3 =  $p < 0,001$ . Acrónimos en tabla 8.

Índice	Modelo	Eigenvalues canónicos	F	P
S	DBMC (--)	0,76	18,53	0,004
	APINO ns	0,11	4,08	0,090
	DCAM (++)	0,11	28,46	0,002
	Total	0,98	78,99	0,001
K	ALT (+)	0,70	13,93	0,013
H	ALT (++)	0,75	18,40	0,006
II	DQUEB (++)	0,66	11,70	0,009
	DCAM (+)	0,24	12,14	0,027
	Total	0,90	22,78	0,005

#### *Configuración del paisaje y diferenciación genética*

El modelo que más se ajustó a los datos fue el de la ruta de mínimo costo (menor AICc, Tabla 10). En este modelo a mayor número de quebradas entre sitios de muestreo menor es la diferenciación genética y a mayor porcentaje cubierto por bosque nativo mayor es la diferenciación (Tabla 10).

**Tabla 10.** Análisis de RDA de la relación entre la distancia genética (p distance) de *C. chilensis* y variables de paisaje para la ruta de distancia euclidiana (DE) y la ruta de mínimo costo (MC). NQUEB = número de quebradas, ANAT = área bosque nativo, DIST = distancia total entre sitios. (+) y (-) parámetro estimado positivo o negativo para cada variable significativa. El número de símbolos representa la significancia estadística (2000 permutaciones de Monte Carlo) ns= no significativo, 1 =  $p < 0,1$ , 2 =  $p < 0,05$ , 3 =  $p < 0,01$ , 4 =  $p < 0,001$ . \*Mejor modelo según el criterio de Akaike (AICc).

Ruta	Modelo	Eigenvalues canónicos	F	p	AICc	$\Delta$ AICc
Mínimo Costo*	NQUEB (----)	0,53	29,74	0,001		
	ANAT (++++)	0,23	23,67	0,001		
	Total	0,76	39,67	0,001	-333,020	0
Euclidiana	ANAT (++++)	0,37	15,39	0,001		
	NQUEB (---)	0,19	11,09	0,004		
	DIST (----)	0,18	16,56	0,001		
	Total	0,74	23,07	0,001	-328,016	5,004

### Historia demográfica

La distribución de las frecuencias de las diferencias pareadas entre haplotipos de *C. chilensis* en el sitio de estudio muestra una distribución mismach trimodal para cada sitio y para el total de muestras (Fig. 5). Esto no refleja un evento de crecimiento único, por lo que la historia demográfica pasada es compleja con cambios en los tamaños poblacionales efectivos ( $N_e$ ) en el tiempo (Rogers y Harpending 1992).

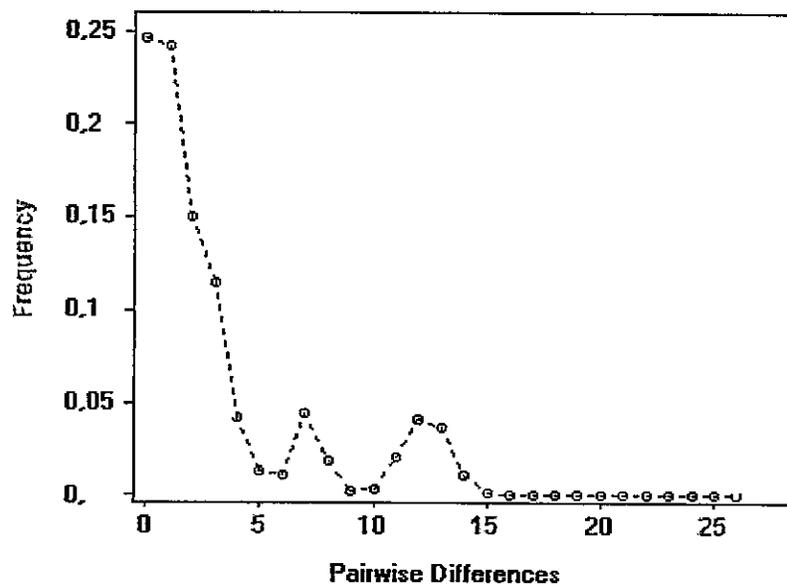


Fig. 5. Distribución observada de mismatch de COI de *Ceroglossus chilensis* para el total de muestras.

Adicionalmente, en general los índices  $F$  de  $F_u$  y el  $D$  de Tajima, también revelan cambios en los tamaños poblacionales en el tiempo (índices significativos, Tabla 11). Sin embargo, los sitios de bosque continuo tienen poblaciones más estables (índices no significativos, Tabla 13), que los fragmentos. Los valores negativos y significativos de estos índices sugieren recuperación de un cuello de botella temporal, crecimiento poblacional reciente o selección sobre el marcador (Tajima 1989).

**Tabla 11.** Índices F de Fu (FS) y D de Tajima (D) de los distintos sitios de muestreo en el bosque continuo y en los fragmentos. Se indican estos mismos índices para cada tipo de hábitat y para el total de secuencias. En negrita  $p < 0,05$  (significancia basada en 10.000 simulaciones).

Tipo de hábitat	Sitio	FS	D
Bosque Continuo	BC1	-3.08	-0.95
	BC2	<b>-4.43</b>	-1.32
	BC3	-3.17	-1.41
	BCLEJ	<b>-4.30</b>	<b>-2.38</b>
Fragmentos	F2	<b>-3.80</b>	<b>-1.68</b>
	F3	<b>-6.59</b>	-1.47
	F8	<b>-5.42</b>	<b>-1.95</b>
	F10	<b>-11.54</b>	<b>-2.30</b>
	B. Continuo	<b>-13,66</b>	<b>-1,54</b>
	Fragmentos	<b>-25,73</b>	<b>-1,99</b>
	Total	<b>-26,06</b>	<b>-1,79</b>

## DISCUSIÓN

La diversidad genética de COI para las poblaciones de *C. chilensis* en el sitio de estudio fue alta en comparación con otras especies de insectos (diversidad de nucleótidos total 0,0049, rango = 0,002 a 0,007, Moya *et al.* 2006, Dhuyvetter *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2009) en una escala de muestreo relativamente pequeña (distancia máxima entre sitios = 2,8 Km). La mantención de una alta diversidad genética en estas poblaciones habría sido posible ya que el sitio de estudio se encuentra ubicado en uno de los refugios glaciales propuestos para la Cordillera de la Costa, sugerido por la actual concentración de especies y endemismos y por antecedentes geológicos que muestran que estas áreas habrían mantenido los suelos preglaciales y la cubierta vegetal (Villagrán y Armesto 2005). Debido a que la especie del género *Ceroglossus* se encuentran presentes en todos los bosques templados de Sudamérica, el estudio de la distribución de su diversidad genética podría ayudar a esclarecer la historia biogeográfica de estos bosques.

Al contrario de lo que esperábamos, las poblaciones de *C. chilensis* en los fragmentos no tuvieron menor diversidad ni mayor diferenciación genética que las del bosque continuo. Además, los tamaños poblacionales estimados a través de la diversidad genética también fueron similares entre fragmentos y bosque continuo. Esto podría deberse a que las poblaciones de los fragmentos a pesar de tener mayor densidad de individuos, fueron mucho más variables que las del bosque continuo, tanto en la densidad como en las tasas

de crecimiento poblacional (véase capítulo I) por lo que sus tamaños efectivos podrían estar reducidos (Holsinger 2000).

Sin embargo, algunas variables de la configuración del paisaje que son modificadas por la fragmentación del hábitat si se relacionaron significativamente con los atributos genéticos de esta especie, tales como el aislamiento entre fragmentos, la distancia a los caminos y la cobertura de bosque nativo. En cuanto a la diversidad genética esta fue mayor en los fragmentos menos aislados (i.e. que estaban a menor distancia de otro bosque). Probablemente estos fragmentos han conservado mayor diversidad debido a un mayor intercambio de individuos con fragmentos aledaños, logrando mantener un mayor tamaño efectivo poblacional (Frankham 2006). Además, la cercanía a los caminos se relacionó negativamente con la diversidad genética, a pesar de que en el sitio de estudio solo existen caminos rurales de 10 m de ancho aprox. con muy bajo tránsito de vehículos. Esto coincide con varios estudios que sindicaron a los caminos como una barrera que afecta negativamente la diversidad genética (Keller y Largiadèr 2003, Arens *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2007, Vandergast *et al.* 2009). Los caminos serían una barrera al flujo génico, ya sea por la alta mortalidad en ellos debido a atropellos y mayor riesgo de depredación, o porque los organismos evitan cruzarlos (Mader *et al.* 1990, Clevenger y Wierzchowski 2006, Yamada *et al.* 2010). De hecho *C. chilensis* evita atravesarlos (véase capítulo II), probablemente por la ausencia de cobertura vegetal.

Por otro lado, esperábamos que para *C. chilensis* existiera mayor diferenciación genética a mayor distancia geográfica (i.e. aislamiento por distancia) debido a que en organismos con movilidad restringida existe un mayor intercambio de individuos entre lugares cercanos que entre lejanos (Peterson y Denno 1998). Sin embargo, esta tendencia se

observó solo entre los sitios del bosque continuo, mientras que entre los fragmentos no existe este patrón. La ausencia de aislamiento por distancia entre los fragmentos puede producirse tanto por una alta diferenciación entre sitios cercanos sin flujo génico (i.e. aislados) dado por deriva génica independiente (e.g. Lancaster *et al.* 2011), como por un alto flujo génico entre todos los sitios a la escala estudiada (Peterson y Denno 1998, Keyghobadi *et al.* 2005a). Esto último estaría sucediendo en este estudio ya que la diferenciación genética de *C. chilensis* fue menor a mayor porcentaje de plantaciones de pino entre sitios (i.e. menos bosque nativo), el que es mayor entre fragmentos. Esto podría deberse a que las plantaciones estarían actuando como aceleradoras del flujo génico más que como barreras. De hecho, los individuos de *C. chilensis* se desplazan más rápido en las plantaciones de pino que en el bosque nativo (véase capítulo II).

Los patrones observados de distribución de la diversidad genética de *C. chilensis* en el bosque Maulino podrían reflejar una historia de fragmentación y “defragmentación” (i.e. aumento en la conectividad, *sensu* Hale *et al.* 2001, Drees *et al.* 2008). Aunque los índices de diversidad genética responderían más lentamente que los de diferenciación a los cambios en la configuración del paisaje (Keyghobadi *et al.* 2005b). Inicialmente, la corta del bosque nativo habría forzado el movimiento de los individuos sobrevivientes hacia los fragmentos remanentes, redistribuyendo la diversidad genética en el paisaje. Posteriormente, las poblaciones de *C. chilensis* habrían sido sometidas a cuellos de botella en estos fragmentos, los que permanecieron rodeados por tierras de cultivos y/o praderas de pastoreo establecidas alrededor de 200 años (i.e. principios del siglo XIX, San Martín y Gómez 2010), aunque solo tenemos evidencia de hace 63 años para el sitio de estudio (Foto aérea año 1943, Servicio Aéreo Fotogramétrico, Chile). Estos sitios sin

cobertura arbórea no serían utilizados por *C. chilensis*, por lo que las poblaciones de los fragmentos habrían permanecido aisladas aumentando la diferenciación entre ellas y produciéndose pérdidas de diversidad genética principalmente en los bosques más aislados y cercanos a los caminos. Sin embargo, a partir de los años 70' al establecerse plantaciones de pino (Echeverría *et al.* 2006, San Martín y Gómez 2010) se habría restablecido el flujo génico ya que estas si son usadas por *C. chilensis*, aunque en baja intensidad (Grez *et al.* 2003, Henríquez *et al.* 2009, véase capítulo I). Como consecuencia de este aumento en la conectividad del paisaje se habría producido una reducción significativa de la diferenciación genética entre fragmentos (Hames *et al.* 2001, Drees *et al.* 2008), permitiendo también la mantención de una diversidad genética en los fragmentos similar al bosque continuo.

## CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de esta tesis aportan al conocimiento de la ecología de *C. chilensis*, una especie endémica de los bosques templados de Sudamérica, los que han sido ampliamente fragmentados (Echeverría *et al.* 2006, Armesto *et al.* 2010). A pesar de que la pérdida y fragmentación del hábitat amenazan frecuentemente a los carábidos, existen muy pocos antecedentes de sus efectos en América latina (Niemiälä 2001). Particularmente en Chile existe escasa información, a pesar del alto grado de endemismo de este grupo (55,8% de las especies de carábidos son endémicos, Roig-Juñent y Domínguez 2001) y de las altas tasas de deforestación y fragmentación.

En general, los efectos de estos procesos se han evaluado midiendo diferencias en la densidad en los distintos hábitats (Grez *et al.* 2003, Briones y Jerez 2007). Sin embargo, la densidad no necesariamente es un buen indicador del estado de conservación de las poblaciones, ni de cual hábitat es más “adecuado” para un determinado organismo (Van Horne 1983). Otros indicadores tales como la demografía, el movimiento y la diversidad genética, serían más informativos para evaluar el estado de conservación de las poblaciones y sus respuestas a los cambios en el paisaje (Noss 1990). El estudio de la demografía en paisajes fragmentados entrega tendencias a largo plazo de las poblaciones, indicando si estas van en aumento o en disminución en respuesta a cambios en la calidad del hábitat. En nuestro estudio las poblaciones de *C. chilensis* del bosque continuo fueron más estables que las de los fragmentos y las plantaciones de pino. En general, las poblaciones de los fragmentos crecieron a distintas tasas mientras que las de las plantaciones de pino tuvieron años con crecimiento y otros en que las poblaciones

disminuyeron. Además, nuestros resultados apoyaron parcialmente nuestras predicciones, puesto que la mayor densidad en los fragmentos se asoció a que los individuos de *C. chilensis* sobreviven más, pero no se reproducen más allí que en el bosque continuo y las plantaciones de pino.

Por su parte, el estudio del movimiento en distintos hábitats indica la capacidad de dispersión de los organismos en el paisaje y su grado de aislamiento en función de la perturbación. En el bosque Maulino fragmentado, *C. chilensis* sería capaz de dispersarse por las plantaciones de pino, sin embargo evitaría las áreas sin cobertura (i.e. áreas cosechadas y caminos), lo que aumentaría el aislamiento de los fragmentos rodeados por estas. Además, las mayores tasas de movimiento en las plantaciones de pino también explicarían las altas densidades en los fragmentos, ya que aumentarían el ingreso de individuos desde las plantaciones. Ello incrementaría significativamente en las épocas en que las plantaciones son cosechadas.

En tanto, el estudio de la diversidad genética en el paisaje fragmentado revela si las poblaciones se han reducido y/o aislado, perdiendo diversidad y aumentando su diferenciación genética. Contrario a lo esperado, la diversidad y el nivel de diferenciación genética de *C. chilensis* fueron similares para los fragmentos y el bosque continuo. Sin embargo, entre los fragmentos se pierde el patrón de aislamiento por distancia observado en el bosque continuo, lo que se debería a una mayor tasa de intercambio entre ellos producto de la mayor tasa de movimiento en áreas cosechadas y plantaciones de pino. Por lo tanto, el análisis integrado de diversos indicadores permite conocer mejor el estado de conservación de las poblaciones y avanzar en el entendimiento de las causas y consecuencias biológicas de la fragmentación del hábitat.

El considerar las poblaciones de los hábitats que rodean los parches de hábitat original (i.e. matriz) e incluir la configuración del paisaje como un elemento adicional de análisis, versus un enfoque basado sólo en los parches, aportó a nuestro estudio una mayor comprensión del fenómeno. Las poblaciones de *C. chilensis* en los fragmentos no son elementos aislados sino que sus dinámicas dependen del tipo de matriz adyacente. Matrices sin cobertura arbórea son evitadas por *C. chilensis*, tales como los caminos y las áreas cosechadas por lo que las poblaciones adyacentes a estas tienden a aislarse y a empaquetarse aumentando aun más su densidad. En contraposición, las plantaciones de pino al tener una estructura similar al hábitat original son un hábitat alternativo interesante para la conservación de *C. chilensis*, ya que sus poblaciones tienen densidad, sobrevivencia, crecimiento poblacional y tasas reproductivas similares al bosque nativo, por lo que mantendrían poblaciones viables de *C. chilensis*. Además, estarían facilitando el flujo y la mantención de su diversidad genética. Sin embargo, un elemento importante a considerar para favorecer a *C. chilensis* en las plantaciones de pino es la mantención de sotobosque con especies nativas, debido a que su densidad se asocia positivamente con la riqueza de especies arbustivas y arbóreas (particularmente el lingue) y con la cobertura de hojarasca, y negativamente con la cobertura de acículas en el suelo.

Los carábidos han sido ampliamente usados como bioindicadores en el hemisferio norte debido a que son diversos, abundantes y sensibles a las perturbaciones (Niemelä *et al.* 2000). Por esto, los resultados de esta tesis contribuyen a la identificación de patrones generales de respuesta a la fragmentación del hábitat y a diseñar mejores medidas de manejo sustentable de los paisajes antrópicos tanto a nivel local como global.

## REFERENCIAS

- Acosta-Jamett G y Simonetti JA (2004) Habitat use by *Oncifelis guigna* and *Pseudalopex culpaeus* in a fragmented forest landscape in central Chile. *Biodiversity and Conservation* 13: 1135-1151.
- Aljanabi SM y Martínez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25: 4692-4693.
- Allendorf FW y Luikart G (2007) *Conservation and the Genetics of populations*. Blackwell Publishing. 642 pp.
- Anderson MJ y Gribble NA (1998) Partitioning the variation among spatial, temporal and environmental components in a multivariate data set. *Australian Journal of Ecology* 23: 158-167.
- Antvogel H y Bonn A (2001) Environmental parameters and microspatial distribution of insects: a case study of carabids in an alluvial forest. *Ecography* 24: 470-482.
- Arens PFP, Sluis T. van der, Westende WPC van 't, Vosman B, Vos CC y Smulders MJM (2007) Genetic population differentiation and connectivity among fragmented Moor frog (*Rana arvalis*) populations in The Netherlands. *Landscape Ecology* 22: 1489-1500.
- Armesto JJ, Manuschevich D, Mora A, Smith-Ramirez C, Rozzi R, Abarzúa AM, Marquet PA (2010) From the Holocene to the Anthropocene: A historical framework for land cover change in southwestern South America in the past 15,000 years. *Land Use Policy* 27: 148-160.

- Baars MA (1979) Patterns of movement of radioactive Carabid beetles. *Oecologia* 44: 125-140.
- Baguette M y Schtickzelle N (2003) Local population dynamics are important to the conservation of metapopulations in highly fragmented landscapes. *Journal of Applied Ecology* 40: 404 - 412.
- Bandelt HJ, Forster P y Rohlf A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Barbaro L, Rossi JP, Vetillard F, Nezan J y Jactel H (2007) The spatial distribution of birds and carabid beetles in pine plantation forests: the role of landscape composition and structure. *Journal of Biogeography* 34: 652-664.
- Beaudoin-Ollivier L, Bonaccorso F, Aloysius M y Kasiki M (2003) Flight movement of *Scapanes australis australis* (Boisduval) (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) in Papua New Guinea: a radiotelemetry study. *Australian Journal of Entomology* 42: 367-372.
- Berndt LA, Brockerhoff EG y Jactel H (2008) Relevance of exotic pine plantations as a surrogate habitat for ground beetles (Carabidae) where native forest is rare. *Biodiversity and Conservation* 17: 1171-1185.
- Borcard D, Legendre P y Drapeau P (1992) Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology* 73: 1045 -1055.
- Bossart JL y Prowell DP (1998) Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 202-206.

- Bowman J, Cappuccino N y Fahrig L (2002) Patch size and population density: the effect of immigration behavior. *Conservation Ecology* 6:9. Disponible en <http://www.consecol.org/vol6/iss1/art9>.
- Brawn J y Robinson S (1996) source – sink populations dynamics may complicate the interpretation on long time census data. *Ecology* 77: 3 -11.
- Briones R y Jerez V (2007) Efecto de la edad de la plantación de *Pinus radiata* en la abundancia de *Ceroglossus chilensis* (Coleoptera: Carabidae) en la Región del Biobío, Chile. *Bosque* 28: 207-214.
- Brose U (2003) Bottom-up control of carabid beetle communities in early successional wetlands: mediated by vegetation structure or plant diversity?. *Oecologia* 135: 407–413.
- Brouat C, Meusnier S y Rasplus JY (2004) Impact of forest management practices on carabids in European fir forests. *Forestry* 77: 85-97.
- Brouat C, Sennedot F, Audiot P, Leblois R y Rasplus JY (2003) Fine-scale genetic structure of two carabid species with contrasted levels of habitat specialization. *Molecular Ecology* 12: 1731–1745.
- Brouwers NC y Newton AC (2009) Movement rates of woodland invertebrates: a systematic review of empirical evidence. *Insect Conservation and Diversity* 2: 10 - 22.
- Brower AVZ (1994) Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 91: 6491-6495.

- Brown JH y Kodric-Brown A (1977) Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration on extinction. *Ecology* 58: 445-449.
- Bruna EM y Oli MK (2005) Demographic effects of habitat fragmentation on a tropical herb: life-table response experiments. *Ecology* 86:1816-1824.
- Burnham KP y Anderson DR (1998) Model selection and inference: a practical information theoretic approach. Springer-Verlag, New York.
- Bustamante RO y Castor C (1998) The decline of an endangered temperate ecosystem: the rui ( *Nothofagus alessandrii* ) forest in central Chile. *Biodiversity and Conservation* 7: 1607-1626.
- Bustamante RO y Grez AA (1995) Consecuencias ecológicas de la fragmentación de los bosques nativos. *Ambiente y desarrollo* 11: 58-63.
- Caizergues A, Rätti O, Helle P, Rotelli L, Ellison L y Rasplus JY (2003) Population genetic structure of male black grouse (*Tetrao tetrix* L.) in fragmented vs. continuous landscapes. *Molecular Ecology* 12: 2297-2305.
- Chapman RF (1982) The insects: structure and function. 3° edición. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 919 pp.
- Charrier S, Petit S y Burel F (1997) Movements of *Abax parallelepipedus* (Coleoptera, Carabidae) in woody habitats of a hedgerow network landscape—a radio-tracing study. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 61: 133-144.
- Choquet R, Reboulet AM, Pradel R, Gimenez O y Lebreton JD (2005) M-SURGE 1.8 User's Manual. CEFE, Montpellier, France.

- Clevenger AP y Wierzchowski J (2006) Maintaining and restoring connectivity in landscapes fragmented by roads En: Crooks KR y Sanjayan M (eds.) *Connectivity Conservation*, Cambridge University Press, New York: 502-535.
- Collinge SK (2000) Effects of grassland fragmentation on insect species loss colonization and movement patterns. *Ecology* 81: 2211-2226.
- Collinge SK y Forman RTT (1998) A conceptual model of land conversion processes: predictions and evidence from a microlandscape experiment with grassland insects. *Oikos* 82:66-84.
- Collinge SK y Palmer TM (2002) The influences of patch shape and boundary contrast on insect response to fragmentation in California grasslands. *Landscape Ecology* 17: 647-656.
- CONAMA-CONAF-SAG-INIA-DGA-SERNAPESCA-UTAL-UCM (2002) Estrategia y Plan de Acción para la Biodiversidad en la VII Región del Maule [http://www.mma.gob.cl/biodiversidad/1313/articles-48846\\_EstrategiaRegionalBiodiversidadPDA\\_7.pdf](http://www.mma.gob.cl/biodiversidad/1313/articles-48846_EstrategiaRegionalBiodiversidadPDA_7.pdf). Capturado el 7 de junio 2011.
- Cooch E y White G (2010) Program Mark: a gentle introduction, 9º edición. Disponible en <http://www.phidot.org/software/mark/>.
- Coppeto SA, Kelt DA, Van Vuren DH, Wilson JA y Bigelow S (2006) Habitat associations of small mammals at two spatial scales in the northern Sierra Nevada. *Journal of Mammalogy* 87: 402-413.
- Correa P y Roa A (2005) Relaciones tróficas entre *Oncifelis guigna*, *Lycalopex culpaeus*, *Lycalopex griseus* y *Tyto alba* en un ambiente fragmentado de la zona central de Chile. *Mastozoología Neotropical* 12:57-60.

- Crespin L y Lima M (2006) Supervivencia adulta y dinámica poblacional del lauchón orejudo *Phyllotis darwini* en Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 295-308.
- Crist TO, Guertin DS, Wiens JA y Milne BT (1992) Animal movement in heterogeneous landscapes: An experiment with *Eleodes* beetles in shortgrass prairie. *Functional Ecology* 6: 536-544.
- Cronin JT (2004) Host-parasitoid extinction and colonization in a fragmented prairie landscape. *Oecologia* 139: 503-514.
- Davies KF y Margules CR (1998) Effects of habitat fragmentation on carabid beetles: experimental evidence. *Journal of Animal Ecology* 67: 460-471.
- Debinski DM y Holt RD (2000) A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conservation Biology* 14: 342 - 355.
- Delgado-Acevedo J y Restrepo C (2008) The contribution of habitat loss to changes in body size, allometry, and bilateral asymmetry in two Eleutherodactylus frogs from Puerto Rico. *Conservation Biology* 22: 773 - 782.
- Desalle R, Freedman T, Prager EM, Wilson AC (1987) Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *Journal of Molecular Evolution* 26: 157-164.
- Desender K (2005) Theory versus reality: a review on the ecological and population genetic effects of forest fragmentation on wild organisms, with an emphasis on ground beetles. In: Lövei GL & Toft S (Eds.). *European Carabidology 2003. Proceedings of the 11<sup>th</sup> European Carabidologists' Meeting*. DIAS Report, No. 114, Flakkebjerg, Dinamarca. 49-72.

- Desender K, Ervynck A y Tack G (1999) Beetle diversity and historical ecology of woodlands in Flanders. *Belgian Journal of Zoology* 129: 139–156.
- Dhuyvetter H, Gaublomme E, Verdyck P y Desender K (2005) Genetic Differentiation Among Populations of the Salt Marsh Beetle *Pogonus littoralis* (Coleoptera: Carabidae): A Comparison Between Atlantic and Mediterranean Populations. *Journal of Heredity* 96: 381-387
- Dhuyvetter H, Maelfait JP y Desender K (2007) Inter- and intraspecific genetic and morphological variation in a sibling pair of carabid species. *Saline Systems* 3:4. <http://www.salinesystems.org/content/3/1/4>.
- Didham RK (1997) The influence of edge effects and forest fragmentation on leaf-litter invertebrates in central Amazonia. *En: Laurance WF y Bierregaard RO Jr. (eds.) Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities. University of Chicago Press, Chicago: 55–70.*
- Dooley L y Bowers MA (1998) Demographic responses to habitat fragmentation: Experimental tests at the landscape and patch scale. *Ecology* 79: 969-980.
- Drees C, Matern A, Rasplus JY, Terlutter H, Assmann T y Weber F (2008) Microsatellites and allozymes as the genetic memory of habitat fragmentation and defragmentation in populations of the ground beetle *Carabus auronitens* (Col., Carabidae). *Journal of Biogeography* 35: 1937–1949.
- Dupanloup S, Schneider S y Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571-2581.

- Echeverría C, Coomes D, Salas J, Rey-Benayas JM, Lara A y Newton A (2006) Rapid deforestation and fragmentation of Chilean Temperate Forests. *Biological Conservation* 130: 481-494.
- Estades CF y Escobar MA (2005) Los ecosistemas de las plantaciones de pino de la Cordillera de la Costa. En: Smith-Ramírez C, Armesto JJ y Valdovinos C (eds.) *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques de la Cordillera de la Costa*. Editorial Universitaria, Santiago: 600-616.
- Ewers RM y Didham RK (2006) Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological Review* 81: 117-142.
- Excoffier L, Laval G y Schneider S (2006) Arlequin ver 3.1 An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. URL: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34: 487-515.
- Filatov DA (2002) ProSeq: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes* 2: 621-624.
- Firle S, Bonmarco R, Ekbom B y Natiello M (1998) The influence of movement and resting behavior on the range of three carabid beetles. *Ecology* 79: 2113-2122.
- Fischer J y Lindenmayer DB (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: A synthesis. *Global Ecology and Biogeography* 16: 265-280.
- Foley JA, DeFries R, Asner GP, Barford C, Bonan G, Carpenter SR, Chapin FS, Coe MT, Daily GC, Gibbs HK, Helkowski JH, Holloway T, Howard EA, Kucharik CJ,

- Monfreda C, Patz JA, Prentice IC, Ramankutty N y Snyder PK (2005) Global Consequences of Land Use. *Science* 309: 570-574.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R y Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Frankham R (2005) Genetics and Extinction. *Biological Conservation* 126: 131-140.
- Frankham R (2006) Genetics and Landscape Connectivity. En: Crooks KR y Sanjayan M (eds.) *Connectivity Conservation*, Cambridge University Press, New York: 72-96.
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.
- Funk CH, Blouin M, Corn P, Maxell B, Pilliod D, Amish S y Allendorf F. (2005) Population structure of columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology* 14: 483-496.
- Garnier S, Alibert P, Audiot P, Prieur B y Rasplus JY (2004) Isolation by distance and sharp discontinuities in gene frequencies: implications for the phylogeography of an alpine insect species, *Carabus solieri*. *Molecular Ecology* 13: 1883-1897.
- Gilbert F, Gonzalez A y Evans-Freke I (1998) Corridors maintain species richness in the fragmented landscapes of a microecosystem. *Proceedings of the Royal Society, London B* 265: 577-582.
- Ginzburg LR y Jensen CXJ (2004) Rules of thumb for judging ecological theories. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 216-226.

- González- Gómez PL, Estades CF y Simonetti JA (2006) Strengthened insectivory in a temperate fragmented forest. *Oecologia* 148:137-143.
- Goodman D (1987) Considerations of stochastic demography in the design and management of biological reserves. *Natural Resources Modeling* 1: 205-234.
- Goodwin BJ y Fahrig L (2002a) Effect of landscape structure on the movement behaviour of a specialized goldenrod beetle, *Trirhabda borealis*. *Canadian Journal of Zoology* 80: 24-35.
- Goodwin BJ y Fahrig L (2002b). How does landscape structure influence landscape connectivity? *Oikos* 99: 552-570.
- Grez AA (2005) El valor de los fragmentos pequeños de bosque Maulino en la conservación de la fauna de coleópteros epigeos. En: Smith-Ramírez C, Armesto JJ y Valdovinos C (eds.) *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques de la Cordillera de la Costa*. Editorial Universitaria, Santiago: 565-572.
- Grez AA y Bustamante-Sánchez MA (2006) Aproximaciones experimentales en estudios de fragmentación. En: Grez AA, Simonetti JA y Bustamante RO (eds.) *Biodiversidad en ambientes fragmentados de Chile: patrones y procesos a diferentes escalas*. Editorial Universitaria, Santiago: 17 - 40.
- Grez AA, Moreno P y Elgueta M (2003) Coleópteros (Insecta, Coleoptera) epigeos asociados al bosque maulino y plantaciones de pino aledañas. *Revista Chilena de Entomología* 29: 9-18.
- Grez AA, T Zaviezo, L Tischendorf y Fahrig L (2004) A transient, positive effect of habitat fragmentation on insect population densities. *Oecologia* 141: 444-451.

- Hair JF, Anderson RE Jr, Tatham RL y Black WC (1999) Análisis multivariante. 5ª edición, Prentice Hall Iberia, Madrid, 832 pp.
- Hale ML, Lurz PWW, Shirley MDF, Rushton S, Fuller RM y Wolff K (2001) Impact of landscape management on the genetic structure of red squirrel populations. *Science*: 293, 2246–2248.
- Harper KA, MacDonald SE, Burton PJ, Chen J, Brosofske KD, Saunders SC, Euskirchen ES, Roberts D, Jaiteh MS y Esseen P (2005) Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. *Conservation Biology* 19:768-762.
- Hedin J y Ranius T (2002) Using radio telemetry to study dispersal of the beetle *Osmoderma eremita*, an inhabitant of tree hollows. *Computer and Electronics in Agriculture* 35: 171–180.
- Hein S, Gombert J, Hovestadt T y Poethke HJ (2003) Movement patterns of the bush cricket *Platycleis albopunctata* in different types of habitat: matrix is not always matrix. *Ecological Entomology* 28: 432–438.
- Heliölä J, Koivula M y Niemelä J (2001) Distribution of carabid beetles (Coleoptera, Carabidae) across a boreal forest-clearcut ecotone. *Conservation Biology* 15: 370-377.
- Henríquez P, Donoso DS y Grez AA (2009) Population density, sex ratio, body size and fluctuating asymmetry of *Ceroglossus chilensis* (Carabidae) in the fragmented Maulino forest and surrounding pine plantations. *Acta Oecologica* 35: 811–818.

- Holsinger KE (2000) Demography and extinction in small populations. En: Young AG y Clarke GM (eds) *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations*. Cambridge University Press: 55-74.
- Honěk A (1993) Intraspecific Variation in Body Size and Fecundity in Insects: A General Relationship. *Oikos* 66: 483-492.
- Huber C y Baumgarten M (2005) Early effects of forest regeneration with selective and small scale clear-cutting on ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in a Norway spruce stand in Southern Bavaria (Höglwald). *Biodiversity and Conservation* 14: 1989-2007.
- Jadwiszczak P (2004) Rndom BC 1.0 Disponible en: <http://pjadw.tripod.com>.
- Jeanson R, Blanco S, Fournier R, Deneubourg JL, Fourcassié V y Theraulaz G (2003) A model of animal movements in bounded space. *Journal of Theoretical Biology* 225: 443 -451.
- Jiroux E (1996) Révision du genre *Ceroglossus*, Collection Systematique, vol. 1. Editions Magellanes, Verneuil-sur-Seine.
- Jonsen ID y Taylor PD (2000a) Fine-scale movement behaviors of calopterygid damselflies are influenced by landscape structure: an experimental manipulation. *Oikos* 88: 553-562.
- Jonsen ID y Taylor PD (2000b). *Calopteryx* damselfly dispersions arising from multiscale responses to landscape structure. *Conservation Ecology* 4: [online] URL: <http://www.consecol.org/vol4/iss2/art4/>
- Jules ES (1998) Habitat fragmentation and demographic change for a common plant: Trillium in old-growth forest. *Ecology* 79:1645-1656.

- Jump AS, y Peñuelas J (2006) Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103: 8096-8100.
- Kareiva P (1982) Experimental and mathematical analyses of herbivore movement: quantifying the influence of plant spacing and quality on foraging discrimination. *Ecological Monograph* 52: 261-282.
- Keller I y Largiadèr CR (2003) Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of gene flow and loss of genetic variability in ground beetles. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270: 417-423.
- Keyghobadi N (2007) The genetics implications of habitat fragmentation for animals. *Canadian Journal of Zoology* 85:1049-1064.
- Keyghobadi N, Roland J y Strobeck C (2005a) Genetic differentiation and gene flow among populations of the alpine butterfly, *Parnassius smintheus*, vary with landscape connectivity. *Molecular Ecology* 14: 1897-1909.
- Keyghobadi N, Roland J, Matter SF y Strobeck C. (2005b) Among- and within-patch components of genetic diversity respond at different rates to habitat fragmentation: an empirical demonstration. *Proceedings of the Royal Society B* 272: 553-560.
- Koivula M (2002) Alternative harvesting methods and boreal carabid beetles (Coleoptera, Carabidae). *Forest Ecology and Management* 167: 103-121.
- Koivula M, Kukkonen J y Niemelä J (2002) Boreal carabid-beetle (Coleoptera, Carabidae) assemblages along the clear-cut originated succession gradient. *Biodiversity and Conservation* 11: 1269-1288.

- Koivula M, Kotze DJ, Hiisivuori L y Rita H (2003) Pitfall trap efficiency: do trap size, collecting fluid and vegetation structure matter?. *Entomologica Fennica* 14: 1–14.
- Krauss J, Steffan-Dewenter I, Tschamntke T (2003) How does landscape context contribute to effects of habitat fragmentation on diversity and population density of butterflies?. *Journal of Biogeography* 30: 889 - 900.
- Kuhner MK (2006) LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics* 22: 768-770.
- Lancaster ML, Taylor AC, Cooper SJB y Carthew SM (2011) Limited ecological connectivity of an arboreal marsupial across a forest/plantation landscape despite apparent resilience to fragmentation. *Molecular Ecology* 20: 2258 – 2271.
- Lawrence WS (1988) Movement ecology of the red milkweed beetle in relation to population size and structure. *Journal of Animal Ecology* 57: 21–35.
- Le Lagadec MD, Chown SL, Scholtz CH (1998) Desiccation resistance and water balance in southern African keratin beetles (Coleoptera, Trogidae): the influence of body size and habitat. *Journal of Comparative Physiology B* 168: 112 – 122.
- Lebreton JD, Burnham KP, Clobert J y Anderson DR (1992) Modelling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62: 67–118.
- Lennartsson T (2002) Extinction thresholds and disrupted plant-pollinator interactions in fragmented plant populations. *Ecology* 83: 3060–3072.
- Leps J y Smilauer P (2003) *Multivariate Analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge University Press. UK.

- Lorch PD, Sword GA, Gwynne DT y Anderson GL (2005) Radiotelemetry reveals differences in individual movement patterns between outbreak and non-outbreak Mormon cricket populations. *Ecological Entomology* 30: 548-555.
- Mader HJ, Schell C y Kornacker P (1990) Linear barriers to arthropod movements in the landscape. *Biological Conservation* 54: 209-222.
- Magura T (2002) Carabids and forest edge: spatial pattern and edge effect. *Forest Ecology and Management* 157: 23-37.
- Magura T, Tóthmérész B y Bordán Z (1997) Comparison of the carabid communities of a zonal oak-hornbeam forest and pine plantations. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 43: 173-182.
- Magura T, Tóthmérész B y Molnár T (2001) Edge effect on carabid assemblages along forest-grass transects. *Web Ecology* 2: 7-13.
- Magura T, Elek Z y Tóthmérész B. (2002) Impacts of non-native spruce reforestation on ground beetles. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 38: 291-295.
- Magura T, Tóthmérész B y Elek Z (2003) Diversity and composition of carabids during a forestry cycle. *Biodiversity and Conservation* 12: 73-85.
- Magura T, Tóthmérész B y Lövei G (2005) Body size inequality of carabids along an urbanisation gradient *Basic and Applied Ecology* 7: 472 - 482.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G y Taberlet P (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 189-197.
- Manly BFJ (2005) *Multivariate Statistical Methods: A Primer*, 3rd Edition. Chapman & Hall/CRC.

- Mantel N (1967) The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Mardulyn P y Milinkovitch MC (2005) Inferring contemporary levels of gene flow and demographic history in a local population of the leaf beetle *Gonioctena olivacea* from mitochondrial DNA sequence variation. *Molecular Ecology* 14: 1641-1653.
- Margules C y Usher MB (1981) Criteria used in assessing wildlife conservation potential: a review. *Biological Conservation* 21: 79-109.
- Margules CR, Nicholls AO y Austin MP (1987) Diversity of *Eucalyptus* species predicted by a multi-variable environment gradient. *Oecologia* 71: 229-232.
- McGarigal K, Cushman SA, Neel MC y Ene E (2002) FRAGSTATS: spatial pattern analysis program for categorical maps. University of Massachusetts, Amherst, MA. <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>
- Miller MP (2005) Alleles In Space: Computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity* 96: 722-724.
- Moya Ó, Contreras-Díaz HG, Oromí P, Juan C (2006) Using statistical phylogeography to infer population history: Case studies on *Pimelia* darkling beetles from the Canary Islands. *Journal of Arid Environments* 66: 477-497.
- Murcia C (1995) Edge effects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 255-260.
- Negro M, Cassale A, Migliore L, Palestini C y Rolando A (2008) Habitat use and movement patterns in the endangered ground beetle species, *Carabus olympiae* (Coleoptera: Carabidae). *European Journal of Entomology* 105: 105-112

- Nei M (1987) Genetic variation within species. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press. p. 176–207.
- Niemelä J (1997) Invertebrates and boreal forest management. *Conservation Biology* 11: 601–610.
- Niemelä J (1999) Management in relation to disturbance in the boreal forest. *Forest Ecology and Management* 115: 127–134.
- Niemelä J (2001) Carabids beetles (Coleoptera: Carabidae) and habitat fragmentation: a review. *European Journal of Entomology* 98: 127–132.
- Niemelä J, Haila E, Halme E, Pajunen T y Puntilla P (1992) Small-scale heterogeneity in the spatial distribution of carabid beetles in the southern Finnish taiga. *Journal of Biogeography* 19: 173–181.
- Niemelä J, Kotze J, Ashworth A, Brandmayr P, Desender K, New T, Penev L, Samways M, y Spence J (2000) The search for common anthropogenic impacts on biodiversity: a global network. *Journal of Insect Conservation* 4: 3 - 9.
- Niemelä J, Kotze DJ, Venn S, Penev L, Stoyanov I, Spence J, Hartley D y Montes de Oca E (2002) Carabid beetle assemblages (Coleoptera, Carabidae) across urban–rural gradients: an international comparison. *Landscape Ecology* 17: 387 - 401.
- Noss RF (1990) Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. *Conservation Biology* 4: 355 - 364.
- Odendaal FJ, Turchin P y Stermitz FR (1989) Influence of host-plant density and male harassment on the distribution of female *Euphydryas anicia* (Nymphalidae). *Oecologia* 78: 283–288.

- Okamoto M, Kashiwai N, Su Z y Osawa S (2001) Sympatric convergence of the color pattern in the Chilean *Ceroglossus* ground beetles inferred from sequence comparisons of the mitochondrial ND5 gene. *Journal of Molecular Evolution* 53: 530-538.
- Palacios-Bianchi PA (2002) Producción y descomposición de hojarasca en un bosque Maulino fragmentado Seminario de Título Biología Ambiental, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Peltonen M y Heliövaara K (1999) Attack density and breeding success of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) at different distances from forest-clearcut edge. *Agricultural and Forest Entomology* 1: 237-242.
- Peterson MA y Denno RF (1998) The influence of dispersal and diet breadth on patterns of genetic isolation by distance in phytophagous insects. *The American Naturalist* 152: 428 – 446.
- Pradel R (1996) Utilization of capture-mark-recapture for the study of recruitment and population growth rate. *Biometrics* 52: 703-709.
- Pradel R, Hines JE, Lebreton J-D y Nichols JD (1997) Capture-recapture survival models taking account of transients. *Biometrics* 53:60-72.
- Rainio J y Niemelä J (2003) Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators. *Biodiversity and Conservation* 12:487-506.
- Rangel TFLVB, Diniz-Filho JAF and Bini LM (2010) SAM: a comprehensive application for Spatial Analysis in Macroecology. *Ecography* 33:1-5.
- Raworth DA y Choi M (2001) Determining numbers of active carabid beetles per unit area from pitfall-trap data. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 95 -108.

- Riecken U y Rath U (1996) Use of radio telemetry for studying dispersal and habitat use of *Carabus coriaceus* L. *Annales Zoologici Fennici* 33: 109-116.
- Rijnsdorp AD (1980) Pattern of movement in and dispersal from a Dutch forest of *Carabus problematicus* Hbst. (Coleoptera, Carabidae). *Oecologia* 45: 274-281.
- Rink M y Sinsch U (2007) Radio-telemetric monitoring of dispersing stag beetles: implications for conservation. *Journal of Zoology* 272: 235-243.
- Robinson JG (1996) Hunting wildlife in forest patches: an ephemeral resource. En: Schelhas J y Greenberg R (eds) *Forest patches in tropical landscapes*. Island press, Washington D.C. Covelo, California: 111-130.
- Rogers AR (1995) Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 49: 608-615.
- Rogers AR y Harpending H (1992) Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences. *Molecular Biology and Evolution* 9: 552-569.
- Roig-Juñent S y Domínguez MC (2001) Diversidad de la familia Carabidae (Coleoptera) en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 549-571.
- Roland J (1993) Large-scale forest fragmentation increases the duration of tent caterpillar outbreaks. *Oecologia* 93: 25-30.
- Root RB y Kareiva PM (1984) The search for resources by cabbage butterflies (*Pieris rapae*): ecological consequences and adaptive significance of Markovian movements in a patchy environment. *Ecology* 65: 147-165.
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X y Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.

- Ruiz (1936) Los *Ceroglossus* de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 39: 381-425.
- Russell RE, Swihart RK y Feng Z (2003) Population consequences of movement decisions in a patchy landscape. *Oikos* 103: 142-152.
- Saavedra B y Simonetti JA (2005). Small mammals of Maulino forest remnants, a vanishing ecosystem of south-central Chile. *Mammalia* 69: 337-348.
- Samways MJ (1994) *Insect Conservation Biology*. Chapman and Hall, London.
- San Martín J (2005) Vegetación y diversidad florística en la Cordillera de la Costa de Chile Central (34° 44' -35°50' S). En: Smith-Ramírez C, Armesto JJ y Valdovinos C (eds.) *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques de la Cordillera de la Costa*. Editorial Universitaria, Santiago: 178-196.
- San Martín J y Gómez P (2010) Historia, concepto y uso del bosque Maulino. En: Bustamante RO y Bachmann PL (eds.) *Historia natural del bosque maulino costero: disectando la biodiversidad en un paisaje antropogénico*: 73-84.
- Schtickzelle N y Baguette M (2003) Behavioural responses to habitat patch boundaries restrict dispersal and generate emigration-patch area relationships in fragmented landscapes. *Journal of Animal Ecology* 72: 533-545
- Slatkin M y Hudson RR (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129: 555-562.
- Smith-Ramírez C (2004) The Chilean coastal range: A vanishing center of biodiversity and endemism in South American temperate rain forests. *Biodiversity and Conservation* 13: 373-393.

- Smouse PE, Long JC y Sokal RR (1986) Multiple Regression and Correlation Extensions of the Mantel Test of Matrix Correspondence. *Systematic Zoology* 35: 627-632.
- Spear SF, Peterson Ch, Matocq M y Storfer A (2005) Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology* 14: 2553-2564.
- Stamps JA, Buechner M y Krishman VV (1987) The effects of edge permeability and habitat geometry on emigration from patches of habitat. *American Naturalist* 129: 533-552.
- StatSoft Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Tajima F (1983) Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105: 437-460.
- Tajima F (1989) The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics* 123: 597- 601.
- Tallmon DA, Jules ES, Radke N y Scott Mills L (2003) Of mice and men and Trillium: cascading effects of forest fragmentation. *Ecological Applications* 13:1193-1203.
- Tamura K, Dudley J, Nei M y Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599. Disponible en <http://www.kumarlab.net/publications>).
- Taylor PD y Merriam G (1995) Wing morphology of a forest damselfly is related to landscape structure. *Oikos* 73: 43-48.

- Taylor PD, Fahrig L, Henein K y Merriam G (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68: 571–573.
- ter Braak CJF (1988) CANOCO – a FORTRAN Program for Canonical Community Ordination by [Partial] [Detrended] [Canonical] Correspondence Analysis, Principal Component Analysis and Redundancy Analysis Version 2.1. Agricultural Mathematics Group, AC Wageningen, the Netherlands.
- Thomas CFG, Brown NJ y Kendall DA (2006) Carabid movement and vegetation density: Implications for interpreting pitfall trap data from split-field trials. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113: 51–61.
- Thomas CFG, Parkinson L, Griffiths GJK, Garcia AF y Marshall EJP (2001) Aggregation and temporal stability of carabid beetle distributions in field and hedgerow habitats. *Journal of Applied Ecology* 38: 100–116.
- Tilman D, May RM, Lehman CL y Nowak MA (1994) Habitat destruction and extinction debt. *Nature* 371: 65–66.
- Tischendorf L y Fahrig L (2000) On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90: 7–19.
- Turchin P (1998) Quantitative analysis of movement. Measuring and modeling population redistribution in animals and plants. Sunderland, Massachusetts. 396 pp.
- Turner IM (1996) Species loss in fragmented of tropical rain forest: a review of the evidence. *Journal of Applied Ecology* 33: 200 - 209.

- Van Dongen S y Scott T (2002) Effects of forest fragmentation and local habitat structure on densities of winter moth (*Operophtera brumata* L.). *Belgian Journal of Zoology* 132: 165 - 170.
- Van Horne B (1983) Density as a misleading indicator of habitat quality. *The Journal of Wildlife Management* 47: 893 - 901.
- Van Nouhuys S (2005) Effects of habitat fragmentation at different trophic levels in insects communities. *Annales Zoologici Fennici* 42: 433 - 447.
- Vandergast AG, Bohonak AJ, Weissman DB y Fisher RN (2007) Understanding the genetic effects of recent habitat fragmentation in the context of evolutionary history: phylogeography and landscape genetics of a southern California endemic Jerusalem cricket (Orthoptera: Stenopelmatidae: *Stenopelmatus*). *Molecular Ecology* 16: 977-992.
- Vandergast AG, Lewallen EA, Deas J, Bohonak AJ, Weissman DB y Fisher RN (2009) Loss of genetic connectivity and diversity in urban microreserves in a southern California endemic Jerusalem cricket (Orthoptera: Stenopelmatidae: *Stenopelmatus* n. sp. "santa monica"). *Journal of Insect Conservation* 13: 329-345.
- Vandewoestijne S y Baguette M (2004) Demographic versus genetic dispersal measures. *Population Ecology* 46: 281-285.
- Vergara PM y Simonetti JA (2004) Avian responses to fragmentation of the Maulino Forest in central Chile. *Oryx* 38: 1 - 6.
- Villagrán C y Armesto JJ (2005) Fitogeografía histórica de la Cordillera de la Costa de Chile. En: Smith-Ramírez C, Armesto JJ y Valdovinos C (eds.) *Historia,*

- biodiversidad y ecología de los bosques de la Cordillera de la Costa. Editorial Universitaria, Santiago: 99-116.
- Visser JH (1988) Host-plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology* 34: 259-268.
- Wallin H y Ekbom BS (1988) Movements of carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting cereal fields: a field tracing study. *Oecologia*, 77: 39-43.
- Weller B y Ganzhorn JU (2004) Carabid beetle community composition, body size, and fluctuating asymmetry along an urban-rural gradient. *Basic and Applied Ecology* 5: 193-201.
- White GC y Burnham KP (1999) Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46: 120-139.
- With KA y Crist TO (1995) Critical thresholds in species responses to landscape structure. *Ecology* 76: 2446-2459.
- With KA y Crist TO (1996) Translating across scales: simulating species distributions as the aggregate response of individuals to heterogeneity. *Ecological Modelling* 93:125-13
- Yamada Y, Sasaki H y Harauchi Y (2010) Effects of narrow roads on the movement of carabid beetles (Coleoptera, Carabidae) in Nopporo Forest Park, Hokkaido. *Journal of Insect Conservation* 14:151-157.
- Yang LH (2000) Effects of body size and plant structure on the movement ability of a predaceous stinkbug, *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Oecologia* 125: 85-90.

Zalucki MP y Kitching RL (1982) The analysis and description of movement in adult

*Danaus plexippus* L. (Lepidoptera: Danainae) Behaviour 80: 174-198.

Zollner PA y Lima SL (1999) Search strategies for landscape level interpatch

movements. Ecology 58: 1019-1030.