



FOLIA
Amazónica

Revista del Instituto de Investigaciones
de la Amazonía Peruana

EVALUACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE «shihuahuaco» *Dipteryx ferrea* (Ducke) Ducke EN LA AMAZONÍA PERUANA, MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES

Rossana DIAZ SORIA¹, Eurídice N. HONORIO CORONADO², David ALDANA¹,
Dennis DEL CASTILLO TORRES², Gabriel HIDALGO PIZANGO²,
Carlos ANGULO CHAVEZ¹, Eduardo MEJÍA DE LOAYZA¹, Diana CASTRO-RUIZ¹,
Mayra FLORES SILVA¹, Jean-François RENNO³, Carmen GARCÍA-DÁVILA¹

¹ Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), Carretera Iquitos-Nauta km 4.5, San Juan Bautista, Iquitos, Perú.
Correo electrónico: cdavila19@yahoo.com

² Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Programa de investigación en manejo integral del bosque y servicios ambientales (PROBOSQUES), Av. Abelardo Quiñonez km 2.5, San Juan Bautista, Iquitos, Perú.

³ Institut de Recherche pour le Developpement (IRD), UR-DIADE, Montpellier, Francia.

RESUMEN

Se evaluó la variabilidad genética del shihuahuaco, *Dipteryx ferrea*, en siete poblaciones naturales en la Amazonía peruana mediante el análisis de nueve *loci* microsatélites. Los resultados muestran una alta diversidad genética evidenciada en el elevado polimorfismo (total alelos = 135, media de alelos por locus = 15 ± 6 alelos) y riqueza alélica (Macuya = 11 e Iñapari = 8, máxima y mínima riqueza alélica, respectivamente). El análisis de componentes principales muestra una fuerte superposición entre las poblaciones, que sumado a los reducidos valores de distancia genética interpoblacional (valores entre 0.07 a 0.10), revela una elevada semejanza genética entre las poblaciones. El dendrograma elaborado en base a la distancia genética de Shared Allele, muestra que las poblaciones se encuentran conformando tres agrupaciones genéticas principales, la primera constituida por Manu e Iñapari (grupo A, bootstrap = 91%), la segunda por Contamana y Macuya (grupo B, 60%), y la tercera por Tamaya, Santa Clara e Inuya (grupo C, 100%). El análisis de correlación mostró que existe una correlación positiva entre la distancia geográfica y distancia genética entre las poblaciones analizadas ($r = 0.62$, $p < 0.005$). La elevada similitud genética entre poblaciones encontrada en esta especie puede ser atribuida al sistema de reproducción alógama (polinización cruzada) que presenta el shihuahuaco, a sus polinizadores

(murciélagos, abejas) y dispersores (guacamayos, águilas, pecaríes, etc.) que pueden desplazarse grandes distancias geográficas facilitando el flujo de genes entre las poblaciones. Factores históricos como la actividad tectónica de la zona de estudio también influyeron en las relaciones genéticas observadas entre las poblaciones, distinguiendo grupos genéticos hermanos como A y B que cubren gran parte de la distribución geográfica de la especie y un grupo diferenciado (grupo C) ubicado en una zona de formación más reciente en el departamento de Ucayali.

PALABRAS CLAVES: flujo de genes, estructuración poblacional, poliploide, polimorfismo.

EVALUATION OF THE GENETIC VARIABILITY OF «shihuahuaco» *Dipteryx ferrea* (Ducke) Ducke IN THE PERUVIAN AMAZON, USING MICROSATELITES MARKERS

ABSTRACT

We studied the genetic variability of *Dipteryx ferrea* shihuahuaco in seven natural populations from the Peruvian Amazon using nine microsatellite *loci*. The results showed a high genetic diversity shown by the high polymorphism (total alleles = 135, mean alleles per locus = 15 ± 6 alleles) and allelic richness (Macuya = 11 and Iñapari = 8, maximum and minimum allelic richness, respectively). The analysis of principal components showed a strong overlap among the populations, which added to the low values of interpopulation genetic distance (from 0.07 to 0.10), reveals a high genetic similarity among populations. The dendrogram based on the genetic distance of Shared Allele showed populations clustered in three main groups, the first formed by Manu and Iñapari populations (group A, bootstrap = 91%), the second by Contamana and Macuya (group B, 60%), and the third by Tamaya, Santa Clara e Inuya (group C, 100%). The correlation analysis showed that there is a positive correlation between geographic distance and genetic distance among pairs of populations ($r = 0.62$, $p < 0.005$). The high genetic similarity among populations found in this species can be attributed to the allogamous reproduction system (cross-pollination) of Shihuahuaco, to its pollinators (bats, bees) and dispersers (macaws, eagles, peccaries, etc.) that can travel long distances, which facilitates the gene flow among populations. Historical factors such as the tectonic activity of the study area also influenced the genetic relationships observed among the populations, distinguishing closely related genetic groups such as A and B that cover a large part of the geographical distribution of the species and a differentiated group (group C) located in a more recent developed area in the department of Ucayali.

KEYWORDS: gene flow, population structure, polyploid, polymorphism.

INTRODUCCIÓN

Los bosques amazónicos albergan el 25% de la biodiversidad terrestre y cumplen un papel vital en la regulación de los sistemas ecológicos regionales y mundiales (Putzel *et al.*, 2010). Más de 650 000 km² (>12%) de la superficie de bosques amazónicos se encuentra en el Perú. Estos bosques presentan un progresivo deterioro, causado principalmente por el crecimiento demográfico, la explotación forestal, la expansión de las actividades agropecuarias y los daños directos causados por la tala y la extracción de madera (Soares *et al.*, 2012; Vinzon *et al.*, 2009).

La presión de tala ha ocasionado la reducción de las poblaciones naturales de las especies forestales valiosas, así como la ruptura de la continuidad del hábitat por fragmentación, lo que podría causar estructuración genética entre las poblaciones por reducción del flujo genético entre ellas (Borgues *et al.*, 2008; De Lucas, 2008; Soares *et al.*, 2008). En los últimos años las actividades forestales se vieron fuertemente incrementadas, el mercado forestal presentó un aumento en los volúmenes de las exportaciones anuales en un 180%. La presión sobre las especies forestales fue selectiva, pues se concentró en unas pocas especies maderables de alto valor comercial, tal es el caso del cedro, la caoba, y el shihuahuaco (Putzel *et al.*, 2010). Esta última se refiere a especies del género *Dipteryx* (Fabaceae), que presenta una creciente demanda por los mercados internacionales en Norte América, Europa y sobre todo China. Esto debido principalmente a la densidad de su madera y resistencia a la putrefacción que la hace ideal para construcciones de muebles decorativos al aire libre (Putzel *et al.*, 2010). Sumado a su valor comercial, el shihuahuaco posee una gran importancia ecológica como fuente de alimentación y sitios de anidación de muchas especies. Los reportes en la literatura abordan

mayormente aspectos de su taxonomía, ecología y distribución (Reynel *et al.*, 2003; Quispe, 2009; Collevatti, 2013; Putzel *et al.*, 2011; Romo, 2005.) que nos dan una visión macroscópica valiosa de la situación de la especie en la Amazonía peruana. Pero todavía poco se conoce sobre otros parámetros poblacionales como la variabilidad genética o el flujo de genes (los cuales no pueden ser evaluados por análisis morfológicos), que nos permita tener una visión más precisa sobre las características moleculares y el estado de conservación de las especies de *Dipteryx* en esta amplia región geográfica (Soares *et al.*, 2008).

Actualmente los marcadores moleculares son herramientas fuertemente utilizadas para obtener información base para el manejo y conservación de especies arbóreas exploradas comercialmente, debido a que nos permite evaluar no sólo la estructura poblacional, sino también el flujo de genes, así como determinar el estado de conservación genética de las especies (Vinzon *et al.*, 2009; Lemes *et al.*, 2003; Tarazi *et al.*, 2009; Azevedo *et al.*, 2007; Reátegui *et al.*, 2010). Entre las clases de marcadores moleculares existentes, los marcadores microsatélites son los más utilizados en estudios poblacionales, debido a su alta tasa de mutación dentro de las especies, es decir son muy variables (polimórficos), lo que permite establecer diferencias entre las poblaciones de una misma especie, además que pueden ser detectados por PCR (Azofeifa-Delgado, 2006; Demarchi, 2009). En ese sentido el presente estudio utilizó los marcadores moleculares microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats) para generar información sobre la variabilidad genética de la especie de shihuahuaco más comercializada en el Perú, como lo es *Dipteryx ferrea* (Ducke) Ducke, en poblaciones naturales de la Amazonía peruana. De esta manera buscamos llenar los vacíos de información necesarios para la elaboración de futuros planes de conservación y manejo sostenido de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE COLECTA DEL MATERIAL BIOLÓGICO
Colectamos tejido foliar de un total de 219 individuos de *Dipteryx ferrea* provenientes de siete localidades de la Amazonía peruana: Contamana en el departamento de Loreto; Macuya, Tamaya, Santa Clara e Inuya en el departamento de Ucayali; Iñapari y Manu en el departamento de Madre de Dios (Figura 1). Esta especie corresponde a aquella denominada como *Dipteryx micrantha* Harms morfotipo 1 según Aldana *et al.* (2016) y cuya taxonomía será publicada por Catarina de Carvalho indicando

la muestra tipo y la ocurrencia de la especie en el Perú (artículo en preparación). Se colectaron 30 a 35 individuos dentro de cada localidad, de preferencia individuos adultos distantes 200 m entre sí. Las muestras fueron conservadas en sílica gel y transportadas al Laboratorio de Biología y Genética Molecular-LBGM del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IIAP para el análisis molecular. Muestras botánicas de algunos individuos representativos de la especie en las diferentes localidades fueron colectadas y depositadas en el Herbario Herrerense en Iquitos.

EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DE LAS REGIONES MICROSATÉLITES

La extracción de ADN fue realizada a partir de 100 mg de tejido foliar, mediante el protocolo modificado CTAB (Doyle & Doyle, 1987). El análisis molecular fue realizado en base a nueve regiones microsátélites (Tabla 1): Do08, Do18, Do19, Do20, Do24, Do25 (Vinson *et al.*, 2009) y DaE06, DaE41, DaE63 (Soares *et al.*, 2012). El PCR fue realizado en un volumen final de 10 µl, conteniendo ADN (100ng/µl), Buffer (10x), MgSO₄ (25 mM), dNTPs (2 mM), primers (SSR) forward y reverse (10 µM), Taq polimerasa (1 u/µl) y agua ultrapura. El perfil de temperatura utilizado comprendió de una fase de denaturación inicial a 96°C x 2 min; seguida de 30 ciclos (denaturación a 94°C x 1 min., hibridación por 1 min., con temperatura óptima para cada primer y extensión a 72°C por 30 s), seguida de una extensión final a 72°C por 30 min.

OBTENCIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS PESOS DE LOS ALELOS

Los alelos fueron separados mediante electroforesis capilar utilizando un analizador genético (Applied Biosystems) 3130XL, utilizándose como marcador de peso molecular el ROX 500. Los pesos de los alelos de cada región microsátélite (*locus*) fueron determinados usando el software

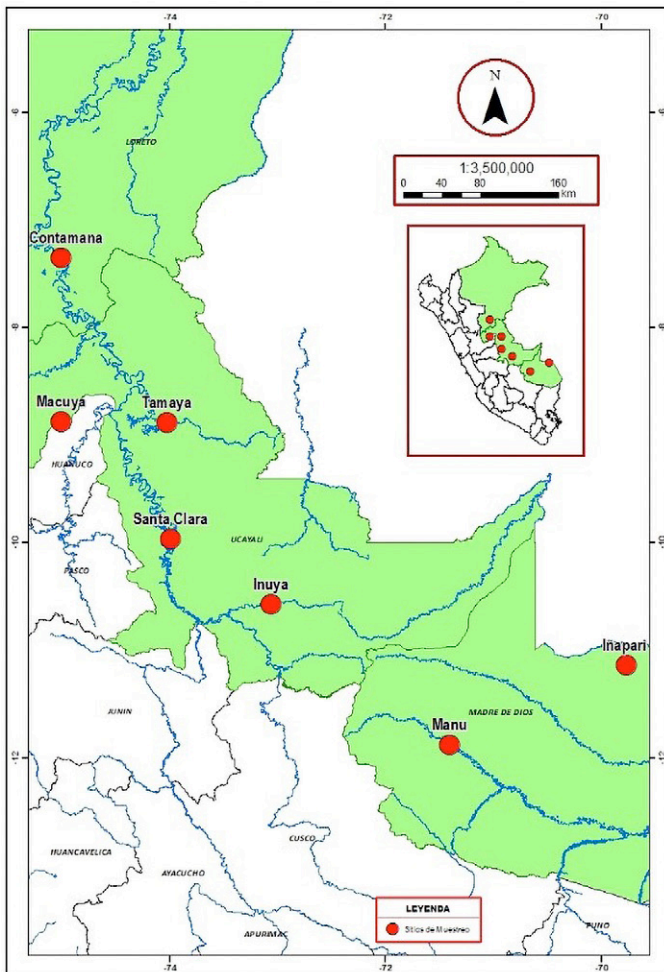


Figura 1. Mapa de ubicación de los siete lugares de colecta de los individuos de *Dipteryx ferrea* en la Amazonía peruana.

Tabla 1. Loci, motivo de repetición, secuencia, tamaño en pares de base (Pb) de los nueve marcadores microsatélites utilizados.

| Locus | Motivo de repetición | Secuencia de primer | Rango del tamaño de alelos |
|--------------------|----------------------|---|----------------------------|
| Do08 ¹ | (GA) ₁₄ | F:AGATCAGCGGACAAAGGTCT R:GTAATGTTGTGCCACTCTTG | 177 – 205 |
| Do18 ¹ | (CT) ₁₂ | F:GCTCTCTCCCCCTTTGTCTC R:GTTGGCAGTGAAGGTGGTG | 88 – 122 |
| Do19 ¹ | (CT) ₁₂ | F:GCGTCTCTTCCCATTGTTTG R:TCCGTAGAGCCACACAGAGA | 109 – 141 |
| Do20 ¹ | (CT) ₁₇ | F:GCCCATCTAAGCGCATTATT R:AGTGGAAGGGTGGATTGATG | 175 – 207 |
| Do24 ¹ | (GA) ₁₄ | F:AACGCAGGATCTAGCCAAAA R:CTTCTCGCTGTTGTGCACTC | 183 – 201 |
| Do25 ¹ | (GA) ₉ | F:AAATGCAAAACGGAAGAGGA R:CCCCTGAAGGAGACTTCGAT | 195 – 223 |
| DaE06 ² | (AAAT) ₄ | F: TGCAGCATAAAAATTGCGAA R: TTACCCCAAAGCCTCAAGAA | 212 – 220 |
| DaE41 ² | (CA) ₅ | F: GCCTCCTCCTCCGGTATCTA R:CAGCAGTGGGAGTGTCAGAA | 118 – 148 |
| DaE63 | (TC) ₆ | F: TGAAATTGAGGAAGCAAGGG R:TCCTTTCAATCCTTTTAGAATTTG | 208 – 214 |

¹Vinzon, et al. (2009); ²Soares, et al. (2012)

Peak Scanner versión 1.0. Debido a que esta especie es tetraploide (cuatro alelos) no fue posible utilizar los pesos reales de los alelos sino a partir de estos pesos se elaboró una matriz de presencia y ausencia de alelos.

ANÁLISIS DE DATOS

La diversidad alélica por locus fue determinada mediante el cálculo del número total, el promedio y la desviación estándar de alelos por locus. La diversidad alélica se analizó mediante el cálculo del número total de alelos (A_T) y la riqueza relativa alélica (A_R) para cada localidad estudiada. Estos datos fueron representados gráficamente en un mapa elaborado en el software Arcgis 10.2. Para establecer las relaciones genéticas entre las localidades se realizó un análisis multivariado de

Componentes Principales (PCA) usando el paquete Adegenet 2.0.0 desarrollado exclusivamente para marcadores multialélicos y codominantes como los microsatélites (Jombart, 2015). Las relaciones entre las localidades fueron también estimadas elaborando un dendrograma UPGMA (Unweighted Pair Group Method with the Arithmetic Averaging) usando el software PHYLIP versión 3.5 a partir de la distancia de alelo compartido (shared allele) creado en el programa PowerMarker 3.25. La visualización del dendrograma fue posible mediante el programa Treeview (Page, 1996) y el soporte estadístico para los nudos correspondió a los valores de bootstrap obtenidos con 100 réplicas. Para verificar si las diferencias genéticas observadas entre las poblaciones estudiadas se deben a un aislamiento por

distancia geográfica, se realizó un análisis de regresión entre las distancias genéticas (Shared allele) y geográficas (km) determinando el coeficiente de correlación de PEARSON.

RESULTADOS

VARIACIÓN Y FRECUENCIA ALÉLICA POR LOCUS Y POBLACIÓN

Encontramos un total de 135 alelos en las nueve regiones microsatélites evaluadas, con un promedio y desviación estándar de 15 ± 6 alelos por locus. La mayor diversidad alélica se obtuvo en el locus DaE63 (25 alelos), seguido del locus Do24 (22 alelos); en tanto DaE06 presentó la menor diversidad (5 alelos). El locus Do24 fue el que mostró la mayor diversidad alélica (diversidad media de alelos por población = 13.6) en cuatro de las siete localidades, en tanto que el locus DAE06 fue el que presentó la menor diversidad alélica en todas las poblaciones analizadas (diversidad media de alelos por población = 3.3). La población con mayor diversidad y riqueza alélica fue Macuya (AT = 95; AR = 11), en tanto que Iñapari presentó el menor número de alelos y menor riqueza alélica (AT = 73 y AR = 8) (Tabla 2). En total fueron identificados 27 alelos privados entre los 135 alelos encontrados, de los cuales las poblaciones de Manu y Macuya presentaron el mayor número de alelos privados con ocho y siete, respectivamente.

RELACION GENÉTICA ENTRE LAS POBLACIONES

El análisis de componentes principales revela que la varianza acumulada para los seis primeros componentes generados representó sólo el 24% de la varianza total (Tabla 3). El CP1 y CP2 responden por solo el 5.1 % y 4.2% de la varianza respectivamente, mientras que los componentes siguientes obtuvieron valores

menores del 4%. Estos resultados indican que existe muy poca diferenciación genética entre las siete localidades en estudio. Los autovalores (valores que indican la cantidad de varianza que explica ese componente) para los seis primeros componentes presentan valores menores a 1, es decir son poco explicativos. La figura 2 muestra la proyección gráfica de los individuos de cada localidad en los tres primeros componentes principales del PCA, donde se puede observar que los individuos presentes en cada población están estrechamente relacionados. No en tanto, se puede observar una muy insipiente diferenciación

Tabla 2: Número de alelos, diversidad alélica (AT) y riqueza alélica (AR) encontrada en las siete localidades de *Dipteryx ferrea* de la Amazonía peruana obtenidos mediante el análisis de nueve loci microsatélites.

| Localidad | N° alelos privados | Diversidad alélica | Riqueza alélica |
|-------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| Manu | 8 | 79 | 9 |
| Contamana | 3 | 82 | 9 |
| Inuya | 0 | 78 | 9 |
| Macuya | 7 | 95 | 11 |
| Iñapari | 1 | 73 | 8 |
| Santa Clara | 3 | 80 | 9 |
| Tamaya | 5 | 81 | 9 |

Tabla 3: Resultados de los seis primeros componentes principales encontrados en las siete localidades de *Dipteryx ferrea* analizadas en la Amazonía peruana.

| Componente | Eigenvalues | % Varianza | %Varianza acumulada |
|------------|-------------|------------|---------------------|
| CP1 | 0.56 | 5.07 | 5.07 |
| CP2 | 0.47 | 4.23 | 9.30 |
| CP3 | 0.43 | 3.92 | 13.22 |
| CP4 | 0.41 | 3.74 | 16.96 |
| CP5 | 0.38 | 3.47 | 20.43 |
| CP6 | 0.35 | 3.20 | 23.63 |

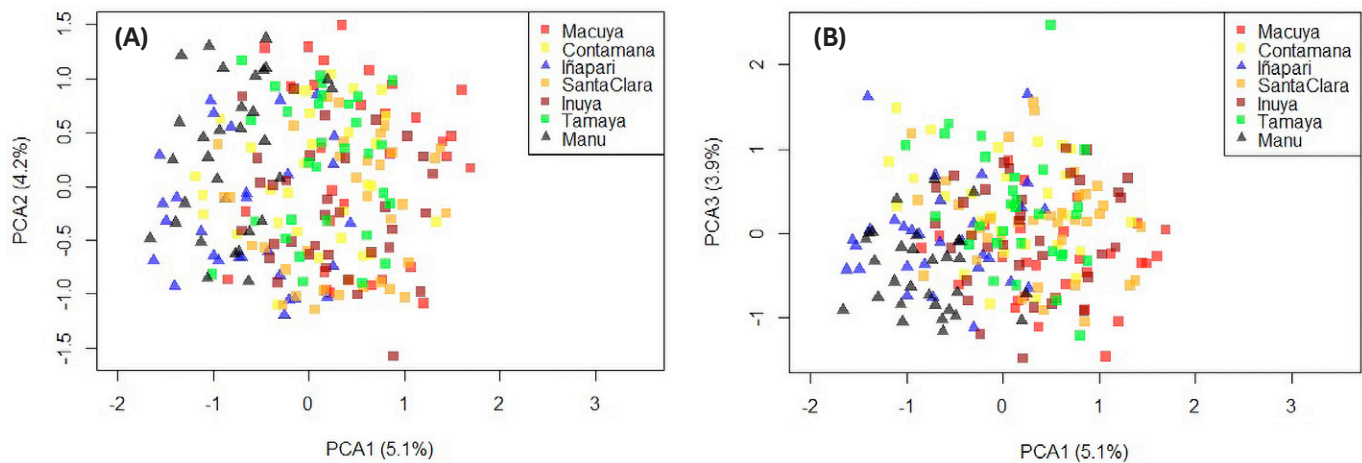


Figura 2. Proyección gráfica de los resultados del Análisis de Componentes Principales según la varianza encontrada en los individuos de *Dipteryx ferrea* provenientes de siete localidades de la Amazonía peruana.

Tabla 4: Valores de distancia genética (Shared allele) entre siete localidades de *Dipteryx ferrea* en la Amazonia peruana obtenidos mediante el análisis de nueve loci microsatélites.

| Departamento | Localidad | Contamana | Macuya | Tamaya | Sta Clara | Inuya | Iñapari | Manu |
|--------------|-------------|-----------|--------|--------|-----------|-------|---------|------|
| Loreto | Contamana | - | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.08 | 0.08 | 0.09 |
| Ucayali | Macuya | | - | 0.08 | 0.08 | 0.09 | 0.09 | 0.10 |
| Ucayali | Tamaya | | | - | 0.07 | 0.07 | 0.10 | 0.09 |
| Ucayali | Santa Clara | | | | - | 0.07 | 0.09 | 0.10 |
| Ucayali | Inuya | | | | | - | 0.09 | 0.09 |
| M. de Dios | Iñapari | | | | | | - | 0.08 |
| M. de Dios | Manu | | | | | | | - |

de las localidades de Manu e Iñapari del resto de localidades, lo cual es más evidente en la figura 2B.

DISTANCIA GENÉTICA Y ESTRUCTURACIÓN DE LAS POBLACIONES

Los valores de la distancia genética (Shared allele) mostraron que las localidades más relacionadas fueron Santa Clara e Inuya (0.07); en tanto que la localidad de Manu presentó la mayor distancia genética (0.10) con las localidades de Macuya y Santa Clara (Tabla 4).

El dendrograma basado en la distancia genética (Shared allele) mostró la conformación de tres agrupaciones o *clusters*: grupo A con

las poblaciones de Iñapari y Manu, grupo B con Contamana y Macuya, y grupo C con Tamaya, Santa Clara e Inuya (Figura 3). Los Bootstrap entre las localidades dentro de las agrupaciones nos indican que las tres agrupaciones son sólidas con valores de 91%, 60% y 100%, respectivamente. Además podemos observar que A y B son grupos hermanos (Bootstrap = 53%).

CORRELACIÓN ENTRE DISTANCIAS GENÉTICA Y GEOGRÁFICA

Las localidades con mayor distancia geográfica lineal fueron Iñapari y Contamana (713.52 km) y las más cercanas fueron Macuya y

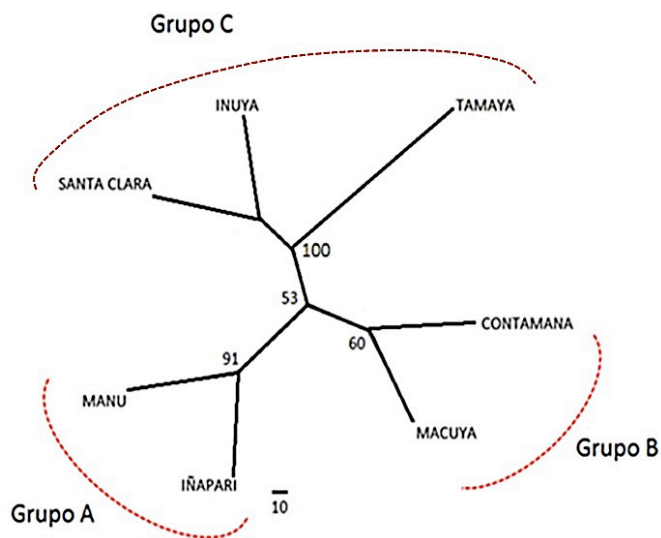


Figura 3. Dendrograma construido a partir de las distancias genéticas de Shared allele según el criterio de agrupamiento UPGMA para las siete localidades de *Dipteryx ferrea* de la Amazonía peruana. Los números en los nudos corresponden a los valores de bootstrap obtenidos con 100 réplicas.

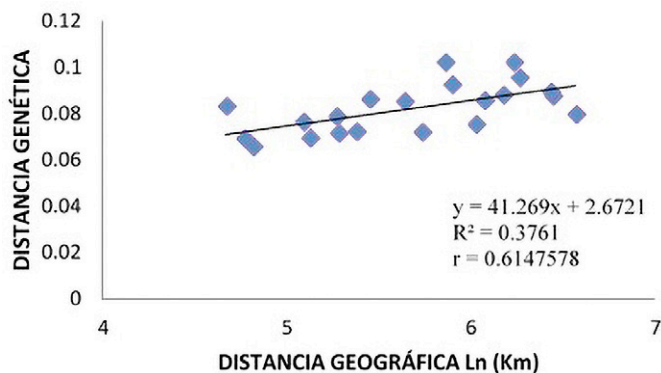


Figura 4: Representación gráfica del análisis de correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (Km) de *Dipteryx ferrea* proveniente de siete localidades estudiadas.

Tamaya (107.01 km). Los valores de distancia genética variaron de 0.07 entre las localidades de Santa Clara e Inuya hasta 0.10 entre Manu y Macuya o entre Manu y Santa Clara. El análisis de correlación evidenció que la distancias genéticas observadas entre las siete localidades estudiadas presentan una correlación positiva,

por lo tanto tienen una alta dependencia de la distancia geográfica lineal siguiendo un modelo de distribución exponencial ($r = 0.615$, $gl = 19$, $p < 0.005$), Es decir que las pequeñas distancias genéticas encontradas en las poblaciones son respuestas a las distancias geográficas entre ellas (Figura 4).

DISCUSIÓN

Dipteryx es considerado un género de gran importancia por su función ecológica, la caída de estos grandes árboles crea enormes claros en el sotobosque permitiendo la regeneración de aquellas especies que requieren de áreas abiertas para su desarrollo (Romo, 2004). La importancia de *Dipteryx* radica también en la calidad de su madera lo que en los últimos años la hizo una de las especies más exportadas a nivel mundial, conllevando a una sobreexplotación selectiva de sus especies y probablemente a la extinción futura si no se establecen planes de manejo adecuados. En noviembre del 2016 un grupo de científicos conscientes de la gran importancia del shihuahuaco emitió un pronunciamiento dirigido al MINAGRI, al MINAM y al SERFOR en donde exigen actualizar la categorización de especies de flora silvestre amenazada de nuestro país y en ésta incluir las especies de shihuahuaco, una de ellas, nuestra especie de estudio *Dipteryx ferrea* en la categoría de vulnerable y en peligro (Romo, 2018 Mongabay Series: Global Forests). Cabe resaltar que en Costa Rica por ejemplo la especie *Dipteryx oleifera* (*D. panamensis*) ya ha sido considerada en la lista roja del apéndice III de la CITES como vulnerable a la extinción.

La presente investigación desarrolló la línea base de información genética y el estado de conservación de estas poblaciones en la Amazonía peruana. El análisis de los perfiles de cada *locus* microsatélite mostró que los individuos de

Dipteryx ferrea en la Amazonía peruana tienen hasta cuatro alelos por *locus*, lo que implica un comportamiento tetraploide. Vinzon *et al.*, 2009 y Hanson *et al.*, 2008 hicieron estudios moleculares con *Dipteryx odorata* y *Dipteryx oleiofera* respectivamente, las cuales presentaron el mismo comportamiento cromosómico, corroborando la presencia de poliploidía en el género. Estos estudios indican que la interpretación de los datos genéticos de la población es más difícil en los organismos poliploides que en los diploides debido a que no se puede dosificar con precisión la frecuencia de los alelos cuando el número de alelos mostrados en un individuo es menor que el número máximo posible para ese nivel de poliploidía (Vinzon *et al.*, 2015).

Los altos niveles de diversidad genética encontrados fueron similares a los valores que se obtuvieron para especies congéneres como *Dipteryx oleiofera* y *Dipteryx alata* (Tarazi *et al.*, 2010) analizados con nueve *loci* microsatélites desarrollados por Vinzon *et al.*, 2004. La diversidad genética encontrada en una especie es de suma importancia, porque con ella se demuestra la capacidad que tuvo dicha especie de adaptarse a su entorno, además que incrementa la probabilidad de subsistencia de las poblaciones en el tiempo (Ratnam *et al.*, 2014). La existencia de una mayor diversidad genética poblacional, permite explorar además variantes genéticas aprovechables para el hombre (Corazón, 2009). En este sentido la mayor diversidad genética encontrada en la localidad de Macuya (AT = 95, AR = 11) hace que esta población sea considerada un buen stock genético para el shihuahuaco y su material genético (semillas) son la mejor opción para futuros programas y planes de manejo y de conservación.

Los resultados del análisis de componentes principales presentaron bajos porcentajes de variación, la varianza acumulada solo concentró el 13% del total en los tres primeros

componentes, no existiendo alguna variable que logre una diferenciación genética total entre las localidades estudiadas. Estos resultados fueron corroborados con los datos de la distancia genética (distancia promedio = 0.08), lo que demuestra que las poblaciones estudiadas no forman entidades genéticas fuertemente estructuradas. Estos niveles bajos de diferenciación podrían ser atribuidos al modo de reproducción de la especie, *Dipteryx ferrea* es una planta con flores hermafroditas melitófilas (polinizadas por abejas) que posee un mecanismo de fecundación cruzada o también llamada alógama (Oliveira y Sigríst, 2008, Reynel *et al.*, 2003, Corazón, 2009). De este modo, probablemente se promueve un flujo genético constante entre las poblaciones. Este flujo genético también es incrementado por la alta gama de dispersores que presenta la especie, los cuales ya han sido objeto de estudio de muchas investigaciones y es bastante conocido en la literatura. Por ejemplo los murciélagos, que son sus principales dispersores, ellos cogen el fruto del mismo árbol y luego lo trasladan a sus nidos. Lo mismo sucede con los loros y guacamayos que utilizan estos árboles como sitios de anidación y alimentación, siendo posible que al momento de su traslado dispersen los frutos y semillas (Brightsmith, 2005). Otro tipo de dispersión se da cuando los frutos caen de la copa del árbol al suelo del bosque y son cogidos por mamíferos terrestres como añujes, venados, sajinos y sachavacas, que se alimentan de la pulpa y dejan las semillas dispersadas en pequeños montones o enterradas en el suelo del bosque (Clark & Clark 1987, Forget 1993, Ruiz *et al.*, 2010, Oliveira & Sigríst, 2008, Hanson *et al.*, 2008).

Las relaciones genéticas mostradas en el dendrograma (Figura 3) podrían estar relacionadas a dos factores: i) la influencia de la distancia geográfica en las relaciones genéticas entre las localidades pertenecientes a los grupos

A, B y C, lo que demostraría que hay una alta dependencia entre las distancias genéticas y las distancias geográficas. ii) La influencia del levantamiento de la Cordillera El Sira y Sierra Divisor, las cuales ocupan parte del departamento de Ucayali y sería la causante de la separación del grupo C de los grupos A y B. Pues todo indica que las planicies en donde se encuentran localizadas las poblaciones de shihuahuaco de grupo C son más recientes que las localidades de los A y B. Räsänen (1993) señala que la formación de la estructura geológica de la amazonia peruana proviene desde el Mioceno (cenozoico - terciario, hace 23 millones de años aproximadamente) periodo en el que se formaron los Andes peruanos y cambió el drenaje de la cuenca amazónica de este a oeste. Posterior a ello en el Plioceno ocurrió el levantamiento de la cordillera El Sira y de la Sierra del Divisor, el tectonismo causado por estas fallas provocó la inclinación de las llanuras aluviales y la formación de terrazas en las subcuencas de la Amazonia peruana, durante el Pleistoceno y el reciente Holoceno continuó desarrollándose una relocalización en este caso de los cursos más bajos del río Tamaya y del canal principal del Ucayali, que se presume no son más antiguas que unas pocas centenas de años (Räsänen, 1993). En tanto, las poblaciones de shihuahuacos presentes en los grupos A y B están asentadas en terrazas aun pleistocenas (1.8 millones de años a 10,000 años antes del presente).

El conocimiento de las relaciones genéticas entre las poblaciones de cualquier organismo vivo son herramientas importantes para el establecimiento de los planes de manejo más adecuados para una especie. Por lo que, en base a toda esta información obtenida en el presente estudio se recomienda tener en consideración la diversidad genética y las relaciones genéticas entre las poblaciones de shihuahuaco *Dipteryx ferrea* al momento de establecer planes de manejo

sostenido para esta especie en la Amazonia peruana.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú) por el financiamiento bajo contrato N°381-PNICP-PIAP-2014. De igual manera, también agradecen al Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR) y al Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP) por la amplia colaboración prestada para la ejecución del trabajo de campo y por los permisos de investigación otorgados para realizar las colectas del material biológico (R.D.G. N° 060-2015-SERFOR-DGGSPFFS, R.D. N° 001-A-2015-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF, Contrato No. 001-2016-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF, R.D. N° 001-2016-SERNANP-DGANP).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aldana Gomero, D. R.; García-Dávila, C. R.; Hidalgo Pizango, C. G.; Flores Llampazo, G. R.; Del Castillo-Torres, D.; Reynel Rodríguez, C.; Pariente Mondragón, E. & Honorio-Coronado, E. N. (2016). Análisis morfométrico de las especies de *Dipteryx* en la Amazonía peruana. *Folia Amazónica*, 25 (2): 101-118.
- Azevedo, C.; Kanashiro, M.; Ciampi, A.; Grattapaglia, D. 2007. Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a Heavily Logged Amazonian Timber Species. *Journal of Heredity*, 98 (7): 646-654.
- Azofeifa-Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17 (2): 221-242.

- Borgues, M.; Kanashiro, M.; Ciampi, A.; Thompson, I. Magno, A. 2008. Genetic effects of selective logging and pollen gene flow in a low-density population of the dioecious tropical tree *Bagassa guianensis* in the Brazilian Amazon. *Forest Ecology and Management*, 1548-1558.
- Brightsmith, D. 2005. Competition, predation and nest niche shifts among tropical cavity nesters: ecological evidence. *Journal of Avian Biology*, 36: 74-83.
- Clark, D.b.; Clark, D.A. 1987. Population ecology and microhabitat distribution of *Dipteryx panamensis*, a Neotropical rain forest emergent tree. *Biotropica* 19 (3): 236-244.
- Collevatti, R.; Telles, M.; Nabout, J.; Chaves, L. Soares, T. 2013. Demographic history and the low genetic diversity in *Dipteryx alata* (Fabaceae) from Brazilian Neotropical savannas. *Heredity*, 111: 97-105.
- Demarchi, D. 2009. Microsatélites, distancias genéticas y estructura de poblaciones nativas sudamericanas. *Revista argentina de antropología biológica*, 11 (1): 73-88.
- De Lucas, A. 2008. *Flujo genético, demografía y variabilidad genética en un a conífera mediterránea emblemática, el pino negral o rodano*. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid. España. 104 pp.
- Doyle, J.j.; Doyle J.l. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Forget P. M. 1993. Post-dispersal predation and scatterhoarding of *Dipteryx panamensis* (Papilionaceae) seeds by rodents in Panama. *Oecologia*, 94: 255-261
- Jombar T. 2015. An introduction to adegenet 2.0.0. Imperial College London. MRC Centre for Outbreak Analysis and Modelling.
- Lemes, M.; Gribel, R.; Proctor, J.; Grattapaglia, D. 2003. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. *Molecular Ecology*, 12: 2875-2883.
- Oliveira, M. Y.; Sigrist, M. 2008. Fenologia, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasil. Bot.*, 31 (2): 195-207.
- Page, R. D .M. 1996. TREEVIEW. Tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. Division of Environmental and Evolutionary Biology, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow. Glasgow, Scotland, UK.
- Piana, R. 2007. Anidamiento y dieta de *Harpia harpyja* Linnaeus en la Comunidad Nativa de Infierno, Madre de Dios, Perú. *Rev. Perú. biol.* 14 (1): 135-138.
- Putzel, L. 2010. The tree that held up the forest: Shihuahuaco (*Dipteryx* spp.) and the Chinese timber trade. City University of New York. 156 pp.
- Putzel, L.; Peters, C.; Romo M. 2011. Post-Logging Regeneration and Recruitment of Shihuahuaco (*Dipteryx* Spp.) in Peruvian Amazonia: Implications for Management. *Forest Ecology and Management*, 261 (6): 1099-1105.
- Quispe A. J. 2009. Caracterización dendrológica de plantulas y árboles adultos del género *Dipteryx* (Fabaceae) en el Bosque Alexander Von Humboldt, Ucayali. Tesis para optar el grado de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional del centro del Perú. Huancayo, Perú.
- Räsänen, M. 1993. La geohistoria y geología de la Amazonia peruana, in *Amazonia peruana: Vegetación húmeda tropical en el llano subandino* 2003. Risto, K.; Puhakka, M. ; Danjoy, W. (eds.). Departamento de Biología y Geología, Universidad de Turku, Finlandia, Gummerus Printing. 265pp.
- Reátegui, E.; Renno, J.; Carbajal, F.; Corvera, R.; Castro, D.; Chota, W.; Del Castillo, D. y García, C. 2010. Evaluación de la variabilidad

- genética de la castaña *Bertholletia excelsa* en la Región de Madre de Dios (Perú), mediante marcadores microsatélites. *Folia Amazónica*, 18:1-2: 41-50.
- Reynel, C.; Pennington, R.t.; Pennington, T.d.; Flores, C. Daza, A. 2003. *Árboles útiles de la Amazonía Peruana, un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies*. 22-25 pp.
- Romo, M. 1996. Seasonal variation in fruit consumption and seed dispersal by canopy bats (*Artibeus* spp.) in a lowland forest in Peru. *Vida Silvestre Neotropical*, 5: 110-119.
- Romo, M.; Tuomisto, H. Loiselle, B. 2004. On the density-dependence of seed predation in *Dipteryx micrantha*, a bat-dispersed rain forest tree. *Oecologia*, 140: 76-85.
- Romo, M. 2004. Regeneration ecology and population structure of the emergent tree *Dipteryx micrantha*, (Fabaceae) in floodplain forests of the Manu river, Amazonian Peru. *Annales Universitatis Turkuensis. Sarja-Ser. A11-Tom 180*. 87 pp.
- Romo M. 2005. Efecto de la luz en el crecimiento de plántulas de *Dipteryx micrantha* Harms «shihuahuaco» transplantadas a sotobosque, claros y plantaciones. *Ecología Aplicada*, 4 (1,2): 1-8.
- Ruiz, J.; Boucher, D.; Chaves, L.; Ingram-Flóres, C.; Guillén, D.; Tórrez, R. Y Martínez, O. 2010. Ecological consequences of primary and secondary seed dispersal on seed and seedling fate of *Dipteryx oleifera* (Fabaceae). *Rev. Biol. Trop.*, 58 (3): 991-1007.
- Soares, T.; Chaves, L.; Telles, M.; Diniz-Filho, J.; Resende, L. 2008. Landscape conservation genetics of *Dipteryx alata* («Baru» tree: Fabaceae) from Cerrado region of central Brazil. *Genetica*, 132: 9-19 pp.
- Soares, T.; Borges, D.; Resende, L.; Vianello, R.; Chaves, L.; Collevatti, R. Y Telles, M. 2012. Development of microsatellite markers for the Neotropical tree species *Dipteryx alata* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, E72 – e73.
- Tarazi, R.; Moreno, M. A.; Gandara, F. B.; Ferraz, E. M.; Teixeira, M. L.; Vinson, C. C.; Ciampi, A. Y.; Vencovsky, R.; Y Kageyama, P. Y. 2010. High levels of genetic differentiation and selfing in the Brazilian cerrado fruit tree *Dipteryx alata* Vog. (Fabaceae). *Genetics and Molecular Biology*, 33, (1): 78-85
- Vinson, C.; Ribeiro, D.; Harris, S.; Sampaio, I.; y Ciampi, A. 2009. Isolation of polymorphic microsatellite markers for the tetraploid *Dipteryx odorata*, an intensely exploited Amazonian tree species. *Molecular Ecology Resources*. 1542-1544.
- Vinson, C.; Kanashiro, M.; Harris, S.; Boshier, D. 2015. Impacts of selective logging on inbreeding and gene flow in two Amazonian timber species with contrasting ecological and reproductive characteristics. *Molecular Ecology*, (24): 38-53.

Recibido: 5 de julio de 2019 **Aceptado para publicación:** 24 de julio de 2019