

Análisis de diversidad y estructura genética de poblaciones de *Prosopis chilensis* entre las provincias de Chacabuco y San Felipe de Aconcagua, usando marcadores moleculares microsatélites

Analysis of genetic diversity and differentiation of *Prosopis chilensis* populations between Chacabuco and San Felipe de Aconcagua provinces using microsatellite molecular markers.

Roberto Contreras Díaz ^{a*}, Marlene González González ^b,
Fernanda Aguayo Cruces ^a, Sandra Gacitúa Arias ^b, Vincenzo Porcile Saavedra ^a

*Autor de correspondencia: ^aCentro Regional de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Atacama (CRIDESAT), Universidad de Atacama, Copayapu 485, Copiapó, Chile, fono 0056 522255407, roberto.contreras@uda.cl

^b Instituto Forestal (INFOR), Sede Metropolitana y Sede Diaguitas, Chile.

SUMMARY

Prosopis chilensis is a native species of Chile distributed from Tarapacá Region to O'Higgins Region; however, despite its wide extension, the diversity, differentiation and genetic structure of its populations have not been studied. The objectives of the present study were to determine the level of genetic diversity and evaluate the genetic differentiation and population structure of *P. chilensis* from the central zone of Chile using seven microsatellite markers. A total of 53 alleles were detected among individuals of *P. chilensis*. The PIC value ranged from 0.057 (Mo05) to 0.847 (Mo16) with an average PIC of 0.636. The expected heterozygosity averaged 0.610 and the observed heterozygosity averaged 0.588. The inbreeding coefficient (FIS) for each population varied between 0.028 and 0.103. The AMOVA analysis revealed that the greatest amount of genetic variation was found among individuals (90.78 %, $P = 0.0001$) rather than among populations of *P. chilensis* (0.16 %, $P = 1.000$). The level of genetic differentiation of *P. chilensis* was very low ($F_{ST} = 0.0015$) among the four populations (LAPO, HUPE, ANDE and ENDO). The STRUCTURE analysis, the Mantel test and the EMD analysis indicate that all individuals are part of a single structure, there being no evidence of barriers that generate isolation. Therefore, in the future it will be necessary to carry out more population studies of this species, in such a way to detect variation and expand the genetic groups to maintain genetic richness and biodiversity of the ecosystems.

Key words: Algarobia section, microsatellite markers, conservation, low diversity, Fabaceae.

RESUMEN

Prosopis chilensis es una especie nativa de Chile distribuida desde la Región de Tarapacá hasta la Región del O'Higgins, sin embargo, a pesar de su amplia extensión, no se ha estudiado la diversidad, diferenciación y estructura genética de sus poblaciones. El objetivo del presente estudio fue determinar el nivel de diversidad genética, evaluar la diferenciación genética y estructura de poblaciones de *P. chilensis* de la zona central de Chile a partir de siete marcadores microsatélites. Un total de 53 alelos fueron detectados entre individuos de *P. chilensis*. El valor PIC varió desde 0,057 (Mo05) a 0,847 (Mo16) con un PIC promedio de 0,636. La heterocigosidad esperada tuvo un promedio de 0,610 y la heterocigosidad observada tuvo un promedio de 0,588. El coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada población varió entre 0,028 y 0,103. El análisis AMOVA reveló que la mayor cantidad de variación genética se encontró entre individuos (90,78 %; $P = 0,0001$) que entre poblaciones de *P. chilensis* (0,16 %; $P = 1,000$). El nivel de diferenciación genética de *P. chilensis* fue muy bajo ($F_{ST} = 0,0015$) entre las cuatro poblaciones (LAPO, HUPE, ANDE y ENDO). El análisis STRUCTURE, la prueba de Mantel y el análisis EMD indican que todos los individuos son parte de una sola estructura, no habiendo indicios de barreras que generen aislamiento. Por lo tanto, en el futuro será necesario realizar más estudios de población de esta especie, de tal manera de detectar variación y ampliar los grupos genéticos con el fin de mantener su riqueza genética y la biodiversidad de los ecosistemas.

Palabras clave: Algarobia section, microsatellite markers, conservation, low diversity, Fabaceae.

INTRODUCCIÓN

Prosopis chilensis (Mol.) Stuntz es una especie de algarrobo que según Ferreyra *et al.* (2010), presenta una amplia distribución, abarcando el sur del Perú, norte y centro

de Chile, sudoeste de Bolivia y noroeste, oeste y centro de Argentina. Esta especie posee una extensa distribución en Chile, encontrándose desde la Región de Tarapacá hasta la Región de O'Higgins, pero, en la Región Metropolitana es donde se concentra más del 50 % de la superficie nacional,

con 11.828 hectáreas censado el año 2013 (González *et al.* 2017). Un estudio realizado por Aguilar *et al.* (2020) demostró que poblaciones de *P. chilensis* de Bolivia y Argentina presentarían haplotipos exclusivos, mostrando mayor diversidad molecular que las poblaciones chilenas, sugiriendo entonces una posible colonización o introducción desde estos países hacia Chile.

En la zona central de Chile, la especie crece naturalmente formando pequeños bosquetes o bien ejemplares aislados establecidos en valles o cuencas con napas freáticas relativamente superficiales y en fondos de quebradas (González *et al.* 2017). Se ha reconocido a los Algarrobos como un importante recurso para la alimentación humana, como también trascendental para recuperar ecosistemas degradados y combatir la desertificación (Walter 2011). Desgraciadamente, su uso histórico no regulado para la obtención de leña, construcción de viviendas y carbón, ha significado una disminución de sus formaciones naturales (González *et al.* 2017). Actualmente se suma a ello, la presión de uso de suelos para fines inmobiliarios, especialmente en la Región Metropolitana, por ello se hace necesario generar información para su manejo, comenzando por estudios que permitan comprender la diversidad de la especie y la diferenciación de sus poblaciones, con el fin de apoyar la toma de decisiones para la elaboración y ejecución de planes de manejo de forestación y reforestación, especialmente en programas de restauración ecológica o a escala de paisaje.

Un estudio morfológico de poblaciones de *P. chilensis* demostró una escasa diferenciación genética en 17 poblaciones argentinas y seis poblaciones chilenas (Región de Coquimbo), crecidas y mantenidas en iguales condiciones de campo (Verzino *et al.* 2003). Estos autores señalaron que las semillas de *P. chilensis* utilizadas como muestras podrían ser de origen híbrido, debido al cruce frecuente entre *P. chilensis* y *Prosopis flexuosa* DC, sin embargo, no se realizó previamente una identificación genética de las muestras.

El análisis genético de poblaciones a partir de marcadores microsatélites (SSR, *Short Sequence Repeats*) son una buena alternativa comparado con otros marcadores de ADN, debido a que proporcionan alta tasa de polimorfismo, información útil para el estudio de la diversidad y diferenciación genética de poblaciones (Contreras *et al.* 2019), permiten la detección de cuellos de botella, flujo de genes, hibridación entre poblaciones y estructura de poblaciones (González 2003). Los microsatélites son marcadores codominantes, que consisten en secuencias cortas (de 1 a 6 bases de nucleótidos) repetidas en tándem, con una variación en el número de copias entre individuos (González 2003). Hasta la fecha varios loci SSR se han descubierto en especies de *Prosopis*, como en *P. chilensis* y *P. flexuosa* (Mottura *et al.* 2005, Bessega *et al.* 2013), *Prosopis alba* Griseb. (Bessega *et al.* 2013), *Prosopis tamarugo* Phil (Contreras *et al.* 2020); desarrollándose con estos marcadores varios estudios de diversidad y diferenciación genética de poblaciones (Mottura *et al.* 2005, 2018).

Prosopis chilensis es una especie con problemas de conservación en Chile, que habita zonas de clima árido, semiárido y mediterráneo, sin embargo, a pesar de su amplia extensión, no se ha estudiado su diversidad, diferenciación y estructura de poblaciones. La diferenciación genética entre poblaciones se relaciona con el grado de aislamiento o flujo de genes, siendo posible detectarlo con marcadores neutros como los SSR, de esta manera un reducido flujo de genes favorecería la diferenciación entre poblaciones, aumentando su homogeneidad (Bessega *et al.* 2018). La sección *Algarobia* a la cual pertenece *P. chilensis*, presenta una gran variación fenotípica con especies de la misma sección (*P. alba* y *P. flexuosa*, entre otras), sin embargo, se ha observado una baja diferenciación genética y una frecuente hibridación entre ellas (Hunziker *et al.* 1986, Bessega *et al.* 2013). Para realizar estudios genéticos, se requiere de marcadores moleculares confiables que entreguen buena cantidad de información. Entre las especies de la serie *Chilensis* los marcadores SSR tienen una aceptable transferibilidad (Mottura *et al.* 2005, Bessega *et al.* 2013) para realizar estudios genéticos. En Chile, hasta ahora el único estudio de diversidad genética y estructura en *P. chilensis* a partir de marcadores SSR se ha realizado en poblaciones de la Región de Coquimbo (Moncada *et al.* 2019), sin embargo, aún no se ha estudiado la diversidad y estructura genética en poblaciones de *P. chilensis* de provincias de la zona central de Chile. Los objetivos del presente estudio son i) determinar el nivel de diversidad genética de poblaciones de *P. chilensis* a distintas zonas altitudinales y ii) evaluar la diferenciación y la estructura genética de poblaciones de dos provincias de la zona central de Chile a partir de marcadores SSR. La hipótesis propuesta es que en la zona central de Chile las poblaciones de *P. chilensis* presentan una alta diferenciación genética entre poblaciones y una alta diversidad genética debido a diferencias de distancia geográfica y altitud.

MÉTODOS

Material vegetal. Entre los meses de abril y mayo de 2018, se procedió a colectar hojas de 48 individuos de *P. chilensis*, desde distintas zonas de la Provincia de Chacabuco y la Provincia de San Felipe de Aconcagua, las cuales fueron agrupadas y georeferenciadas en cuatro poblaciones: Lampa-Polpaico (LAPO), Huechún-Peldehue (HUPE), Los Andes (ANDE) y Putaendo (ENDO) (cuadro 1, Apéndice 1). Los árboles fueron seleccionados al azar, dentro de las zonas de distribución de la especie (González 2013), en lo posible manteniendo una distancia mínima de 30 metros entre individuos, para evitar la relación de parentesco entre árboles. La muestra consistió en aproximadamente cien gramos de hojas jóvenes colectadas de la parte media de la copa de cada individuo, y de un largo mínimo de siete centímetros. Las muestras fueron inmediatamente guardadas en bolsas de polietileno y conservadas a 4 °C durante la jornada en terreno, para al final de cada día, ser guardado en congelador a -20 °C, hasta su almacenamiento a -80 °C.

Cuadro 1. Localización geográfica de 48 individuos de *Prosopis chilensis* utilizados en este estudio.
Geographical location of 48 individuals of *Prosopis chilensis* used in this study.

Provincia	Población	Muestras (n)	Identificación de muestras	Longitud (S)	Latitud (W)	Elevación (m s.n.m.)
Chacabuco	Lampa-Polpaico (LAPO)	8	1-8	33° 15' 56,568"	70° 53' 37,811"	483
	Huechún-Peldehue (HUPE)	19	9-27	33° 8' 49,789"	70° 39' 35,417"	719
San Felipe de Aconcagua	Los Andes (ANDE)	15	28-42	32° 49' 59,14"	70° 34' 4,846"	875
	Putando (ENDO)	6	43-48	32° 34' 52,855"	70° 42' 0,783"	925

Extracción de ADN. El ADN genómico se extrajo utilizando la metodología descrita por Contreras *et al.* (2019), como se indica a continuación: para la lisis celular, 100 mg de polvo fino de hojas jóvenes, 14 µL de beta-mercaptoetanol, 14 µL de 10 mg mL⁻¹ de proteinasa K, 14 µL de Sarkosyl al 5 %, 0,045 g de D-sorbitol (MW 182,17 g mol⁻¹) y se añadieron a cada tubo 700 µL de CTAB precalentado a 65 °C durante 15 minutos (4 % p/v PVP-40, Tris-HCl 100 mM, pH 8; NaCl 1,2 M; EDTA 20 mM, CTAB al 2 %). Se agitaron con un vórtex y luego se incubaron en un baño de agua durante 60 minutos a 65 °C, invirtiendo los tubos cada 15 minutos. Luego, los tubos se centrifugaron a 14.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C, y se recuperó la fase acuosa superior (~ 700 µL) y se vertió a un tubo nuevo. Posteriormente, se agregaron 800 µL de solución de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico UltraPure™ (25: 24: 1) a cada tubo y se mezcló durante 10 minutos a 120 rpm en un incubador-agitador a 20 °C. Luego, estos tubos se centrifugaron a 14.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C y la fase superior se recuperó para un procesamiento adicional (~ 550 µL), intentando no perturbar la fracción inferior del tubo. Este sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo. A continuación, se agregaron 8 µL de 10 mg mL⁻¹ de RNasa a cada tubo, seguido de incubación a 55 °C durante 8 min. Se agregaron dos tercios de isopropanol a -20 °C a los tubos (367 µL de isopropanol para 550 µL de solución en este caso), que luego se invirtieron 30 veces a temperatura ambiente para revolver la mezcla. El líquido se transfirió luego a una mini columna Hi-Bind DNA (Omega Bio-tek) unida a un tubo de recolección de 2 mL y se dejó incubar durante 2 minutos a temperatura ambiente. Las mini columnas se centrifugaron a 14.000 rpm durante 2 minutos y luego se eliminó el precipitado. Luego se lavó con 700 µL de etanol al 90 % a temperatura ambiente, se centrifugaron a 14.000 rpm durante 2 minutos y se desechó el precipitado. A esto le siguió la adición de 700 µL de etanol al 70 % con NH₄OAc [10 mM] a temperatura ambiente, centrifugación a 14.000 rpm durante 2 minutos y se descartó el precipitado. Las mini columnas vacías se centrifugaron a 14.000 rpm durante 2 minutos para eliminar el etanol restante y el tubo de recolección se reemplazó por un nuevo tubo de 1,5 mL. Luego, se agregó 60 µL de TE precalentado a 65 °C a cada mini columna, seguido de incubación a

65 °C durante 5 minutos. Finalmente, los tubos se centrifugaron a 14.000 rpm durante 2 minutos, la mini columna se descartó y el tubo de 1,5 mL con el extracto se almacenó a -20 °C para su posterior uso. La calidad y la concentración total de ADN se verificó con un espectrofotómetro Colibri Microvolume (Titertek Berthold, Alemania) a 260, 280 y 230 nm. La integridad del ADN genómico se verificó en un gel de agarosa al 0,7 % (el tiempo de electroforesis fue de 40 min a 100 V).

Amplificación marcadores SSR. Para la amplificación de los marcadores microsatélites (SSR) neutros se utilizaron parejas de cebadores detallados en el cuadro 2, descritos por Mottura *et al.* (2005) y Bessega *et al.* (2013). Para obtener los alelos de individuos de *P. chilensis*, se dispusieron reacciones de PCR con cada pareja de cebador SSR. Se prepararon reacciones de PCR con un volumen total de 20 µL como se describe a continuación: 10 µL de Master Mix SapphireAmp Fast PCR 2X (Takara-Clontech), 4 µL de ADN genómico (5 ng µL⁻¹), 1 µL de cada cebador *forward* y *reverse* (a una concentración de 5 µM), y 4 µL de agua libre de nucleasas. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Labnet MultiGene OptiMax con las siguientes condiciones: un paso inicial de 4 minutos a 94 °C, 30 ciclos de 45 segundos a 94 °C, 45 segundos de temperatura de anillamiento (Ta) (ver cuadro 2) y 45 segundos a 72 °C, seguido por un paso de extensión final de 10 minutos a 72 °C. Para la detección de los alelos (por electroforesis capilar), los cebadores *forward* se marcaron con un fluoróforo 5'-FAM y 5' HEX y los productos de PCR fueron obtenidos con un analizador genético ABI3730XL (Applied Biosystems); para comprobar el tamaño de los alelos se utilizó un marcador estándar Gene Scan™ 400 HD™ Rox (Applied Biosystems). Los tamaños de los alelos se observaron y registraron mediante el *software Peak Scanner* (Applied Biosystems, versión 1.0).

Análisis de datos. Se analizó la posibilidad de detectar alelos nulos en cada locus usando el programa MICRO-CHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004). Para cada población y locus se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), y desequilibrio de ligamiento (LD) entre todos los pares de loci utilizando el *software Arlequin* v. 3.1

Cuadro 2. Descripción de cebadores microsatélites usados en cuatro poblaciones de *Prosopis chilensis*.

Description of microsatellite primers used in four populations of *Prosopis chilensis*.

Locus	Secuencia ADN (5' – 3') y fluoróforo (FAM, HEX)	Motivo	Ta (°C)	Referencias
GL8	F: 5'-FAM-CAGGTGGGCATGAAGTTTCC-3' R: 5'-CCAAGAACAACCTGCCGAAG-3'	(AT) ₁₂	58	Bessegua <i>et al.</i> (2013)
GL21	F: 5'-HEX-ATCTCCGTCACAACCTTGCAC-3' R: 5'-ACCCTCACTCCCGAATGATG-3'	(AG) ₅	58	Bessegua <i>et al.</i> (2013)
Mo13	F: 5'-FAM-TTGATTAGAGTTGCATGTGGATG-3' R: 5'-TGCAGTCCCAAGTGTCTCAGAG-3'	(GT) ₁₀ CT(GT) ₂	58	Mottura <i>et al.</i> (2005)
GL15	F: 5'-FAM-GTGTATGGTCCCAACAGCC-3' R: 5'-TGAAGAGGGAGGAATCGCAG-3'	(AG) ₁₂	58	Bessegua <i>et al.</i> (2013)
Mo08	F: 5'-HEX-TATCCTAAACGCCGGGCTAC-3' R: 5'-TCCCATTCATGCATACTTAAACC-3'	(AC) ₉	59	Mottura <i>et al.</i> (2005)
Mo16	F: 5'-FAM-CATTGCCCAATATCACTCC-3' R: 5'-GGGTCCATCCAGAGTAGTGG-3'	(CA) ₃₂	60	Mottura <i>et al.</i> (2005)
Mo05	F: 5'-HEX-AATTCTGCAGTCTCTTCGCC-3' R: 5'-GATCCCTCGTGACTCCTCAG-3'	(CT) ₃ T(CT) ₂	64	Mottura <i>et al.</i> (2005)

(Excoffier *et al.* 2005) y FSTAT v. 2. 9. 3 (Goudet 2001). El HWE se evaluó usando 10.000 iteraciones de simulación y la prueba de LD se llevó a cabo con 9.999 permutaciones. Se calculó el número total de alelos por locus (Na), número efectivo de alelos (Ne), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He), alelo privado (AP), el índice de diversidad de Shannon (I) y los parámetros estadísticos F de Wright (F_{IS}, F_{IT} y F_{ST}) utilizando el software FSTAT v. 2. 9. 3 (Goudet 2001) y Arlequin v. 3.1 (Excoffier *et al.* 2005). Los valores de F_{ST} de la población por pares se realizaron en 1.000 permutaciones. El contenido de información polimórfica (PIC) para cada locus SSR se estimó mediante la fórmula: $PIC = 1 - \sum p_i^2$, donde p_i son las frecuencias de los diferentes alelos detectados en el locus. Para estimar la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones se calculó el análisis no paramétrico de la prueba de la varianza molecular (AMOVA) usando GenAlex v. 6.5 (Peakall y Smouse 2012) con 1.000 permutaciones. Como técnica de análisis de grupos, se realizó un análisis multivariado mediante Escalamiento Multidimensional (EMD) utilizando el programa PAST (Hammer *et al.* 2001).

Se evaluó el aislamiento por distancia mediante la prueba de Mantel entre las distancias genéticas y distancias geográficas utilizando el software GenAlex v. 6.5 (Peakall y Smouse 2012), llevándose a cabo con 1.000 permutaciones. La estructura genética de los 48 individuos de *P. chilensis* se determinó mediante un análisis de conglomerado bayesiano, utilizando el software STRUCTURE v.2.3 (Pritchard *et al.* 2000). Para el análisis, se usó un modelo de mezcla con frecuencias alélicas correlacionadas sin la opción LocPrior. El número óptimo de subpoblaciones (K) se identificó después de tres ejecuciones independientes para cada valor “K” que osciló entre 1 y 4, con un período

burn-in de 200.000 repeticiones, seguido de repeticiones de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) de 350.000 repeticiones. Fueron examinados dos criterios con valores medios de probabilidad logarítmica: L(K) y delta K (ΔK), para encontrar los valores apropiados de K. Se procesaron los datos para identificar los grupos óptimos (K) utilizando el programa web STRUCTURE HARVESTER (Earl y Vonholdt 2012).

RESULTADOS

Una prueba de desequilibrio de ligamiento (LD) para cada población detectó una desviación de equilibrio significativa en 5 de 56 combinaciones de loci, con un nivel de significancia del 5 %. Sin embargo, ninguno de estos pares de loci SSR con desequilibrio de ligamiento fue significativo después de aplicada la corrección de Bonferroni. En todos los loci hubo ausencia de alelos nulos, aplicando el programa MICRO-CHECKER. Un total de 53 alelos fueron detectados entre los individuos de *P. chilensis*. El número de alelos generados por cada marcador SSR varió de 2 a 11 con un promedio de 7,5 alelos por locus (cuadro 3). El mayor número de alelos se observó en el locus Mo16 (11 alelos) y el menor número de alelos se observó en el locus Mo05 (2 alelos) (cuadro 3). El tamaño de los fragmentos amplificados osciló entre 168 a 200 pb (GL8), 214 a 234 pb (GL21), 218 a 240 pb (Mo13), 194 a 216 pb (GL15), 214 a 222 pb (Mo08), 145 a 165 pb (Mo16) y 216 a 218 pb (Mo05). El valor PIC estuvo en el rango de 0,057 (Mo05) a 0,847 (Mo16) con un PIC medio de 0,636 para todos los loci (cuadro 3). El número efectivo de alelos para cada locus varió de 1,063 a 5,821, con un promedio de 3,446. La heterocigosidad esperada osciló entre 0,820 en el locus Mo16 y 0,056 en el locus Mo05, con un promedio

de 0,610 para todos los loci. La heterocigosidad observada varió de 0,801 en el locus Mo13 a 0,000 en el locus Mo05, con un promedio de 0,588 para todos los loci (cuadro 3). Se detectó una significativa ($P < 0,05$) desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) en los loci Mo16 y Mo05 en la mayoría de las poblaciones, y una significativa desviación de HWE ($P < 0,1$) del locus Mo18 en la población ENDO. El coeficiente de endogamia (FIS) varió desde -0,171 (Mo13) a 1,000 (Mo05), con un promedio de 0,156 para todos los loci. La diferenciación genética (FST) de los loci individuales varió de 0,026 (GL15) hasta 0,074 (Mo13), y promedió un valor de 0,042 para todos los loci. Por otro lado, el coeficiente de endogamia total (FIT) varió desde -0,084 (Mo13) a 1,000 (Mo05), con un promedio de 0,194 para todos los loci (cuadro 3).

Se observaron alelos privados exclusivos para las poblaciones HUPE (AP = 5), LAPO (AP = 4) y ANDE (AP = 3), pero no se encontraron en la población ENDO (cuadro 4). El índice de Shannon (I) varió entre 1,101 en la población ENDO a 1,360 en la población HUPE. El valor más alto de $H_o = 0,642 \pm 0,301$ se observó en LAPO, mientras que el valor más bajo se encontró en la población ANDE ($H_o = 0,514 \pm 0,232$). El valor de H_e estimado más alto dentro

se detectó en población LAPO ($0,660 \pm 0,307$), mientras que el valor más bajo se detectó en ANDE ($0,629 \pm 0,231$). Para todas las poblaciones analizadas, la heterocigosidad promedio observada fue menor que la heterocigosidad esperada

El coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada población varió entre 0,028 y 0,103, lo que indica en general una deficiencia de heterocigotos, y se encontró un significativo F_{IS} ($F_{IS} = 0,188$; $P < 0,001$) en la población ANDE. El valor de F_{ST} osciló en -0,023 y 0,024 para las poblaciones LAPO y ANDE, respectivamente (cuadro 4). Los valores de diferenciación genética se calcularon entre pares de poblaciones, donde hubo una baja diferenciación genética ($F_{ST} = 0,030$) significativa ($P < 0,05$) solo entre las poblaciones HUPE y LAPO (cuadro 5).

El análisis AMOVA reveló que la mayor cantidad de variación genética se encontró entre los individuos (90,78 %; $P = 0,0001$), y una muy baja variación genética entre poblaciones de *P. chilensis* (0,16 %; $P = 1,000$), lo que demuestra una baja diferenciación genética entre las cuatro poblaciones ($F_{ST} = 0,0015$; $P = 1,000$) (cuadro 6). El promedio de coeficiente de endogamia (F_{IS}) y el coeficiente de endogamia total (F_{IT}) fue significativo, cuyos valores fueron 0,0907

Cuadro 3. Estadísticas de diversidad de siete loci SSR utilizados en 48 individuos de *Prosopis chilensis*.

Diversity statistics of seven SSR loci used in 48 individuals of *Prosopis chilensis*.

Locus	Na	PIC	Ne	Ho	He	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
GL8	10	0,778	4,173 ($\pm 0,592$)	0,789 ($\pm 0,072$)	0,740 ($\pm 0,048$)	-0,066 ns	0,049 ns	-0,014 ns
GL21	7	0,625	2,629 ($\pm 0,323$)	0,672 ($\pm 0,054$)	0,604 ($\pm 0,042$)	-0,113 ns	0,033 ns	-0,076 ns
Mo13	8	0,738	3,329 ($\pm 0,425$)	0,801 ($\pm 0,128$)	0,684 ($\pm 0,041$)	-0,171 ns	0,074 *	-0,084 ns
GL15	10	0,794	4,525 ($\pm 0,368$)	0,793 ($\pm 0,017$)	0,774 ($\pm 0,020$)	-0,024 ns	0,026 ns	0,002 ns
Mo08	5	0,618	2,581 ($\pm 0,342$)	0,500 ($\pm 0,062$)	0,588 ($\pm 0,063$)	0,150 **	0,049 ns	0,192 **
Mo16	11	0,847	5,821 ($\pm 0,762$)	0,562 ($\pm 0,088$)	0,820 ($\pm 0,020$)	0,315 ***	0,032 ns	0,337 ***
Mo05	2	0,057	1,063 ($\pm 0,037$)	0,000 ($\pm 0,000$)	0,056 ($\pm 0,033$)	1,000 ***	0,032 ns	1,000 ***
Promedio	7,5 ($\pm 0,037$)	0,636 ($\pm 0,258$)	3,446 ($\pm 0,316$)	0,588 ($\pm 0,056$)	0,610 ($\pm 0,048$)	0,156 ($\pm 0,154$)	0,042 ($\pm 0,006$)	0,194 ($\pm 0,146$)

P -valor: * $P < 0,10$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,0001$; ns = no significativo.

Cuadro 4. Estadística de diversidad de cuatro poblaciones de *Prosopis chilensis*.

Statistics of diversity of four populations of *Prosopis chilensis*.

Población	n	Ap	I	Ho	He	F_{IS}	F_{ST}
LAPO	8	4	1,327 ($\pm 0,275$)	0,642 ($\pm 0,301$)	0,660 ($\pm 0,307$)	0,028 ns	-0,023 ns
HUPE	19	5	1,360 ($\pm 0,220$)	0,624 ($\pm 0,276$)	0,647 ($\pm 0,239$)	0,037 ns	-0,004 ns
ANDE	15	3	1,288 ($\pm 0,212$)	0,514 ($\pm 0,232$)	0,629 ($\pm 0,231$)	0,188 **	0,024 ns
ENDO	6	0	1,101 ($\pm 0,196$)	0,571 ($\pm 0,331$)	0,632 ($\pm 0,267$)	0,104 ns	0,020 ns

P -valor: * $P < 0,10$; ** $P < 0,001$; ns = no significativo.

($P < 0,01$) y 0,0921 ($P < 0,0001$), respectivamente (cuadro 6). El análisis multivariado EMD mostró un solo agrupamiento, encontrándose mezclados individuos de *P. chilensis* de distintas poblaciones (figura 1). Usando la prueba de Mantel, se observó que los 48 individuos de *P. chilensis* presentaron ausencia de correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica ($r^2 = 0,0001$; $P = 0,480$), no revelando aislamiento por distancia (figura 2). En cuanto al análisis de estructura genética, para encontrar el valor K real se usaron dos criterios: en la figura 3A se puede observar el valor máximo L(K) $K = 1$ que luego en las siguientes simulaciones disminuyó notablemente con una alta varianza entre ejecuciones; por otro lado, de acuerdo al otro criterio, se pudo observar un ΔK alto, con un valor $K = 3$ en la figura 3B. En la figura 4 se observa la estructura de individuos de *P. chilensis* con un valor $K = 3$, mostrando una misma estructura para todas las poblaciones.

DISCUSIÓN

El presente estudio evalúa la variabilidad genética y diversidad de poblaciones de *P. chilensis* de dos provincias de la zona central de Chile, dado que se reconoce como la zona de mayor distribución de esta especie. Los resultados basados en análisis de 48 individuos de *P. chilensis* a partir de siete loci SSR muestran una moderada diversidad y una baja diferenciación genética entre poblaciones de la Pro-

vincia de Chacabuco y San Felipe de Aconcagua. En este estudio seis loci microsatélites muestran un alto polimorfismo, sin embargo, un bajo polimorfismo se observa en un locus (Mo05). De acuerdo a Mottura *et al.* (2005), el locus Mo05 también muestra bajo polimorfismo en *P. chilensis*, revelando solo tres alelos en 20 individuos del Chaco de Argentina, mientras en la presente investigación se confirman dos alelos en 48 individuos. Por el contrario, Moncada *et al.* (2019) en poblaciones de *P. chilensis* de la Región de Coquimbo evidenciaron, en general, más alelos que en nuestro estudio, observando 10 alelos en el locus Mo08, 8 alelos en el locus Mo13 y 5 alelos en el locus Mo05, este último con un rango de 204 a 216 pb, presenta un pseudogen (alelo 204), debido a que el mínimo tamaño de este fragmento es de 209 pb. Por otro lado, el estudio de Mottura *et al.* (2005) encontró cinco alelos en el locus Mo16, mientras que en el presente trabajo se detecta 11 alelos, sin embargo, se analiza un número mayor de individuos comparado con el trabajo de Mottura *et al.* (2005). En cuanto a los microsatélites exhibidos por Bessega *et al.* (2013), usando hasta 10 individuos de *P. chilensis*, estos autores descubrieron 6, 4 y 2 alelos con los loci GL8, GL15 y GL21, respectivamente, mientras que en el presente estudio se detecta 10, 10 y 7 con los mismos loci, respectivamente, encontrando, por lo tanto, mayor cantidad de alelos en las poblaciones chilenas.

De acuerdo a Mottura *et al.* (2005), *P. chilensis* y *P. flexuosa* son especies que están estrechamente relacionadas. Por lo mismo y debido a que hay escasos estudios genéticos de poblaciones de *P. chilensis*, se podría usar como medio de comparación información de la especie *P. flexuosa*. En poblaciones de *P. chilensis* del presente estudio se observa en promedio 7,5 alelos usando siete loci SSR, mientras que (Bessega *et al.* 2017) en poblaciones de *P. flexuosa* obtuvieron 7,9 alelos promedio de 8 loci SSR; cabe indicar que entre los dos estudios hay cuatro loci afines (Mo08, GL21, GL15 y Mo13). Además, los valores PIC de loci SSR observadas en esta investigación (sin considerar Mo05) con *P. chilensis* son altas (valores desde 0,625 a 0,794 para los SSR-GL; desde 0,618 a 0,847 para los SSR-Mo) comparado con los descritos por Bessega *et al.* (2013) con valores entre 0,37 a 0,70 (GL8, GL15 y GL21), Moncada *et al.* (2019) con valores entre 0,49 a

Cuadro 5. Valores F_{ST} de diferenciación genética por pares entre cuatro poblaciones de *Prosopis chilensis*.

Pairwise F_{ST} values of genetic differentiation from four *Prosopis chilensis* populations.

	LAPO	HUPE	ANDE	ENDO
LAPO	-			
HUPE	0,030**	-		
ANDE	0,025 ns	-0,008 ns	-	
ENDO	-0,010 ns	-0,003 ns	0,0003 ns	-

P-valor: ** $P < 0,05$; ns = no significativo.

Cuadro 6. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para cuatro poblaciones de *Prosopis chilensis*.

Molecular variance analysis (AMOVA) for four populations of *Prosopis chilensis*.

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Indíces de fijación	P-valor
Entre poblaciones	3	7,622	0,00351	0,16	FST = 0,0015	1,0000
Entre individuos dentro de poblaciones	44	108,316	0,20482	9,06	FIS = 0,0907	0,0039
Entre individuos	48	98,500	2,05208	90,78	FIT = 0,0921	0,0001
Total	95	214,438	2,26041			

Description of microsatellite primers used in four populations of *Prosopis chilensis*.

0,68 (Mo08, Mo09 y Mo13) y Mottura *et al.* (2005) con valores entre 0,48 a 0,70 (Mo08, Mo13 y Mo16).

La diversidad genética de *P. chilensis* con respecto a la heterocigosidad esperada (H_e) promedio en tres loci (Mo08, Mo13 y Mo16) en individuos del Chaco Argentino (Mottura *et al.* 2005) y la zona central de Chile (0,636 y 0,697, respectivamente) es mayor en los individuos de la zona central de Chile que la región de Argentina. Sin embargo, si se incluye en el cálculo el locus Mo05, la di-

versidad es mayor en el Chaco Argentino. Por otro lado, si se compara entre especies afines, como *P. flexuosa* y *P. chilensis*, la media de la heterocigosidad esperada (H_e) usando cuatro loci (GL15, Mo08, GL21 y Mo13), se obtiene 0,70 (Bessegga *et al.* 2017) y 0,66, respectivamente; siendo levemente mayor la diversidad genética de *P. flexuosa* que *P. chilensis*. Este resultado de mayor predominio de variación genética en *P. flexuosa* que *P. chilensis* también es constatado por Motura *et al.* (2005).

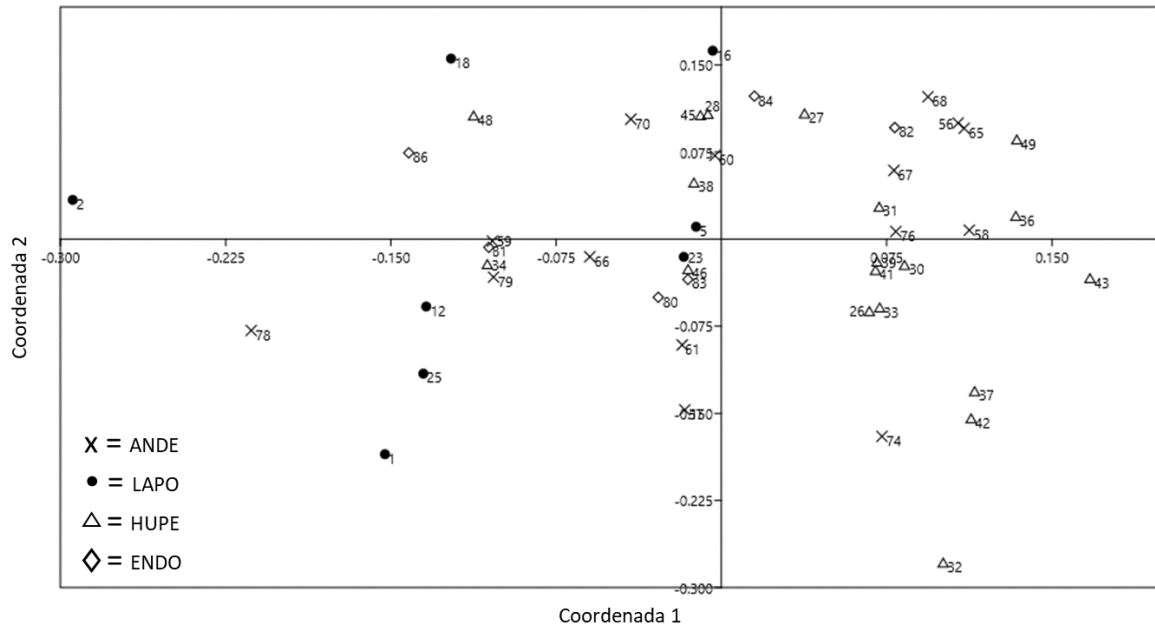


Figura 1. Análisis de Escalamiento Multidimensional (EMD) de 48 individuos de *Prosopis chilensis*, usando siete marcadores SSR.
Analysis of Multidimensional Scaling (MDS) of 48 individuals of *Prosopis chilensis*, using seven SSR markers.

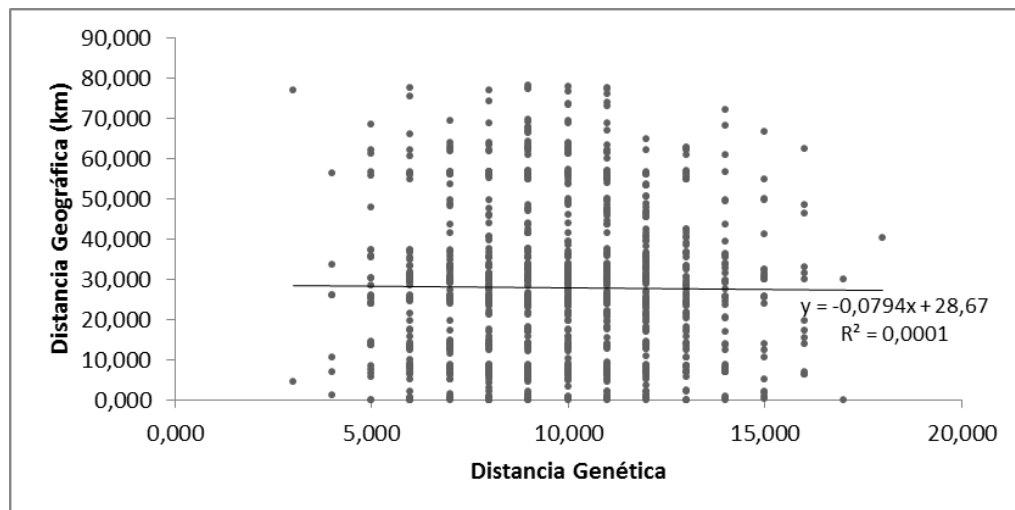


Figura 2. Relación entre distancia genética y distancia geográfica de 48 individuos de *Prosopis chilensis*.
Relationship between genetic distance and geographical distance of 48 individuals of *Prosopis chilensis*.

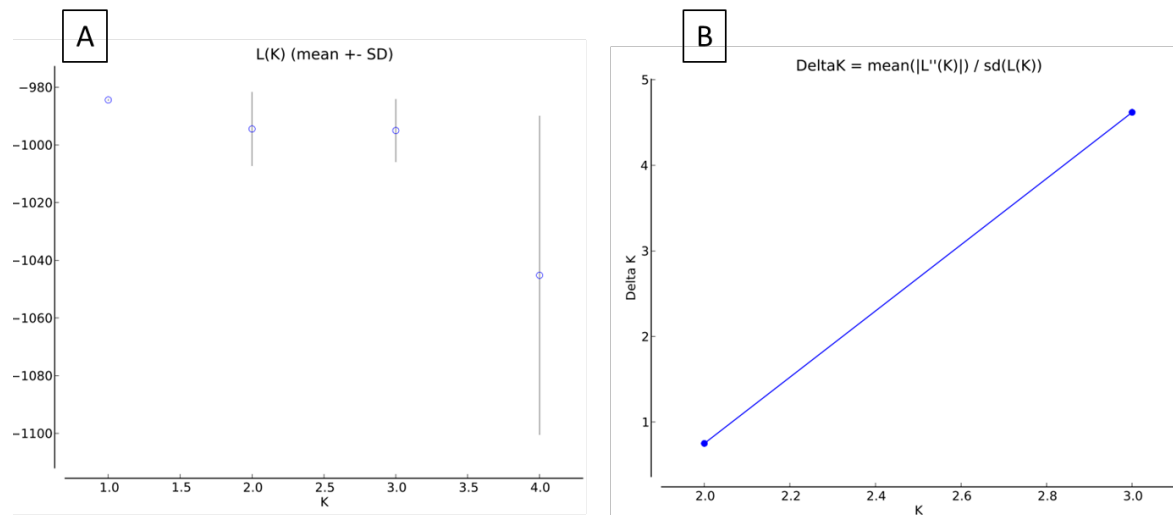


Figura 3: Relación de valores medios de probabilidad logarítmica $L(K)$ (A) y Delta K (B) con valores K .
Relationship of log-likelihood mean values $L(K)$ (A) and Delta K (B) with K values.

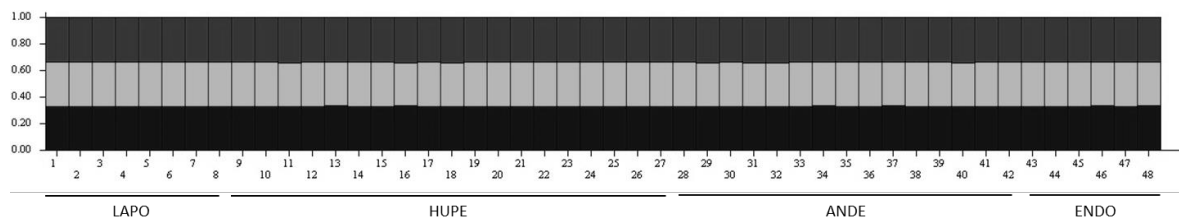


Figura 4. Representación de estructura de individuos de *Prosopis chilensis* de cuatro poblaciones (LAPO, HUPE, ANDE y ENDO) con un valor $K = 3$, realizado por el programa STRUCTURE.

Representation of the structure of *Prosopis chilensis* individuals from four populations (LAPO, HUPE, ANDE and ENDO) with a $K = 3$ value, made by the STRUCTURE program.

Por otro lado, un mayor número de alelos privados (A_p) y un índice de Shannon (I) levemente mayor fue observado en las poblaciones de la Región Metropolitana (LAPO-HUPE) que en poblaciones de la Región de Valparaíso (ANDE-ENDO). Así también se observa diferencias de diversidad genética entre la población LAPO ($H_e = 0,660$), ubicada a menor altitud, y la población ENDO ($H_e = 0,632$), ubicada a mayor altitud. Por lo tanto, la diversidad genética es levemente mayor en la zona baja (LAPO-HUPE) que en la zona alta (ANDE-ENDO). Así también, en poblaciones de la Región de Coquimbo, se encontraron diferencias de niveles de diversidad entre Elqui ($H_e = 0,52$), Limarí ($H_e = 0,55$) y Choapa ($H_e = 0,58$) (Monacada *et al.* 2019). Al igual que en nuestro estudio, se observó una situación similar en una especie arbórea forestal nativa que crece en la zona central de Chile, denominada *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser, especie que evidenció una mayor diversidad genética en los bosques de altitud baja (zona costera) que en bosques de mayor altitud (zona andina) (Muñoz *et*

al. 2013). Sin embargo, de forma inversa, en poblaciones de *P. alba* localizadas en Bolivia, la población establecida a mayor altitud tuvo mayor variabilidad que la población a menor altitud (Bessega *et al.* 2018).

El nivel de diferenciación genética de *P. chilensis* ($F_{ST} = 0,0015$) entre las cuatro poblaciones (LAPO, HUPE, ANDE y ENDO) es baja, lo que concuerda con los resultados del análisis AMOVA (variación entre poblaciones = 0,16; $P = 1,000$). Como la especie *P. chilensis* es de polinización cruzada, la buena circulación de polinizadores quizás permite el alto flujo de polen entre localidades de estas regiones y por ende un mayor flujo de genes. De hecho, las evidencias señalan que la especie *P. chilensis* es auto-incompatible, siendo obligatoria su fertilización cruzada, lo que aseguraría una alta recombinación genética y una amplia variación genética en las poblaciones (Hunziker *et al.* 1986). El alto flujo genético entre *P. chilensis*, *P. flexuosa*, *P. alba* y *P. nigra* ha dado como resultado una alta homogeneidad genética en especies de la sección *Al-*

garobia, mostrando una baja diferenciación genética entre poblaciones y una alta variabilidad dentro de la población (Hunziker *et al.* 1986).

Al igual a la escasa diferenciación genética que se observa en el presente estudio, las estimaciones de variabilidad usando marcadores RAPD en poblaciones de *P. chilensis*, de acuerdo a los resultados de Ferreyra *et al.* (2010), indicaron que la mayor parte de la variabilidad genética se encontró dentro de las poblaciones, existiendo baja diferenciación entre poblaciones y regiones. Lo mismo fue observado con marcadores SSR en poblaciones de *P. chilensis* de la Región de Coquimbo (Moncada *et al.* 2019). Por otro lado, en Bolivia un estudio de caracterización genética de poblaciones de *P. alba* usando 10 loci SSR reveló que la mayor parte de variabilidad genética estuvo contenida dentro de los individuos (99 %), y se observó una baja diferenciación genética entre poblaciones (Bessegá *et al.* 2018). Por otro lado, para evitar el aumento de riesgo de fragmentación, mermar la variabilidad genética e incrementar la endogamia, un estudio recomienda evitar el aislamiento de bosques pequeños (Bessegá *et al.* 2017). Por lo tanto, la información genética capturada en nuestro trabajo a partir de poblaciones de Chacabuco y San Felipe, será útil para conducir planes de conservación y mejoramiento genético en *P. chilensis*.

El análisis STRUCTURE, la prueba de Mantel y el análisis multivariado EMD sugieren que todos los individuos de *P. chilensis* de las cuatro poblaciones son parte de un solo grupo, mostrando una sola estructura poblacional.

El análisis de prueba de Mantel ha revelado una muy baja correlación entre distancia genética y distancia geográfica entre poblaciones de *P. chilensis*, por lo tanto, se podría suponer que no hay aislamiento de poblaciones entre regiones, pudiendo inferirse que, dada la longevidad de la especie, podrían ser individuos remanentes de poblaciones originales. Por otro lado, el análisis con STRUCTURE ha revelado que la estructura genética de las poblaciones de *P. chilensis* no están afectadas geográficamente por barreras naturales o de actividad antrópica, ya que todas las poblaciones presentan la misma estructura. Al parecer la intensa actividad humana, la diferencia de altitud y la distancia geográfica, tanto de la Región Metropolitana y la Región de Valparaíso, no ha afectado la variabilidad genética de poblaciones de *P. chilensis*, llegando a presumir que no existen barreras naturales. Sin embargo, Valdivia y Romero (2013) detectaron que las próximas generaciones poblacionales juveniles de *P. chilensis* de Batuco y Huelpén (zona central de Chile) se verán reducidos progresivamente y contraídos, debido a la irrupción constante de la actividad humana (agricultura y residuos domiciliarios) y por efectos climáticos naturales, como el fenómeno de El Niño, entre otras causas.

Las localidades donde están establecidas las poblaciones de *P. chilensis* en este estudio, como la Provincia de Chacabuco y comunas de los Andes gozan de buen clima y moderada cobertura vegetal, sin embargo, en el De-

sierto de Atacama hay especies como *P. tamarugo*, a la cual se ha observado una baja variabilidad genética. Por otro lado, el cambio climático puede afectar la variabilidad genética de especies como *P. chilensis* y de especies acompañantes, tanto de flora como fauna y del bosque espinoso del cual forman parte. La conservación de la diversidad genética permite que las especies mantengan su potencial para adaptarse a cambios ambientales (Schierenbeck 2017). Se propone entonces buscar diversos grupos de genotipos, para mantener una amplia base genética de la especie. Ya existen algunos estudios que podrían orientar la conservación de ciertos atributos de la especie, como es el caso del estudio de Westphal *et al.* (2015), quienes identificaron variación de genotipos de distinta procedencia en respuesta a tratamientos de estrés salino, siendo más tolerantes los genotipos de la zona norte de Chile.

CONCLUSIONES

En conclusión, existe una moderada diversidad genética de poblaciones de *P. chilensis* entre zonas de menor altitud (LAPO y HUPE) y zonas de mayor altitud (ANDE y ENDO). Por otro lado, los marcadores microsatélites han evidenciado una escasa diferenciación genética entre poblaciones de *P. chilensis* de dos diferentes provincias de la zona central de Chile, presentando además la misma estructura genética. Por lo tanto, para efectos de ampliar los grupos genéticos de esta especie a nivel nacional, se requiere en el futuro continuar con los estudios y planes de conservación para salvaguardar el potencial adaptativo y evolutivo de la especie.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada con fondos de la Universidad de Atacama, el Gobierno Regional de Atacama y el Instituto Forestal (INFOR).

REFERENCIAS

- Aguilar DL, MC Acosta, MC Baranzelli, AN Sérsic, J Delatorre-Herrera, A Verga, A Cosacov. 2020. Ecophylogeography of the disjunct South American xerophytic tree species *Prosopis chilensis* (Fabaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 129(4):793-809. DOI: <https://doi.org/10.1093/bio-linnea/blaa006>
- Bessegá CF, CL Pometti, JT Miller, R Watts, BO Saidman, JC Vilardi. 2013. New microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (Fabaceae). *Applications in Plant Sciences* 1(5):1200324. DOI: <https://doi.org/10.3732/apps.1200324>
- Bessegá C, C Pometti, RP López, D Larrea-Alcázar, RH Fortunato, BO Saidman, JC Vilardi. 2018. Genetic diversity and differentiation among *Prosopis alba* (Leguminosae) populations from dry valleys of Bolivia with different levels of human disturbance and altitude. *Ecology and Evolution* 2018:1-13. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.4610>
- Bessegá C, C Pometti, C Campos, BO Saidman, JC Vilardi. 2017. Implications of mating system and pollen dispersal indices

- for management and conservation of the semi-arid species *Prosopis flexuosa* (Leguminosae). *Forest Ecology and Management* 400:218-227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.06.007>
- Contreras R, V Porcile, F Aguayo. 2019. Microsatellites reveal a high genetic differentiation among native *Geoffroea decorticans* populations in Chilean Atacama Desert. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 54(2):225-240. DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v54.n2.24367>
- Contreras R, F Carevic, V Porcile, M Arias. 2020. Development of SSR loci in *Prosopis tamarugo* Philippi and assessment of their transferability to species of the Strombocarpa section. *Forest Systems* 29(2):e012. DOI: <https://doi.org/10.5424/fs/2020292-16706>
- Earl DA, BM Vonholdt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resource* 4: 359-361. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Excoffier L, G Laval, S Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50. DOI: <https://doi.org/10.1177/117693430500100003>
- Ferreira LI, JC Vilardi, D Tosto, N Julio, BO Saidman. 2010 Adaptive genetic diversity and population structure of the “algarrobo” [*Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz] analysed by RAPD and isozyme markers. *European Journal of Forest Research* 129:1011-1025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10342-010-0386-z>
- González M, M Hormazabal, A Salinas. 2017. Efecto de técnicas de establecimiento sobre el desarrollo inicial de plantaciones de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz) en la zona central de Chile. *Ciencia e Investigación Forestal. Instituto Forestal* 23(2):43-56.
- González EG. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graellsia* 59(2-3):377-388. DOI: <https://doi.org/10.3989/graellsia.2003.v59.i2-3.253>
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9.3. Consultado 29 julio 2019. Disponible en: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Hammer Ø, DAT Harper, PD Ryan. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica*. Consultado 3 ene. 2019. Disponible en: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf
- Hunziker JH, BO Saidman, CA Naranjo, RA Palacios, L Poggio, AD Burghardt. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. *Forest Ecology and Management* 16: 301-315. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90030-7](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90030-7)
- Moncada X, D Plaza, A Stoll, C Payacan, D Seelenfreund, E Martínez, A Bertin, FA Squeo. 2019. Genetic diversity and structure of the vulnerable species *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz in the Coquimbo Region, Chile. *Gayana Botánica* 76(1): 91-104. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-66432019000100091>
- Mottura MC, R Finkeldey, AR Verga, O Gailing. 2005. Development and characterization of microsatellite markers for *Prosopis chilensis* and *Prosopis flexuosa* and cross-species amplification. *Molecular Ecology Notes* 5:487-489. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00965.x>
- Muñoz F, C Muñoz, M Uribe, MA Martín, JR Molina, MA Herrera, JB Álvarez, LM Martín. 2013. Composition, structure and diversity of populations of *Nothofagus glauca* located in the Mediterranean zone of Chile. *Gayana Botánica* 70: 82-91. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-66432013000100009>
- Peakall R, PE Smouse. 2012. GenAlEx 6.5. *Bioinformatics* 28:2537-2539. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pritchard JK, M Stephens, P Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Schierenbeck KA. 2017. Population-level genetic variation and climate change in a biodiversity hotspot. *Annals of Botany* 119: 215-228. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcw214>
- Valdivia C, C Romero. 2013. En la senda de la extinción: el caso del algarrobo *Prosopis chilensis* (Fabaceae) y el bosque espinoso en la Región Metropolitana de Chile central. *Gayana Botánica* 70(1):57-65. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-66432013000100007>
- Van Oosterhout C, WF Hutchinson, DPM Wills, P Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology* 4: 535-538, DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Verzino G, C Carranza, M Ledesma, M Joseau, J DiRienzo. 2003. Adaptive genetic variation of *Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz: Preliminary results from one test-site. *Forest Ecology and Management* 175:119-29. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00124-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00124-X)
- Walter K. 2011. *Prosopis*, an alien among the sacred trees of South India. University of Helsinki Tropical Forestry Reports 38. Consultado 29 jul. 2019. Disponible en: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/24969/prosopis.pdf?sequence=1>
- Westphal C, P Gachón, J Bravo J, et al. 2015. The potential of Algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz) for regeneration of desertified soils: assessing seed germination under saline conditions. *Environmental Management* 56:209-220. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00267-015-0490-4>

Recibido: 28/04/21

Aceptado: 05/11/21

APÉNDICE

Apéndice 1. Coordenadas geográficas de 48 individuos de *Prosopis chilensis*.

N° Muestra	Provincia	Latitud	Longitud	Altitud
1	Chacabuco	33° 16' 17.371" S	70° 53' 23.342" W	475
2	Chacabuco	33° 15' 56.568" S	70° 53' 37.811" W	483
5	Chacabuco	33° 15' 39.836" S	70° 53' 36.484" W	497
12	Chacabuco	33° 9' 45.523" S	70° 53' 37.888" W	529
16	Chacabuco	33° 11' 26.214" S	70° 52' 45.457" W	520
18	Chacabuco	33° 11' 0.447" S	70° 52' 34.019" W	522
23	Chacabuco	33° 8' 37.527" S	70° 51' 7.694" W	541
25	Chacabuco	33° 8' 39.837" S	70° 51' 2.995" W	541
26	Chacabuco	33° 5' 6.631" S	70° 47' 54.716" W	553
27	Chacabuco	33° 5' 6.745" S	70° 47' 53.523" W	572
28	Chacabuco	33° 5' 6.267" S	70° 47' 55.172" W	573
30	Chacabuco	33° 5' 6.168" S	70° 48' 4.271" W	572
31	Chacabuco	33° 5' 10.282" S	70° 48' 0.421" W	574
32	Chacabuco	33° 5' 31.916" S	70° 43' 54.477" W	624
33	Chacabuco	33° 5' 31.412" S	70° 43' 55.701" W	624
34	Chacabuco	33° 5' 31.666" S	70° 43' 51.386" W	624
36	Chacabuco	33° 5' 31.883" S	70° 43' 38.084" W	629
37	Chacabuco	33° 5' 32.592" S	70° 43' 31.425" W	632
38	Chacabuco	33° 8' 49.789" S	70° 39' 35.417" W	719
39	Chacabuco	33° 8' 29.224" S	70° 39' 43.713" W	716
41	Chacabuco	33° 8' 9.7" S	70° 39' 59.128" W	702
42	Chacabuco	33° 8' 41.966" S	70° 40' 9.348" W	698
43	Chacabuco	33° 8' 41.995" S	70° 39' 50.167" W	705
45	Chacabuco	33° 5' 26.527" S	70° 39' 7.41" W	819
46	Chacabuco	33° 5' 26.056" S	70° 39' 6.167" W	820
48	Chacabuco	33° 5' 25.376" S	70° 39' 8.507" W	815
49	Chacabuco	33° 5' 25.658" S	70° 39' 9.322" W	813
56	San Felipe	32° 52' 33.152" S	70° 38' 34.55" W	779
57	San Felipe	32° 52' 40.89" S	70° 38' 31.269" W	778
58	San Felipe	32° 52' 40.266" S	70° 37' 14.686" W	803
59	San Felipe	32° 52' 40.083" S	70° 37' 13.798" W	802
60	San Felipe	32° 52' 40.058" S	70° 37' 13.182" W	801
61	San Felipe	32° 52' 39.976" S	70° 37' 12.026" W	803
65	San Felipe	32° 49' 59.14" S	70° 34' 4.846" W	875
66	San Felipe	32° 49' 43.12" S	70° 34' 3.218" W	882
67	San Felipe	32° 49' 58.94" S	70° 34' 5.266" W	874
68	San Felipe	32° 53' 13.724" S	70° 31' 48.81" W	1097

Continúa

Apéndice 1. Continuación

70	San Felipe	32° 53' 14.749" S	70° 31' 49.982" W	1097
74	San Felipe	32° 52' 18.456" S	70° 41' 45.808" W	747
76	San Felipe	32° 52' 18.179" S	70° 41' 47.072" W	747
78	San Felipe	32° 51' 48.018" S	70° 41' 37.342" W	739
79	San Felipe	32° 52' 3.126" S	70° 41' 43.785" W	744
80	San Felipe	32° 34' 52.855" S	70° 42' 0.783" W	925
81	San Felipe	32° 34' 58.535" S	70° 42' 5.722" W	921
82	San Felipe	32° 35' 5.503" S	70° 42' 11.453" W	914
83	San Felipe	32° 35' 11.703" S	70° 42' 16.365" W	911
84	San Felipe	32° 35' 22.417" S	70° 42' 28.38" W	900
86	San Felipe	32° 35' 51.47" S	70° 42' 50.335" W	885