

Santiago, 01 de junio de 2023

Asunto: Solicitud Modificación Metodológica Proyecto N°048/2019.

**Investigación Bosque Nativo
Fondo de Investigación del Bosque Nativo
Corporación Nacional Forestal**

Presente

A quien corresponda,

Reciba un cordial saludo. Por medio de la presente me dirijo a usted para solicitar modificaciones metodológicas para el Proyecto N°048/2019: “Una aproximación genómica para la conservación de poblaciones de *Prumnopitys andina*”.

Las modificaciones metodológicas que requieren de su aprobación corresponden a actividades realizadas para:

- a) **Objetivo Específico 1:** “Caracterización de la estructura y composición, y alteraciones antrópicas en bosques con participación de *P. andina*” relacionada al cambio del tamaño de parcelas de 1000 m² a 500 m².
- b) **Objetivo Específico 2:** “Determinar parámetros genéticos de diversidad y estructura poblacional de *P. andina*” relacionada al cambio en la estrategia de la Actividad 2, Secuenciación del DNA mediante protocolo de GBS.

A continuación, se procede a detallar y justificar las modificaciones solicitadas para cada caso.

- a) **Objetivo Específico 1: Caracterización de la estructura y composición, y alteraciones antrópicas en bosques con participación de *P. andina* relacionada al cambio del tamaño de parcelas de 1000 m² a 500 m².**

Respecto a la superficie de las unidades de muestreo empleadas

En la postulación original del proyecto se había pensado en emplear parcelas de muestreo de superficie fija de 1000 m², sin embargo, una re-evaluación de esta característica del muestreo una vez adjudicado y comenzado a ejecutar la propuesta, sugirió que era mejor emplear parcelas de 500 m². Este cambio se ve justificado por diversas razones, las cuales se resumen a continuación. En primer lugar, y tal como lo destacan Gregoire y Valentine (2008), la superficie de las parcelas es una característica que no afecta a la estimación de variables de estado a nivel agregado. Las variables de rodal que, si se ven afectadas por la superficie de la parcela, son aquellas que son estadísticas de orden, como por ejemplo la altura dominante (García 1998). Esto último implica que en el caso de la estimación de estas variables de rodal se deben considerar procedimientos que tomen en cuenta a la superficie de la parcela para así lograr una estimación insesgada. Tal

como se ha detallado en el informe de avance 2 y en el documento InventarioLleuque sobre el inventario forestal realizado, lo anterior ha sido tomado en consideración, por lo tanto, el cambio de superficie de la parcela no ha afectado la calidad de la propuesta original. En segundo lugar, la superficie es importante para la estimación de la estructura diamétrica, y en este sentido lo determinante acá es el número de individuos que se encuentren en cada parcela. Dado al contexto probabilístico en el cual se desarrolla un muestreo, es imposible determinar este número antes de replantar cada parcela, sin embargo, los resultados de estimación de variables de estado que se han obtenido (documento InventarioLleuque sobre el inventario forestal realizado), así como las estructuras de tamaño representadas concuerdan con otros estudios. En tercer lugar, es importante destacar que *Prumnopitys andina* es una especie que no es frecuente en los bosques nativos, sin embargo, cuando se encuentra tiende a tener una abundancia considerable, por lo que el tamaño de la parcela no necesariamente asegura una mejor representación, o captura de la presencia, de la especie en los bosques. En última instancia, la presente investigación es sobre un enfoque genómico como ayuda para la conservación de los bosques con presencia de *P. andina*, para lo cual se cree que la estrategia de muestreo empleada es robusta y ciertamente apropiada. Por todo lo anteriormente expuesto, se plantea que la superficie de las parcelas de muestreo empleadas es apropiada para el cumplimiento de los objetivos trazados para el proyecto.

Referencias

Gregoire TG, Valentine HT (2008) Sampling strategies for natural resources and the environment. Chapman & Hall/CRC, New York, 474 p.
García O (1998) Estimating top height with variable plot sizes. Can. J. For. Res. 28: 1509-1517.

b) Objetivo Específico 2: Determinar parámetros genéticos de diversidad y estructura poblacional de *P. andina* relacionada al cambio en la estrategia de la Actividad 2, Secuenciación del DNA mediante protocolo de GBS.

Respecto a la secuenciación de grupos de muestras por parcela en vez de la secuenciación de muestras de manera individual

Las mayores dificultades que se han presentado en la ejecución de este proyecto ha sido el retraso al inicio generado por problemas de fuerza mayor y debido a las restricciones sanitarias. Estas dificultades a pesar de estar subsanadas impactaron fuertemente en la extensión del tiempo del desarrollo de las actividades y en el presupuesto. Para el caso de la Secuenciación del DNA mediante protocolo de GBS los costos del servicio incrementaron por muestra individual y se cuenta con un presupuesto acotado.

Por esta razón, la modificación metodológica solicitada se refiere a la secuenciación de DNA utilizando **pools de muestras**, es decir, realizar la combinación de distintos árboles representativos de cada una de las parcelas muestreadas (12 parcelas por cada región) en vez de realizar la secuenciación de DNA de manera individual para cada árbol. Esta estrategia permitirá: i) la reducción de los costos de la secuenciación de DNA mediante protocolo de GBS a través de la unificación del material biológico por parcela, ii) no reducir el número de árboles secuenciados propuestos en el estudio, y iii) adicionar al estudio todos los árboles a los que se les extrajo con éxito DNA genómico.

A pesar de que los datos obtenidos serán representativos por parcela, esto no afecta a las actividades propuestas y permitiría una mejor comparación de los sitios.



Propuesta Inicial

- ❖ Obtención de datos: 288 individuales, GBS 150 bp-PE ~ 8 MM reads por muestra.
- ❖ Análisis bioinformáticos para hacer descubrimiento de SNPs y determinar el genotipo de cada individuo.
- ❖ Identificación de poblaciones con mayor diversidad genética.
- ❖ Estimación de parámetros genético-poblacionales incluyendo número de poblaciones, diversidad genética a nivel de cada individuo y de cada población, tamaño efectivo de poblaciones y flujo génico entre ellas.
- ❖ Banco de DNA de muestras de *P. andina*.
- ❖ Base de datos de secuencias de DNA y de información genotípica de individuos de *P. andina* en formatos estándar.

Propuesta Actual

- ❖ Obtención de datos: **~50 Pools de 5 individuos cada uno.** GBS 150 bp-PE. **~ 6 MM reads por muestra = 30 MM per pool. Cada Pool representa una parcela.**
- ❖ Análisis bioinformáticos para hacer descubrimiento de SNPs y **determinar la frecuencia alélica en cada pool.**
- ❖ Identificación de poblaciones con mayor diversidad genética.
- ❖ Estimación de parámetros genético-poblacionales incluyendo número de poblaciones, **diversidad genética a nivel de cada parcela** y de cada población, tamaño efectivo de poblaciones y flujo génico entre ellas.
- ❖ Banco de DNA de muestras de *P. andina*.
- ❖ Base de datos de secuencias de DNA y de **información genotípica de pools** de *P. andina* en formatos estándar.

Por lo tanto, quisiera solicitar modificación metodológica para el Proyecto N°048/2019 en las actividades anteriormente expuestas.

Les agradezco de antemano su atención a esta solicitud y quedo a la espera de su pronta respuesta.

Atentamente,

Dra. Carolina Sánchez
Directora Proyecto
Investigadora y Directora del Core de Genómica Avanzada
Universidad Mayor