

ÍNDICE

I INTRODUCCIÓN	5
1.1 Hipótesis:.....	6
1.2 Objetivos	6
1.2.1 Objetivo general:.....	6
1.2.2 Objetivos específicos:	6
II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 Estructuración genética de poblaciones vegetales	7
2.2 Antecedentes generales de la especie.....	8
2.3 Características fenotípicas - Morfología	8
2.4 Distribución geográfica y superficie.....	9
2.5 Usos.....	9
2.6 Marcadores moleculares.....	10
2.7 Evolución de los marcadores moleculares	11
2.8 PCR	12
2.9 Polimorfismos en longitud de fragmentos amplificados (AFLP)	13
2.10 Microsatélites del Cloroplasto o secuencias simples repetidas del cloroplasto (cpSSR)	14
III MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1 Localidad y material vegetal.....	15
3.2 Material vegetal	16
3.3 Metodología	17
3.3.1 Secado.....	17
3.3.2 Extracción de ADN y análisis con marcadores moleculares AFLP y cpSSR.....	17
3.3.3 Extracción de ADN	17
3.3.4 Prueba AFLP	19
3.3.5 Registro de los datos y secuenciación del análisis AFLP.....	22
3.3.6 Prueba Microsatélites del Cloroplasto	23

3.4	Análisis de resultados a partir de una matriz binaria AFLP	26
3.4.1	Estimadores descriptivos de las muestras según procedencia	26
3.4.2	Medidas de diferenciación interpoblacional	26
3.5	Análisis de datos para cpSSR.....	28
IV	RESULTADOS	29
4.1	Selección de partidores AFLP y matriz binaria	29
4.2	Medidas de diversidad genética intrapoblacional para AFLP	29
4.3	Diversidad genética intrapoblacional e interpoblacional reveladas por AMOVA	30
4.4	Diversidad genética interpoblacional.....	30
4.4.1	Matriz de distancia genética.....	30
4.4.2	Test de Mantel.....	32
4.4.3	Análisis de agrupamiento.....	32
4.4.4	Análisis Bayesiano.....	34
4.5	Selección de partidores cpSSR.....	35
4.6	Haplotipos en microsatélite del cloroplasto.....	35
V	DISCUSIÓN	37
5.1	Marcadores moleculares.....	37
5.2	Variabilidad genética intrapoblacional e interpoblacional	38
5.3	Relación de variabilidad genética con la variabilidad fenotípica descrita en otros estudios	41
5.4	Relación con estudios de variabilidad genética en maqui.....	42
5.5	Consideraciones.....	43
VI	CONCLUSIONES	45
VII	REFERENCIAS	46

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 3.1	Procedencia de los clones De <i>A. chilensis</i> Establecidos en La Estación Experimental Panguilemo.....	15
CUADRO 3.2	Clones Seleccionados para el Análisis Genético	16
CUADRO 3.3	Registro del ADN aislado. contiene el orden de los clones en una placa	18
CUADRO 3.4	Solución RLR.....	19
CUADRO 3.5	Solución RLM	20
CUADRO 3.6	Solución Pre-Amplificación.....	20
CUADRO 3.7	PCR correspondiente a la Pre-Amplificación.....	20
CUADRO 3.8	Solución para la Amplificación Selectiva.....	21
CUADRO 3.9	Secuencia nucleotídica de los cebadores <i>EcoRI</i> Y <i>MseI</i> utilizados	21
CUADRO 3.10	PCR Correspondiente a la Amplificación Selectiva.....	22
CUADRO 3.11	Microsatélites de cloroplasto de Tabaco, <i>Nicotiana Tabacum</i> (Weising Y Gardner, 1999)	24
CUADRO 3.12	Reactivos para la Solución PCR	25
CUADRO 3.13	PCR Para la amplificación de microsatélites del cloroplasto.....	25
CUADRO 4.4	Coeficiente de membresía promedio para $K= 4$ de los individuos de maqui.....	34
CUADRO 4.5	Descripción de los productos de amplificación generados por los partidores ccmp5 y ccmp6 en <i>Aristotelia chilensis</i>	35
CUADRO 4.6	Frecuencias de haplotipos para la combinación de partidores ccmp5 y ccmp6	36

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Etapas de la reacción en cadena de la polimerasa.....	13
FIGURA 2	Foto del gel de agarosa que muestra la presencia de adn genómico de los 58 clones. en la segunda fila las bandas que presentan una mayor intensidad y que revelan por ende una mejor calidad de adn corresponden a otra especie.....	19
FIGURA 3	Gráfica de dispersión, que representa el aislamiento por distancia, que muestra la correlación entre el logaritmo de la distancia geográfica en kilómetros versus la distancia genética obtenida mediante el Φ_{PT} Linearizado.....	32
FIGURA 4	A la izquierda: dendrograma upgma basado en las distancias genéticas de dice (1945). de orientación norte a sur: Isla Briones-Amarillo, Los Queñes-Azul, Bajo Perquín-Negro, Mulchén-Rosado, Curacautín-Rojo, Villarrica-Verde, Entre Lagos-Gris y Alerce Andino-Café. el valor de los nodos indica el valor bootstrap. a la derecha un mapa de referencia geográfica.	33
FIGURA 5	La gráfica resume las estimaciones de q (coeficientes de pertenencia estimados para cada individuo, en cada grupo). Cada individuo está representado por una única barra vertical que se divide en segmentos de K colores (4), con longitudes proporcionales a la probabilidad de pertenencia a cada uno de los grupos inferidos. Grupo 1: Azul, Grupo 2: Rojo, Grupo 3: Verde y Grupo 4: Amarillo. Los Números (1-8) Corresponden A Los Sectores Analizados Ordenadas Desde El Norte Hasta El Sur. 1 = Isla Briones, 2 = Los Queñes, 3 = Bajo Perquín, 4 = Mulchén, 5 = Curacautín, 6 = Villarrica, 7 = Entre Lagos y 8 =Alerce Andino.	34
FIGURA 6	Distribución de microsatélite (ccmp5 y ccmp6) como haplotipos de <i>Aristotelia chilensis</i> en chile. el haplotipo de cada localidad se indicada al costado derecho de la figura.....	36