



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES



Carrera de Ciencias Biológicas

**Estudio indirecto del sistema de fecundación en una
población natural de *Prosopis flexuosa* (Leguminosae)
del desierto de Atacama (Chile)**

Tesis de Licenciatura

Catalina Chan

Directora de tesis: Dra. Cecilia Bessega

Lugar de trabajo: Laboratorio de Genética, Departamento de Ecología, Genética y Evolución (DEGE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

Agosto 2023

Catalina Chan

Catalina Chan

Cecilia Bessega

Cecilia Bessega

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
ÁREA DE MUESTREO Y COLECCIÓN	13
EXTRACCIÓN DE ADN Y AMPLIFICACIÓN DE SSR	14
ANÁLISIS DE DATOS	15
<i>Diversidad genética, índice de fijación y análisis molecular de la varianza (AMOVA)</i>	15
<i>Sistema de fecundación</i>	15
<i>Coancestrías, varianza del tamaño poblacional efectivo</i>	16
RESULTADOS	17
DIVERSIDAD GENÉTICA, ÍNDICE DE FIJACIÓN Y ANÁLISIS MOLECULAR DE LA VARIANZA (AMOVA).....	17
SISTEMA DE FECUNDACIÓN	18
COANCESTRÍAS, VARIANZA DEL TAMAÑO POBLACIONAL EFECTIVO.....	19
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	21
ANEXO	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

AGRADECIMIENTOS

A Ceci, por estar siempre presente para orientarme, aconsejarme y acompañarme en cada paso de este proceso.

A la Universidad de Buenos Aires, por promover y alentar mi inicio en la investigación científica mediante la beca UBACyT Estímulo, y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por guiarme en mi formación como bióloga.

Al Departamento de Ecología, Genética y Evolución, por el espacio de trabajo.

A los organismos de Ciencia y Técnica de Argentina y Chile por hacer posible este trabajo a través de los siguientes proyectos de investigación:

- Estudios genético-poblacionales en especies de *Acacia* y *Prosopis* (Leguminosae): implicancias para el manejo, la restauración de zonas áridas y el mejoramiento genético. UBACyT 20020190200106BA.
- Análisis genético-poblacionales en especies de los géneros *Acacia* y *Prosopis* (Leguminosae): estudio del sistema de fecundación, estructura poblacional y evidencias de selección natural en especies nativas de ambos géneros. CONICET PIP 11220200100477CO.
- Estudios genético-poblacionales en especies pertenecientes a los géneros *Acacia* y *Prosopis* (Leguminosae). ANPCyT PICT-2020-SERIEA-01402.
- Una revolución verde en el Desierto de Atacama pre-Colombino? La Ecología Histórica de los bosques de *Prosopis* spp. y *Geoffroea decorticans* en el Desierto de Atacama Chileno. FONDECYT 11180805, Chile.
- Millenium Nucleus of Applied Historical Ecology for Arid Forest (AFOREST). ANyD Chile NCS2022-024.

A mis amigos: a los que me dio la Facultad, por hacer infinitamente más amenos estos años; y a quienes conozco hace más tiempo, por su cariño y compañía en todo momento.

Y a mi mamá, papá, hermanos y abuelos, por su amor y apoyo incondicional, y porque sé que siempre puedo contar con ellos.

RESUMEN

El desierto de Atacama, en el norte Chile, es considerado el desierto más antiguo y seco del mundo, en donde es posible encontrar ciertas especies vegetales en zonas aisladas, pequeñas y acotadas a regiones con disponibilidad de agua. El grado de conectividad dentro y entre estas poblaciones naturales depende de las barreras impuestas por el paisaje y de su capacidad de dispersión de polen y semilla. *Prosopis flexuosa* (Leguminosae) es una de las especies que habitan en este desierto y que presenta alta importancia económica y ecológica. Dado que conocer el sistema de fecundación de una especie resulta relevante para los programas de conservación genética, manejo y reforestación ambiental, el objetivo general de este trabajo es analizar la variabilidad genética y sistema de fecundación en una población de *P. flexuosa* de la región del río Loa, Quillagua, Atacama. Bajo la hipótesis de trabajo que señala que *los genotipos correspondientes a distintos marcadores moleculares considerando su distribución familiar permiten determinar los patrones reproductivos*, se analizaron mediante cuatro marcadores microsatélites individuos pertenecientes a dos cohortes (madres y progenie) de seis familias geo-referenciadas. Se evaluaron parámetros de diversidad genética en ambas cohortes y el sistema de fecundación considerando un modelo mixto. Se analizó la distribución jerárquica de la varianza genética y se estimaron las coancestrías y la varianza del tamaño poblacional efectivo para estimar el número de árboles semilleros necesarios con propósitos de conservación y manejo.

Los resultados indican niveles altos de diversidad genética en ambas cohortes de acuerdo a las estimas de heterocigosis y riqueza alélica obtenidas ($H_E = 0.67$ y 0.65 ; $A_r = 3.8$ y 3.7), identificándose que la proporción de individuos heterocigotas observados en la población adulta es mayor a la esperada de acuerdo a Hardy-Weinberg ($F_{IS} = -0.062$), siendo del modo contrario en la progenie ($F_{IS} = 0.058$). Las tasas de fecundación cruzada a nivel poblacional resultan altas ($t_m = 0.97$, $t_s = 0.85$) con niveles de autofecundación que rondarían el 3% a 15% según el estimador empleado. La diferencia entre t_m y t_s ($t_m - t_s = 0.116$) indica baja ocurrencia de endogamia biparental aunque significativa. La correlación de paternidad por exocruza a nivel global ($r_p = 0.262$) sugiere que cada planta madre sería fecundada por polen proveniente de 3.8 árboles. La proporción de hermanos completos en cada familia disminuye del 89% al 16% cuando se consideran semillas del mismo o diferente fruto. La correlación de las tasas de exogamia dentro de los grupos fraternos es baja y no resulta significativa ($r_f = -0.013$), aunque las plantas madres muestran niveles diferentes de autofecundación (del 25% al 0%) y el análisis jerarquizado de la varianza (AMOVA) indica que solamente la varianza entre familias resulta significativa (17.8%, $p < 0.001$). Las coancestrías promedio estimadas entre individuos relacionados cuando se considera el mismo ($\Theta = 0.234$) o distinto fruto ($\Theta = 0.181$) resultan más altas que lo esperado en una población panmíctica. Además, esta estima varía entre las familias ($\Theta_f = 0.12$ a 0.27) y, consecuentemente, el promedio de la varianza del tamaño poblacional efectivo (N_{ev}) estimada a partir de las coancestrías es de 2.28 y el número de árboles semilleros (m) necesarios para la colección de semillas, intentando retener en la muestra un tamaño efectivo de 100, se estima en un mínimo de 34 plantas. Así, los altos niveles de variabilidad genética y la ocurrencia de fecundación principalmente cruzada con

señales de un defecto de heterocigotas en la etapa de semilla que no se detecta en adultos, apareamiento entre individuos emparentados y una proporción de 75% de medios hermanos, son discutidos y relacionados a la dispersión limitada del polen y semillas y su implicancia para el manejo de este recurso forestal. La comparación del sistema de fecundación de esta población del desierto no difiere sustancialmente de otra población de esta misma especie que habita en una Reserva Natural en Argentina (Ñacuñán) sugiriendo que la baja densidad poblacional y la fragmentación del ambiente no estarían influyendo en su capacidad de apareamiento.

Indirect Study of the Mating System in a Natural Population of *Prosopis flexuosa* (Leguminosae) from the Atacama Desert (Chile)

ABSTRACT

The Atacama Desert, in northern Chile, is considered to be the oldest and driest desert in the world, and within it, certain plant species can be found in small and isolated areas, limited to regions with water availability. The degree of connectivity within and between these natural populations depends on their pollen and seed dispersal abilities as well as the barriers imposed by the landscape. *Prosopis flexuosa* (Leguminosae), a species of high economic and ecological importance, is one of the species that inhabit this desert. Since understanding the mating system of a species is relevant for the genetic conservation, management and environmental reforestation plans, the general objective of this work is to analyze the genetic variability and mating system in a *P. flexuosa* population from the Loa River region in Quillagua, Atacama. Under the working hypothesis that *genotypes corresponding to different molecular markers considering their family distribution allow the determination of reproductive patterns*, individuals belonging to two cohorts (mothers and progeny) of six geo-referenced families were analyzed by means of four microsatellite markers. Genetic diversity parameters of both cohorts were evaluated as well as the mating system considering a mixed mating model. The hierarchical distribution of genetic variance was analyzed and kinship coefficients and effective variance of population size were determined in order to estimate the number of seed trees needed for conservation and management purposes.

The results indicate high levels of genetic diversity in both cohorts according to the estimates of heterozygosity and allelic richness ($H_E = 0.67$ and 0.65 ; $Ar = 3.8$ and 3.7), identifying a tendency towards heterozygote excess relating to Hardy-Weinberg proportions in the adult population ($F_{IS} = -0.062$) and a deficiency in the progeny ($F_{IS} = 0.058$). Outcrossing rates at population level are high ($t_m = 0.97$, $t_s = 0.85$) with selfing levels of 3% to 15% depending on the estimate used. The difference between t_m and t_s ($t_m - t_s = 0.116$) indicates a low, although significant, occurrence of biparental inbreeding. The global outcross paternity correlation ($r_p = 0.262$) suggests that each mother plant would be sired by 3.8 pollen donors. The proportion of full sibs occurring in each family decreases from 89% to 16% when considering seeds from the same or different pods. The correlation of outcrossing rates within families is low and not significant ($r_f = -0.013$), although mother plants show different levels of selfing (from 25% to 0%) and the hierarchical analysis of variance (AMOVA) indicates that only the variance between families is significant (17.8%, $p < 0.001$). Mean kinships estimated between related individuals considering the same ($\Theta = 0.234$) or different pod ($\Theta = 0.181$), are higher than what is expected in a panmictic population. Moreover, kinships vary among families ($\Theta_f = 0.12$ to 0.27) and, consequently, the mean variance of the effective population size (N_{ev}) estimated from the kinships obtained is 2.28 and the number of seed trees (m) needed for seed collection aiming to retain an effective population size of 100, is estimated at a minimum of 34. Thus, the high levels of genetic variability and the occurrence of mainly cross-pollination with signs of

heterozygote deficiency at the seed stage not detected in the adult cohort, mating between related individuals and half-sib progenies representing a 75%, are discussed and related to the limited pollen and seed dispersal and its implication for the management of this forest resource. The mating system of this desert population does not differ substantially from another population of the same species inhabiting a Natural Reserve in Argentina (Ñacuñán), suggesting that the low population density and the environment fragmentation would not be influencing their mating capacity.

INTRODUCCIÓN

El desierto de Atacama es una meseta desértica en América del Sur que cubre 1600 km en la costa del Pacífico, al oeste de la Cordillera de los Andes (19° - 24°). Es considerado el desierto más seco del mundo por su extrema aridez que se debe principalmente a la corriente oceánica de Humboldt. La misma es una corriente fría que fluye paralela a las costas de Chile y sur de Perú hacia el norte como consecuencia de la presencia del fuerte anticiclón del Pacífico Sur que evita las precipitaciones costeras. La aridez, además, se ve intensificada por el Cordón Andino que produce un efecto de sombra de la lluvia debido al bloqueo de la humedad de la cuenca del Amazonas (Houston & Hartley, 2003). Sin embargo, durante el verano, parte de esta humedad pasa sobre los Andes, intensificándose las descargas de agua y el paso a través de flujos profundos y/o sistemas de aguas ribereños poco profundos ó subterráneos (Vuille et al., 2012; Jayne et al., 2016). Si bien el desierto está compuesto en su mayoría por terreno pedregoso, lagos salados (salares), arena y lava félsica que fluye hacia los Andes, éste no está completamente desprovisto de vegetación y algunas especies son capaces de desarrollarse en estas condiciones adversas (Gutiérrez et al., 1998; Ruhm et al., 2020; Gómez-Silva & Batista-García, 2022).

Prosopis es un género perteneciente a la familia Leguminosae, subfamilia Mimosoideae, que incluye árboles y arbustos que se desarrollan en zonas áridas y semiáridas de Asia, África y América, encontrándose el mayor número de especies en este último continente. Incluye 48 especies (Burkart, 1976; Vilela & Palacios, 1998; Palacios, 2006) y, en Sudamérica particularmente, se distribuyen aquellas de las secciones Strombocarpa, Algarobia y Monilicarpa. Recientemente, sobre la base de resultados filogenéticos, se ha propuesto la subdivisión de este género y un cambio para los nombres de las secciones y especies (Hughes et al., 2022). Sin embargo, en este trabajo se seguirá considerando la clasificación propuesta por Burkart (1976) de modo de mantener la estabilidad nomenclatural de grupos taxonómicos de uso histórico a nivel global: Arts. 14.1, 34 y 56 del *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) de 2017* (Turland et al., 2018). Las especies presentan polinización entomófila y la dispersión se da principalmente por pequeños mamíferos nativos, domésticos y exóticos que consumen los frutos y dispersan las semillas en sus heces (Burkart, 1976; Campos & Ojeda, 1997; Maldonado et al., 2014).

La sección Algarobia (algarrobos) es la que presenta más especies (~30), muchas de las cuales revisten importancia ecológica y económica. Se consideran árboles multipropósito, son fijadores de nitrógeno y al ser resistentes a extremas condiciones de sitio (sequía, calor, salinidad en el suelo) pueden crecer en suelos arenosos y contribuir a estabilizar dunas y combatir la desertificación. Muchas especies resultan de utilidad para reforestar zonas áridas degradadas y han sido ampliamente introducidas en regiones áridas y semiáridas del mundo produciendo efectos negativos o positivos en las poblaciones locales (Burkart, 1976; Roig, 1993; Barros, 2010). Los algarrobos son muy apreciados ya que brindan sombra, madera y frutos comestibles (Burkart, 1976; Roig, 1993). La madera, muy dura y de alto valor calórico, es útil como leña y carbón vegetal,

para el armado de muebles y para la construcción. Mientras que las vainas son muy variables entre las especies y se utilizan para alimentación humana y/o forraje, las hojas y semillas se utilizan con fines medicinales y las flores para la producción de miel (Burkart, 1976; Roig, 1993; Cony, 1996; Capparelli, 2007; Pometti et al., 2009).

Las especies de *Prosopis* que habitan el desierto de Atacama pertenecen a la secciones Strombocarpa y Algarobia. Se encuentran sobre el lado oeste de la cordillera de los Andes hasta los 3000 msnm y suelen estar restringidas a zonas discretas y acotadas con descargas de aguas subterráneas y/o riberas de cuencas perennes ó efímeras (Chiappa et al., 1997; Mc Rostie et al., 2017; Bessega et al., 2021). Las especies de la sección Strombocarpa (*P. tamarugo*) y Algarobia (*P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*) han sido descritas en diferentes áreas del desierto, situándose principalmente en la Pampa del Tamarugal, en la región del Loa, y la región del Salar de Atacama (Carevic et al., 2012; Calderon et al., 2015; Contreras et al., 2018; Mc Rostie, 2017; Bessega et al., 2021). Las poblaciones de *Prosopis* en Atacama suelen presentar baja densidad poblacional y estar restringidas a diferentes oasis aislados geográficamente. Los algarrobos, particularmente, en la región de Atacama, han tenido diversos usos a lo largo de la historia que se remontan a tiempos prehispánicos mostrando importancia energética, alimenticia y ritual para culturas indígenas. Además, desde el período colonial revisten importancia económica, al incorporarse su comercialización. Sus troncos eran aprovechados como leña y vigas para edificaciones, sus frutos eran molidos e incorporados en la dieta diaria como ingrediente esencial para la elaboración de panes y otras comidas, o bien eran presentados como ofrendas y usados para elaborar bebidas fermentadas de uso ritual (Martinez, 1998).

El algarrobo dulce, *Prosopis flexuosa* DC (recientemente nombrada *Neltuma flexuosa* (DC.) C.E. Hughes & G.P. Lewis, comb. nov.) es la principal especie arbórea del Monte en Argentina y muy frecuente en la zona más austral del desierto de Atacama (Burkart, 1976; Mc Rostie, 2017; Bessega et al., 2021) pudiendo encontrarse a alturas de 2200 msnm en los Andes (Burkart, 1976). Sus usos, que incluyen sombra, leña, madera para construcción, alimentación y forraje en condiciones desérticas la han convertido en un recurso muy valioso para los habitantes de Atacama, quienes aprovechan conjuntamente las propiedades de los algarrobos y chañares (Martinez, 1998). En las cercanías del río Loa, río exorreico que atraviesa el desierto de Atacama, es posible hallar pequeños bosques constituidos por *P. flexuosa* y los mismos pueden atribuirse al corredor natural y cultural surgido como consecuencia del movimiento de seres humanos, plantas, y animales en el desierto (Nuñez, 1971). Si bien la disponibilidad de agua ha permitido el desarrollo de bosques de *P. flexuosa* en áreas cercanas al río Loa, en los últimos años la zona está siendo afectada por la extracción y contaminación por parte de la industria minera (<https://laderasur.com/articulo/loa-el-rio-que-agoniza-en-el-desierto-chileno/>). En particular, esta especie tiene la ventaja de poder comportarse como freatófita (Roig, 1993; Villagra et al., 2004) o vadosófita (Torres & Zambrano, 2000; Guevara et al., 2010) obteniendo así una ventaja para su desarrollo.

Las poblaciones naturales que viven en desierto de Atacama constituyen un interesante modelo de estudio ya que el grado de conectividad dentro y entre las poblaciones depende de su capacidad de dispersión y de las barreras impuestas por el paisaje. La fragmentación del paisaje, es decir, la división del hábitat en fracciones de menor superficie, puede ser el resultado de la acción conjunta de diversos factores naturales, como las fluctuaciones climáticas y las variaciones en la disponibilidad de recursos, así como también, de factores antrópicos que comprenden el uso exhaustivo del suelo y el avance de la frontera agrícola, la urbanización y la deforestación (Cascante et al., 2002; Jump & Penuelas, 2006; Haddad et al., 2015). Cuando las poblaciones están genéticamente aisladas, existe riesgo de pérdida de diversidad genética y este proceso puede tener consecuencias críticas en su supervivencia a largo plazo (Sork & Smouse, 2006). Como consecuencia del aislamiento, se espera una pérdida inmediata de alelos debido a la reducción de las poblaciones con el incremento de la ocurrencia de endogamia. Asimismo, se espera un aumento de la divergencia poblacional con una disminución de la diversidad genética en los parches dentro de las poblaciones (Lowe et al., 2005).

El sistema de fecundación es el modo en que los individuos, poblaciones, o especies recombinan su variabilidad genética en cada generación para dar lugar a su progenie. La reproducción en las poblaciones de polinización abierta da lugar a individuos con distintas relaciones de parentesco (pudiendo ir desde hermanos por autofecundación hasta medios hermanos (Anexo, Figura 1A) (Squillace, 1974; Ritland, 1989)) reflejándose en los niveles de coancestría observados dentro de las progenies de una misma familia. Entender el sistema de fecundación de las especies implica conocer su composición y la estructura genética de sus poblaciones y familias (Bessega et al., 2000, 2012; Pometti et al., 2013; Wadt et al., 2015; Giustina et al., 2018). El conocimiento profundo del sistema de fecundación de una especie resulta altamente relevante para el manejo de la conservación genética de las poblaciones y para la implementación de planes de reforestación ambiental. A partir del estudio de las relaciones de parentesco dentro de las progenies de una misma familia resulta posible determinar el número de árboles necesarios a ser coleccionados para la recuperación de un determinado ambiente dado que cuanto mayor es el parentesco dentro de las progenies, mayor será la frecuencia de alelos idénticos por descendencia dentro de las familias y, consecuentemente, será necesario un mayor tamaño de muestreo para conservar y recuperar áreas, fundando nuevas poblaciones con tamaños efectivos que garanticen poblaciones con potencial evolutivo.

Los marcadores moleculares como los microsatélites o secuencias simples repetitivas (*Simple Sequence Repeat* - SSR) están ampliamente representados en el genoma de los organismos eucariotas (Tautz & Renz, 1984). Suelen localizarse en regiones de ADN no codificante como las regiones intergénicas o intrónicas, por lo cual se asume que la variación a evaluar sería neutra (Di Rienzo et al., 1994). Dado que su obtención es poco laboriosa y que representan costos relativamente bajos, en los últimos años se han convertido en uno de los marcadores moleculares más ampliamente

utilizados en la detección de polimorfismos (Ellegren, 2004). Su naturaleza codominante y el alto nivel de variación que presentan hace que sean los marcadores elegidos para evaluar los niveles de diversidad, estructuración genética y espacial, sistema de fecundación, y dispersión de polen en especies forestales (Marchelli et al., 2012; Bessega et al., 2012, 2017, 2021; Contreras et al., 2018; Pometti et al., 2018; Goncalves et al., 2019; Moncada et al., 2019; Freres et al., 2021). En particular, utilizando SSR se evaluaron los niveles de variabilidad genética y el sistema de fecundación en una población natural de *P. flexuosa* que habita en un ambiente protegido en Argentina (Reserva de Biósfera Ñacuñán, Mendoza) describiéndose como una población de fecundación cruzada con dispersión de polen reducida (Bessega et al., 2017). Dada la particularidad del paisaje y clima del desierto de Atacama, que limitaría de algún modo el número de especies animales y vegetales presentes, resulta de interés evaluar si los niveles de variabilidad genética y el sistema de fecundación de *P. flexuosa* de esta área difieren de los resultados descritos en la literatura. Grupos de árboles geográficamente aislados, además de poblaciones pequeñas o de baja densidad, tienden a mostrar tasas de autofecundación más altas (Tambarussi et al., 2017; Silvestre et al., 2018). La menor densidad de los bosques que se desarrollan en los oasis del desierto de Atacama en comparación con la densidad de los bosques en áreas protegidas de *P. flexuosa* (Reserva Ñacuñán, Argentina) y las condiciones tan extremas que podrían limitar el desarrollo de un gran número de agentes dispersores permiten esperar niveles reducidos de variación genética y una estrategia reproductiva algo distinta con mayores niveles de autofecundación y como consecuencia mayores niveles de coancestría entre las semillas provenientes de una misma familia.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

De acuerdo con lo anteriormente descrito, el **objetivo** del presente trabajo es analizar la variabilidad genética y sistema de fecundación en una población natural de *Prosopis flexuosa* del desierto de Atacama. Mediante el uso de marcadores moleculares microsatélites se propone realizar estudios genéticos a nivel intra-poblacional de modo de analizar diferencias entre familias y dentro de familias para contribuir en el conocimiento de esta especie con altísima importancia regional y aportar en su conservación y manejo.

Para ello se proponen los siguientes **objetivos particulares**:

- a) Evaluar mediante el uso de microsatélites la variabilidad genética y su distribución en plantas adultas y semillas de una población natural de Quillagua (Chile) considerando tres niveles jerárquicos (familia, fruto e individuo).
- b) Evaluar indirectamente el sistema de fecundación.
- c) Evaluar los niveles de coancestría, varianza del tamaño poblacional efectivo y número de árboles semilleros requeridos con propósitos de conservación.
- d) Discutir los resultados en relación a resultados previos y proponer recomendaciones de manejo del recurso.

La **hipótesis y fundamentación** sobre la que se basa el presente trabajo es:

Los genotipos correspondientes a distintos marcadores moleculares considerando su distribución familiar permiten determinar los patrones reproductivos.

La capacidad de dispersión de una especie forestal depende de los mecanismos de dispersión de polen y semilla y el sistema de fecundación puede variar entre poblaciones de una misma especie. El grado de parentesco entre individuos dentro de las poblaciones puede inferirse a partir de la información proveniente de los marcadores moleculares. Así, es posible evaluar el parentesco promedio entre pares de individuos en función del origen de los mismos (familias), comparar el parentesco dentro y entre familias en una población y estimar la proporción relativa de endogamia y exogamia. Asimismo, los marcadores moleculares permiten estimar los niveles de coancestría dentro de los distintos grupos para luego ser utilizados para la estima de varianza del tamaño poblacional efectivo y el número de árboles semilleros requeridos con propósitos de conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de muestreo y colección

El área de muestreo, Quillagua Sur, es una población situada en la región central del desierto de Atacama (19 - 24°S) en cercanía al río Loa, margen Oeste (Figura 1), que presenta en general pocos árboles de *Prosopis flexuosa* (algarrobo dulce), *Geoffrea decorticans* (chañar), *Schinus molle* (falso pimiento) y *Prosopis tamarugo* (tamarugo). Además, es posible encontrar una gran proporción de arbustos *Baccharis sp.* y *Atriplex sp.*, junto a las especies herbáceas *Distichlis spicata* y *Schoenoplectus sp.* (Gutiérrez et al., 1998; Centro de Ecología Aplicada, Gobierno Regional de Antofagasta, 2020).

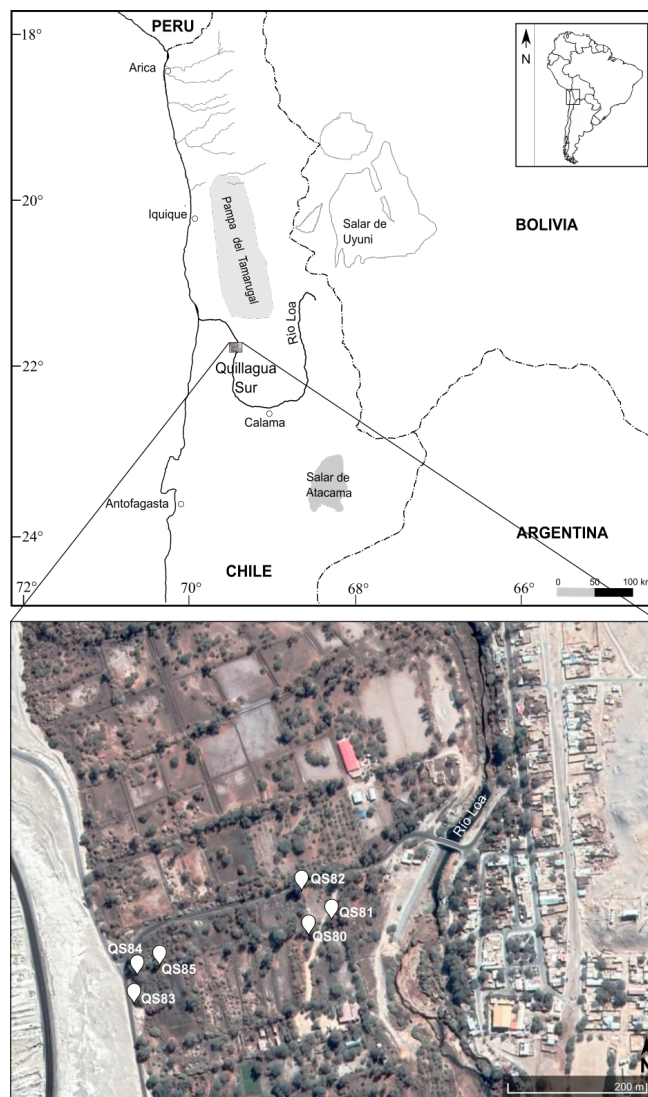


Figura 1. Ubicación del sitio de muestreo (Arriba) y disposición espacial de las familias evaluadas (Abajo). La imagen satelital fue tomada de Google Earth (<https://earth.google.com/web/>).

El material fue coleccionado en enero del 2019 siguiendo la metodología de muestreo descrita en Vilardi et al. (1988) que establece distancias mínimas de colección entre plantas de 50 metros, y teniendo en cuenta la baja densidad de árboles adultos pertenecientes a esta especie distribuidos en la zona. La densidad de árboles adultos estimada en la zona no fue homogénea, variando en las zonas más densas entre 6 y 9 árboles/hectárea. Como consecuencia, se tomaron muestras de 6 plantas adultas y sus vainas separadas por al menos 30-40 metros.

Teniendo en cuenta que entre las plantas madres se da una polinización abierta, dos semillas coleccionadas de una misma planta podrían corresponder a i) hermanos completos por autofecundación (SFS), ii) hermanos completos (FS), iii) medios hermanos (HS) o iv) medios hermanos por autofecundación y cruzamiento (SHS) (Squillace, 1974; Ritland, 1989) (Anexo, Figura 1A).

Cada planta madre fue geo-localizada y se tomó material de hojas que fue preservado en sílica gel hasta el momento de su uso. Se tomaron al azar 10 vainas por planta madre y se conservaron para su germinación evitando el ataque de insectos y hongos conservando las mismas en frío (-20°C) hasta el momento de su uso.

La determinación del material biológico fue realizado por la Ing. R. Fortunato (Instituto Darwinion) y cada ejemplar estudiado fue depositado en el herbario de INTA, Hurlingham BAB, Buenos Aires, Argentina. Las semillas fueron puestas a germinar de acuerdo a la metodología descrita por Saidman (1985), controlando la temperatura y humedad y registrando la planta de origen (familia) y vaina. Una vez ocurrida la germinación, se esperó hasta el día 5 (estado de cotiledones verdes) para el posterior análisis. Las semillas empleadas dentro de cada vaina y familia fueron elegidas al azar. Se analizó un total de 8 semillas por familia y 6 plantas madres, resultando en un total de 54 individuos.

Extracción de ADN y amplificación de SSR

El ADN genómico total fue aislado en plantas adultas y progenie utilizando un kit comercial (DNeasy Plant Mini Kit – QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA). La calidad y cantidad del ADN fue revisada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio y utilizando un marcador de peso molecular y cantidad conocida.

Se realizó la amplificación de 4 *loci* microsatélites (SSR) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) siguiendo la metodología descrita por Bessega et al. (2009; 2013). Los *primers* utilizados para genotipificar ambas cohortes fueron: MO08 y MO09 descritos por Mottura et al. (2005) y GL9 y GL12 desarrollados por Bessega et al. (2013) marcados con los fluoróforos FAM y HEX (detalles en Anexo, Tabla 1A).

Las amplificaciones se llevaron a cabo en un volumen de reacción de 50 µl, conteniendo entre 10 y 30 ng de ADN, 0.6 µM de cada *primer*, 0.2 mM dNTPs, 0.3 U de taq DNA polimerasa Pegasus (PB-L Productos Bio-Lógicos SA, Buenos Aires, Argentina), 1.5 mM MgCl₂. Se utilizó un termociclador modelo T100 (Life Science Research, BioRad) con el siguiente perfil de ciclado: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35

ciclos de desnaturalización a 94°C por 45 seg, otros 45 seg a la temperatura específica de pegado del *primer* ($T_A = 58-59^\circ\text{C}$) y una extensión a 72°C por 45 seg. Por último, un paso de extensión final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR fueron corridos en un secuenciador automático por la empresa MacroGen Inc. (<https://dna.macrogen.com/>) y analizados utilizando GeneMarker versión 1.9 (SoftGenetics LLCTM, www.softgenetics.com). La lectura de cromatogramas permitió construir una matriz básica de datos incluyendo 4 *loci* y 54 individuos correspondientes de 2 cohortes (plantas madres y progenie).

Análisis de datos

Diversidad genética, índice de fijación y análisis molecular de la varianza (AMOVA)

La variabilidad genética fue cuantificada en ambas cohortes a través del número (A) y proporción (%) de alelos observados, riqueza alélica (A_r), heterocigosis observada y esperada (H_O y H_E) utilizando el paquete 'diveRsity' (Keenan et al., 2013) del programa R (R Core Team, 2022). Con el mismo paquete se estimó además el índice de fijación (F_{IS}) descripto por Wright (1951).

Se realizó una Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA), considerando los siguientes niveles jerárquicos: familia, fruto e individuo. Se evaluaron los componentes de varianza entre familias (o plantas madres), entre frutos dentro de las familias (semillas tomadas de diferentes frutos de cada planta madre) y entre individuos dentro de los frutos (distintas semillas tomadas de cada fruto). Se consideró la varianza dentro de los individuos como fuente de error. Se utilizó la función *poppr.amova* del paquete 'poppr' (Kamvar et al., 2014) del programa R. La significación se obtuvo usando la función *randtest* del paquete 'ade4' (Chessel et al., 2004; Dray & Dufour, 2007; Dray et al., 2007), considerando 2000 permutaciones.

Sistema de fecundación

Se estimó la tasa de fecundación cruzada *multilocus* (t_m) y *singlelocus* (t_s), la correlación de t_m entre familias (r_t) y la correlación de tasas de paternidad (r_p) considerando tres niveles: global, entre frutos y dentro de frutos utilizando el programa MLTRwin (Ritland, 2002). Este programa considera el modelo de apareamiento mixto *multilocus* (Ritland & Jain, 1981), que asume que la progenie es derivada de apareamiento aleatorio por fecundación cruzada (t) o autofecundación (s). La endogamia biparental se estimó siguiendo a Ritland (1990) como t_m-t_s . El número efectivo de dadores de polen sobre las distintas plantas madres fue estimado utilizando la ecuación: $N_{ep} = 1/r_p$ del modelo de apareamiento extendido (*sibling pair model*) (Ritland, 1989).

La proporción de los diferentes tipos de progenies posibles (SFS, FS, HS, SHS) fue estimada teniendo en cuenta las tasas de fecundación cruzada (t_m) y autofecundación (s) siguiendo la propuesta de Sebbenn (2006) y considerando una baja o nula correlación en las tasas de autofecundación entre las progenies. Se consideró que $P_{SFS} = s^2$, $P_{FS} = t_m^2 r_p$, $P_{HS} = t_m^2 (1-r_p)$, $P_{SHS} = 2st_m$ utilizando las estimas de r_p *multilocus*.

Coancestrías, varianza del tamaño poblacional efectivo

Las coancestrías *multilocus* fueron calculadas para cada par de individuos utilizando el estadístico de Loiselle et al. (1995) con el programa SPAGeDi (*Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity*) (Hardy & Vekemans, 2002). Se analizó la coancestría media de la progenie considerando: a) individuos no relacionados, b) individuos relacionados del mismo fruto, c) individuos relacionados de distinto fruto. Los mismos fueron comparados mediante el test no paramétrico de Wilcoxon (W) utilizando el paquete 'coin' (Hothorn et al., 2008) del programa R.

Se calculó también la coancestría promedio dentro de cada familia (Θ_f) considerando los individuos de cada familia por separado. A partir de la misma, se calculó en cada caso la varianza del tamaño poblacional efectivo (N_{ev}) de acuerdo a Cockerham (1969):

$$N_{ev} = \frac{0.5}{\theta_f \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+F_o}{2n}}$$

siendo n el tamaño de la familia y F_o el coeficiente de endogamia de la progenie.

Finalmente, el número de árboles semilleros (m) requeridos con propósitos de conservación y manejo del recurso se estimó como:

$$m = \frac{N_{referencia}}{N_{ev}}$$

donde $N_{referencia}$ corresponde a retener en la muestra un tamaño efectivo de 100 y N_{ev} es el valor promedio de la varianza del tamaño poblacional efectivo estimado (Sebbenn, 2006).

RESULTADOS

Diversidad genética, índice de fijación y análisis molecular de la varianza (AMOVA)

Se genotiparon mediante cuatro *loci* SSR individuos de dos cohortes (plantas madres y progenie) para caracterizar la variabilidad genética (Tabla 1). Todos los *loci* resultaron polimórficos, mostrando entre 4 y 6 alelos por *locus*, con un promedio de 4.5 alelos en la población adulta y 5 en la progenie. La proporción de alelos totales observados resultó algo mayor en la progenie que en las madres. La riqueza alélica varió entre 2.99 y 4.22, cambiando su valor medio de 3.78 a 3.66 entre ambas cohortes. La heterocigosis observada (H_O) fue mayor en la población adulta que en la progenie y esta diferencia puede considerarse significativa dada la falta de solapamiento en sus intervalos de confianza (IC_{95%}). Sin embargo, la heterocigosis esperada (H_E) no difirió significativamente entre ambas generaciones. El índice de fijación (F_{IS}) resultó negativo en el caso de las plantas madres ($F_{IS} = -0.062$) y positivo en el caso de las progenies ($F_{IS} = 0.058$), aunque ambas estimas resultaron no significativas de acuerdo a sus intervalos.

Tabla 1. Listado de microsatélites y variabilidad genética en plantas madres y progenie.

	<i>Locus</i>	N	A	%	<i>Ar</i>	H_O [IC _{95%}]	H_E [IC _{95%}]	F_{IS} [IC _{95%}]
Plantas madres	MO08	6	4	80	3.58	0.67	0.68	0.02
	MO09	6	5	83.33	4.22	0.67	0.75	0.111
	GL9	6	5	100	3.67	0.67	0.53	-0.263*
	GL12	6	4	80	3.64	0.83	0.71	-0.176
	Promedio	6	4.5	85.83	3.78	0.71 [0.68-0.74]	0.67 [0.63-0.71]	-0.062 [-0.369 – 0.151]
Progenie	MO08	44	4	80	2.99	0.59	0.56	-0.051
	MO09	44	6	100	4.18	0.45	0.74	0.385*
	GL9	45	5	100	3.49	0.71	0.57	-0.248*
	GL12	47	5	100	3.96	0.68	0.72	0.05
	Promedio	45	5	95	3.66	0.61 [0.59-0.63]	0.65 [0.64-0.66]	0.058 [-0.039 – 0.159]

N = número de individuos analizados, A = número de alelos observados, % = proporción de alelos totales observados, *Ar* = riqueza alélica, H_O = heterocigosis observada, H_E = heterocigosis esperada, IC_{95%}: Intervalo de confianza al 95%, F_{IS} = índice de fijación, * $p < 0.05$.

Los componentes de la varianza molecular fueron analizados considerando los niveles jerárquicos: familia, fruto e individuo (Tabla 2). La varianza entre familias resultó altamente significativa (17.8%, $p < 0.001$). Esto no resultó significativo para los otros dos casos: varianza entre frutos dentro de cada familia (4.3%, $p = 0.064$) y varianza entre individuos dentro de cada fruto, que resultó nula ($p = 0.988$). La varianza dentro de los individuos (error) fue muy alta (77.8%, $p = 0.082$).

Tabla 2. Análisis molecular de la varianza (AMOVA) considerando 3 niveles jerárquicos (familia, fruto e individuo).

Fuente de variación	Varianza estimada	% Variación	p
Entre familias	0.264	17.83**	<0.001
Frutos dentro de familias	0.064	4.33	0.064
Individuos dentro de frutos	0.000	0.00	0.988
Dentro de cada individuo	1.152	77.84	0.082

Sistema de fecundación

Las tasas estimadas de fecundación cruzada *multilocus* (t_m) y *singlelocus* (t_s) resultaron altas (Tabla 3), sugiriendo niveles muy bajos de autofecundación, que representan entre el 3.3 y 14.9%, según el estimador utilizado. La diferencia entre la tasas de exocruza ($t_m - t_s = 0.116$) fue baja pero significativa, indicando cierta proporción de apareamiento entre individuos emparentados (~12%). La correlación de t_m dentro de las familias (r_t) resultó negativa pero no significativamente distinta de cero, sugiriendo falta de variación entre las tasas de exocruza de las familias evaluadas. La correlación de las tasas de paternidad (r_p) se evaluó a tres niveles: global, entre frutos, y dentro de frutos. En todos los casos, resultó significativamente mayor que cero. El 89% de las semillas tomadas de un mismo fruto corresponden a hermanos completos, y esta proporción decrece al 16% cuando se consideran semillas de distintos frutos. El número efectivo de dadores de polen basado en la correlación de la tasa de paternidad global permite estimar que las plantas madres de las diferentes familias estarían siendo fecundadas por aproximadamente 4 dadores de polen distintos ($N_{ep} = 3.8$).

Tabla 3. Parámetros del sistema de fecundación en *P. flexuosa* del desierto de Atacama.

Parámetro	Estima (SD)	IC _{95%}
Tasa de fecundación cruzada <i>multilocus</i> (t_m)	0.967 (0.107)	[0.938 - 0.996]
Tasa de fecundación cruzada <i>singlelocus</i> (t_s)	0.851 (0.078)	[0.830 - 0.872]
Endogamia biparental ($t_m - t_s$)	0.116 (0.069)	[0.098 - 0.134]
Correlación Tasas de fecundación cruzada (r_t)	-0.013 (0.592)	[-0.171 - 0.145]
Correlación Tasas de paternidad (r_p)		
Global	0.262 (0.127)	[0.228 - 0.296]
Entre frutos	0.158 (0.195)	[0.106 - 0.210]
Dentro de frutos	0.885 (0.182)	[0.836 - 0.934]
Número efectivo de dadores de polen (N_{ep})	3.817	

Dada la ocurrencia de fecundación cruzada, es posible reconocer cuatro tipos de relaciones entre hermanos dentro de una población de polinización abierta (Anexo, Figura

1A). En esta población, las progenies fueron principalmente constituidas por medios hermanos (HS) representando un 69%, seguido por un 24.5% de hermanos completos (FS). Solamente un 6.3% fueron medios hermanos por autofecundación y cruzamiento (SHS), mientras que los hermanos completos por autofecundación (SFS) fueron prácticamente nulos (0.1%).

Coancestrías, varianza del tamaño poblacional efectivo

Se realizó un análisis de coancestría agrupando a los individuos teniendo en cuenta la relación que se da entre ellos (Figura 2). La coancestría promedio de los individuos de diferentes familias (no relacionados) fue cercana a cero ($\Theta = -0.034$) mientras que para los individuos de la misma familia fueron en promedio 0.234 y 0.181 para semillas del mismo o de diferente fruto, respectivamente. La diferencia entre las coancestrías promedio resultó significativa cuando se consideraron individuos no relacionados vs relacionados del mismo ó de diferente fruto ($W = 3382$, $p < 3.4 \times 10^{-9}$ y $W = 26306$, $p < 2.2 \times 10^{-16}$ respectivamente). Las diferencias entre individuos relacionados fue no significativa $W = 1932$, $p = 0.356$).

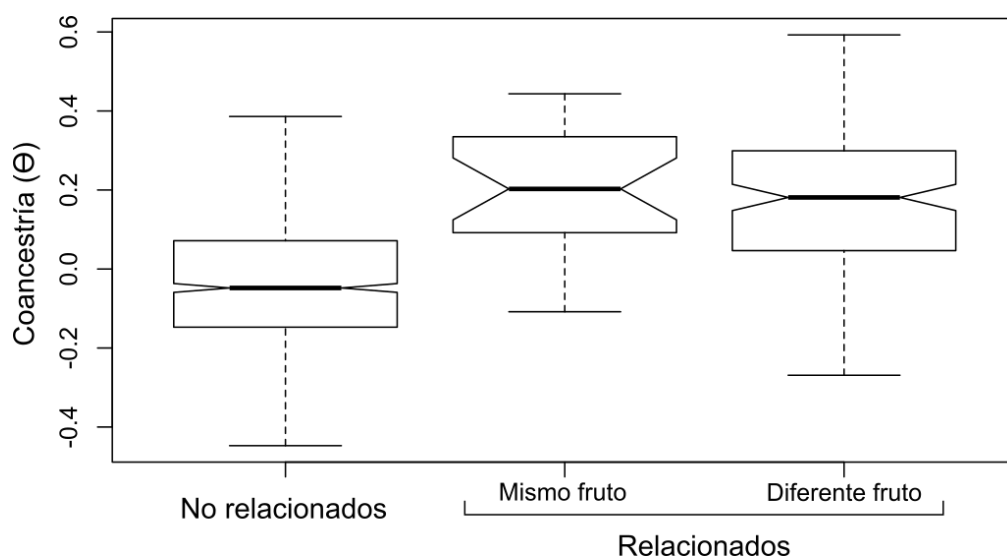


Figura 2. Box plot representando las coancestrías *multilocus* promedio estimadas en individuos no relacionados (distintas plantas madres) y relacionados (mismo fruto y distinto fruto).

El análisis de sistema de fecundación considerando las distintas familias individualmente se presenta en la Tabla 4. Los valores de t_m en todos los casos resultaron altos, sugiriendo hasta un 25% de autofecundación. Sin embargo, esta variación no debe ser considerada significativa de acuerdo al valor de r_t descrito anteriormente, que sugiere la

misma tendencia de apareamiento en las distintas familias. El número de dadores de polen (N_{ep}) pudo ser estimado en cinco de las seis familias de acuerdo a las estimas positivas de r_p correspondientes a cada una de ellas. Estos valores resultan variables, oscilando entre 1 y 6.3 dadores de polen. La coancestría, estimada dentro de cada familia, varió entre $\Theta_f = 0.12$ y $\Theta_f = 0.27$. Como consecuencia, el promedio de la varianza del tamaño poblacional efectivo (N_{ev}) estimada a partir de las coancestrías fue de 2.28 y el número de árboles semilleros (m) necesarios para la colección de semillas, intentando retener en la muestra un tamaño efectivo de 100, se estimó en un mínimo de 34 plantas.

Tabla 4. Estimaciones de tasa de exocruza *multilocus* (t_m) y correlación de paternidad (r_p) con su desvío estándar (SD), número efectivo de dadores de polen (N_{ep}), coancestría promedio dentro de cada familia (Θ_f), varianza del tamaño poblacional efectivo (N_{ev}) y número de árboles semilleros necesarios para colección de semillas si el objetivo de conservación es de un tamaño efectivo de 100 (m), considerando las distintas familias estudiadas.

Familia	t_m (SD)	r_p (SD)	N_{ep}	Θ_f	N_{ev}	m
QS80	1.041 (0.505)	0.159 (0.121)	6.289	0.120	2.927	34.16
QS81	0.842 (0.411)	0.266 (0.141)	3.759	0.181	2.228	44.88
QS82	1.200 (0.567)	0.321 (0.145)	3.115	0.266	1.673	59.77
QS83	1.200 (0.566)	0.999 (0.450)	1.001	0.267	1.667	59.98
QS84	0.750 (0.364)	0.210 (0.110)	4.762	0.182	2.220	45.05
QS85	1.200 (0.566)	–	–	0.118	2.949	33.91

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La variabilidad genética y el sistema de fecundación fueron estudiados en una población situada en Quillagua, al oeste del río Loa en Atacama, un área en donde los bosques son muy reducidos y se ven afectados por las condiciones naturales y antrópicas. Los resultados sugieren niveles altos de diversidad genética de acuerdo a las estimas de heterocigosis y riqueza alélica obtenidas en ambas cohortes ($H_E = 0.67$ y 0.65 ; $Ar = 3.8$ y 3.7). Cuando estas estimas son comparadas con las de *P. flexuosa* de la Reserva Ñacuñán, Mendoza, Argentina basadas en 8 *loci* microsatélites (Bessega et al., 2017), las mismas resultan algo menores ($H_E = 0.80$ y 0.77 ; $Ar = 10.3$ y 7.9). Por el contrario, los resultados de heterocigosis son muy semejantes a las estimas obtenidas en poblaciones de la especie emparentada *P. alba* muestreadas en la Región Chaqueña de Argentina en Santiago del Estero ($H_E = 0.65$) y Salta ($H_E = 0.69$) sobre la base de 12 *loci* SSR (Bessega et al., 2016). La variabilidad genética resulta semejante también a la hallada en otras poblaciones del desierto de Atacama ($H_E = 0.59$ a 0.72 ; $Ar = 2.7$ a 4.1) aunque estas últimas poblaciones fueron evaluadas con 8 *loci* SSR y están constituidas por individuos de *P. alba*, *P. flexuosa* y *P. chilensis* coocurriendo en los oasis estudiados y consecuentemente con la mayor diversidad de especies, es de esperar mayores niveles de variación genética (Bessega et al., 2021). Por último, tres poblaciones de *P. chilensis* de la región Coquimbo (Chile) mostraron niveles algo más bajos de variabilidad genética sobre la base de 5 *loci* SSR ($H_E = 0.5$) (Moncada et al., 2019).

Es sabido que una proporción significativa de las diferencias en la variación genética entre las especies de plantas forestales puede ser explicada por la variación en su historia de vida y características ecológicas (Hamrick et al., 1981, 1992) y que las comparaciones directas de los niveles de diversidad no son completamente adecuadas cuando no se usa el mismo marcador molecular ni se evalúa el mismo número de *loci*. Sin embargo, aquí las especies que se comparan tienen la misma forma de vida y corresponden en todos los casos a marcadores hipervariables del tipo microsatélites. Así, estas estimas sugieren que si bien la diversidad es alta, los niveles de variación en esta especie del desierto serían algo menores que en *P. flexuosa* de otras áreas. La riqueza alélica, por su parte, resulta menor en los estudios desarrollados en Atacama y podría explicarse parcialmente dado que Ar es un parámetro que tiende a responder más rápidamente a la fragmentación del ambiente en comparación con la heterocigosis (Keyhonbadi et al., 2005; daSilva Carvaho, 2015; Bessega et al., 2018). Sin embargo, es necesario considerar que no se utilizaron los mismos SSR en todos los casos y que la población de plantas madres, con un número reducido de plantas adultas, podría no estar mostrando aún las consecuencias genéticas de la fragmentación de hábitat en Atacama a través de las estimas de heterocigosis. Éste sería un proceso muy lento determinado por la gran longevidad de los árboles, que en algunos casos se estima en más de 100 años tal como ha sido descrito para otras especies (Jump & Penuelas, 2006).

En referencia al estudio diferenciado entre ambas cohortes, la diversidad genética de las plantas madres fue más alta y significativa de acuerdo a la heterocigosis observada ($H_O = 0.71$ vs 0.61). Esta misma tendencia también se observa considerando la riqueza

alélica ($Ar = 3.8$ vs 3.7). Aquí, tanto H_O , H_E y Ar resultaron relativamente altos y mostraron niveles algo mayores de variabilidad genética en la población adulta. Nuestros resultados señalarían una tendencia hacia un defecto de heterocigotas en la progenie ($F_{IS} = 0.058$) y un exceso en la población adulta ($F_{IS} = -0.062$). Esta observación puede ser relacionada directamente con el sistema de fecundación dado que el apareamiento entre individuos emparentados, es decir que se originan a partir de la autofecundación y/o el apareamiento entre parientes, puede dar lugar a un proceso conocido como depresión por endogamia que puede afectar la adaptación y el crecimiento de los individuos (Pereira et al., 2020). La depresión por endogamia es una reducción en la aptitud o una reducción en el valor fenotípico medio en los rasgos adaptativos que están asociados con la supervivencia y la reproducción (Falconer & MacKay, 1996). Es la consecuencia de una mayor frecuencia de individuos consanguíneos que portan alelos idénticos por descendencia (IBD) (Falconer & MacKay, 1996). Se observa comúnmente en las poblaciones de árboles porque éstas son predominantemente cruzadas y altamente heterocigotas de modo tal que los alelos letales y los alelos recesivos deletéreos (o carga genética) se mantienen ocultos en los genotipos heterocigotas debido al cruzamiento. Sin embargo, tanto la autofecundación como el apareamiento entre parientes dan como resultado una mayor proporción de individuos homocigotas que favorece la expresión de la carga genética (Falconer & MacKay, 1996). Menores estimas de F_{IS} en plantas madres respecto a las progenies fueron también reportadas, en base a marcadores isoenzimáticos, en otras poblaciones y especies de la sección Algarobia de *Prosopis* (Keys & Smith, 1994; Bessega et al., 2000) y se sugirió que el cambio de las frecuencias genotípicas que ocurre entre una etapa a otra podría estar siendo determinada selectivamente. Así, la observación de un mayor número de individuos heterocigotas respecto a lo esperado según equilibrio Hardy-Weinberg (HW) en la población adulta, a diferencia de lo que se da en la progenie, parece ser algo frecuente en las especies de la sección Algarobia que debiera ser estudiado más profundamente.

En cuanto al sistema de fecundación, las tasas de fecundación cruzada a nivel poblacional resultaron altas ($t_m = 0.97$, $t_s = 0.85$) con niveles de autofecundación que rondarían el 3% a 15%. Estas estimas son semejantes a otras especies de Leguminosas como *Robinia pseudoacacia*, *Platypodium elegans*, *Erythrophleum fordii*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Acacia visco* y *A. woodmaniorum*, *Senegalia senegal*, *Copaifera langsdorffii*, *Myroxylon peruiferum* y *Ormosia hosiei* estudiadas indirectamente mediante marcadores isoenzimáticos (Murawski & Hamrick, 1991; Rocha & Aguilar, 2001; Hufford & Hamrick, 2003; Yuan et al., 2013; Zhu et al., 2013), AFLPs (Pometti et al., 2013) y microsatélites (Gonela et al., 2013; Millar et al., 2014; Omondi et al., 2018; Silvestre et al., 2018; Li et al., 2022). Las altas tasas de fecundación cruzada dependen de varios factores como pueden ser la autoincompatibilidad, la protoginia y protandria, y la desventaja para prosperar que se puede producir en los individuos surgidos por autopolinización (Murawski & Hamrick, 1991; Hufford & Hamrick, 2003; Millar et al., 2014; Li et al., 2022).

Este resultado es similar al obtenido en otras especies de *Prosopis* basados también en marcadores microsatélites, aunque las estimas de exocruzas son aquí levemente más bajas. Por ejemplo, en *P. alba* de Santiago del Estero (Bessega et al., 2012) y *P. flexuosa* de la reserva de Ñacuñán, Mendoza (Bessega et al., 2017) la tasa de fecundación cruzada fue casi total ($t_m = 1$ y $t_m = 0.99$, respectivamente). Sin embargo, en todos los

casos a pesar de que se observa una alta tasa de fecundación cruzada, los resultados indican la ocurrencia de endogamia biparental. Las estimas *multilocus* de exocruza aumentan la chance de detectar cruzamientos entre individuos emparentados de modo que la diferencia entre t_m y t_s provee una medida de la cantidad de endogamia biparental (Ritland, 1984, 1990). De acuerdo a las estimas de t_m y t_s en Atacama, un 11.6% de los cruzamientos resultan del apareamiento de individuos emparentados. La ocurrencia de apareamiento entre individuos relacionados puede ser vinculada con el sistema de dispersión de la semilla de los algarrobos. El mismo implica el transporte de semillas mediado por animales, quienes toman los frutos y semillas, escarifican estas últimas en su tracto digestivo, y las depositan conjuntamente en sus heces, dando lugar al surgimiento de individuos emparentados a cortas distancias. En particular, en ecosistemas riparianos del desierto de Atacama, ambiente al que corresponde el sitio de muestreo, se describe la ocurrencia de roedores como *Phyllotis xanthopygus*, *Phyllotis magister*, *Abrothrix andinus*, *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*, animales domésticos como ovejas, caballos y camélidos, y el zorro *Lycalopex culpaeus*, que podrían estar actuando en la dispersión de las semillas (Marquet et al., 1998). Los algarrobos ofrecerían a los animales recompensas nutritivas para así obtener el beneficio del traslado de sus frutos y semillas. Los frugívoros, a través de la endozoocoria, movilizan grandes cantidades de semillas y las liberan de las capas del fruto, acelerando la germinación, desinfectándolas y depositándolas en conjunto para su germinación (Brown & Archer, 1988; Bessega et al., 2012; Maldonado et al., 2014; Campos & Velez, 2015).

El sistema de fecundación puede ser evaluado a través de la distribución de la variación genética, mediante un análisis jerarquizado considerando las familias, los frutos y los individuos. El AMOVA mostró que la variación que se da entre familias resulta significativa, mientras que la variación entre frutos dentro de cada familia o entre individuos dentro de cada fruto, no lo es. La mayor parte de la variación observada corresponde a la varianza residual (dentro de los individuos), dando cuenta de un alto nivel de heterocigosis. Los componentes de varianza genética tan bajos observados entre frutos de una familia o entre individuos de un mismo fruto podrían ser vinculados a los agentes de polinización naturales. Es sabido que la polinización en los algarrobos es mediada por insectos y que este tipo de polinización suele ajustarse a una distribución de tipo leptocúrtica (Levin & Kerster, 1974; Keys & Smith, 1994). Como consecuencia, los dadores de polen serán principalmente de plantas cercanas, mientras que se espera poco transporte de polen a larga distancia, favoreciendo la diferenciación entre familias alejadas espacialmente.

El transporte de polen en *Prosopis* fue descrito a través de agentes dispersores como *Apis mellifera*, *Xylocopa splendidula*, *Caupolicana mendocina* quienes visitan diferencialmente las flores cuando éstas se encuentran abiertas y en estado receptivo (Simpson et al., 1977; Genise et al., 1990). Comportamientos diferenciales se describen para los distintos agentes (Debandi et al., 2002). En algunos casos, los dispersores se desplazarían poco dentro de una misma planta favoreciendo la transferencia de polen de una flor a la otra dentro del mismo individuo (cuando hay fuentes ricas de néctar) o

alternativamente tenderían a visitar unas pocas flores en la misma planta y luego moverse a otra, favoreciendo el transporte de polen entre árboles cercanos. Ambos tipos de agentes son plausibles de acuerdo a los resultados que obtuvimos en el presente trabajo. En este sentido, de la evaluación de la proporción de hermanos completos se ve que la misma disminuye significativamente (de 89% al 16% en base a las estimas de r_p) cuando se analizan semillas del mismo fruto o de diferente fruto.

Entonces, tanto la dispersión limitada del polen como de las semillas podrían estar explicando la ocurrencia de estructura familiar. La estructura intra-poblacional fue evaluada mediante el análisis de parámetros de fecundación en cada una de las familias. Si bien las tasas de exocruza estimadas para cada familia no difieren significativamente, los valores presentados en cada caso dan cuenta de una marcada variación en los niveles de autofecundación. Estas diferencias podrían ser relacionadas con distintos factores, como la distribución espacial de las mismas, sincronización incompleta de períodos de floración y/o tamaños diferenciales de las copas tales como los descritos en las fabáceas *Ormosia hosiei* (Li et al., 2022) y en *Hedysarum coronarium* (Louati-Namouchi et al., 2000). En Quillagua, se encontraron 4 familias con fecundación completamente cruzada, y dos con niveles importantes de autofecundación. Esta diferencia entre familias también se observa cuando se analiza el número de dadores de polen que estaría fecundando cada planta madre. En general, múltiples dadores de polen ocurrirían en cada una de las familias. La paternidad múltiple ha sido descrita como un modo de incrementar el tamaño efectivo de las poblaciones y consecuentemente mantener la variabilidad genética de las mismas cuando el número de adultos es reducido (Louati et al., 2003). Aquí, son pocos los árboles muestreados dada la baja densidad de árboles adultos en el área, y el hecho de que cada planta madre esté recibiendo aportes de múltiples padres podría estar señalando que esta estrategia resulta ventajosa para sobrevivir en este ambiente adverso. Múltiples dadores podrían resultar beneficiosos al aumentar la diversidad en la oferta de polen dando lugar a la ocurrencia de descendencia genéticamente más diversa y mejorando así la capacidad adaptativa (Pannell & Labouche, 2013).

El alto número de dadores de polen en cada una de las familias puede ser también relacionado con las estimas de coancestría obtenidas en los distintos niveles evaluados. Así, la coancestría promedio esperada dentro de las familias en una población panmíctica en donde los dadores de polen no están relacionados es de $\Theta = 0.125$ y la varianza del tamaño poblacional efectivo $N_{ev} = 4$. Sin embargo, las coancestrías promedio aquí estimadas (para individuos relacionados) fueron mucho mayores a la esperadas, confirmando que las plantas de las progenies no están conformadas solamente por medios hermanos, sino que ocurren desvíos de los cruzamientos aleatorios. En línea con lo discutido anteriormente, este desvío observado puede explicarse por la ocurrencia de cruzamientos correlacionados, surgidos por ejemplo por los hábitos de los polinizadores y/o por la ocurrencia de cruzamientos entre individuos emparentados vinculados también al modo de dispersión de las semillas. Estos procesos podrían estar dando lugar a un aumento de la identidad por descendencia de los alelos dentro de las progenies, y consecuentemente brindando estimas de coancestría mayores y un N_{ev} estimado menor.

Los resultados obtenidos tienen implicancia para el manejo de los recursos forestales. Los parámetros evaluados en *P. flexuosa* del sistema de fecundación resultan útiles para la conservación y manejo de este recurso en las distintas áreas de su distribución. En el año 1990 se inició el programa de mejoramiento genético en *Prosopis* en Argentina y se incluyó a esta especie dada la importancia económica/ecológica que representa (Cony, 1993). Se instalaron los primeros ensayos en ambientes controlados realizándose estudios referidos a la variación genética entre procedencias, componentes de varianza y heredabilidad (h^2) de caracteres como altura, diámetro, forma, etc. para proponer estrategias de restauración y selección de materiales (Darquier et al., 2013; Bessega et al., 2019). En este sentido, los resultados de variabilidad genética y sistema de fecundación resultan necesarios para que este material pueda ser incluido como fuente de semillas en procesos de restauración y además para ajustar al máximo las estimas de parámetros como h^2 y respuesta esperada en procesos tempranos de selección. La heredabilidad tiene un rol predictivo que expresa la certeza del valor fenotípico como una estima del valor reproductivo y suele estimarse asumiendo un modelo de medios hermanos. Conocer la proporción de hermanos enteros o de medios hermanos permitirá evaluar de un modo más eficaz la h^2 que podrá ser tenida en cuenta durante la selección de materiales en el marco del plan de mejoramiento forestal.

Aquí se observa una población pequeña con altos niveles de variabilidad genética que muestra fecundación principalmente cruzada. Además, se detecta un defecto de heterocigotas en la etapa de semillas que no se da en los adultos, apareamiento entre individuos emparentados y una proporción de medios hermanos cercana al 75% (69% HS + 6.3% SHS). La conservación de un recurso puede ser pensada tanto *ex situ* como *in situ*. En el primer caso, la toma de muestras implicaría coleccionar un número grande de genotipos suficientemente aislados de modo de evitar la endogamia y garantizar tamaños efectivos grandes (Sebbenn, 2006; Silvestre et al., 2018). Bajo este escenario, de *P. flexuosa* de Quillagua, las semillas de entre 34 y 60 árboles debieran ser colectadas para conservar un tamaño efectivo de 100, algo que por la naturaleza del sitio no resulta posible. Sin embargo, aun así, esta procedencia puede resultar interesante de conservar *ex situ* ya que podría estar adaptada a condiciones muy extremas y en ese caso la colección del material disponible debería realizarse de los árboles más distanciados posible (minimizando los niveles de individuos emparentados) y evitando tomar semillas de un mismo fruto (donde los hermanos completos rondan el 85%), maximizando la toma de distintos frutos (en donde los hermanos completos disminuyen notablemente hasta un 16%). Alternativamente, y dada la importancia que *P. flexuosa* representa para las comunidades que habitan en esta región (Martinez, 1998), puede sugerirse el establecimiento de nuevos materiales *in situ*. Para la rehabilitación de poblaciones disturbadas o muy reducidas, podría emprenderse la plantación de materiales para enriquecer la región utilizando fuentes coleccionadas de esta misma especie en otras regiones aunque es un requisito realizar una evaluación previa de las consecuencias ecológicas que este movimiento de recursos podría implicar. Por último, un aporte significativo a tener en cuenta en el marco del Plan de Mejoramiento en el algarrobo es la

determinación de la proporción de hermanos completos y medios hermanos en la población evaluada. Este hecho debiera ser considerado a futuro para ajustar las estimas de h^2 en los diferentes rasgos de importancia económica ya que se ha detectado una importante proporción de hermanos completos (~25%) que podrían sesgar las estimas si este efecto no es considerado.

Por último, los resultados pueden ser pensados en relación a la estructura del paisaje. Si bien grandes distancias separan a las poblaciones del desierto, en cada sitio u oasis se desarrollan poblaciones pequeñas con una distribución espacial reducida a las cercanías de flujos de agua. En este caso, la población estudiada se ubica en el margen oeste del río Loa y es posible distinguir dos parches algo distantes (200 m). Desde el punto de vista teórico es posible atribuir a la fragmentación del paisaje un efecto sobre el sistema de apareamiento y/o sobre el flujo de polen, que podrían ser observados, respectivamente, a través del aumento de las tasas de autofecundación y en favor de un aumento de la distancia de dispersión dada la poca densidad poblacional (Kikuchi et al., 2015). Como se ha descrito, la densidad de plantas o plantas con flor, la actividad de dispersores, el tamaño de los árboles adultos determinan indirectamente los patrones de fecundación (Hirao et al., 2006; Li et al., 2022). Resultados previos basados en la estima de dispersión del polen y estructura genética espacial en esta especie indicaron que recién a los 250 m se espera que los parches estén aislados y el efecto de la fragmentación sea significativo (Bessega et al., 2017). En este sentido, como se discutió anteriormente, los resultados del presente trabajo apoyan la idea de dispersores de semilla y polen a corta distancia mediado por pequeños mamíferos e insectos dando lugar a la estructura intra-poblacional observada. De acuerdo a las condiciones tan extremas del desierto de Atacama, es posible esperar un limitado desarrollo de un gran número de agentes dispersores. Sin embargo, los resultados en *P. flexuosa* demuestran niveles de variación genética y una estrategia reproductiva que no difiere sustancialmente de lo descrito para otra población de esta especie que se desarrolla en la región del Monte en Argentina en donde las condiciones climáticas serían más favorables y los herbívoros presentes están protegidos (reserva Ñacuñán). Si bien aquí se detecta un nivel de autofecundación levemente mayor de acuerdo a las estimas de exocruza obtenidas y las estimas de variabilidad genética resultan un poco más bajas, los niveles de coancestría promedio estimados (entre individuos relacionados como no relacionados), las importantes proporciones estimadas de hermanos enteros en relación a medios hermanos, y los índices de paternidad múltiple se corresponden en ambas poblaciones de *P. flexuosa*. Por último, considerando que en este trabajo se evaluaron 6 familias y un número relativamente reducido de progenies por familias, mediante 4 *loci* y en un solo año, se sugiere repetir este estudio con un número más amplio de marcadores, aumentando el número de progenies por familias y años para confirmar los resultados.

ANEXO

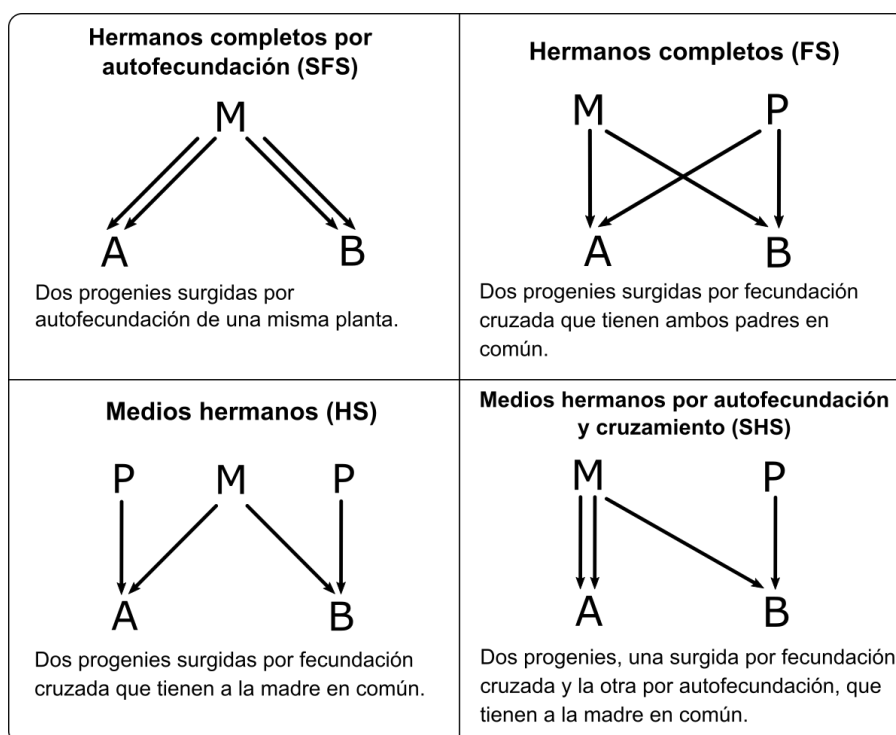


Figura 1A. Diferentes tipos de relaciones de fecundación que pueden ocurrir entre dos progenies de una población con polinización abierta. M = planta madre, P = donante de polen, A y B = individuos de la progenie.

Tabla 1A. Secuencia de *primers*, temperatura de *annealing* (T_A) y fluoróforo utilizados para amplificaciones y tamaño de los productos obtenidos por PCR para cada uno de los cuatro *loci* evaluados.

<i>Locus</i>	Secuencia (5'-3')	T_A (°C)	Fluoróforo	Tamaño (pb)
MO08	F=TATCCTAAACGCCGGGCTAC R= TCCCATTCATGCATACTTAAACC	59	FAM	214-224
MO09	F= ATTCCTCCCTCACATTTTGC R= CATTATGCCAGCCTTTGTTG	59	HEX	210-234
GL9	F= ACTCTGCGGGTTAGGTAAGC R= ACCTGGAGCTGACATGGATC	58	HEX	224-234
GL12	F= GAGTGAAGGTCGGGAAGAGG R= CCATTGGACCAAGGCAGAAC	58	FAM	337-366

F y R corresponden a las secuencias directas (*forward*) y reversas (*reverse*), respectivamente. pb = pares de bases.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros Asenjo, S. (2010). El género *Prosopis* valioso recurso forestal de las zonas áridas y semiáridas de América, Asia y África. *Ciencia & Investigación Forestal*, 16(1), 91–127. <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2010.340>
- Bessegga, C., Ferreyra, L., Julio, N., Montoya, S., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. (2000). Mating system parameters in species of genus *Prosopis* (Leguminosae). *Hereditas*, 132, 19–27.
- Bessegga, C., Saidman, B. O., Darquier, M. R., Ewens, M., Sánchez, L., Rozenberg, P., & Vilardi, J. C. (2009). Consistency between marker- and genealogy-based heritability estimates in an experimental stand of *Prosopis alba* (Leguminosae). *American Journal of Botany*, 96(2), 458–465. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800074>
- Bessegga, C., Pometti, C., Ewens, M., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. (2012). Strategies for conservation for disturbed *Prosopis alba* (Leguminosae, Mimosoidae) forests based on mating system and pollen dispersal parameters. *Tree Genetics & Genomes*, 8(2), 277–288. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0439-6>
- Bessegga, C., Pometti, C. L., Miller, J. T., Watts, R., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. (2013). New microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (Fabaceae). *Applications in Plant Sciences*, 1(5), 1200324. <https://doi.org/10.3732/apps.1200324>
- Bessegga, C., Pometti, C. L., Ewens, M., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. (2016). Fine-scale spatial genetic structure analysis in two Argentine populations of *Prosopis alba* (Mimosoideae) with different levels of ecological disturbance. *European Journal of Forest Research*, 135(3), 495–505. <https://doi.org/10.1007/s10342-016-0948-9>
- Bessegga, C., Pometti, C., Campos, C., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. (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. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.06.007>
- Bessegga, C., Pometti, C., López, R. P., Larrea-Alcázar, D., Fortunato, R. H., Saidman, B., & Vilardi, J. C. (2018). Genetic variability and differentiation among *Prosopis alba* (Leguminosae) populations from dry valleys of Bolivia with different levels of human disturbance and altitude. *Ecology and Evolution*, 8(22), 11309–11321. <https://doi.org/10.1002/ece3.4610>
- Bessegga, C., Cony, M., Saidman, B. O., Aguiló, R., Villagra, P., Alvarez, J. A., Pometti, C., & Vilardi, J. C. (2019). Genetic diversity and differentiation among provenances of *Prosopis flexuosa* DC (Leguminosae) in a progeny trial: Implications for arid land restoration. *Forest Ecology and Management*, 443, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.04.016>
- Bessegga, C., Pometti, C., Fortunato, R., Greene, F., Santoro, C. M., & McRostie, V. (2021). Genetic studies of various *Prosopis* species (Leguminosae, Section Algarobia) co-occurring in oases of the Atacama Desert (northern Chile). *Ecology and Evolution*, 11(5), 2375–2390. <https://doi.org/10.1002/ece3.7212>

- Brown, J. R., & Archer, S. (1988). Woody plant seed dispersal and gap formation in a North American subtropical savanna woodland: the role of domestic herbivores. *Vegetatio*, 73(2), 73–80. <https://doi.org/10.1007/bf00031854>
- Burkart, A. (1976) A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae) (Part 1 and 2). Catalogue of the recognized species of *Prosopis*. *J. Arnold Arbor.* 57, 219–249 y 450–525.
- Calderon, G., Garrido, M., & Acevedo, E. (2015). *Prosopis tamarugo* Phil.: a native tree from the Atacama Desert groundwater table depth thresholds for conservation. *Revista Chilena de Historia Natural (Valparaiso, Chile: 1983)*, 88(1). <https://doi.org/10.1186/s40693-015-0048-0>
- Campos, C. M., & Ojeda, R. A. (1997). Dispersal and germination of *Prosopis flexuosa* (Fabaceae) seeds by desert mammals in Argentina. *Journal of Arid Environments*, 35(4), 707–714. <https://doi.org/10.1006/jare.1996.0196>
- Campos, C., & Velez, S. (2015). Almacenadores y frugívoros oportunistas: el papel de los mamíferos en la dispersión del algarrobo (*Prosopis flexuosa* DC) en el desierto del Monte, Argentina. *Ecosistemas*, 24(3), 28–34. <https://doi.org/10.7818/ecos.2015.24-3.05>
- Capparelli, A. (2007). Los productos alimenticios derivados de *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz y *P. flexuosa* DC., Fabaceae, en la vida cotidiana de los habitantes del NOA y su paralelismo con el algarrobo europeo. *Kurtziana*, 33(1), 1–19.
- Carevic, F. C., Carevic, A., & Delatorre, J. (2012). Historia natural del género *Prosopis* en la Región de Tarapacá. *Idesia*, 30(3), 113–117.
- Cascante, A., Quesada, M., Lobo, J. J., & Fuchs, E. A. (2002). Effects of dry forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conservation Biology*, 16, 137–14.
- Centro de Ecología Aplicada, Gobierno Regional de Antofagasta. (2020). Informe Final Diagnóstico del caudal ambiental del río Loa, región de Antofagasta. Código BIP 30130919-0.
- Chessel, D., Dufour, A. B., & Thioulouse, J. (2004). The ade4 package-I: One-table methods. *R News*. 4, 5–10.
- Chiappa, E., Villasenor, R., Toro, H., & Covarrubias, R. (1997). Táctica reproductiva de *Prosopis* (Mimosaceae) y asociaciones ecológicas de sus polinizadores, en el desierto del norte de Chile. *Multequina*. 6, 9–20.
- Cockerham, C. C. (1969). Variance of gene frequencies. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 23(1), 72–84. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1969.tb03496.x>
- Contreras, R., Porcile, V., & Aguayo, F. (2018). Microsatellites reveal a high genetic differentiation among native *Geoffroea decorticans* populations in Chilean Atacama Desert. *Boletín Sociedad Argentina De Botánica*, 54, 225–240.
- Cony, M. A. (1993). Programa de Conservación y Mejoramiento de especies del género *Prosopis* en el Monte, Argentina. En: IADIZA (eds.) Contribuciones Mendocinas a la

quinta Reunión Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del CIID. pp. 37–72.

- Cony, M. A. (1996). Genetic variability in *Prosopis flexuosa* D.C., a native tree of the Monte phytogeographic province, Argentina. *Forest Ecology and Management*, 87(1–3), 41–49. [https://doi.org/10.1016/s0378-1127\(96\)03839-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1127(96)03839-x)
- Darquier, M. R., Bessega, C. F., Cony, M., Vilardi, J. C., & Saidman, B. O. (2013). Evidence of heterogeneous selection on quantitative traits of *Prosopis flexuosa* (Leguminosae) from multivariate Q_{ST} – F_{ST} test. *Tree Genetics & Genomes*, 9(1), 307–320. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0556-x>
- daSilva Carvalho, C. C., Ribeiro, M. C., Cortes, M. C., Galletti, M., & Collevatti, R. (2015). Contemporary and historic factors influence differently genetic differentiation and diversity in a tropical palm. *Heredity*, 115, 216–224. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.30>
- Debandi, G., Rossi, B. E., Aranibar, J., Ambrosetti, J. A., & Peralta, I. E. (2002). Breeding system of *Bulnesia retama* (Gillies ex Hook & Arn.) Gris. (Zygophyllaceae) in the Central Monte Desert (Mendoza, Argentina). *Journal of Arid Environments*, 51(1), 141–152. <https://doi.org/10.1006/jare.2001.0924>
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., & Freimer, N. B. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat *loci* in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(8), 3166–3170. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.8.3166>
- Dray, S., & Dufour, A. B. (2007). The ade4 Package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4). <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Dray, S., Dufour, A. B., & Chessel, D. (2007). The ade4 Package-II: Two-table and K-table methods. *R News*, 7(2), 47–52.
- Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews. Genetics*, 5(6), 435–445. <https://doi.org/10.1038/nrg1348>
- Falconer, D. S., & MacKay, T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics* (4th ed.). Addison Wesley Longman, Harlow.
- Feres, J. M., G Nazareno, A., Borges, L. M., Corbo Guidugli, M., Bonifacio-Anacleto, F., & Alzate-Marin, A. L. (2021). Depicting the mating system and patterns of contemporary pollen flow in trees of the genus *Anadenanthera* (Fabaceae). *PeerJ*, 9(e10579), e10579. <https://doi.org/10.7717/peerj.10579>
- Genise, J., Palacios, R. A., Hoc, P. S., Carrizo, R., Moffat, L., Mom, M. P., Agullo, M. A., Agullo, L. A., Picca, P., & Torregrosa, S. (1990). Observaciones sobre la biología floral de *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). I1. Fases florales y visitantes en el distrito Chaqueño Serrano. *Darwiniana*, 30, 71–85.
- Giustina, L. D., Baldoni, A. B., Tonini, H., Azevedo, V. C. R., Neves, L. G., Tardin, F. D., & Sebbenn, A. M. (2018). Research Article Hierarchical outcrossing among and within fruits in *Bertholletia excelsa* Bonpl. (Lecythidaceae) open-pollinated seeds. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 17(1). <https://doi.org/10.4238/gmr16039872>

- Gómez-Silva, B., & Batista-García, R. A. (2022). The Atacama desert: A biodiversity hotspot and not just a mineral-rich region. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 812842. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.812842>
- Goncalves, A. L., García, M. V., Heuertz, M., & González-Martínez, S. C. (2019). Demographic history and spatial genetic structure in a remnant population of the subtropical tree *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul (Fabaceae). *Annals of Forest Science*, *76*(1). <https://doi.org/10.1007/s13595-019-0797-z>
- Gonela, A., Sebbenn, A. M., Soriani, H. H., Mestriner, M. A., Martinez, C. A., & Alzate-Marin, A. L. (2013). Genetic diversity and mating system of *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae/Caesalpinioideae). *Genetics and Molecular Research: GMR*, *12*(1), 569–580. <https://doi.org/10.4238/2013.February.27.6>
- Guevara, A., Giordano, C. V., Aranibar, J., Quiroga, M., & Villagra, P. E. (2010). Phenotypic plasticity of the coarse root system of *Prosopis flexuosa*, a phreatophyte tree, in the Monte Desert (Argentina). *Plant and Soil*, *330*(1–2), 447–464. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0218-4>
- Gutiérrez, J. R., López-Cortés, F., & Marquet, P. A. (1998). Vegetation in an altitudinal gradient along the Río Loa in the Atacama Desert of northern Chile. *Journal of Arid Environments*, *40*(4), 383–399. <https://doi.org/10.1006/jare.1998.0462>
- Haddad, N. M., Brudvig, L. A., Clobert, J., Davies, K. F., Gonzalez, A., Holt, R. D., Lovejoy, T. E., Sexton, J. O., Austin, M. P., Collins, C. D., Cook, W. M., Damschen, E. I., Ewers, R. M., Foster, B. L., Jenkins, C. N., King, A. J., Laurance, W. F., Levey, D. J., Margules, C. R., ... Townshend, J. R. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, *1*(2), e1500052. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- Hamrick, J. L., Milton, J. B., & Linhart, Y. B. (1981). Levels of genetic variation in trees: influence of life history characteristics. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-48. Berkeley, CA: Pacific Southwest Forest and Range Exp. Stn, Forest Service, U.S. Department of Agriculture. pp. 35–41.
- Hamrick, J. L., Godt, M.J., & Sherman-Broyles, S. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, *6*, 95–124. <https://doi.org/10.1007/bf00120641>
- Hardy, O. J., & Vekemans, X. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, *2*, 618–620.
- Hirao, A. S., Kameyama, Y., Ohara, M., Isagi, Y., & Kudo, G. (2006). Seasonal changes in pollinator activity influence pollen dispersal and seed production of the alpine shrub *Rhododendron aureum* (Ericaceae). *Molecular Ecology*, *15*(4), 1165–1173. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02853.x>
- Hothorn, T., Hornik, K., Wiel, M. A. van de, & Zeileis, A. (2008). Implementing a class of permutation tests: The coin Package. *Journal of Statistical Software*, *28*(8). <https://doi.org/10.18637/jss.v028.i08>

- Houston, J., & Hartley, A. J. (2003). The central Andean west-slope rainshadow and its potential contribution to the origin of hyper-aridity in the Atacama Desert. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society*, 23(12), 1453–1464. <https://doi.org/10.1002/joc.938>
- Hufford, K. M., & Hamrick, J. L. (2003). Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 57(3), 518–526. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb01543.x>
- Hughes, C. E., Ringelberg, J. J., Lewis, G. P., & Catalano, S. A. (2022). Disintegration of the genus *Prosopis* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). *PhytoKeys*, 205, 147–189. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.205.75379>
- Jayne, R. S., Pollyea, R. M., Dodd, J. P., Olson, E. J., & Swanson, S. K. (2016). Spatial and temporal constraints on regional-scale groundwater flow in the Pampa del Tamarugal Basin, Atacama Desert, Chile. *Hydrogeology Journal*, 24(8), 1921–1937. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1454-3>
- Jump, A. S., & Penuelas, J. (2006). Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 8096–8100. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510127103>
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grünwald, N. J. (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2, e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), 782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12067>
- Keyhonbadi, N., Roland, J., Matter, S. F., & Stobbeck, C. (2005). Genetic differentiation and gene flow among populations of the alpine butterfly *Parnassius smintheus*, vary with landscape connectivity. *Molecular Ecology*, 14, 1897–1909.
- Keys, R. N., & Smith, S. E. (1994). Mating system parameters and population genetic structure in pioneer populations of *Prosopis velutina* (Leguminosae). *American Journal of Botany*, 81(8), 1013–1020. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1994.tb15589.x>
- Kikuchi, S., Shibata, M., & Tanaka, H. (2015). Effects of forest fragmentation on the mating system of a cool-temperate heterodichogamous tree *Acer mono*. *Global Ecology and Conservation*, 3, 789–801. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.04.005>
- Levin, D. A., & Kerster, H. W. (1974). Gene Flow in Seed Plants. En: Dobzhansky, T., Hecht, M.K., Steere, W.C. (eds.) *Evolutionary Biology*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6944-2_5
- Li, F., Chen, H., Liu, S., Zhang, H., & Zhou, Z. (2022). Mating systems of single families and population genetic diversity of endangered *Ormosia hosiei* in South China. *Genes*, 13(11), 2117. <https://doi.org/10.3390/genes13112117>

- Loiselle, B. A., Sork, V. L., Nason, J., & Graham, C. (1995). Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, 82(11), 1420–1425. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb12679.x>
- Louati-Namouchi, I., Louati, M., & Chriki, A. (2000). Mating system and multiple paternity in *Hedysarum coronarium* L. (Fabaceae). *Agronomie*, 20(6), 655–663. <https://doi.org/10.1051/agro:2000157>
- Louati, M., Louati-Namouchi, I., & Chriki, A. (2003). Genetic diversity, population structure and mating system in endemic *Hedysarum carnosum* Desf. (Fabaceae). *Plant Genetic Resources Newsletter (IPGRI/FAO)*, 135, 33–39.
- Lowe, A. J., Boshier, D., Ward, M., Bacles, C. F. E., & Navarro, C. (2005). Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity*, 95, 255–273.
- Maldonado, D. E., Pacheco, L. F., & Saavedra, L. V. (2014). Legitimidad en la dispersión de semillas de algarrobo (*Prosopis flexuosa*, Fabaceae) por zorro andino (*Lycalopex culpaeus*, Canidae) en el Valle de La Paz (Bolivia). *Ecología en Bolivia: revista del Instituto de Ecología*, 49(2), 93–97.
- Marchelli, P., Smouse, P. E., & Gallo, L. A. (2012). Short-distance pollen dispersal for an outcrossed, wind-pollinated southern beech (*Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil.). *Tree Genetics & Genomes*, 8(5), 1123–1134. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0500-0>
- Marquet, P. A., Bozinovic, F., Bradshaw, G. A., Cornelius, C., González, H., Gutiérrez, J. R., Hajek, E., Lagos, J. A., López-Cortés, F., Núñez, L., Rosello, E. F., Santoro, C., Samaniego, H., Standen, V. G., Torres-Mura, J. C., & Jaksic, F. M. (1998). Los ecosistemas del desierto de Atacama y área andina adyacente en el norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 71:593-617.
- Martinez, J. L. (1998). Pueblos del chañar y el algarrobo: los Atacamas en el siglo XVII. Santiago: DIBAM.
- McRostie, V. B., Gayo, E. M., Santoro, C. M., De Pol-Holz, R., & Latorre, C. (2017). The pre-Columbian introduction and dispersal of Algarrobo (*Prosopis*, Section Algarobia) in the Atacama Desert of northern Chile. *PloS One*, 12(7), e0181759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181759>
- Millar, M. A., Coates, D. J., & Byrne, M. (2014). Extensive long-distance pollen dispersal and highly outcrossed mating in historically small and disjunct populations of *Acacia woodmaniorum* (Fabaceae), a rare banded iron formation endemic. *Annals of Botany*, 114(5), 961–971. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu167>
- Moncada, X., Plaza, D., Stoll, A., Payacan, C., Seelenfreund, D., Martínez, E., Bertin, A., & Squeo, F. A. (2019). Genetic diversity and structure of the vulnerable species *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz in the Coquimbo Region, Chile. *Gayana Botanica*, 76(1), 91–104. <https://doi.org/10.4067/s0717-66432019000100091>
- Mottura, M. C., Finkeldey, R., Verga, A. R., & Gailing, O. (2005). Development and characterization of microsatellite markers for *Prosopis chilensis* and *Prosopis flexuosa*

- and cross-species amplification. *Molecular Ecology Notes*, 5(3), 487–489. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00965.x>
- Murawski, D. A., & Hamrick, J. L. (1991). The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity*, 67(2), 167–174. <https://doi.org/10.1038/hdy.1991.76>
- Núñez, L. (1971). Secuencia y cambio en los asentamientos humanos de la desembocadura del río Loa, en el norte de Chile. *Boletín De La Universidad De Chile*, 112, 3–25.
- Omondi, S. F., Odee, D. W., Ongamo, G. O., Kanya, J. I., & Khasa, D. P. (2018). Mating patterns of the gum arabic tree (*Acacia senegal* synonym *Senegalia senegal*) in two different habitats. *New forests*, 49, 53–65. <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9604-6>
- Palacios, R. A. (2006). Los Mezquites Mexicanos: Biodiversidad y Distribución Geográfica. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 41(1-2), 99-121.
- Pannell, J. R., & Labouche, A. M. (2013). The incidence and selection of multiple mating in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 368(1613), 20120051. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0051>
- Pereira, L. C. S. M., Tambarussi, E. V., Biliati, M. O., Martins, K., Kageyama, P. Y., & Sebbenn, A. M. (2020). Inbreeding depression from selfing and mating among relatives of *Hymenaea courbaril* L. *Forest Ecology and Management*, 475, 118414. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118414>
- Pometti, C. L., Pizzo, B., Brunetti, M., Macchioni, N., Ewens, M., & Saidman, B. O. (2009). Argentinean native wood species: Physical and mechanical characterization of some *Prosopis* species and *Acacia aroma* (Leguminosae; Mimosoideae). *Bioresource Technology*, 100(6), 1999–2004. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.061>
- Pometti, C. L., Bessega, C. F., Vilardi, J. C., & Saidman, B. O. (2013). Comparison of mating system parameters and genetic structure in three natural scenarios of *Acacia visco* (Leguminosae, Mimosoideae). *Plant Systematics and Evolution*, 299(4), 761–771. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0759-0>
- Pometti, C. L., Bessega, C., Cialdella, A., Ewens, M., Saidman, B., & Vilardi, J. (2018). Spatial genetic structure within populations and management implications of the South American species *Acacia aroma* (Fabaceae). *PloS One*, 13(2), e0192107. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192107>
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ritland, K. (1984). The effective proportion of self-fertilization with consanguineous matings in inbred populations. *Genetics*, 106(1), 139–152. <https://doi.org/10.1093/genetics/106.1.139>
- Ritland, K. (1989). Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 43(4), 848–859. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb05182.x>

- Ritland, K. (1990). A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *The Journal of Heredity*, 81(3), 236–237. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110982>
- Ritland, K. (2002). Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent *loci*. *Heredity*, 88(4), 221–228. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800029>
- Ritland, K., & Jain, S. (1981). A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent *loci*. *Heredity*, 47(1), 35–52. <https://doi.org/10.1038/hdy.1981.57>
- Rocha, O. J., & Aguilar, G. (2001). Variation in the breeding behavior of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica. *American Journal of Botany*, 88(9), 1600–1606. <https://doi.org/10.2307/3558404>
- Roig, F. A. (1993). Aportes a la Etnobotánica del Género *Prosopis*. En: Unidades de Botánica y Fisiología vegetal, IADIZA (eds.) Contribuciones Mendocinas a la quinta Reunión Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del CIID. pp. 99–121.
- Ruhm, J., Böhnert, T., Weigend, M., Merklinger, F. F., Stoll, A., Quandt, D., & Luebert, F. (2020). Plant life at the dry limit-Spatial patterns of floristic diversity and composition around the hyperarid core of the Atacama Desert. *PLoS One*, 15(5), e0233729. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233729>
- Saidman, B. O., (1985). Estudio De La Variación Alosímica En El Género *Prosopis*. Fac. Cs. Exactas y Nat., Universidad de Buenos Aires, Tesis Doctoral.
- Sebbenn, A. M. (2006). Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. En: Higa A. R., Silva L. D. (eds.) Pomar de sementes de espécies florestais nativas. FUFPEF, Curitiba, Brasil, pp. 93–138.
- Silvestre, E. D. A., Schwarcz, K. D., Grando, C., de Campos, J. B., Sujii, P. S., Tambarussi, E. V., ... & Zucchi, M. I. (2018). Mating system and effective population size of the overexploited Neotropical tree (*Myroxylon peruiferum* Lf) and their impact on seedling production. *Journal of Heredity*, 109(3), 264–271. <https://doi.org/10.1093/jhered/esx096>
- Simpson, B. B., Neff, J. L., & Moldenke, A. R. (1977). *Prosopis* flowers as a resource. En: Simpson, B.B. (ed.) Mesquite. Its Biology in Two Desert Scrub Ecosystems. US/IBP Synthesis Series 4, Hutchinson & Ross Inc, Dowden, pp. 84–105.
- Sork, V. L., & Smouse, P. E. (2006). Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, 21(6), 821–836. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5415-9>
- Squillace, A. E. (1974). Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. *Silvae Genet.* 23, 149–156.
- Tambarussi, E. V., Boshier, D. H., Vencovsky, R., Freitas, M. L. M., Sebbenn, A. M. (2017). Inbreeding depression from selfing and mating between relatives in the

- Neotropical tree *Cariniana legalis* Mart. Kuntze. *Conserv. Gent.* 18(1), 225–234. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0896-4>
- Tautz, D., & Renz, M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12(10), 4127–4138. <https://doi.org/10.1093/nar/12.10.4127>
- Torres, E., & Zambrano, J. (2000). Hidrogeología de la provincia de Mendoza. En: Abraham E. M., Rodríguez Martínez, F. (eds.) *Argentina: Recursos y Problemas Ambientales de la Zona Árida. Provincias de Mendoza, San Juan y La Rioja*. Junta de Gobierno de Andalucía- Universidades y Centros de Investigación de la Región Andina Argentina, Mendoza, pp. 49–58.
- Turland, N. J., Wiersema, J. H., Barrie, F. R., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P. S., Knapp, S., Kusber, W.-H., Li, D.-Z., Marhold, K., May, T. W., McNeill, J., Monro, A. M., Prado, J., Price, M. J. & Smith, G. F. (eds.) (2018). International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. *Regnum Vegetabile* 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books. <https://doi.org/10.12705/Code.2018>
- Vilardi, J. C., Saidman, B. O., & Palacios, R. A. (1988). Muestreo según variabilidad. En: *Prosopis en Argentina*. Documento preliminar elaborado para el I Taller Internacional sobre Recurso genético y conservación de germoplasma en *Prosopis*. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (eds.) Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC-FAO, PIRB, Córdoba, Argentina, pp. 119–124.
- Vilela, A. & Palacios, R. A. (1998). Nueva clave para la identificación de especies sudamericanas del género *Prosopis* (Mimosaceae). *Arnaldoa* 5(1): 57-66.
- Villagra, P. E., Cony, M. A., Mantován, N. G., Rossi, B. E., González Loyarte, M. M., Villalba, R., & Marone, L. (2004). Ecología y manejo de los algarrobales de la Provincia Fitogeográfica del Monte. En: Arturi, M. F., Frangi, J. L., & Goya, J. F. (eds.) *Ecología y Manejo de Bosques Nativos de Argentina*. Editorial Universidad Nacional de La Plata.
- Vuille, M., Burns, S. J., Taylor, B. L., Cruz, F. W., Bird, B. W., Abbott, M. B., Kanner, L. C., Cheng, H., & Novello, V. F. (2012). A review of the South American monsoon history as recorded in stable isotopic proxies over the past two millennia. *Climate of the past*, 8, 1309–1321.
- Wadt, L. H. O., Baldoni, A. B., Silva, V. S., Campos, T., Martins, K., Azevedo, V. C. R., Mata, L. R., Botin, A. A., Hoogerheide, E. S. S., Tonini, H., & Sebbenn, A. M. (2015). Mating system variation among populations, individuals and within and among fruits in *Bertholletia excelsa*. *Silvae Genetica*, 64(1–6), 248–259. <https://doi.org/10.1515/sg-2015-0023>
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323–354.
- Yuan, C. Q., Li, Y. F., Wang, L., Zhao, K. Q., Hu, R. Y., Sun, P., ... & Zhou, Z. Y. (2013). Evidence for inbreeding depression in the tree *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae).

Genetics and Molecular Research, 12(4), 6249-6256.
<http://dx.doi.org/10.4238/2013.December.4.12>

Zhu, P., Wang, Z. F., Ye, W. H., Cao, H. L., & Thavamanikumar, S. (2013). Preliminary studies on pollination and mating system of rare and endangered plant *Erythrophleum fordii* Oli. *J. Trop. Subtrop. Bot*, 21, 38–44.