

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**



**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE SEIS POBLACIONES DE
CAOBA (*Swietenia macrophylla* King) EN EL PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL**

AARÓN HERNAN PAJUELO ROMERO

LIMA – PERÚ

2021

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE SEIS POBLACIONES DE
CAOBA (*Swietenia macrophylla* King) EN EL PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL**

AARÓN HERNAN PAJUELO ROMERO

Sustentado y aprobado ante el siguiente Jurado:

Dra. Zoila Cruz Burga
Presidente

Ing. Ignacio Lombardi Indacochea
Asesora

Dra. María Isabel Manta Nolasco
Miembro

Dr. Carlos Reynel Rodriguez
Miembro

Lima – Perú
2021

DEDICATORIA

Se lo dedico a la Profesora Felipa Pezo Lopez, quien fue una guía en mis primeros años de educación, alentarme a seguir aprendiendo, recordarme que todo es posible, por confiar en mi y por transmitirme su inmenso cariño.

AGRADECIMIENTO

Agradecer a mi familia que siempre estuvo pendiente en mi desarrollo profesional, apoyandome en el cumplimiento de mis objetivos.

A Alexis Montoya, gran amigo y compañero de universidad, que siempre estuvo dispuesto a apoyarme cuando más lo necesitaba, como trámites de universidad y su voz de apoyo en el desarrollo de esta investigación.

En la Universidad Nacional Agraria la Molina, al Ing. Ignacio Lombardi Indacochea, asesor de esta investigación, por sus aportes sobre la caoba en el Perú. A los miembros del jurado por sus consejos, sugerencias y aportes .

A la Dra. Carmen García, coasesora, que me apoyo e instruyó en el área de la genética molecular, por sus consejos y amistad.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – IIAP, al Programa de investigación en Manejo Integral del Bosque y Servicios Ambientales (PROBOSQUES) y al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate. Perú) por el financiamiento para la realización de la investigación en el marco del proyecto: “Aplicación de marcadores moleculares para la caracterización, identificación y determinación de origen geográfico en la comercialización de la caoba y el shihuahuaco en la Amazonía Peruana” de acuerdo al contrato 381-PNICP-PIAP-2014.

A todos mis compañeros del IIAP: Rodrigo, Eduardo, José, Carlos, Luis Zafra, Rossana, Diana, Hugo, Guillain, Stefany, Jorge, David, Christian, Almendra y Lucerito. Todos ellos conformaron mi segunda.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA	4
2.1. Ubicación sistemática	4
2.2. Descripción Taxonómica.....	5
2.3. Dispersión de semilla.....	6
2.4. Distribució	6
2.5. Ecología.....	7
2.6. Utilización	7
2.7. Caracterización Molecular	8
2.7.1. Marcadores Moleculares.....	8
2.7.2. Marcadores Moleculares.....	8
2.7.3. Amplificación por reaccion en cadena de la Polimerasa	9
2.7.4. Flujo Genético.....	9
2.7.5. Estructura Genética de Poblaciones.....	10
2.7.6. Factores que determinan la Estructura Genética.....	10
2.7.7. Variabilidad Genética.....	11
2.7.8. Distancia Genética	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1. Materiales y Equipos.....	13
3.1.1. Área de Trabajo.....	13
3.1.2. Lugares de Muestreo.....	13
3.1.3. Distanciamiento entre árboles.....	13
3.2. Aspectos Geográficos.....	15
3.2.1. Madre de Dios.....	15
3.2.2. Loreto	17
3.2.3. Ucayali.....	18
3.2.4. Recursos utilizados	19
3.2.5. Equipos	20
3.2.6. Reactivos	20
3.2.7. Soluciones	21
3.3. Análisis Estadístico	21
3.3.1. Diseño Estadístico	21

3.3.2.	Variables.....	21
3.3.3.	Indicadores e Índices	21
3.3.4.	Descripción Estadística	22
3.4.	Método	23
3.4.1.	Colecta del material genético.....	24
3.4.2.	Conservación del material biológico.....	24
3.4.3.	Extracción de ADN usando el método CTAB	24
3.4.4.	Cuantificación.....	26
3.4.5.	Electroforesis	26
3.4.6.	Amplificación de DNA vía PCR	26
3.4.7.	Verificación preliminar de los productos de amplificación.....	27
3.4.8.	Resumen de productos obtenidos en laboratorio.....	28
3.4.9.	Análisis y lectura de Microsatélites.....	28
3.4.10.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	28
IV.	REVISION DE LITERATURA	31
4.1.	Variabilidad Genética de las Poblaciones.....	31
4.1.1.	Variación y Frecuencia alélica por <i>Locus</i> y Población.....	31
4.1.2.	Alelos privados	33
4.1.3.	Variabilidad genética de los alelos dentro de cada población	34
4.2.	Estructuración Poblacional	35
4.2.1.	Variables Genéticas entre Poblaciones	35
4.2.2.	Estructuración Genética Poblacional	36
4.2.3.	Flujo Genético.....	37
4.2.4.	Distancia Genética entre poblaciones	37
4.2.5.	Correlación entre las distancias genéticas y geográficas lineales.....	38
4.3.	Diferenciación genética y relaciones fitogeográficas entre poblaciones.....	40
4.3.1.	Relaciones Interpoblacionales.....	40
4.3.2.	Análisis de Estructura Poblacional.....	41
4.4.	Discusion	42
4.4.1.	Diversidad Genética intrapoblacional	42
4.4.2.	Diferenciación genética entre poblaciones	43
V.	CONCLUSIONES.....	48
VI.	RECOMENDACIONES	49

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
VIII. ANEXOS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de variables independientes.....	13
Tabla 2: Indicadores de índices de la variable X e Y.	21
Tabla 3: Clasificación de Valores de F_{ST} , Según Hartl y Clark (1997).....	23
Tabla 4: Reactivos y volumen para la preparación del Buffer	24
Tabla 5: Nombre y secuencia de primers de microsatélites desarrollados para la caoba (<i>Swietenia macrophylla</i> King).....	27
Tabla 6: Resumen de productos obtenidos e ncada etapa de laboratorio	28
Tabla 7: Frecuencia de sexo del agricultor	31
Tabla 8: Alelos privados (pb) y sus frecuencias (valores entre paréntesis) observados en 10 loci microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonía peruana.	33
Tabla 9: Índice genéticos obtenidos a partir de 10 <i>loci</i> microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonía peruana.	34
Tabla 10: Índices de Fijación (F_{ST}) calculados a partir de 10 loci microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.....	36
Tabla 11: Número de migrantes por generación (Nm) obtenidos de 10 <i>loci</i> microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana	37
Tabla 12: Valores de distancia genética (Nei 1978) obtenidos 10 loci microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.....	38
Tabla 13: Valores de distancia geográfico (km) y distancia genética ($F_{ST}/1-F_{ST}$) de Rousset (1997) entre las poblaciones analizadas de <i>Swietenia macrophylla</i> en la Amazonía peruana.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ilustración de Caoba (<i>Swietenia macrophylla</i> King.) (Adaptado de Pennington y Styles 1981).....	5
Figura 2: Distribución natural de <i>Swietenia macrophylla</i> . Fuente: Grogan et al. (2002); basado en Lamb (1966)	6
Figura 3: Distribución de las seis poblaciones naturales de “ <i>Swietenia macrophylla</i> ” en la Amazonía peruana.	14
Figura 4: Mapa de localización de áreas de estudio de poblaciones de Iñapari (A) y Otorongo (C) Fuente: Google Earth 2017).....	16
Figura 5: Mapa de localización de las áreas de estudio de poblaciones de las poblaciones de Yurimaguas (D) y Pithecia (F) (Google Earth, 2017)	17
Figura 6: Mapa de localización de las áreas de estudio de poblaciones de las poblaciones de Breu (B) y Puerto Esperanza (E) (Google Earth, 2017)	19
Figura 7: Frecuencia alélicas observadas en los 10 <i>loci</i> analizados en seis poblaciones naturales de <i>Swietenia macrophylla</i> en la Amazonía peruana	32
Figura 8: Proyección gráfica de los resultados del AFC (A: ejes 1 y 2; B: ejes 1 y 3) en función a frecuencias alélicas obtenidas de individuos de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.....	35
Figura 9: Representación gráfica del análisis de correlación entre las distancias geográficas (km) y las distancias genéticas de Rousset ($F_{ST}/1 - F_{ST}$) de <i>Swietenia macrophylla</i> proveniente de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana	39
Figura 10: Dendrograma construido a partir de las distancias genéticas (Nei 1978) según el criterio de agrupamiento de Neighbor-Joining. Los numeros en los nudos corresponden a los valores de Bootstrap obtenidos con 100 replicas.....	40
Figura 11: Esquema gráfico que representa el cálculo de “Delta K” de 10 <i>loci</i> microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonia peruana.	41
Figura 12: Representación gráfica de la estructuración poblacional de 10 <i>loci</i> microsatélites de <i>Swietenia macrophylla</i> provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: ELECTROFORESIS DE LA EXTRACCIÓN DE ADN DE LA CAOBA <i>Swietenia macrophylla</i> King.	62
ANEXO 2: AMPLIFICACIÓN DEL ADN DE LA CAOBA <i>Swietenia macrophylla</i> VÍA PCR.....	62
ANEXO 3: CANTIDAD DE REACTIVOS EMPLEADOS EN LA LECTURA DE LAS REGIONES MICROSATÉLITES DE LA CAOBA <i>Swietenia macrophylla</i> EN EL ANALIZADOR GENÉTICO (Applied Biosystem 3130 XL)	63
ANEXO 4: ELECTROFOTOGRAMA CON LOS FRAGMENTOS DE ADN MICROSATELITES	64
ANEXO 5: LISTA DE ABREVIATURAS	66
ANEXO 6: FRECUENCIA ALELICA ENCONTRADA EN 10 LOCI MICROSATÉLITES DE CAOBA <i>Swietenia macrophylla</i> PROVENIENTES DE LA AMAZONÍA PERUANA	67
ANEXO 7: PARAMETROS DE DIVERSIDAD GENÉTICA OBTENIDOS PARA DIEZ MICROSATÉLITES DE CAOBA <i>Swietenia macrophylla</i> PROVENIENTES DE SEIS POBLACIONES NATURALES DE LA AMAZONÍA PERUANA	72
ANEXO 8: REFUGIOS DEL PLEISTOCENO EN LA AMAZONÍA A PARTIR DE CUATRO FAMILIAS DE PLANTAS PROPUESTO POR PRANCE (1973)	73

RESUMEN

Fue determinada la variabilidad genética poblacional de la caoba *Swietenia macrophylla*, a partir del análisis de 10 *loci* microsatélites en un total de 170 árboles de caoba provenientes de poblaciones naturales en las regiones Loreto, Ucayali y Madre de Dios. En términos globales, se observó una gran diversidad alélica tanto a nivel de especie (155 alelos, media 15.5 alelos por *locus*) como de localidades (riqueza alélica varió de = 11 a 24). El análisis factorial de correspondencia (AFC) muestra que las localidades no están claramente diferenciadas a nivel genético, observándose una fuerte sobreposición entre la mayoría de ellas; sin embargo, se puede observar que las poblaciones de la región Loreto (Yurimaguas y Pithecia) se encuentran ligeramente diferenciadas de las poblaciones de Ucayali (Breu y P. Esperanza) y de Madre de Dios (Iñapari y Otorongo). Los resultados del índice de Fijación (F_{ST}), distancia genética y flujo de genes muestran esta misma tendencia, observándose que las localidades de Yurimaguas y Pithecia fueron las que presentaron mayor diferenciación con las cuatro localidades restantes (valores variaron: F_{ST} de 0.044 a 0.82, Distancia genética de 0.12 a 0.25 y Flujo de genes de 2.78 a 5.37). El dendrograma y el resultado del análisis bayesiano de estructuración mostraron también que las localidades de Yurimaguas y Pithecia se encuentran conformando una agrupación genética distinta de la del *cluster* (Bootstrap = 100% y $K = 2$) de las demás poblaciones. La distancia geográfica entre estas dos agrupaciones responde grandemente a la diferencia genética entre ellas ($r = 0.85$), el resto de la diferencia podría estar relacionada a otros factores tales como la topografía, tipo de suelo, composición florística y una entomofauna específica para cada bioma.

Palabras clave: Caoba *Swietenia macrophylla*, Microsatélites, Genética.

ABSTRACT

The population genetic variability of the mahogany *Swietenia macrophylla* was determined, from the analysis of 10 microsatellite loci in a total of 170 mahogany trees from natural populations in the Loreto, Ucayali and Madre de Dios regions. In global terms, it is a great allelic diversity both at the species level (155 alleles, average 15.5 alleles per locus) and localities (allelic wealth varied from = 11 to 24). The factorial correspondence analysis (AFC) shows that the locations are not clearly differentiated at the genetic level, with a strong overlap between most of them; however, it can be seen that the populations of the Loreto region (Yurimaguas and Pithecia) are slightly differentiated from the populations of Ucayali (Breu and P. Esperanza) and Madre de Dios (Iñapari and Otorongo). The results of the Fixation Index (FST), genetic distance and gene flow identified this trend, observing the localities of Yurimaguas and Pithecia were those that presented the greatest differentiation with the four remaining locations (variable values: FST from 0.044 to 0.82, genetic distance from 0.12 to 0.25 and gene flow from 2.78 to 5.37). The dendrogram and the result of the Bayesian structuring analysis also identified as the locations of Yurimaguas and Pithecia are forming a different genetic cluster cluster (Bootstrap = 100% and K = 2) of the other populations. The geographical distance between these two groups responds greatly to the genetic difference between them ($r = 0.85$), the rest of the difference could be related to other factors such as topography, soil type, floristic composition and a specific entomofauna for each biome.

Keywords: Mahogany *Swietenia macrophylla*, microsatellites, genetics.

I. INTRODUCCIÓN

La caoba *Swietenia macrophylla* King, es una especie de amplia distribución en el continente americano, ha sido registrado desde el Sur de México, vertiente del Atlántico en América central hasta la cuenca del Amazonas en Brasil y Perú (Cabrera 2006; Navarro 2011). En el Perú el aprovechamiento de su madera se inicia hacia el 1920, sufriendo un aumento progresivo hasta la década de 1990, donde el precio de su madera adquiere precios elevados en los mercados nacionales e internacionales, lo que trae como consecuencia su explotación en los bosques naturales, muchas veces recurriendo a prácticas ilegales como incursiones en áreas naturales protegidas y de comunidades nativas (Lombardi *et al.*, 2009). Esta sobreexplotación originó la fragmentación y disminución del hábitat natural de la caoba, por lo que desde el año 2003 se encuentra catalogada en el Apéndice II como la especie en amenaza de extinción (CITES, 2003). A partir de esta fecha el aprovechamiento de su madera es restringida requiriéndose un informe de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (CITES) para su exportación (Lombardi *et al.*, 2013).

La fragmentación y deterioro del hábitat han ocasionado que las poblaciones sean cada vez más pequeñas y aisladas, sometidas a problemas crecientes de viabilidad genética y demográfica (Hedrick, 2001; Frankham *et al.*, 2002). La densidad actual de las poblaciones de caoba en el país se ha visto afectada por la accesibilidad, en la medida que se han abierto caminos de penetración en la Amazonía, lo que causó una reducción en el área de ocupación, además de la destrucción su hábitat natural. El fraccionamiento y aislamiento de sus poblaciones ocasiona a una pérdida en la calidad genética de la especie; por ello tenemos que asegurar la supervivencia de un número mínimo de individuos de caoba para que tenga posibilidad de recuperarse (IIAP 2009). Hasta el momento la variabilidad genética poblacional de la caoba en la Amazonía peruana es poco conocida. Los estudios realizados sobre esta especie estuvieron principalmente direccionados a la evaluación de caracteres morfológicos (Reynel *et al.*, 2003) y dendrocronológicos (Rosero, 2009) existiendo un vacío de información sobre la variabilidad genética molecular de esta especie y las relaciones sobre sus poblaciones naturales.

Actualmente no existe reportes en la literatura científica sobre la variabilidad genética de la caoba en poblaciones naturales de la Amazonía peruana, desconociéndose el estado de conservación de este pool genético. En este sentido los marcadores moleculares o SSR (Simple Sequence Repeats), son pequeñas regiones (dos a 10 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, fuertemente utilizadas para estudios poblacionales e identificación de variedades (Azofeifa-Delgado, 2006). En el área forestal los marcadores microsatélites son utilizados para la caracterización de los árboles con la finalidad de conocer la variabilidad genética de poblaciones naturales, así como los procesos de dispersión de polen o semilla (Butcher *et al.*, 1999). Además, permiten obtener información de vital importancia no solo para la supervivencia de la especie y su futura evolución, sino también para futuros planes de mejoramiento genético de la misma (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Esta investigación es parte del proyecto “Aplicación de marcadores de identificación y determinación de origen geográfico en la comercialización de la caoba” desarrollado por el Instituto de investigaciones de la Amazonia peruana (IIAP) y “Financiado por el Programa Nacional de Innovación para la competitividad y Productividad (Innovate Perú), de acuerdo al contrato 381-PNICP-PIAP-2014”; y es posible gracias al desarrollo de marcadores microsatélites de uso libre realizado por Lemes *et al.* (2002) (Multiplexed Systems of Microsatellite Markers for Genetic Analysis of Mahogany, *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae), a Threatened Neotropical Timber Species).

El objetivo general de esta investigación fue generar información sobre la diversidad genética de seis poblaciones naturales de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en la Amazonía peruana. La información generada servirá de base para los planes de manejo y conservación de la especie, así como para los futuros estudios de mejoramiento genético de la especie en el Perú.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar la variabilidad genética inter e intrapoblacional de caoba (*Swietenia macrophylla* King), de las localidades de Iñapari, Breu, Otorongo, Puerto Esperanza, Yurimaguas y Pithecia, provenientes de la Amazonía peruana.
- Determinar el flujo de genes y la estructura genética de seis poblaciones naturales de caoba (*Swietenia macrophylla* King).

- Estimar la correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica de seis poblaciones naturales de caoba (*Swietenia macrophylla* King).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Ubicación sistemática

Existen tres especies reconocidas en el género *Swietenia* Jacq. correspondiente a la Subfamilia Swietenioide comprende tres especies de la familia Meliaceae (Pennington, 1981; Styles, 1981):

Swietenia mahogany (Linnaeus) Jacquin, con una distribución natural en las islas del Caribe, como Bahamas, Cuba, Jamaica, La Española, y en el sur de Florida. Fue descrita en 1970.

Swietenia humilis Zuccarini, con una distribución natural en el oeste de América Central, en una franja estrecha a lo largo de la costa del Pacífico desde Sinaloa y Durango hasta Costa Rica.

Swietenia macrophylla King, se distribuye desde Veracruz y la península de Yucatán, por el lado este de América Central, hasta Brasil, Bolivia, Ecuador y Perú. Fue descrita en 1886.

Taxón de la caoba (*Swietenia macrophylla* King.) (Sánchez, 1999)

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Sapindales
- Familia: Meliaceae
- Género: *Swietenia*
- Especie: *Swietenia macrophylla* King. 1886

Nombre Común: Caoba.

2.2. Descripción Taxonómica

Árboles de 80-200 cm de diámetro y hasta 60 m de alto; fuste cilíndrico, la base del fuste con raíces tablares de hasta 1.5m de alto. Corteza externa agrietada, color marrón claro a rojizo, con una corteza externa que se desprende en placas largas; corteza interna homogénea a fibrosa, color rosado blanquecino, con sabor amargo y astringente (Reynel *et al.*, 2003). Hojas compuestas, alternas, grandes, paripinnadas, con 6 a 12 folíolos glabros y con raquis sin crecimiento terminal. Inflorescencia en panícula, las flores son pequeñas, de colores pardos amarillentos y unisexuales, pero con vestigios bien desarrollados del sexo opuesto. Los frutos son capsulas de forma ovoide a piriformes, de 12 a 20 cm de largo, cerca de 5 cm de diámetro y 300 g de peso, que se abren en cinco válvulas de color café. Las semillas son alargadas y chatas, poseen un ala en el extremo más angosto y son de color café, rojizo o pardo (Pennington y Styles, 1981) (Figura 1).

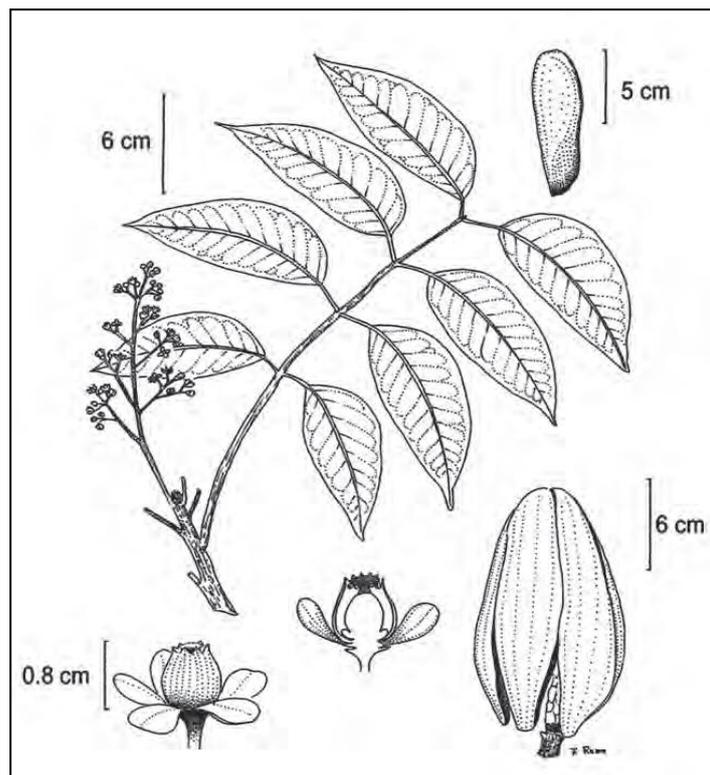


Figura 1: Ilustración de Caoba (*Swietenia macrophylla* King.) (Adaptado de Pennington y Styles 1981)

2.3. Dispersión de semilla

La dispersión de semillas es un aspecto importante para la permanencia en el tiempo, las características de semillas de la *Swietenia macrophylla*, son muy pesadas, y a pesar de ser aladas tienden a caer muy cerca del árbol madre (32 a 36 m), y en áreas abiertas pueden llegar a una distancia máxima de 60 a 80 m del árbol madre (Gullison *et al.*, 1996). Una vez que caen al suelo terminan germinando entre 15-40 días, aunque pueden permanecer por corto tiempo bajo condiciones de sombra media, de manera que *Swietenia macrophylla* no forma banco de semillas (Paraguirre, 1994).

La caoba es monoica de entrecruzamiento obligado y debido a la estructura floral de las meliáceas indica que son polinizadas por insectos como abejas, mariposas y trips (del orden Thysanoptera) (Gillies *et al.*, 1999; Style & Khosla, 1976)

2.4. Distribución

El área de distribución natural de la caoba en Sudamérica se extiende desde México, a los 23° norte siguiendo la franja costera del Atlántico hacia América del Sur, en donde continua en un amplio arco desde Venezuela, a través de las regiones amazónicas de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Brasil, hasta los 18° Sur (Cruz, 2003), como se muestra en la figura 2. La caoba llega alcanzar su desarrollo óptimo en condiciones de bosque tropical seco con una precipitación anual de entre 1000 y 2000 mm y una temperatura promedio anual de 24°C, su amplitud altitudinal va desde el nivel del mar hasta los 750 m.s.n.m. (Lamb, 1966)

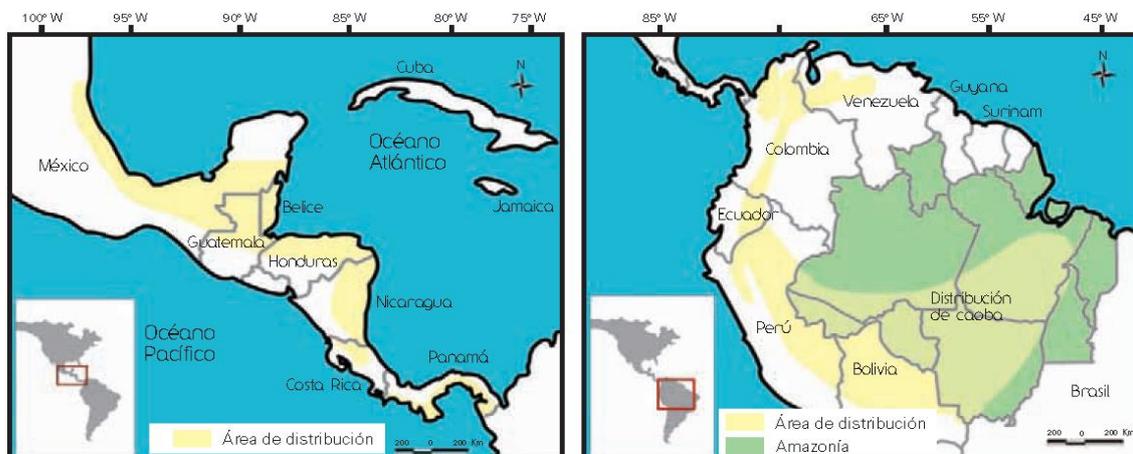


Figura 2: Distribución natural de *Swietenia macrophylla*. Fuente: Grogan *et al.* (2002); basado en Lamb (1966)

2.5. Ecología

Dentro del bosque los organismos reaccionan a los rasgos genéticos determinados a través de la evolución y su interacción con el medio ambiente. Por esto se han realizado diversas clasificaciones con el fin de agrupar a los individuos que utilizan uno o varios recursos en forma similar, obteniéndose como resultado grupos o gremios ecológicos (Finegan, 1996). Por lo tanto, existen varias clasificaciones sin embargo una de las más usadas es la de Finegan, el cual define cuatro grupos ecológicos básicos. Para clasificar la caoba dentro de los grupos ecológicos propuestos por Finegan, varios autores han presentado ideas diferentes agrupándolos como pionera de larga vida (Whitmore, 1996), intolerante a la sombra (Snook, 1993). La dificultad en determinar el gremio ecológico de la caoba es correspondida a su gran maleabilidad para desarrollarse en diferentes regímenes de lluvia y en las selvas desde perennifolias hasta caducifolias (Timothy, 2009).

2.6. Utilización

Esta especie está calificada como el árbol más valioso de toda América Latina y su madera es distinguida en el mercado mundial, como madera fina de excelentes cualidades (Cruz, 2003). La madera de *S. macrophylla* se emplea en diferentes trabajos de ebanistería de lujo, adornos, instrumentos musicales, pianos, tallado, botes, yates, construcciones, chapas contrachapada de alta calidad, etc (Betancourt *et al.*, 1987; Alfaro *et al.*, 2012).

Además, es utilizada de forma ornamental en parques que tengan mucho espacio, y su corteza tiene propiedades astringentes y tónicas (Maluanda *et al.*, 2002).

2.7. Caracterización Molecular

2.7.1. Marcadores Moleculares

La genética molecular tiene un importante rol en muchos aspectos de la conservación, tales como la caracterización de la diversidad fitogenética para propósitos de mejoramiento, adquisición, mantenimiento, protección y uso (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Con el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) numerosas técnicas han sido y están siendo desarrolladas para la detección, caracterización y evaluación de la diversidad genética. El uso de estos marcadores moleculares son de utilidad para solucionar problemas referidos a la conservación pero necesitan del trabajo conjunto de los conservadores del medio natural y los genetistas (Karp *et al.*, 1997). Hoy día, los marcadores y moleculares su utilizan conjuntamente para conseguir una evaluación completa de los recursos genéticos (Azofeifa-Delgado, 2006; Ferreira & Grattapaglia, 1998).

2.7.2. Marcadores Moleculares

Los marcadores microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (SSRs) son regiones del genoma en las que una secuencia corta, 2-6 pares de bases, se repite un cierto número de veces. Cada locus microsatélite tiene alelos con distinto número de repeticiones, lo cual se evidencia en bandas de distinto tamaño luego de su amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Asuar, 2007).

Con estas herramientas es posible hacer un análisis de parentesco que pueda identificar padres y después cuantificar el patrón del movimiento de genes. Los análisis de parentesco nos permiten estimar la distribución de las distancias de dispersión y examinar el movimiento de genes por polen y semillas dentro de una población (Eguiarte *et al.*, 1993). Por lo tanto debido a su alto grado de variabilidad, de las secuencias de los marcadores microsatélites, son favorable para estudios poblacionales y la identificación de variedades (Karp *et al.*, 2001).

2.7.3. Amplificación por reacción en cadena de la Polimerasa

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), a menudo es rápida y conveniente para amplificar un DNA específico. Pueden amplificarse segmentos de hasta 6kpb con esta técnica, que fue diseñada por Kary Mullis en 1985 (Voet *et al.*, 2009).

Al ser una técnica tan poderosa y versátil prácticamente está resultando imprescindible en todas aquellas disciplinas que tienen que ver con las ciencias de la vida, entre ellas biología molecular, biotecnología, genética evolutiva y de poblaciones, mejora de especies, salud pública, medicina, microbiología, botánica, zoología, medicina forense, antropología, geología, etc. (Dorado, 2005).

En genética general de poblaciones y evolutiva, se emplea para cartografiar genes mediante estudio de ligamiento. Asimismo, para amplificar y detectar diferentes genotipos y estudiar su evolución dentro de las poblaciones (Cerdeña, 2007).

2.7.4. Flujo Genético

El flujo génico es la falta al supuesto del equilibrio de Hardy-Weinberg que se refiere al “aislamiento” de la población. Formalmente, el flujo génico se define como la incorporación de genes a una población provenientes de una o más poblaciones diferentes dentro de una especie (Eguiarte *et al.*, 2010). Por lo tanto, es un importante componente de la estructura poblacional, y sus niveles pueden determinar hasta qué grado cada población de una especie es una unidad evolutiva independiente (Slatkin, 1994).

Al estimar el flujo genético en distintas especies se ha identificado que los niveles han sido bastante altos y que pueden actuar como una fuerza que mantiene la cohesión entre las poblaciones de una especie (Rieseberg & Burke, 2001; Eguiarte *et al.*, 2010)

2.7.5. Estructura Genética de Poblaciones

La estructura genética está determinada por la estructura de la población, por supuesto, pero también por factores como la selección natural, deriva genética y la mutación. Para determinar la estructura genética, es necesario comprender el patrón de variación genética de la especie, lo que significa evaluar genotipos de diferentes individuos (Slatkin, 1994). Muchos avances en genética molecular han incrementado el impacto de la genética de poblaciones en las ciencias biológicas, siendo uno de los más importantes el desarrollo de la PCR, utilizada para multiplicar *in vitro* fragmentos específicos de ADN con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma del individuo en estudio (Sunnucks, 2000)

2.7.6. Factores que determinan la Estructura Genética

a. Selección Natural

Es la fuerza creativa que lleva al proceso de adaptación de los organismos al compaginar cambios en su entorno físico y biológico. La selección natural resulta en una “descendencia con modificación”, mientras el genotipo provee la parte heredable, la selección actúa sobre el fenotipo (forma visible), esto incluye el desarrollo, morfología y comportamiento. Esta idea de la selección natural como un proceso fundamental de los cambios evolutivos fue iniciada por Charles Darwin y Alfred Russel Wallace e implica que las poblaciones naturales están constituidas con algunas variaciones no tan frecuentes en su pool genético (Ayala y Kiger, 1984).

El entorno es crucial para la selección natural, dado que sus límites son los que determinan que caracteres son los beneficiosos y dentro de ello, los cambios tanto en espacio como tiempo traen consigo modificaciones en los caracteres de los organismos (Futuyma, 1986)

b. Selección Natural

Es la deriva genética ocurre en poblaciones relativamente pequeñas donde algunos alelos pueden variar su frecuencia debido al azar, ocasionalmente un alelo reemplazará a los otros (es decir, se fijará en la población) (Galtier et al., 2000). La deriva genética resulta en cambio evolutivo, pero no en adaptación, aunque en

combinación con la selección puede favorecerla, es necesario mencionar que la deriva genética tiende a formar una población homocigótica, es decir tiende a eliminar los genotipos heterocigóticos (Cabrero y Camacho, 2002; Galtier *et al.*, 2000)

c. Mutación

Aquellos errores producto de la replicación del ADN son denominados mutaciones. Una mutación es un cambio estable y heredable en el material genético, estas mutaciones alteran las secuencias del ADN y por lo tanto introducen nuevas variantes. Muchas de estas variantes pueden ser eliminadas, pero ocasionalmente algunas de estas variantes pueden tener éxito e incorporarse en todos los individuos de la especie (Araguren-Mendez *et al.*, 2005). Constantemente se están produciendo mutaciones y son precisamente imprescindibles para la evolución biológica ya que una alta tasa de mutación implica mayor potencial de adaptación en el caso de un cambio ambiental, pues permite explorar más variantes genéticas, aumentando la probabilidad de obtener variante adecuada necesaria para adaptarse al ambiente (Brandan *et al.*, 2011)

Por lo tanto, con fines de la siguiente investigación, todos los participantes fueron instruidos en el tema de manejo y uso seguro de plaguicidas.

2.7.7. Variabilidad Genética

Se refiere a la diversidad en las frecuencias de genes, esta variabilidad genética puede referirse a las diferencias entre los individuos o las diferencias entre poblaciones. Siendo las mutaciones la causa fundamental de la variabilidad genética de los individuos de una misma especie (INS, 2010). Esta variabilidad genética que existe entre y dentro de las poblaciones constituye la fuente genética que capacita a las especies a sobrevivir y adaptarse a los cambios ambientales (Phillip *et al.*, 1986)

2.7.8. Distancia Genética

La distancia es una medida de la diferencia del material genético entre distintas especies o individuos de la misma especie (INS, 2010). Existen diferentes posibles medidas de “distancia genética, siendo la más conocida la distancia genética de Nei, que refleja el número de sustituciones nucleotídicas en el ADN, y que como se ha usado en ampliamente en diferentes grupos de organismos, permite comparaciones a distintos niveles (entre poblaciones, entre variedades o subespecies, entre especies) (Piñero *et al.*, 2008)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales y Equipos

3.1.1. Área de Trabajo

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) del Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana (IIAP); localizado en la Estación Fernando Alcántara sede en Quistococha, Carretera Iquitos-Nauta km 4.5, Iquitos, en el distrito de San Juan Bautista, Loreto, Perú.

3.1.2. Lugares de Muestreo

La colecta del tejido foliar o cambium de *Swietenia macrophylla*, fue realizada en seis poblaciones naturales, distribuidas en la Amazonía peruana (Tabla 1).

Tabla 1: Operacionalización de variables independientes

<i>Población</i>	<i>Ubicación</i>
<i>Iñapari</i>	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iñapari
<i>Breu</i>	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Yurua
<i>Otorongo</i>	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iberia.
<i>Puerto Esperanza</i>	Dpto. Ucayali, Prov. Purus, Dist. Purus
<i>Yurimaguas</i>	Dpto. Loreto, Prov. Alto Amazonas, Dist. Teniente César López
<i>Pithecia</i>	Dpto Loreto, Prov. Loreto, Dist. Parinari, Reserva Nacional Pacaya Samiria

3.1.3. Características de la muestra

Las muestras fueron colectadas con un distanciamiento mínimo de 100 metros de distancia entre árboles, con el objetivo de evitar parentesco entre individuos. Asimismo las muestras de hojas y cambium fueron obtenidas de árboles establecidos en el bosque, mayor de 5 cm de diámetro.

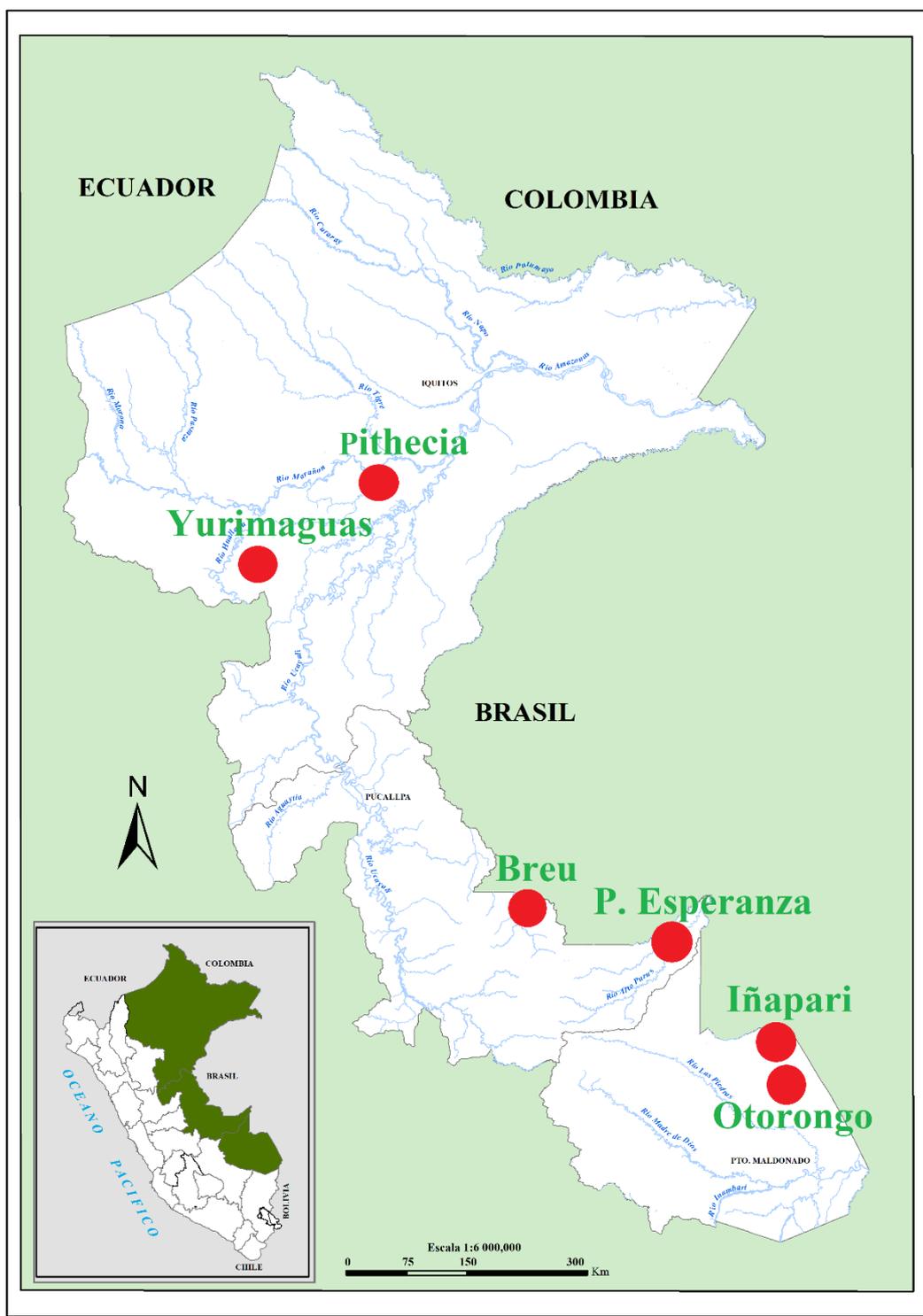


Figura 3: Distribución de las seis poblaciones naturales de “*Swietenia macrophylla*” en la Amazonía peruana.

3.2. Aspectos Geográficos

3.2.1. Madre de Dios

La región Madre de Dios se ubica en la selva amazónica, sudeste del Perú, frontera con Bolivia y Brasil. Presenta una superficie de 85 300.54 km² y presenta una población del 0.5 por ciento del nivel nacional. Asimismo, el 52.3 por ciento es del sexo masculino del total departamental (INEI, 2017).

Su territorio es poco accidentado y presenta el aspecto de una dilatada llanura; sin embargo, en el sector meridional debido a los contrafuertes de la cordillera de Carabay a Sandia es accidentado. La parte central y norte de la región es baja, con llanura aluviales formadas por tres y hasta cuatro terrazas; estas generalmente pantanosas, por estar sometidas a inundaciones anuales. Al oeste presenta colinas de poca elevación que forman divisoria de aguas entre los ríos Madre de Dios y Urubamba (MINCETUR, 2006).

Según DIRCETUR y Rainforest (2014), el clima tropical que presenta es cálido y húmedo, la temperatura media anual en la capital es de 26°C con una máxima de 38°C en agosto y septiembre y una mínima de 21°C, con lluvias de diciembre a marzo. En épocas excepcionales del año se presentan masas de aire frío provenientes del sur durante los meses de julio y agosto donde la temperatura puede alcanzar hasta 8°C. Por otra parte el IIAP (2006), indica que la región madre de dios se caracteriza por presentar tres tipos de climas:

- **Sub Húmedo y Cálido:** Ubicado en el sector nor-oriental de la región. Se caracteriza por presentar temperaturas promedio anuales de 25°C y presencia de lluvias moderadas.
- **Húmedo y cálido:** Comprende el sector central y sur-oriental de la región. Caracterizada por presentar precipitaciones promedio anuales de 2 000 mm. Y temperaturas promedio de 25°C. clima lluvioso, invierno seco y cálido húmedo estacional.
- **Muy húmedo y semicálido:** Comprende las estribaciones de la cordillera oriental. Se caracteriza por presentar precipitaciones promedio anuales de 2 300 mm. Y temperaturas promedio anuales de 22°C Clima muy lluvioso con precipitaciones abundantes, casi todo el año.

Según el programa de Desarrollo Integrado de las Comunidades Fronterizas Peruano-Brasileña (1992) menciona que la provincia de Tahuamanu conforma el 74 por ciento del departamento. Se encuentra localizada entre las latitudes 9°30'S y 12°5'S y longitudes

69°30'W y 72°30'W, posee dos áreas diferenciadas y definidas de acuerdo con el clima y desarrollo de actividades: el área Nororiental, comprendiendo poblados y agrupamientos aptos para desarrollar actividades agrícolas, pecuarias y forestales; y el área occidental, con fuertes precipitaciones pluviales, más apropiada para el desarrollo forestal, donde están asentadas las comunidades indígenas. El clima guarda estrecha relación con el relieve, siendo caliente, con una temperatura media anual de 25°C. Según Contreras *et al.* (2005) Madre de Dios posee una red de ríos y riachuelos entre ellos presenta seis ríos principales: Río Madre de Dios, Río Manu, Río de Las Piedras, Río Tambopata, Río Inambari y Río Colorado.

La Zonificación Ecológica Económica (ZEE) de la Región Madre de Dios ha establecido que el 67% corresponde a zonas de producción ecológica y tratamiento especial, el 30% a zonas de producción forestal y otras asociaciones, y solamente el 3% restante se destina a las actividades pesqueras y otros usos, las zonas de producción forestal donde se desarrolla la extracción de madera, hojas, fibras, resinas y látex, frutos, semillas, plantas medicinales y otros, siendo la extracción madera de bosques naturales y se enfoca en un grupo de especies tal como: Tornillo, Moena, Shihuahuaco, Pashaco, Cedro, Caoba, entre otras (GOREMAD, 2008)

El departamento de Madre de Dios se encuentra conformada por tres provincias de las en la cual Tahuamanu presentó dos poblaciones de caoba (Iñapari y Otorongo) las cuales fueron estudio de esta investigación (Figura 4).

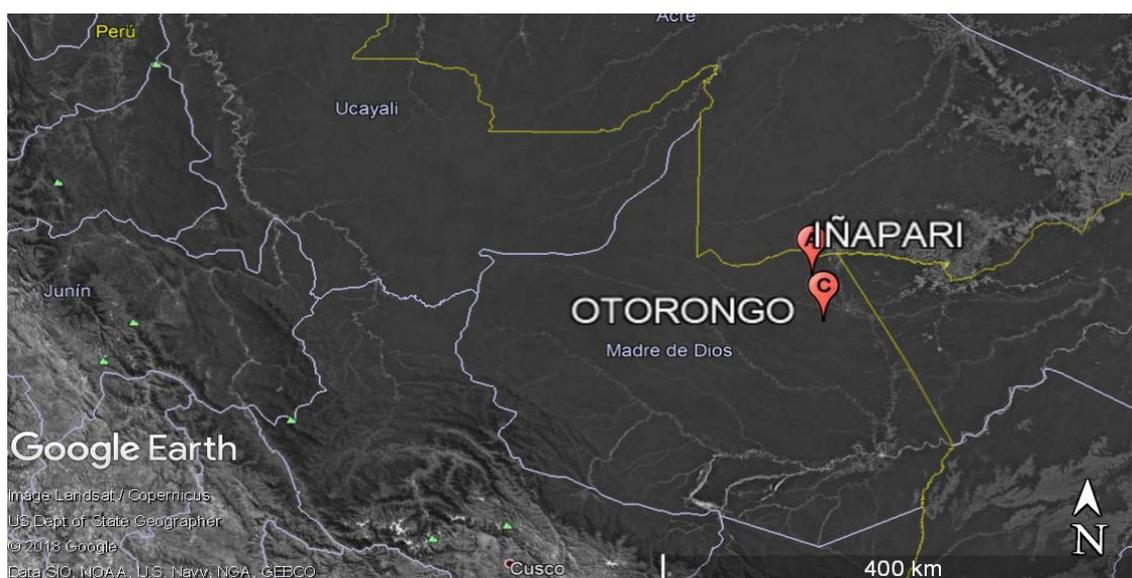


Figura 4: Mapa de localización de áreas de estudio de poblaciones de Iñapari (A) y Otorongo (C)
Fuente: Google Earth 2017)

3.2.2. Loreto

Según MINCETUR (2006), el departamento de Loreto se encuentra ubicado en el extremo nor-oriental del territorio peruano, tiene una superficie continental de 368 851.95 km², que equivale al 28,7% del territorio nacional. La población representa el 3 por ciento a nivel nacional y el 50.2% de población masculina del total departamental (INEI, 2017). Limita por el norte con los países de Ecuador y Colombia, por el este con Brasil, por el sur con la región Ucayali y por el oeste con las regiones Amazonas y San Martín (DIRESA, 2016).

Según DIRESA (2010), consta de un clima tropical: cálido húmedo y lluvioso. Las temperaturas son constantemente altas y las medias anuales son superiores a 25° C. La temperatura media anual máxima es de 31° C y la media anual mínima de 21°C. Las épocas de vaciante (julio – noviembre) y de creciente (diciembre julio), con precipitaciones anuales entre los 1 000 hasta los 5 000 milímetros.

El departamento de Loreto se encuentra conformada por ocho provincias de las cuales dos de estas (Alto Amazonas y Loreto) presentan poblaciones de caoba (Yurimaguas y Pithecia respectivamente) las cuales fueron estudio de esta investigación (Figura 5)

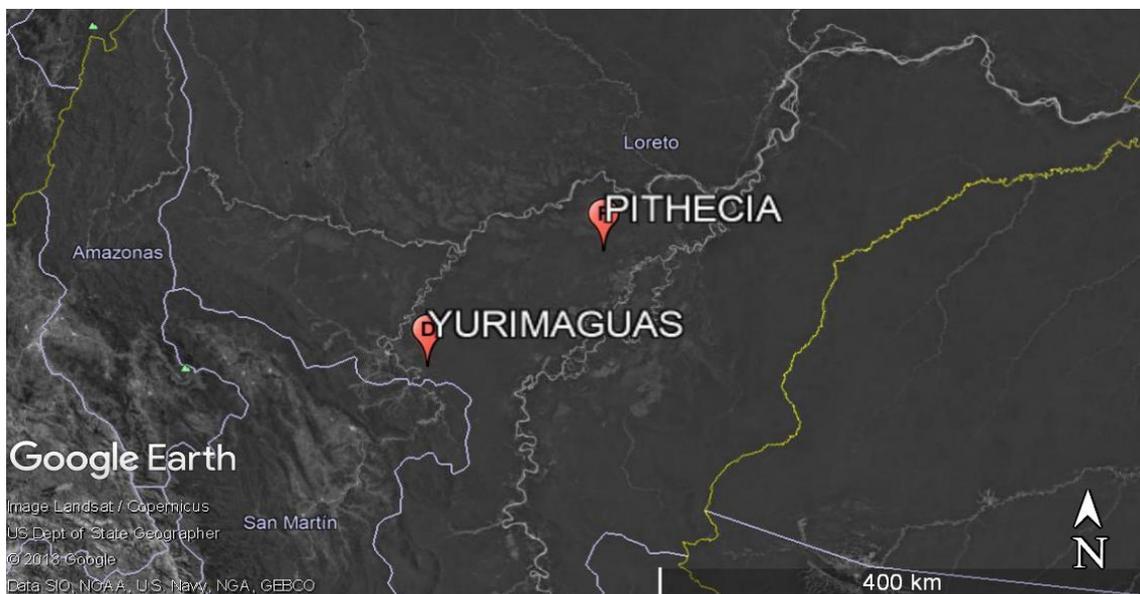


Figura 5: Mapa de localización de las áreas de estudio de poblaciones de las poblaciones de Yurimaguas (D) y Pithecia (F) (Google Earth, 2017)

3.2.3. Ucayali

El departamento de Ucayali ocupa una superficie de 102 411 km², que representa el 8 por ciento del total del país. Está ubicado en la parte centro oriental del Perú, en la zona de selva. Limita por el norte con el departamento de Loreto, por el oeste con los departamentos de Huánuco, Pasco y Junín; por el Sur con los departamentos del Cusco y Madre de Dios y por el este con la Republica del Brasil.

La población representa el 1.7 por ciento a nivel nacional, de las cuales la provincia más poblada es la de Coronel Portillo con 377 875 habitantes. Asimismo, los hombres representan el 50.5 por ciento del total departamental (INEI, 2017).

El clima regional, el cual contrariamente a lo que se cree, no es uniforme en todo el ámbito geográfico, predomina el clima cálido, húmedo y con abundantes precipitaciones. Excepción es el clima existente en las cimas y flancos de la cordillera Azul y la cordillera del Sira donde el clima puede tipificarse como “calor templado”, debido a que en el día las temperaturas son altas y en las noches bajan hasta dar la sensación de frío (Torres y Díaz, 2010). Las temperaturas registradas fluctúan entre los 19,7 °C y 30,6 °C, presentándose la más alta entre mayo y agosto, las mínimas entre diciembre y marzo (BCRP, 2017).

El departamento de Ucayali se encuentra conformada por cuatro provincias de las cuales Atalaya y Purus presentaron poblaciones de caoba (Breu y Puerto Esperanza respectivamente) las cuales fueron estudio de esta investigación (Figura 6).

La Provincia de Atalaya se encuentra ubicada al Sur - Este del Departamento de Ucayali (MINAM, 2007). Purús es una de las cuatro provincias que componen actualmente la Región Ucayali, esta provincia se caracteriza por ser una región con aptitud y vocación forestal en la que más del 70 por ciento del área de la región corresponde a tierras forestales, mientras que el 12 por ciento comprende áreas naturales protegidas (López, 2015). La extracción de madera fue impulsado a través de mercados de pueblos emergentes Atalaya, Bolognesi, Masisea y Pucallpa (MINAM, 2007).

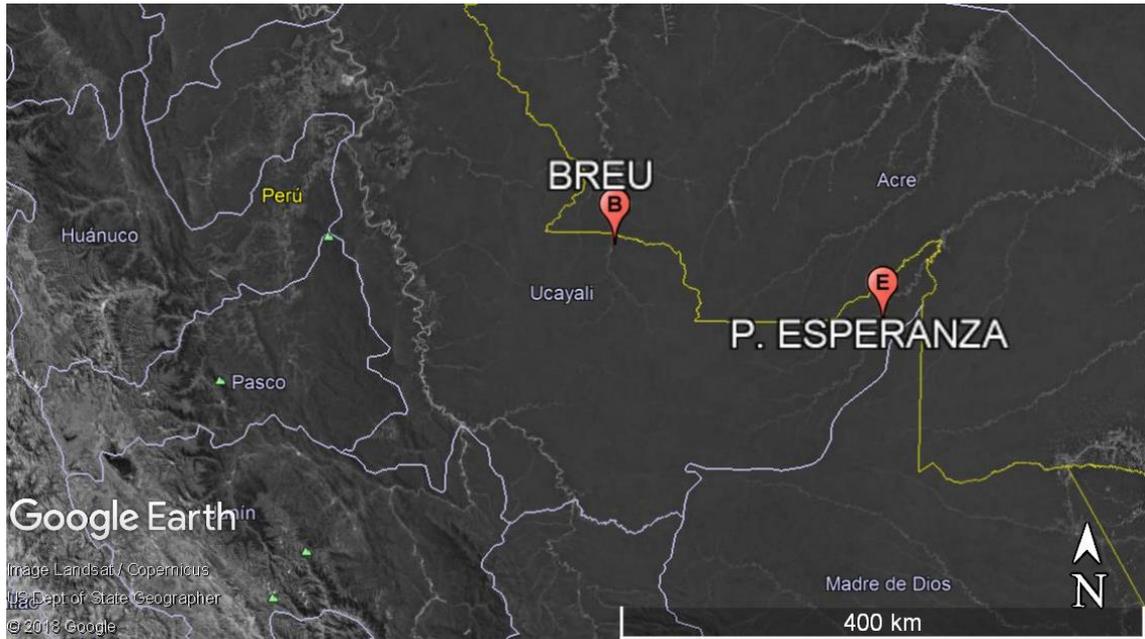


Figura 6: Mapa de localización de las áreas de estudio de poblaciones de las poblaciones de Breu (B) y Puerto Esperanza (E) (Google Earth, 2017)

3.2.4. Recursos utilizados

a. Material de vidrio:

- Matraz
- Placas Petri
- Probetas graduadas
- Vasos de precipitado

b. Material de plástico

- Cooler pequeño
- Flotadores
- Micropipetas (2.5, 10, 20, 100, 200 y 1000 μ l)
- Microtubos (0.2, 0.5, 1.5 y 2 ml)
- Sistema de electroforesis horizontal
- Punteros (10, 100, 200 y 1000 μ l)

c. Material biológico

- Tejido foliar o cambium de *Swietenia macrophylla*.

3.2.5. Equipos

a. Extracción del ADN

- Tissulayser (Modelo II Ball Mill Homogenizer) (Pulverizador)
- Campana extractora (Modelo CEG)
- Thermomix (Modelo C)
- Centrífuga refrigerada (Modelo 320 R)
- Balanza digital

b. Cuantificación del ADN

- BioPhotometer (Modelo D30)

c. Amplificación del ADN

- Termociclador PCR (Modelo MC Pro)

d. Electroforesis

- Cámara de electroforesis horizontal (Modelo Mini Sub ® CellGT)

e. Análisis genético

- Secuenciador de DNA (Modelo 3100)

3.2.6. Reactivos

CTAB 2 por ciento (Hexadecyltrimethylammonium bromide), ácido bórico, EDTA 25 mM (Etylenodiaminetetraacetic acid), cloruro de Sodio 1,5 M (NaCl), Tris HCL 0.1 M ph 8 (Tris[hydroxymethyl]aminomethane), 2 – betamercaptoetanol al 0.2 por ciento (200 ul para 20ml), etanol absoluto, hidróxido de Sodio, cloroformo, isopropanol, proteinasa K, Kit para PCR (MgSO₄; Taq DNA Polimerasa, *Thermus aquaticus*; Buffer), Kit de desoxyribonucleosido trifosfatos (dNTPS), primers (cebadores), H₂O, agarosa y azul Bromofenol (Gel Red al 0,05 por ciento).

3.2.7. Soluciones

- Acohol al 96 y 70 por ciento.

3.3. Análisis Estadístico

3.3.1. Diseño Estadístico

El diseño estadístico para evaluar la variabilidad genética de seis poblaciones naturales de *Swietenia macrophylla* fue de tipo no experimental, paramétrica. Se desarrolló una investigación descriptiva, comparando la variabilidad genética, el flujo de genes y las relaciones filogeográficas existentes entre las poblaciones estudiadas.

3.3.2. Variables

a. Identificación de variables, indicadores e índices

- Variable independiente (X): Marcadores moleculares microsatélites para el genoma de la caoba
- Variable dependiente (Y): Caracterización genética.

3.3.3. Indicadores e Índices

Se muestra en la tabla 2, los indicadores e índices.

Tabla 2: Indicadores de índices de la variable X e Y.

<i>Nombre de la Variable</i>	<i>Indicadores</i>	<i>Índice</i>
<i>Marcadores Moleculares</i>	Marcadores moleculares microsatélites	Peso de los Alelos.
		Numero de alelos, heterocigosidad observada y esperada
<i>Caracterización genética</i>	Caracterización genética molecular	F_{ST} y F_{IS} (Índice de fijación y desviación a la panmixia, respectivamente)
		Flujo de genes
		Grado de diferenciación
		Correlación

3.3.4. Descripción Estadística

El análisis estadístico para este estudio abarcó una serie de análisis propios del área, como el Análisis Factorial de Correspondencia (AFC). El Análisis Factorial de Correspondencia (AFC) es un tipo de análisis particularmente bien adaptado para describir las asociaciones entre variables cualitativas de un conjunto de individuos, analiza tablas de contingencia cruzando las modalidades de las variables. Su objetivo principal es generar una representación gráfica de los individuos en un espacio de dos o tres dimensiones en función de sus proximidades (Gazel, 1999).

El Análisis Factorial de Correspondencia analiza una matriz con ambos alelos por cada locus informativo, para el tratamiento de datos en el Software Genetix versión 4.05.2 (Belkhir et al. 2004). En este trabajo se realizó un análisis factorial de correspondencia para determinar las diferencias genéticas existentes entre seis poblaciones de la especie *Swietenia macrophylla*.

Asimismo, se estimó el Índice de fijación (FST) el cual explica el grado de diferenciación entre los individuos de la población y entre las poblaciones mismas. El efecto de la subdivisión de la población se mide por un parámetro denominado "índice de fijación" (simbolizado por FST), que es la reducción promedio en la heterocigosidad de una subpoblación debido a la deriva genética por azar. El Índice de fijación (FST) indica el grado de diferenciación entre los grupos analizados, tomados de dos en dos, explicando los cambios en los perfiles debido a la subdivisión poblacional y deriva genética, para ello utilizamos el estimador de Weir y Cockerham (1984) y Weir (1991):

$$F_{ST} = \frac{\sum(A_i)}{\sum(A_i + B_i)}$$

Donde:

A_i = Componente de la variación entre los grupos.

B_i = Componente de la variación dentro de cada grupo

Los valores del F_{ST} varían entre 0 y 1. Cuando $F_{ST} = 0$, los diferentes grupos se comportan como uno solo indicando que no existe divergencia genética entre ellos. Cuando el $F_{ST} = 1$, la estructuración es máxima lo que sugiere que los grupos están fijados (Tabla 03). Se establece el siguiente criterio para clasificar el grado de diferenciación entre grupos:

Tabla 3: Clasificación de Valores de F_{ST} , Según Hartl y Clark (1997)

$0 - 0,05$	Diferenciación genética pequeña
$0,05 - 0,15$	Diferenciación genética moderada
$0,15 - 0,25$	Diferenciación genética alta
$F_{ST} > 0,25$	Diferenciación genética muy alta

Para la significancia (P) de la diferencia entre poblaciones multilocus, se compara el estimador del F_{ST} real con 1000 estimadores de F_{ST} obtenidos en situaciones donde no hay estructuración, rompiendo la hipotética estructuración real de manera artificial por permutaciones de los individuos en el conjunto de las poblaciones.

Se considera que la diferencia es significativa cuando el F_{ST} es mayor a 95 por ciento ($P < 0,05$) en relación con los F_{ST} de las 1000 permutaciones sin estructuración. Los índices de fijación serán calculados con ayuda del Software Genetix versión 4.05.2 (Belkhir et al., 2004).

Por otro lado, se realizó un análisis de regresión para verificar si las diferencias observadas entre las poblaciones estudiadas se deben a un aislamiento por distancia y esto determinará la correlación entre la distancia genética y la geográfica.

La distancia genética refleja la diferenciación a nivel de frecuencias génicas expresada en el número de sustituciones alélicas por locus que se han dado en la evolución separada de dos poblaciones, grupos o especies. Se dice que hay una sustitución alélica cuando un alelo es reemplazado por otro diferente, o cuando un grupo de alelos es reemplazado por un grupo diferente (Rousset, 1997). Las relaciones entre las distancias genéticas ($F_{ST} / 1 - F_{ST}$) y geográficas (km) serán determinadas a partir del coeficiente de correlación de PEARSON y calculados por el software Microsoft Excel 2016.

3.4. Método

3.4.1. Colecta del material genético

El material genético colectado fue de hojas juveniles (4-5 hojas) y/o cambium en el caso de ser individuos altos. La colecta se realizó en las regiones de Madre de Dios, Ucayali y Loreto. Conformado por seis poblaciones naturales a evaluar, teniendo como muestra total 170 individuos de seis poblaciones naturales de *Swietenia macrophylla*. Las poblaciones son seleccionadas por un mínimo de 20 individuos de caoba por población. Todas las muestras fueron obtenidas por el proyecto “Aplicación de marcadores de identificación y determinación de origen geográfico en la comercialización de la caoba y el shihuahuaco” desarrollado por el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP

3.4.2. Conservación del material biológico

El material foliar y/o cambium de *Swietenia macrophylla* King. fue conservado hasta su uso en el laboratorio dentro de bolsas ziploc de 15x15 cm, conteniendo silicagel (Silicato de sodio). Posteriormente los tubos fueron rotulados con el número de muestra, lugar de colecta, fecha y nombre del colector (Palacios *et al.*, 2004).

3.4.3. Extracción de ADN usando el método CTAB

La extracción de ADN se realizará a partir de tejido foliar, después de la colecta y mediante el método de extracción CTAB (Doyle y Doyle, 1987) descrito a continuación:

EXTRACCIÓN ADN PLANTAS

La extracción del ADN de plantas se realizó con el protocolo de Doyle y Doyle (1987). Para ello se siguió lo siguiente:

Preparación de Buffer de Extracción (100ml)

Tabla 4: Reactivos y volumen para la preparación del Buffer

Reactivos	Volumen
CTAB 2%	2gr para 400ml
NACL 1,5M	8,7675 gr para 20ml
EDTA 25Mm	0,9306 gr para 20ml

...continuación

Tris HCL 0,1 M ph8	1,575 gr para 20ml
2-betamercaptoetanol 0,2%	200 µl para 200ml

Colectar brotes de hojas (hojas jóvenes) y transportar a temperatura de refrigeración.

1.- Pesar 100 mg (0,1 gr) de la muestra y ponerla en un microtubo de 2 ml conteniendo 300 µl de Buffer de extracción calentado a 60°. Seguidamente triturar las muestras colocando bolitas de metal en los microtubos para ser pulverizados en el Tisulayser.

2.- Completar con 600 µl de buffer de extracción o hasta enrazar 1 ml y agregar 10 µl de proteinasa K (10 mg/ml).

3.- Incubar las muestras en baño maría a 60 °C por una noche, mover las muestras ocasionalmente.

4.- Agregar 1 ml de cloroformo, mezcle suavemente por inversión durante 5 min. Centrifugar a 8000 rpm por 5 min.

5.- Tomar 500 µl de sobrenadante y ponerlo en un microtubo nuevo de 1,5 ml.

6.- Agregar 750 µl de isopropanol frio, mezclar suavemente por inversión durante 2 min. Poner las muestras al congelador por 2 horas.

7.- Centrifugar a 13000 rpm por 15 min. Desechar la parte liquida de la solución cuidadosamente procurando no perder el pellet de DNA en el fondo del tubo.

8.- Agregar 750 µl de etanol al 70 por ciento, vortexear. Centrifugar a 13000 rpm por 15 min. Desechar la parte liquida cuidando de no perder el pellet de ADN.

9.- Repetir el paso anterior una vez más.

10.- Dejar secando el precipitado, poniendo el tubo sobre papel sobrenadante en la bancada de trabajo.

11.- Diluya el precipitado en 30 µl de agua ultra pura. Guardar el extracto en el congelador

3.4.4. Cuantificación

La pureza y la concentración del DNA, se determinó por el método espectrofotométrico de Maniatis (1989) (longitud de onda 260nm y 280nm). Se trabajó con un factor de dilución de 100 (495 µl de agua ultrapura y 5µl del material genómico resuspendido). La evaluación de la calidad de la extracción (ratio), será en un rango aceptable entre: 1,7 – 2,2 (A260/A280). Finalmente se determinó la concentración de DNA por medio de la siguiente formula:

$$[DNA] = [A260 \times FD \times 50\mu g/\mu l]$$

Dónde:

A = Absorbancia

FD = Factor de dilución (1:100)

3.4.5. Electroforesis

Para verificar el éxito de la extracción de DNA de las muestras, se realizó una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 0,8 por ciento, teñido con Gel red al 0,05 por ciento. La corrida electroforética se programó 100V durante 30 min, visualizando las bandas de ADN en un transiluminador de luz UV. La fotodocumentación de los geles fue realizado en un sistema de imagen GEL LOGIE 100, KODAK.

3.4.6. Amplificación de DNA vía PCR

Durante el estudio se optimizó las condiciones de amplificación (concentraciones de MgCl₂, Taq polimerasa, DNA molde, al igual que la temperatura hibridación) para cada uno de los 10 microsatélites desarrollados por Lemes *et al.* (2002) (Tabla 5).

Tabla 5: Nombre y secuencia de primers de microsatélites desarrollados para la caoba (*Swietenia macrophylla* King)

<i>Locus</i>	<i>Color</i>	<i>Secuencia de primers (5' – 3')</i>	<i>Rango del tamaño de alelos</i>
<i>sm01</i>	NED (Amarillo)	F: 5'- GCGCGATTGATTGACTTC -3' R: 5'- GCGCTTAGCATTATTCTCC -3'	261-295
<i>sm22</i>	HEX (Verde)	F: 5'- TCTGCTACAGAGCTGGATGC -3' R: 5'- GTATGCTCGAAGAAGTCGTTG -3'	119-161
<i>sm31</i>	FAM (Azul)	F: 5'- CTTCTAATGTTCTGATGCCTG -3' R: 5'- AGCAACTCGTGAGGAATTTAC -3'	80-138
<i>sm32</i>	NED (Amarillo)	F: 5'- CACCTTATGTACACCACACAG -3' R: 5'- GAAGGAGACACCAGCAATC -3'	146-184
<i>sm34</i>	FAM (Azul)	F: 5'- GCACTCAAGGTACTACTATGAT -3' R: 5'- TACGTGTGAATGCGTCTAT -3'	40-96
<i>sm40</i>	HEX (Verde)	F: 5'- TGCTACTGTCAAGAGTGTAT-3' R: 5'- GACAAACATGTACCACAAG -3'	120-146
<i>sm45</i>	HEX (Verde)	F: 5'- CCTTATGTTCCACCACACAGTA -3' R: 5'- GAGACACCAGCAATCCAG -3'	140-178
<i>sm46</i>	NED (Amarillo)	F: 5'- GCAGTACTCGCCTATCTTCA -3' R: 5'- TGAGAACTGCAGAATCCTTT -3'	190-226
<i>sm47</i>	FAM (Azul)	F: 5'- GCCATTGGTCTCAATCTTAC -3' R: 5'- GGAAGAGTCTTAGAACACAG -3'	114-150
<i>sm51</i>	NED (Amarillo)	F: 5'- GCAATTTCCAGAAGAAACC -3' R: 5'- CTGTAGGCGATAACAATCAG -3'	138-182

F = Forward (hacia delante), R = Reverse (reverso)

3.4.7. Verificación preliminar de los productos de amplificación

Los productos de PCR fueron verificados preliminarmente en geles de agarosa al 2 por ciento, teñidos con Gel red al 0,05 por ciento, la corrida electroforética se programó a 100V por espacio de 20 min, los resultados fueron visualizados en un transluminador de rayos UV y fotodocumentados en un sistema de imagen GEL LOGIE 100, KODAK

3.4.8. Resumen de productos obtenidos en laboratorio

Se muestran los productos obtenidos de cada etapa de laboratorio en la tabla 6.

Tabla 6: Resumen de productos obtenidos en cada etapa de laboratorio

Etapa	Resultado
Extracción de ADN	Obtención de ADN genómico
Cuantificación	Lectura de la concentración (g/l) del ADN
Electroforesis	Verificación del ADN por medio de gel de agarosa
Amplificación de ADN vía PCR	Amplificación de un fragmento de ADN específico
Verificación preliminar de los productos de amplificación	Verificación de los fragmentos amplificados por medio de gel de agarosa

3.4.9. Análisis y lectura de Microsatélites

La determinación del tamaño de los alelos se realizó por comparación del peso molecular del marcador Standar ROX 500 GeneScan (AppliedBiosystems), con ayuda del programa Peak Scanner versión 1.0.

3.4.10. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

a. Identificación y determinación del peso de alelos

La determinación del tamaño de los alelos se realizó por comparación del peso molecular del marcador Standar ROX 500 GeneScan (AppliedBiosystems), con ayuda del programa Peak Scanner versión 1.0.

b. Diversidad alélica de las poblaciones

Estos datos se obtendrán a través del programa Genetix versión 4.5.2, por medio del cual fueron calculados cada locus en cada población, el número de alelos (A), la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), así como el coeficiente de endogamia (F_{IS}) para medir la desviación de la panmixia.

Además, se calculó las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg y el número de alelos exclusivos (alelo presente sólo en una localidad) mediante el programa GenAlex 6.4. Las significancias estadísticas fueron estimadas utilizando intervalos de confianza al 95 por ciento.

c. Análisis factorial de correspondencia AFC

Este análisis pone en evidencia diferentes grupos correspondientes a las combinaciones lineales de las variables, independientemente de su pertenencia a grupos definidos, poblaciones o procedencia geográfica. Para este análisis se realizó una matriz binaria en base a los alelos informativos. Para el proceso de los datos se utilizó el Software Genetix versión 4.5.2 (Belkhir *et al.*, 2004).

d. Relaciones interpoblacionales

Las relaciones entre poblaciones fueron estimadas por medio del programa NEIGHBOR del software PHYLIP versión 3.5. El dendrograma fue visualizado en el software TREEVIEW (Page, 1996).

e. Índice de Fijación

Se estimó el grado de diferenciación entre las poblaciones estudiadas. Los F_{ST} fueron calculados con ayuda del Software Genetix versión 4.5.2, utilizando el estimador de Weir y Cockerham (1984) y Weir (1991).

$$F_{st} = \frac{\Sigma(A_i)}{\Sigma(A_i + B_i + C_i)}$$

Dónde:

A_i = Componente de la variación de los perfiles entre los grupos.

B_i = Componente de la variación de los perfiles dentro de cada grupo.

$C_i = 0$

f. Flujo genético

También se analizó la distancia genética entre pares de localidades para medir la diferenciación entre poblaciones. Las tasas de migración (flujo génico) fueron estimadas de forma lineal a partir de los valores del Índice de Fijación F_{ST} , expresada en número de migrantes por generación (Nm) (Wright 1969).

$$Nm = (1 - Fst)/(4 \times Fst)$$

g. Aislamiento por distancia

Para verificar si las diferencias observadas se deben al distanciamiento geográfico entre las poblaciones estudiadas, se hará una correlación con las distancias genéticas mediante el programa Google Earth. A través de este programa se medirán las distancias geográficas entre las poblaciones (en Km).

Las correlaciones en cada una de estas medidas fueron estimadas a través del coeficiente de correlación de Pearson, calculado en el software Microsoft Excel. Los resultados fueron verificados con la prueba de Mantel con el programa Genetix versión 4.5.2.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1. Variabilidad Genética de las Poblaciones

4.1.1. Variación y Frecuencia alélica por *Locus* y Población

Todos los *loci* microsatélites estudiados fueron altamente polimórficos. El número medio de alelos por *locus* fue 15.5 ($A_T = 11$ a 24). La media de heterocigosidad esperada (H_e) fue relativamente superior a la observada (H_o) en la mayoría de los *locus* analizados, a excepción de sm01, sm40, sm46, sm34. La media de heterocigosidad multilocus esperada ($H_e = 0.724$) fue también mayor a la observada ($H_o = 0.699$) (Tabla 7).

Tabla 7: Frecuencia de sexo del agricultor

<i>Locus</i>	A_T	H_e (rango)	H_o (rango)
sm01	11	0.390 (0.248-0.678)	0.401 (0.267-0.724)
sm22	13	0.683 (0.485-0.815)	0.671 (0.517-0.839)
sm31	24	0.908 (0.893-0.930)	0.868 (0.767-0.931)
sm32	12	0.694 (0.507-0.837)	0.624 (0.478-0.720)
sm34	16	0.514 (0.468-0.612)	0.516 (0.433-0.609)
sm40	12	0.771 (0.743-0.796)	0.784 (0.656-0.913)
sm45	14	0.722 (0.565-0.834)	0.635 (0.478-0.750)
sm46	21	0.898 (0.854-0.922)	0.905 (0.828-0.955)
sm47	12	0.771 (0.611-0.854)	0.756 (0.522-0.967)
sm51	20	0.885 (0.799-0.937)	0.832 (0.767-0.906)
Media	15.5	0.724	0.699

Leyenda: número de alelos totales (A_T), media de heterocigosidad esperada (H_e), media de heterocigosidad observada (H_o)

Fueron encontrados 155 alelos con pesos variando entre 66 a 287 pb y frecuencias alélicas distintas entre las poblaciones. 66 de ellas presentaron frecuencias muy bajas (menores a 5%), 83 mostraron frecuencias intermedias (de 5% a menos de 50%) y solo 6 alelos presentaron frecuencias elevadas (de 50% a 80%). De todos los alelos encontrados, el alelo 261(*locus* sm01) fue el que presentó la mayor frecuencia (0.860). Un análisis a nivel poblacional mostró que Iñapari y Breu fueron las poblaciones con menor frecuencia alélica (0.016) en la mayoría de los *loci* analizados. El *locus* sm46 presentó una frecuencia más homogénea en todas las poblaciones (Figura 7)



■ IÑAPARI ■ YURIMAGUAS ■ OTORONGO ■ PITHECIA ■ BREU ■ P. ESPERANZA

Figura 7: Frecuencia alélicas observadas en los 10 *loci* analizados en seis poblaciones naturales de *Swietenia macrophylla* en la Amazonía peruana

4.1.2. Alelos privados

Si bien fueron encontrados 36 alelos privados (alelos propios o exclusivos de una población), las frecuencias de estas fueron bajas dentro de las seis poblaciones evaluadas (Tabla 8). Iñapari fue la población que presentó la mayor cantidad de alelos privados (10) así como el alelo privado con mayor frecuencia (alelo 134 del *locus* SM51= 0.078), en tanto que Pithecia presentó solo tres alelos privados (104, 76, 139).

Tabla 8: Alelos privados (pb) y sus frecuencias (valores entre paréntesis) observados en 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonía peruana.

Localidades	sm01	sm22	sm31	sm32	sm34	sm40	sm45	sm46	sm47	sm51	N ^o de alelos
Iñapari	275 (0.047)	140 (0.016)	92(0.031)	150 (0.016)	56 (0.016)		139 (0.016) 143 (0.016)	221 (0.031)	131 (0.016)	134 (0.078)	10
Breu	267 (0.032)				92 (0.048) 104 (0.016)	119 (0.016)					4
P. Esperanza	287 (0.04)	120 (0.02)	94 (0.02)					227 (0.045)		132 (0.02) 144 (0.06) 162 (0.02) 168 (0.04)	8
Otorongo			84 (0.017)	172 (0.017)	86 (0.017)		167 (0.017)	181 (0.017) 199 (0.017)			6
Yurimaguas	281 (0.017)		88 (0.034) 136 (0.069)		94 (0.034)				115 (0.017)		5
Pithecia			104 (0.022)		76 (0.022)	139 (0.22)					3
TOTAL	4	2	6	2	6	2	3	4	2	5	36

4.1.3. Variabilidad genética de los alelos dentro de cada población

Iñapari fue la población que presentó mayor número de alelos ($A_T = 110$), por consecuencia la mayor riqueza alélica ($A_R = 11$), entre todas las poblaciones analizadas; en tanto que Yurimaguas presentó los valores más bajos ($A_T = 73$ y $A_R = 7.3$). El número medio de alelos observados por población fue 9.47. La heterocigosidad esperada (H_e) fue relativamente superior a la observada (H_o) en la mayoría de las poblaciones, a excepción de Breu ($H_e = 0.749$ y $H_o = 0.751$) revelando así una mayor cantidad de heterocigotos respecto a homocigotos para esa localidad. La media de heterocigosidad poblacional esperada ($H_e = 0.719$) fue también mayor a la observada ($H_o = 0.699$). Los resultados del coeficiente de endogamia (F_{IS}) muestran que, en las poblaciones de Breu, Otorongo, Yurimaguas y Pithecia no se puede rechazar la panmixia, mientras que las dos poblaciones restantes (Iñapari y P. Esperanza) exhibieron un desvío a la misma (Tabla 9).

Tabla 9: Índice genéticos obtenidos a partir de 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonía peruana.

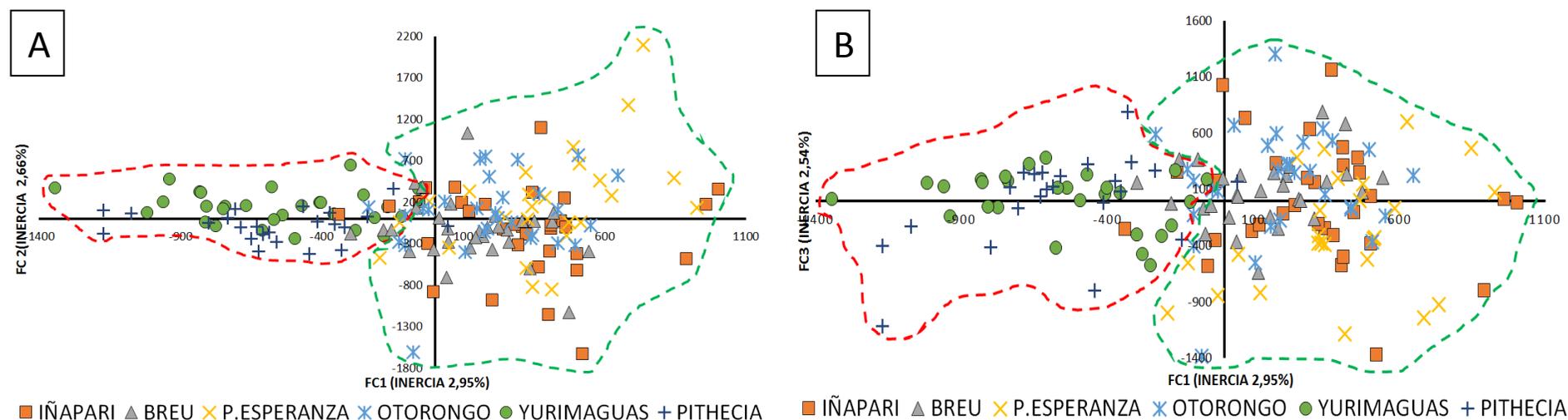
<i>Poblaciones</i>	<i>N</i>	<i>A_T</i>	<i>A_R</i>	<i>H_e</i>	<i>H_o</i>	<i>F_{IS}</i>
Iñapari	32	111	11	0.751	0.678	0.099
Breu	31	99	9,9	0.749	0.751	-0.004*
P. Esperanza	25	102	10.2	0.764	0.727	0.049
Otorongo	30	107	10.7	0.704	0.677	0.039*
Yurimaguas	29	73	7.3	0.685	0.679	0.008*
Pithecia	23	77	7.7	0.689	0.682	0.010*
Media	28.33	94,7	9.47	0.719	0.699	0.028

Leyenda: Número de individuos por población (N), número de alelos totales (A_T), media de número de alelos o riqueza alélica (A_R), media de heterocigosidad observada (H_o), media de heterocigosidad esperada (H_e) y coeficiente de endogamia por población (F_{IS}). * = No se puede rechazar la panmixia.

4.2. Estructuración Poblacional

4.2.1. Variables Genéticas entre Poblaciones

Los resultados del análisis factorial de correspondencia (AFC) (nivel de confianza al 95%; $p \leq 0.05$), mostraron que las poblaciones no están claramente diferenciadas a nivel genético, presentando superposición entre ellas. Sin embargo, se puede observar que las poblaciones de la región Loreto (Yurimaguas y Pithecia) se encuentran ligeramente diferenciadas de las poblaciones Ucayali (Breu y P. Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari



y Otorongo) (Figura 8).

Figura 8: Proyección gráfica de los resultados del AFC (A: ejes 1 y 2; B: ejes 1 y 3) en función a frecuencias alélicas obtenidas de individuos de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.

4.2.2. Estructuración Genética Poblacional

Los valores de F_{ST} muestran que la caoba en la Amazonía peruana presenta baja a moderada estructuración genética entre las poblaciones analizadas. Las poblaciones de Yurimaguas y Pithecia presentaron los valores más elevados de estructuración genética ($F_{ST}= 0.029$ a 0.082) con la mayoría de las poblaciones restantes, siendo que estas estructuraciones genéticas son consideradas como moderadas según escala de Hartl y Clark (1997). Sin embargo, Pithecia presentó una estructuración genética baja con Breu ($F_{ST} = 0.044$). Las poblaciones de la región Ucayali (Breu y P. Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari y Otorongo) presentaron baja estructuración genética entre ellas ($F_{ST}= 0.005$ a 0.033). Por lo tanto, se encontró una diferenciación genética entre las poblaciones de la región de Loreto (Yurimaguas y Pithecia) con respecto a las poblaciones de las regiones de Ucayali (Breu y P. Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari y Otorongo). Todos los valores mostrados para las seis poblaciones presentaron significación estadística (Tabla 10).

Tabla 10: Índices de Fijación (F_{ST}) calculados a partir de 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana

	<i>Iñapar</i> <i>i</i>	<i>Breu</i>	<i>P.</i> <i>Esperanza</i>	<i>Otorongo</i>	<i>Yurimaguas</i>	<i>Pithecia</i>
<i>Iñapari</i>		0.005*	0.009***	0.007*	0.069***	0.060***
<i>Breu</i>			0.012***	0.029***	0.053***	0.044***
<i>P.</i> <i>Esperanza</i>				0.033***	0.082***	0.070***
<i>Otorongo</i>					0.063***	0.056***
<i>Yurimaguas</i>						0.029***
<i>Pithecia</i>						

Abreviaturas: *** $p \leq 0.001$ (99.9%), * $p \leq 0.05$ (95%)

4.2.3. Flujo Genético

Los resultados del flujo genético, determinado por el número de migrantes por generación (Nm), mostraron que las poblaciones de caoba mantienen diferentes niveles de flujo génico entre ellas. Las poblaciones con mayor flujo de genes fueron Iñapari y Breu ($Nm = 49.43$), a diferencia de Yurimaguas y P. Esperanza ($Nm = 2.78$) que presentaron el menor flujo genético, es decir, fueron las más aisladas genéticamente (Tabla 11).

Tabla 11: Número de migrantes por generación (Nm) obtenidos de 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana

	<i>Iñapari</i>	<i>Breu</i>	<i>P. Esperanza</i>	<i>Otorongo</i>	<i>Yurimaguas</i>	<i>Pithecia</i>
<i>Iñapari</i>	49.43	26.85	33.89	3.36	3.80	
<i>Breu</i>		19.57	8.36	4.44	5.37	
<i>P. Esperanza</i>			7.25	2.78	3.31	
<i>Otorongo</i>				3.68	4.18	
<i>Yurimaguas</i>					8.27	
<i>Pithecia</i>						

4.2.4. Distancia Genética entre poblaciones

Los valores de distancia genética muestran también que las poblaciones de Loreto presentan menor distancia genética entre ellas (0.069); al igual que las cuatro poblaciones de las regiones de Ucayali y Madre de Dios, cuyos valores de distancia genética variaron de 0.018 entre Iñapari y Breu a 0.095 entre Otorongo y P. Esperanza. Estos resultados indican que las poblaciones de la región de Loreto (Yurimaguas y Pithecia) presentan mayor distancia genética con respecto a las Poblaciones de las regiones de de Ucayali (Breu y P. Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari y Otorongo) (Tabla 12).

Tabla 12: Valores de distancia genética (Nei 1978) obtenidos 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana

	<i>Iñapari</i>	<i>Breu</i>	<i>P. Esperanza</i>	<i>Otorongo</i>	<i>Yurimaguas</i>	<i>Pithecia</i>
<i>Iñapari</i>		0.018	0.034	0.019	0.207	0.186
<i>Breu</i>			0.041	0.080	0.148	0.123
<i>P. Esperanza</i>				0.095	0.259	0.217
<i>Otorongo</i>					0.168	0.149
<i>Yurimaguas</i>						0.069
<i>Pithecia</i>						

4.2.5. Correlación entre las distancias genéticas y geográficas lineales

Las poblaciones con mayor distancia geográfica lineal fueron Otorongo-Yurimaguas (910.43 km) y las más cercanas fueron Iñapari-Otorongo (42.54 km), los valores de distancia genéticas de Rousset ($F_{ST}/1-F_{ST}$) variaron entre 0,005 (Iñapari-Breu) a 0.090 (P. Esperanza-Yurimaguas) (Tabla 13).

Tabla 13: Valores de distancia geográfico (km) y distancia genética ($F_{ST}/1-F_{ST}$) de Rousset (1997) entre las poblaciones analizadas de *Swietenia macrophylla* en la Amazonía peruana.

<i>Comparación poblacional</i>	<i>Distancia (km)</i>	<i>Distancia Genética</i>
Iñapari-Otorongo	42.54	0.007
Yurimaguas-Pithecia	173.04	0.030
Iñapari-P. Esperanza	176.86	0.009
Breu-P. Esperanza	209.09	0.012
P. Esperanza-Otorongo	214.56	0.034
Iñapari-Breu	372.35	0.005
Breu-Otorongo	402.44	0.029
Breu-Yurimaguas	515.26	0.056
Breu-Pithecia	527.39	0.046
P. Esperanza-Pithecia	676.37	0.075
P. Esperanza-Yurimaguas	699.96	0.090

...continuación

Iñapari-Pithecia	852.07	0.065
Iñapari-Yurimaguas	875.77	0.074
Otorongo-Pithecia	890.88	0.059
Otorongo-Yurimaguas	910.43	0.067

El análisis de correlación evidenció que las distancias genéticas observadas entre las seis poblaciones de *Swietenia macrophylla* estudiadas, presentan una correlación positiva alta (según escala de Pearson, 2004) y significativa entre las distancias genéticas de Rousset y las distancias geográficas lineales en kilómetros ($r = 0.852$; $p = 0.040$). Es decir que las pequeñas distancias genéticas encontradas en las poblaciones son respuestas a las distancias geográficas entre ellas (Figura 9).

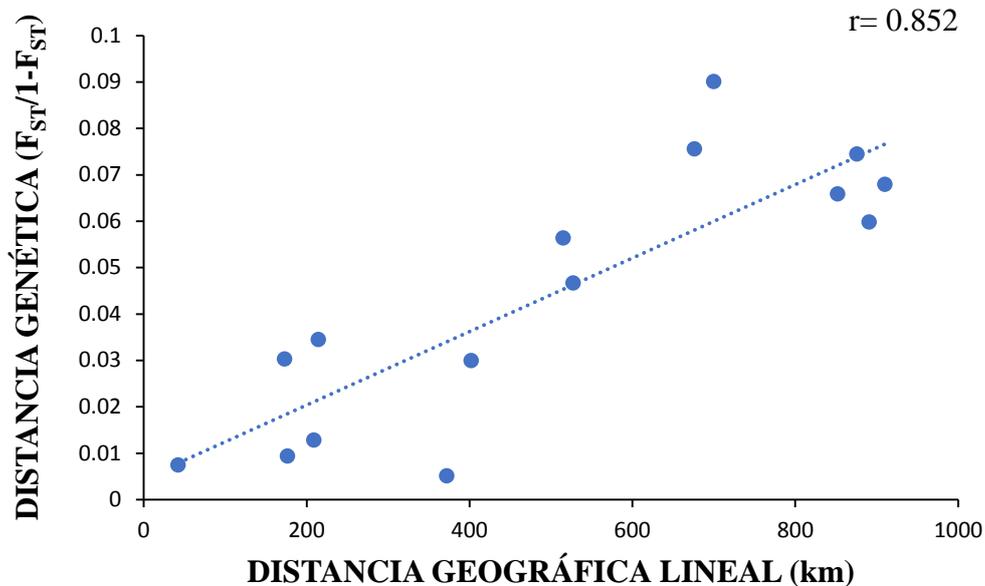


Figura 9: Representación gráfica del análisis de correlación entre las distancias geográficas (km) y las distancias genéticas de Rousset ($F_{ST}/1-F_{ST}$) de *Swietenia macrophylla* proveniente de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana

4.3. Diferenciación genética y relaciones fitogeográficas entre poblaciones

4.3.1. Relaciones Interpoblacionales

El dendrograma (Figura 10), muestra que las seis poblaciones de *Swietenia macrophylla* están conformando dos agrupaciones genéticamente distintas (A y B). El grupo “A” conformado únicamente por las poblaciones de Yurimaguas y Pithecia, la solides de la relación filogeográfica entre estas dos poblaciones es demostrado por el valor de 100% de Bootstrap estimado entre ellas. El grupo “B” está agrupando a las poblaciones de las regiones de Ucayali y Madre de dios. Las poblaciones más cercanas en este grupo fueron Iñapari y Otorongo (Bootstrap= 58%), y las más distantes de las otras tres fue .P Esperanza.

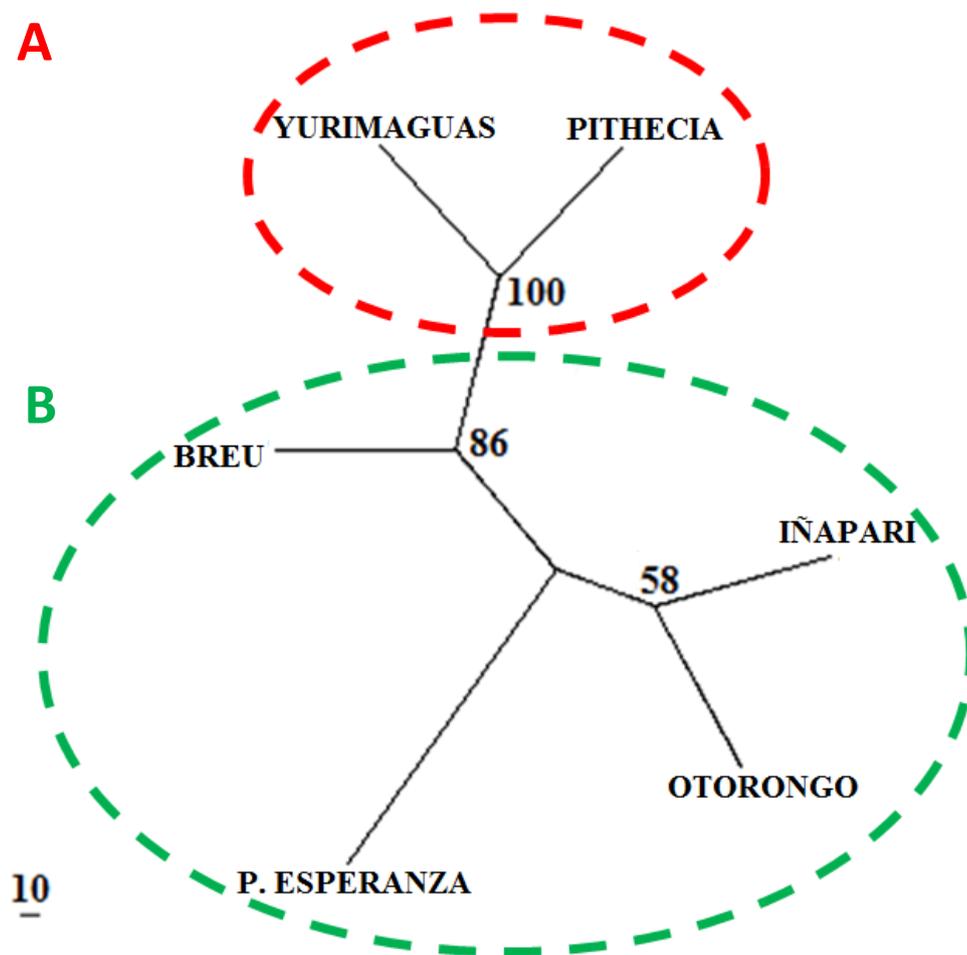


Figura 10: Dendrograma construido a partir de las distancias genéticas (Nei 1978) según el criterio de agrupamiento de Neighbor-Joining. Los numeros en los nudos corresponden a los valores de Bootstrap obtenidos con 100 replicas.

4.3.2. Análisis de Estructura Poblacional

Los resultados del análisis bayesiano de estructuración, analizados mediante el estadístico ΔK (delta K), muestra que las poblaciones analizadas se dividen preferentemente en dos grupos genéticos distintos o clusters ($K=2$) (Figura 11). En la Figura 12 se observa que los individuos de las poblaciones de Iñapari, Breu, P. Esperanza y Otorongo presentan una membresía (Q) alrededor de 0.8 del cluster representado aquí de color verde. Mientras que los individuos de las poblaciones de Yurimaguas y Pithecia pertenecen preferentemente al cluster representando aquí en color rojo. Por lo tanto se encontró dos grupos genéticos distintos, por un lado las poblaciones de la región Loreto (Yurimaguas y Pithecia) y como segundo grupo las poblaciones de las regiones de Ucayali (Breu y P. Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari y Otorongo).

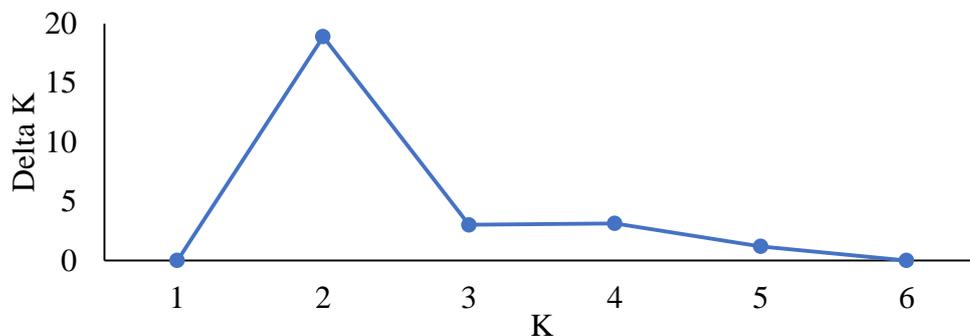


Figura 11: Esquema gráfico que representa el cálculo de “Delta K” de 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales en la Amazonia peruana.

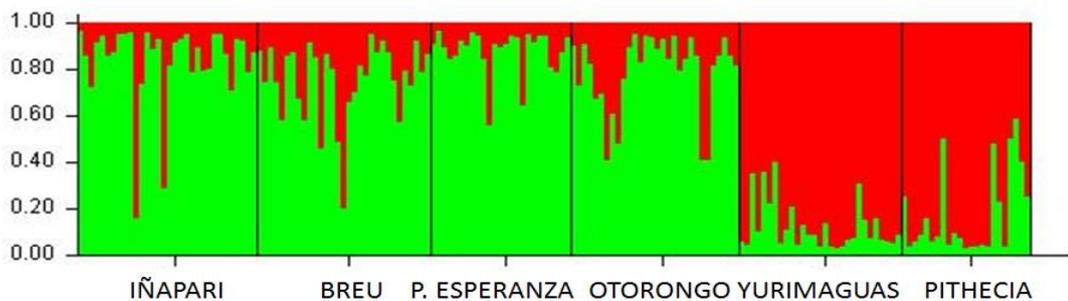


Figura 12: Representación gráfica de la estructuración poblacional de 10 loci microsatélites de *Swietenia macrophylla* provenientes de seis poblaciones naturales de la Amazonía peruana.

4.4. Discusion

4.4.1. Diversidad Genética intrapoblacional

La caoba está calificada como el árbol más valioso de toda América Latina y su madera es altamente valorizada en el mercado mundial, siendo considerado madera fina de excelentes cualidades (Cruz, 2003). Razón por la cual fue fuertemente explotado durante los años 80 y 90, lo que originó la fragmentación y disminución de su hábitat natural. Razón por la cual en el 2003 fue incluida en el Apéndice II del CITES como la especie en amenaza de extinción. A pesar de toda la problemática que existe alrededor de la caoba todavía no existe suficiente información que pueda servir de base para planes de manejo sostenidos de la misma. Los principales datos generados están relacionados a la evaluación de caracteres morfológicos (Reynel *et al.*, 2003) y dendrocronológicos (Rosero, 2009) existiendo un vacío de información sobre la variabilidad genética molecular de esta especie y las relaciones sobre sus poblaciones naturales. Información sobre la diversidad y estructuración genética de una especie es esencial para asegurar su capacidad de adaptación frente a los contratiempos ambientales. El estudio de la variación genética en las poblaciones naturales considera tanto los niveles de población de la variabilidad como la caracterización de la estructura genética de las poblaciones.

Nuestros resultados de diversidad genética muestran que el número total de alelos por *locus* (A), la heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o) (Tabla 6), fueron relativamente menores a los encontrados por Lemes *et al.* (2000; 2003) para poblaciones brasileras de *Swietenia macrophylla* ($A= 18.4$; $H_e =0.851$ y $H_o =0.749$); en tanto que fueron superiores a lo reportado para Mesoamérica ($A= 7.28$; $H_e =0.657$ y $H_o =0.559$) por Novick *et al.* (2003) y para México ($A= 9.5$; $H_e =0.78$ y $H_o =0.41$) (Salazar, 2010). Si analizamos estos valores podemos observar que la riqueza alélica (A) sugiere una gradiente de diversidad de menor a mayor en dirección norte a sur y que existe un exceso de homocigotos en las poblaciones la (Heterocigosidad esperada - H_e fue siempre mayor a la observada - H_o) en las poblaciones naturales de *Swietenia macrophylla*. Tres posibles explicaciones podrían estar relacionadas con estos resultados: I) eventos sucesivos e históricos de dispersión en el área natural de la especie en un sentido Sur – Norte, la cual podría haber sido moldeada por el surgimiento de barreras topográficas o condiciones climáticas durante el Pleistoceno que pudieron haber obstaculizado o favorecido en mayor o menor grado el flujo de genes en el área de dispersión de la especie a través de la historia evolutiva del continente, que permitió conservar mejor la diversidad genética en algunas

área que en otras (Whitmore & Prance, 1987; Lemes *et al.*, 2003). La presencia del mismo gradiente de diversidad alélica encontrada a nivel de poblaciones de *Swietenia macrophylla* en la Amazonía peruana, (regiones de Ucayali y Madre de Dios presentan valores superiores de riqueza alélica a las poblaciones de Loreto), refuerza nuestro supuesto sobre los eventos de dispersión de sur –norte de la caoba en Sudamérica. II) Otro de los factores que podría estar influenciado la reducción de la diversidad genética, es la tala indiscriminada en las poblaciones naturales de caoba. El corte indiscriminado de árboles adultos podría estar ocasionando la pérdida de pools genéticos, es decir podría estar influenciando un proceso de endogamia (reproducción entre parientes cercanos, F_{IS} mayor a cero). Si analizamos el histórico de explotación de la especie en América, podemos observar que en norte y centro américa donde la explotación se remonta a 1629 (Navarro, 2011) la diversidad genética es más reducida que en la Amazonia donde la explotación de la caoba es mucha más reciente (Perú en 1920, Brasil en 1930 y Bolivia en 1950). III) El apareamiento selectivo, ocasionado por el agrupamiento espacial o la coincidencia en el tiempo de floración entre grupos de árboles relacionados, y posiblemente a la alteración de las interacciones con los polinizadores, por lo que se podría esperar un incremento en la endogamia y homocigosis (Dick, 2001; Lemes *et al.*, 2003). Una de las consecuencias de la reducción de la diversidad genética es la pérdida del potencial evolutivo de las poblaciones (Frankham *et al.*, 2002).

4.4.2. Diferenciación genética entre poblaciones

A pesar de que es esperado que las plantas alógamas presenten estructuraciones pequeñas y poco definidas como lo encontrado por Godt & Hamrick (1998) (para otras especies alógamas), nuestros resultados muestran diferenciación entre las poblaciones de Loreto y las poblaciones de Ucayali y Madre de Dios. Los resultados del AFC (ejes 1 & 2 y 1 & 3), muestran ligeras diferencias genéticas entre las poblaciones de la región Loreto (Yurimaguas y Pithecia) y las demás poblaciones analizadas. Esta diferenciación fue corroborada con los resultados de distancia genética, F_{ST} y flujo de genes que demuestran que las mayores diferencias se encuentran entre estos dos grupos de poblaciones. Estas diferencias según escala de F_{ST} de Hatl & Clark 1997, puede ser considerada pequeña entre poblaciones de Loreto y moderada con respecto a las poblaciones de Ucayali y Puerto Maldonado, a excepción de Breu, esto podría deberse a que Breu es la más próxima geográficamente a las demás poblaciones analizadas en la región Loreto, en tanto que las demás poblaciones se encuentra más distantes geográficamente. En la Amazonía brasilera Lemes *et al.* (2003)

estimó valores relativamente mayores de F_{ST} que las estimadas en el presente trabajo, los valores variaron de 0.034 hasta 0.156 entre poblaciones con distancias geográficas variando entre 8 a 2103 km, pero mostró también que las poblaciones más distantes no son las más diferenciadas genéticamente. Otro estudio para la misma especie reportó valores de F_{ST} en un rango mucho más amplio a los reportados por Lemes *et al.* (2003) y el presente estudio (0.005 a 0.238) en un rango máximo de distancia entre poblaciones de 1600 km (Novick *et al.*, 2003). Otros estudios realizados con microsatélites en otras especies de la familia Meliaceae: *Carapa guianensis* en Costa Rica (Dayanandan *et al.*, 1999) y *Swietenia humilis* en Honduras (White *et al.*, 1999) reportaron valores bajos de F_{ST} (0.041 y 0.032 respectivamente) a distancias geográficas menores (máximo 44 km entre poblaciones), Estos resultados muestran que además del aislamiento por distancia geográfica, hay otros elementos que estarían ocasionando diferenciación genética entre las poblaciones. Nuestro resultado del análisis de correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica muestran que en la mayoría de las poblaciones de caoba de la Amazonía peruana el aislamiento por distancia geográfica (índice de correlación de Pearson = 0.852, $P = 0.040$) es un factor importante en la diferenciación entre la mayoría de las poblaciones. El número de migrantes por generación (Nm), refuerzan nuestro supuesto, mostrando que las distancias geográficas podrían estar influenciando en las diferenciaciones genéticas, ya que los menores flujos genéticos fueron encontrados entre las poblaciones de las regiones de Loreto-Ucayali y Loreto-Madre de Dios, presentando una distancia hasta de 910 km, en comparación de las poblaciones que se encontraban más cercanas entre ellas como las poblaciones de las regiones de Ucayali-Madre de Dios, mostrando un Nm superior (de 7.25 a 49.43) (Tabla 08). Sin embargo, el Nm no fue tan alto como se esperaba para las poblaciones de una misma región como Yurimaguas-Pithecia ($Nm = 8.27$; distanciamiento de 173 km) en comparación con las poblaciones de Breu-Otorongo, las cuales presentan mayor distanciamiento entre ellas (402 km) pero un Nm (8.36). Esto muestra que no solo el aislamiento por distancia está influenciando en la diferenciación sino también otros factores como la topología, la orografía y la ecología que juegan también papeles importantes en determinar patrones de flujo y dispersión (Eguiarte *et al.* 2010; Lowe *et al.* 2003).

Asimismo, la presencia de un menor número de alelos privados para las poblaciones de Pithecia (3), Breu (4) y Yurimaguas (5), en comparación con las poblaciones más al Sur como Otorongo (6), Puerto Esperanza (8) e Iñapari (10), podría sugerir una separación reciente para las poblaciones más al norte y que los individuos más al sur provienen de

poblaciones más antiguas y con mayor heterocigosidad; según Lopez *et al.*, (2013) y Li *et al.* (2002) este tipo de poblaciones tienden a mutar con mayor frecuencia. Para las poblaciones peruana de caoba de las localidades de Yurimaguas, Pithecia y Breu no se cumple el supuesto de que, ante un bajo flujo genético, más alelos privados surgirán (Slatkin, 1985), esto refuerza el supuesto de que la caoba fue colonizando desde la parte sur de Brasil hacia Perú, ingresando por los departamentos de Ucayali y Madre de Dios, desplazándose hacia el Norte. Este supuesto es reforzado por las altas tasas de variabilidad y heterogeneidad encontradas en la población de Chico Mendes estudiada por Lemes *et al.* (2003), la cual es la más cercana a los departamentos de Ucayali y Madre de Dios.

Los resultados del análisis bayesiano de estructuración poblacional y el dendrograma de Neighbor-Joining (elaborado a partir de las distancias genéticas de Nei, 1978), mostraron la conformación de las dos mismas agrupaciones o *clusters* (*Cluster* (A): Yurimaguas y Pithecia; *Cluster* (B): Breu, Puerto Esperanza, Otorongo e Iñapari); El análisis de estructuración muestra además, que estos dos *clusters* están muy poco sobrepuestos geográficamente (los individuos están predominantemente en el cluster al que pertenecen). Otras investigaciones reportan también estructuración genética poblacional para *Swietenia macrophylla*, en los países de Mesoamérica, donde se encontró tres grupos genéticos diferentes y sin superposición entre ocho poblaciones, con distancias geográficas entre poblaciones, variando de 0.1 hasta 1 600 km (Novick *et al.*, 2003).

Para entender cuáles serían los posibles factores que estarían o han estado históricamente influenciando la estructuración genética entre estos grupos de poblaciones, analizaremos algunas variables físicas diferenciales propuestas por Alvarez-Bulla *et al.* (1996) como la dispersión del polen y mecanismos de dispersión de semillas, la historia demográfica y las barreras geográficas al flujo de genes. I) la capacidad de dispersión del polen dependerá de la comunidad polinizadora, la sincronía floral entre árboles y el transporte a distancias alejadas (Grogan, 2001). White *et al.* (2002), encontró desplazamiento de polen a distancias mayores de 4.5 km para la especie de *Swietenia humilis* en Honduras. Esta polinización a larga distancia promovida por insectos no especialistas podría sugerir un aumento en el flujo genético para las poblaciones de caoba. Sin embargo, las poblaciones de caoba en el Perú se encuentran marcadamente alejadas lo cual podría conllevar en un futuro a la deriva génica y adaptaciones locales, ya que el flujo genético vía polen es el principal factor para contrarrestar

estos efectos (Ennos, 1994). Por otro lado, las semillas son dispersadas por el viento, con una distancia media de 36 m, reportado en el Bosque de Bolivia (Gullison *et al.*, 1996). Además, podría llegar a dispersarse hasta 60 m del árbol madre, con tendencia de mayor concentración de semillas y plántulas en la dirección de los vientos dominantes. Aparte las observaciones realizadas en Quintana Roo (México) confirma que los árboles más grandes producen más semillas y las dispersan a distancias mayores que los árboles pequeños (Gullison *et al.*, 1996), esto podría dificultar la dispersión para árboles en la Amazonía peruana ya que los árboles más grandes son talados, disminuyendo así el potencial de dispersión en nuestras poblaciones.

Por último, se ha registrado que las semillas de caoba a pesar de presentar una testa amarga son devoradas en el árbol por loros, tucanes y monos, y en el suelo es consumida por roedores, termitas y gorgojos, además de ser atacadas por larvas y hongos. Asimismo, las semillas germinan poco tiempo después de que caen al suelo (15-45 días), de manera que *Swietenia macrophylla* no forma banco de semillas (Parraguire, 1994; Morris *et al.*, 2000), todo esto podría estar interfiriendo en la dispersión de semillas de caoba en la Amazonía peruana ocasionando una incipiente separación entre poblaciones más distantes. II) la diferencia entre las poblaciones de caoba del norte y sur sugiere que tal vez algún río principal de la Amazonía (Río Ucayali) pudo aislar estas poblaciones. Sin embargo, esto podría ser descartado debido al flujo de genes interfluviales durante los periodos más secos y fríos del Pleistoceno en la Amazonía, cuando los grandes afluentes fueron muchos más estrechos, sumado a esto los cambios en el curso de los ríos debido a la actividad tectónica podrían provocar que las poblaciones cambien de un lado del río al otro. Estos mecanismos fueron propuestos para explicar que los ríos no siempre son barreras de aislamiento efectivas (Maslin y Burns, 2000; Symula *et al.* 2003; Roncal *et al.*, 2015). Otra explicación podría ser que la mayoría de las poblaciones tenga ancestros relativamente recientes como resultados de la recolonización del rango actual de refugios glaciares restringidos (Lemes *et al.*, 2003). En este sentido, Prance (1973) propuso refugios del Pleistoceno en la Amazonía a partir de cuatro familias de plantas (Caryocaraceae, Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae y Lecythydaceae), de los cuales dos refugios alcanzan a Perú (ANEXO 08), el primero al norte del país (Napó) y el segundo en la parte oriente (este de Perú). Este refugio en la parte oriente de Perú abarca parte de las regiones de Ucayali (Breu y Puerto Esperanza) y Madre de Dios (Iñapari y Otorongo), lo cual podría explicar la mayor diversidad en la zona oriente del país con referente a las poblaciones de Loreto (Yurimaguas y Pithecia); asimismo las

poblaciones ubicadas en el este de Perú están restringidas al oeste por el arco de Fitzcarrald y al norte con el complejo de montañas de Sierra del Divisor, en el cual este último podría actuar como una barrera genética en la diferenciación de las poblaciones de Loreto-Ucayali y Loreto-Madre de Dios, ya que el complejo de montañas está localizado entre los departamentos de Loreto (provincia de Ucayali y Requena) y Ucayali (Provincia de Coronel Portillo). Otros estudios sugieren que las montañas pueden representar una barrera física más efectiva que los principales ríos Amazónicos (Lemes *et al.*, 2003; Shoda, 2007). Esto es explicado por Novick *et al.* (2003) en poblaciones de caoba en Mesoamérica, en la cual encontró que las montañas de Talamanca aparentemente han actuado como una barrera genética que separa las poblaciones del Pacífico y el Atlántico de *Swietenia macrophylla*, propiciando una diferenciación entre estas poblaciones.

Por último, nuestros datos muestran que la diversidad alélica entre las dos agrupaciones de caoba es diferente, observándose un promedio mayor de alelos entre los individuos de los dos clusters. En el *cluster* (B) las cuatro poblaciones en conjunto presentaron en promedio un poco más de tres alelos por individuo (418 alelos en 118 individuos); en tanto que el *cluster* (A) las dos poblaciones en conjunto presentaron en promedio casi tres alelos por individuo (150 alelos en 52 individuos). Esto podría ser un indicativo de que el cluster (B) sería una agrupación históricamente más antigua (ya que estas suelen poseer mayor diversidad genética) con relación a la agrupación (A) que representaría un evento de colonización más reciente en el proceso de dispersión histórica de la caoba en la Amazonia peruana. Es decir, es muy probable que la caoba haya comenzado su proceso de colonización a partir de las localidades de Breu, Puerto Esperanza, Iñapari y Otorongo; sin embargo, análisis de otras poblaciones cercanas en la Amazonía brasilera y boliviana son necesarias para corroborar este supuesto.

-

V. CONCLUSIONES

- Las seis poblaciones naturales de caoba analizadas se encontraron conformando dos agrupaciones genéticas o clusters (A y B), el cluster (A) estuvo conformado por las localidades de Yurimaguas y Pithecia y el cluster (B) estuvo conformada por Breu, Puerto Esperanza, Iñapari y Otorongo; mostrando que Yutimaguas y Pithecia presentan una estructuración (diferenciación) genética de pequeña a moderada, con relación a las cuatro poblaciones restantes.
- El flujo genético entre Yurimaguas y Pithecia con las demás poblaciones fue bajo (valores de Nm variaron entre 2.78 a 5.37) en contraste entre poblaciones cercanas los valores de número de migrantes por generación fueron elevados entre la mayoría de ellas, lo que significa que mantienen un gran flujo de genes entre ellos.
- Las diferenciaciones genéticas podrían ser solo en parte una respuesta a las distancias geográficas (índice de correlación $r= 0.85$), el resto de la diferenciación podría estar relacionado a otros factores como refugios del pleistoceno, diferenciación en la topografía que daría como resultado una diferenciación en la composición florística de los bosques, en la composición de los dispersores y polinizadores.

VI. RECOMENDACIONES

Estos resultados son un avance importante para seguir incentivando los estudios que enfoquen y aclaren muchas interrogantes en esta especie. En función a los resultados presentados se puede definir algunos puntos que pueden ser abordados a futuro:.

- Para futuros trabajos se podrían aumentar el número de muestras (30 individuos) por poblaciones e incluso se podría incluir poblaciones de caoba de otros países como Brasil y Bolivia como grupo externos de las poblaciones de Perú, utilizando los 10 marcadores de microsatélites creados para caoba *Swietenia macrophylla*.
- Realizar investigaciones genéticas de parentesco, que nos ayuden a conocer mucho mejor la estrategia reproductiva de esta especie, así como el área de influencia de los árboles madres en la dispersión de la progenie para estimar con mayor precisión el distanciamiento entre árboles que permitan el intercambio de flujo de genes entre ellos.
- Realizar estudios de comparación de la tasa de crecimiento entre los dos clusters o grupos genéticos encontrados en este estudio, así como de otros caracteres, para saber si existen diferencias morfológicas entre estos dos grupos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alfaro, B.; RG, J.; Ortiz, D. & JA, G. (2010). Plantas melíferas: Melisopalinología. Parte III. Usos de la Biodiversidad. Uso de la flora y fauna silvestre. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, Conabio, SEDUMA. Mérida, Yuc., México, 346-348.

Aguilar, J.; Aguilar, M. (1992). Árboles de la reserva de biosfera Maya, Petén: guía para las especies del parque nacional Tikal. Guatemala, USAC, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Biología, Centro de Estudios Conservacionistas. 272.

Alvarez, E.; García R.; Lara, C.; Martínez- Ramos M. (1996) Demographic and genetic models in conservation biology: applications and perspectives for tropical rain forest tree species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 387–421.

Asuar, L. (2007). Guía práctica sobre la técnica de PCR. *Ecología Molecular*. LE Eguiarte, V. Souza, X. Aguirre (Eds). INECC. México, 517-552.

Araguren, J.; Román, R.; Isea, W.; Villasmil, Y.; Jordana, J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelência para programas de conservación: una revisión. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 13(1): 30-42

Ayala, F.; Kiger, J. 1984. *Genética moderna*. Omega. Barcelona.

Azofeifa, A. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221-242.

Banco Central de Resserva del Perú, Sucursal Iquito. 2017. Caracterización del Departamento de Ucayali. Recuperado de <https://www.bcrp.gob.pe/docs/Sucursales/Iquitos/ucayali-caracterizacion.pdf>

Belkhir, K. ; Borsa, P. ; Chichi, I. ; Raufast, N. & Bonhomme, F. 2004. GENETIX 4.05.2, logiciel sous windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire génome,

populations, interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.

Betancourt, A.; Basse, M.; Moller, K.; Vizcarra, J.; Sterr, A.; Lori, G. & Khosla, P. (1987). Silvicultura especial de árboles maderables tropicales (No. 634.970913 B562). Editorial Científico-Técnica.

Brandan, N.; Aguirre M.; Llanos, I.; Rodriguez, A.; (2011) . Conceptos de Genética. Facultad de medicina-UNNE. Recuperado de <https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/gen07.pdf>

Butcher, J.; Glaubitz and G.F. Moran. (1991). Aplicaciones de los marcadores microsatellites en la domesticación y conservación de árboles forestales. Recursos Genéticos Forestales No. 27. Depósito de documentos de la FAO. Departamento de Montes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 12 p.

Cabrera, I. (2006). Estudio de la composición arbórea, fuente semillera y calidad de la semilla de caoba (*swietenia macrophylla* King.) y Santa María (*Calophyllum brasiliense* var. Reko Stand.) en el Parque Nacional Laguna Lachuá Cobá N. Alta Verapaz. (tesis de grado). Universidad de San Carlos de Guatemala.

Cabrera, J. & Camacho, J. (2002). Fundamentos de genética de poblaciones. Evolución: la base de la biología. España. Proyecto Sur. lo 6. 83-126p.

Cerda, D. (2007). Evaluación de la diversidad genética de poblaciones naturales de *Pinus tecunumanii* Eguiluz & JP Perry de Nicaragua mediante el uso de marcadores RAPDs (Doctoral dissertation).

CITES (Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres, SU) Recuperado de <http://www.cites.org/esp/disc/text.shtml>

Contreras, G.; Neyra, J.; Zapata, C.; & Náquira, C. (2005). Comité de población y medio ambiente – Notas demográficas y de salud ambiental Recuperado de http://www.acadnacmedicina.org.pe/publicaciones/notasdemog/ND_Madre_de_Dios_2005.pdf

Cruz, M. (2003). La caoba, una alternativa para áreas deforestadas de la huasteca potosina. INIFAP - Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Folleto para productores No. 4. 24p

Dayanandan, S.; Dole, J.; Bawa, K. & Kesseli R. (1999). Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Molecular Ecology*, 8, 1585–1592.

Dick, C. (2001). Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. *Proceedings of the Royal Society, London B.*, 268, 2391 – 2397.

Dirección Regional de Salud de Ucayali – DIRESA. (2016). Dirección de Ucayali Dirección de Epidemiología. Análisis situacional de Salud Ucayali – 2016. Información para la Toma de decisiones en Salud. Recuperado de http://www.dge.gob.pe/portal/Asis/indreg/asis_ucayali.pdf

Dirección Regional de Salud - DIRESA (2010). Análisis de la situación de salud de la Región Loreto año 2010. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/documentosdigitales/bvsde/texcom/ASIS-regiones/Loreto/Loreto2010.pdf>

Dirección Regional de comercio Exterior y Turismo Madre de Dios DIRCETUR. Rainforest Alliance. 2014. Guía de recursos turísticos de Madre de Dios. Recuperado de <https://www.rainforest-alliance.org/lang/sites/default/files/publication/pdf/Guia-atractivos-Madre-de-Dios-final-junio-11.pdf>

Dorado, P. (2005). Amplificación de DNA mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). *Dep Bioquímica y Biol Mol*, 1-18.

Doyle, J. & Doyle, J. (1987). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13 – 15.

Eguiarte, L.; Aguirre, E.; Scheinvar, E.; González, A.; Souza, V. (2010). Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas. Laboratorio de Evolución y Experimental, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Autónoma de México. 30p.

Ennos, R. (1994). Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity* 72, 250 – 259.

Evanno, G.; Regnault, S. & Goudet J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure. A simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620.

Ferreira, M. & Grattapaglia, D. (1998). Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. 1 ed. Brasilia, BR. 220 p

Finegan, B. (1996). Pattern and process in neotropical secondary rain forests: the first 100 years of succession. *Trends in ecology & evolution*, 11(3), 119-124.

Frankham R.; Ballou J. & Briscoe D.A. (2002). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.

Futuyma, D. (1986). *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 223-231 pp

Galtier, N.; Depaulis, F.; Barton, N. (2000). Detecting bottlenecks and selective sweeps from DNA sequence polymorphism. *Genetics*, 155: 981-987

Gazel, C. (1999). Variabilité génétique de formes cavernicoles et épigees de *Trichomycterus* (Teleostei, Siluriformes) de la région de Torotoro (Potosí-Bolivia). Effect de l' habitat sur la structuration génétique des populations. Université de Provence Aix-Marseille I.

Gillies, A. C. M., Navarro, C., Lowe, A. J., Newton, A. C., Hernandez, M., Wilson, J., & Cornelius, J. P. (1999). Genetic diversity in Mesoamerican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*), assessed using RAPDs. *Heredity*, 83(6), 722-732.

Gobierno Regional Madre de Dios GOREMAD. (2008). Plan estratégico regional del sector agrario Madre de Dios 2008-2015. Oficina de planificación agrarian. 214p. Recuperado de http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/conocenos/transparencia/planes_estrategicos_regionales/madrededios.pdf

Godt, M. & Hamrick, J. (1998). Allozyme diversity in the endangered pitcher plant *Sarracenia rubra ssp. alabamensis* (Sarraceniaceae) and its close relative *S. rubra ssp. rubra*. *American Journal of Botany*. Bd. 85, 802–810

Grogan, J. (2001) Bigleaf mahogany (*Swietenia macrophylla* King) in southeast Pará, Brazil. A life history study with management guidelines for sustained production from natural forests. PhD Thesis, Yale University School of Forestry & Environmental Studies, New Haven, CT, USA.

Gullison, R.; Panfil S.; Strouse, J. & Hubbell, S.P. (1996) Ecology and management of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) in the Chimanes Forest, Beni, Bolivia. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122, 9–34.

Hartl, D. & Clark, A. 1997. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachussets, USA. 683 p.

Hedrick, P. (2001). Conservation genetics: where are we now. *Trends in Ecology and Evolution* 16, 629-636

Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. (2006). Estrategia nacional de la diversidad biológica de Madre de Dios. BIODAMAZ. Recuperado de <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/PUBL541.pdf>

Instituto Nacional de Salud – INS. (2010). Glosario hablado de terminus genéticos. Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano. Recuperado de <http://www.genome.gov/glossaryS/?id=4>

Karp, A.; Isaac P. & Ingram D. (2001). Molecular tools for screening biodiversity. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 389-393p.

Karp, A.; Kresovich, S.; Bhat, K.; Ayad, W.; Hodgkin, T. (1997). Molecular tools in plant genetic resources: A guide to the technologies. IPGRI. Rome-Italy

Lamb, F. (1966). Mahogany of tropical America: its ecology and management. Ann Arbor, Michigan, Estados Unidos, University of Michigan Press.

Lemes M; Brondani R. & Grattapaglia D. (2002) Multiplexed systems of microsatellite markers for genetic analysis in mahogany, *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae), a threatened Neotropical timber species. Journal of Heredity, 93, 287–290.

Lemes, M.; Gribel, R.; Proctor, J. & Grattapaglia D. (2003). Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* king, meliaceae) across the Brazilian Amaton, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. Molecular Ecology, 12.

Lemes M. (2000) Population genetic structure and mating system of *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae) in the Brazilian Amazon: Implications for conservation. Reino Unido, tesis doctoral. Universidad de Stirling.

Lombardi, I.; Cuba, K. & Huerta, P. (2013). Las poblaciones de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en el Perú (No. 634.97377 L842). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Perú).

Lombardi, I.; Barrena, V.; Huerta, P. & Garnica, C. 2009. Propuesta para la recuperación de las poblaciones de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en el Perú. Lima, PE. 23 p.

López, R.; Cano, H.; Chassin, O.; Oyama, K.; Vázquez, G. & Zavala, M. (2013). Diversidad genética y estructura de poblaciones de pavos domésticos mexicanos. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 4(4), 417-434.

- Lowe, A.; Jourde, B.; Breyne, P.; Colpaert, N.; Navarro, C.; Wilson J. & Cavers, S. (2003) Fine-scale genetic structure and gene flow within Costa Rican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*). *Heredity*, 90, 268–275.
- Maluanda, J.; Araquistain, R.; Jensen, N.; Nilsson, M. & Púrez, D. (2002). Guía de especies forestales de Nicaragua. Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales, Managua (Nicaragua) Instituto Nacional Forestal, Managua (Nicaragua).
- Maniatis, T.; Fritsch, E.; Sambrook, A. (1989). *Molecular cloning a laboratory manual*. Cold spring harbor laboratory. Second Edition. New York. 6-60 pp.
- Maslin, M. & Burns S. (2000) Reconstruction of the Amazon basin effective moisture availability over the past 14,000 years. *Science*, 290, 2285–2287.
- Medinilla-Sánchez, O. (1999). Estudio florístico de los bosques con dominancia de especies del género *Pinus* en la microcuenca del río Colorado, Río Hondo, Zacapa (Doctoral dissertation, Tesis de licenciatura. Universidad san Carlos de Guatemala. Guatemala).
- Morris, M.; Negreros-Castillo, P.; Mize, C. (2000). Sowing date, shade and irrigation affect big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla* King). *Forest Ecology and Management*. 132 (2), 173-181.
- Moya García, X. (2002). Comunicación para el Desarrollo Endógeno. *LEISA Revista Agroecología* 18(2): 7-8. Información y comunicación rural. Recuperado de <http://www.leisa-al.org/web/images/stories/revistapdf/vol18n2.pdf>
- Navarro, M. (2011). La caoba. Más de un siglo de aprovechamiento. En: Pozo, C., N. Armijo C. y S. Calmé. *Riqueza Biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación*. Capítulo 4. En busca del equilibrio/Uso, manejo y conservación de especies nativas. CONABIO/ECOSUR/Gob. Q. Roo/PNUD. México. pp. 212-220.
- Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583 - 590.

Novick, R., Dick, C.; Lemes, M., Navarro, C.; Caccone, A. & Bermingham, E. (2003). Genetic structure of Mesoamerican populations of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 12, in press.

Page, R. (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.

Palacios, N.; Burtin, D. & Leech, M. (2004). Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia ejemplo práctico en plantas colombianas de interés medicinal. *Revista Colombiana de Biotecnología*; Vol. 6, núm. 2 (2004); 67-77 1909-8758 0123-3475.

Paraguirre, L. (1994). Germinación de las semillas de trece especies forestales comerciales de Quintana Roo. En: Snook L K., y A. Barrera (Eds.). *Madera, chicle, caza, milpa. Contribución al manejo integral de las selvas de Quintana Roo, México. PROAF/INIFAP/USAID/WWF-US. México.* 67-80.

Pennington, T. (1981). A monograph of the neotropical Meliaceae. *Flora Neotropica*. New York. The New York Botanical Gardens. 360–390.

Pennington T. & Styles, B. (1981). *Flora Neotrópica. Monograph 28. Meliaceae. The New York Botanical Garden. New York.* 470 pp

Phillip, D.; Krueger, C.; Thorgaard, G.; Watiendorf, R. & Claussen, J. (1986). Fisheries genetics: Where should we be going. *Fisheries*. 11(3), 14-17.

Prance, G. (1973). Phytogeographic support for theory of Pleistocene forest refuges in the Amazon basin, based on evidence from distribution patterns in Caryocaraceae, Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae and Lecythydaceae. Instituto nacional de Pesquisas da Amazonia, and B.A Krukoff Curator of Amazonian Botany, The New York Garden.

Programa de Desarrollo Integrado de las Comunidades Fronterizas Peruano-Brasileñas. 1992. Cooperación Mixta de Cooperación Amazónica, Diagnóstico Regional Integrado. Washington, D.C., 1992. Recuperado de <http://www.oas.org/usde/publications/Unit/oea09s/begin.htm>

Pritchard, J.; Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Reynel, C.; Pennington, R.; Pennington, T.; Flores, C. & Daza, A. (2003). Árboles útiles de la Amazonía peruana y sus usos, un manual con apuntes de identificación ecología y propagación de las especies. Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria-La-Molina, Royal Botanic Gardens Kew, Royal Botanic Gardens Edinburgh e ICRAF. 537.

Riesberg, L. y Burke, J. (2001). The biological reality of species: gene flow, selection and collective evolution. *Taxon* 50:235-255.

Roncal, J.; Couderc, M.; Baby, P.; Kahn, F.; Millán, B.; Meerow, A. & Pintaud J. (2015). Palm diversification in two geologically contrasting regions of western Amazonia. *Journal of Biogeography*.

Rosero, J., (2009). Dendrochronology of the mahogany trees, *Swietenia macrophylla* King., Meliaceae, occurring in the Amazon Rainforest of the Department of Madre de Dios, Peru. (Tesis de Magister Scientiae). Universidade de Sao Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”. 130p.

Shoda, E. (2007). Genetic differentiation of the pine wilt disease vector *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) over a mountain range – revealed from microsatellite DNA markers. *Bulletin of Entomological Research*. 97, 167-174.

Slatkin, M. (1994). Gene Flow and Population structure. In: Real, L., Ed. *Ecological Genetics*, Princeton University Press. 3-17.

Slatkin, M. (1985). Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39: 12
Sunnucks, Paul. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *TREE*, 15(5): 199-203

Snook, L.K. (1993). Stand dynamics of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) and associates species after fire and hurricane in the tropical forest of the Yucatan Peninsula, Mexico. PhD Dissertation, Yale University. 271

Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *TREE* 15(5), 199-203.

Symula, R.; Schulte, R. & Summers, K. (2003). Molecular systematics and phylogeography of Amazonian poison frogs of the genus *Dendrobates*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26,452-475.

Styles, B. (1981). Swietenioideae. In: *Meliaceae. Flora neotropica monograph*. Pennington, T. D. Styles, B. T. y Taylor, D. A. H. (eds.). New York Botanical Garden. New York. USA. 28: 359–418.

Style, B.; Khosla, P. (1976). Cytology and reproductive biology of *Meliaceae*. *Tropical trees: variation, breeding and conservation*. Linnean Society Symposium, Series (2), 61-68.

Piñero, D.; Barahona, A.; Eguiarte, L.; Rocha, A. & Salas R. (2008). Variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en capital natural de México. CONABIO, México. 415-435p.

Plan de desarrollo regional concertado de Madre de Dios 2014-2021. Recueprado de <http://www.regionmadrededios.gob.pe/portal/archivos/comunicados/PDRC-MDD.pdf>

Timothy, J. & Synnott. (2009). La caoba en la península de Yucatán: ecología y regeneración. *Colección corredor biológico Mesoamericano México*. 158.

Trujillo, J.; Delgado, P.; Ramirez, I.; Rebolledo, V. & Perez N. (2013). Variación genética en poblaciones mexicanas de *Swietenia macrophylla* King, una especie tropical en expansión geográfica reciente. *Botanical Sciences* 91(3), 307-317.

Voet, D; Voet, J. & Pratt, C. (2009). Fundamentos de bioquímica: La vida a nivel molecular. Segunda edición. Buenos Aires, Argentina, Médica Panamericana.

Weir, B.S. & Cockerham, C.C. (1984). Estimating f-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358–1370.

Weir, B. (1991). Genetic data analysis. Sinauer, Sunderland, MA.

White, G.; Boshier, D. & Powell W. (1999). Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology*, 8, 1899–1909.

White, G.; Boshier, D. & Powell, W. (2002). Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 2038–2042.

Whitmore, T. (1996). A review of some aspects of tropical rain forest seedling ecology with suggestions for further enquiry. En: Swaine, M. D. (Ed.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*. UNESCO and the Parthenon Publishing Group. Man and the Biosphere Series. 17, 3-39.

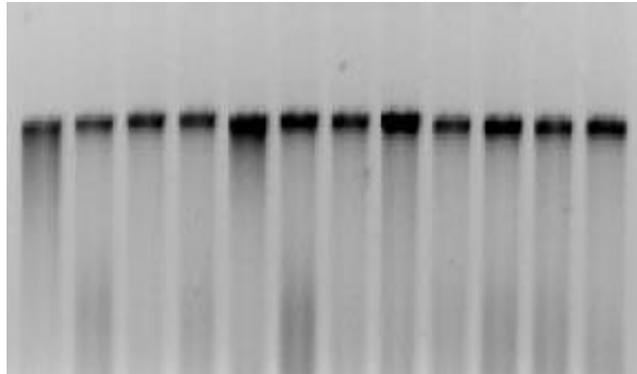
Whitmore, T.& Prance, G.T. (1987). *Biogeography and Quaternary History in Tropical America*. Oxford Science Publications, Clarendon Press, Oxford.

Wright, S. (1969). *Evolution and Genetics of Populations*, vol.2, The theory of gene frequencies. University of Chicago Press, Chicago.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: ELECTROFORESIS DE LA EXTRACCIÓN DE ADN DE LA CAOBA

Swietenia macrophylla King.



Electroforesis en gel de agarosa al 0,8% mostrando las bandas de ADN total extraído del tejido foliar y/o cambium de individuos de *Swietenia macrophylla* “caoba” de la Amazonía peruana.

ANEXO 2: AMPLIFICACIÓN DEL ADN DE LA CAOBA *Swietenia macrophylla* VÍA PCR



Termociclador Eppendorf utilizado para la PCR

ANEXO 3: CANTIDAD DE REACTIVOS EMPLEADOS EN LA LECTURA DE LAS REGIONES MICROSATÉLITES DE LA CAOBA *Swietenia macrophylla* EN EL ANALIZADOR GENÉTICO (Applied Biosystem 3130 XL)

Reactivos	Cantidad(μl)
Formamida	8.6
ROX	0.4
Productos de PCR	1.0
Total	10

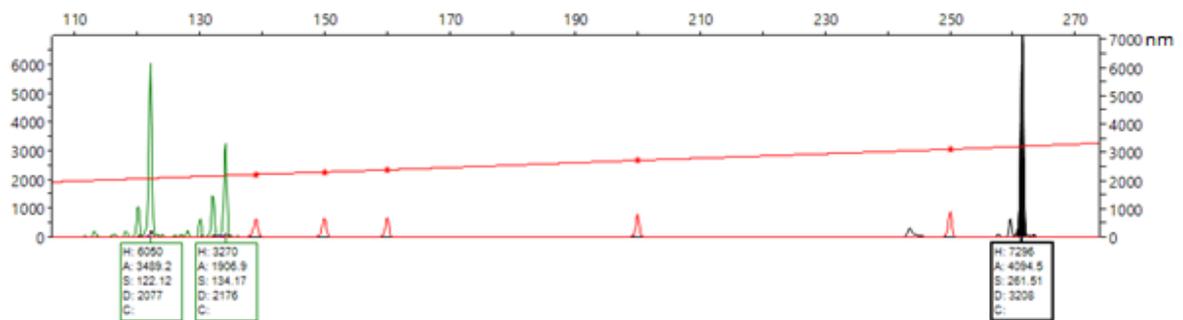


Analizador genético (Applied Biosystems 3130XL)

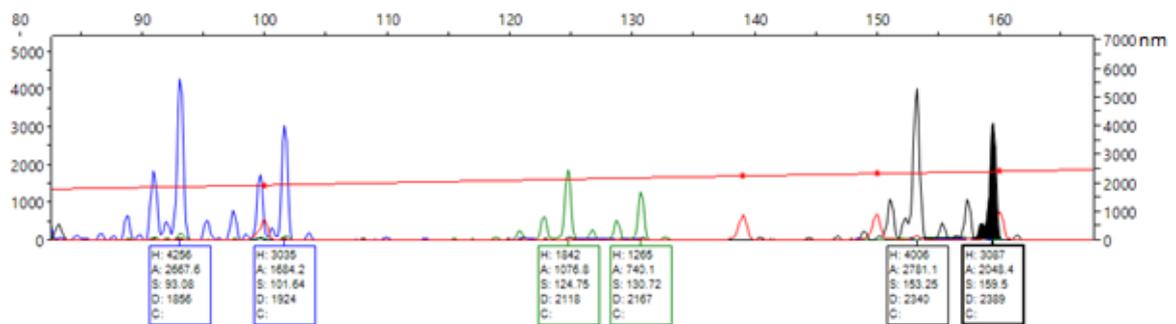
ANEXO 4: ELECTROFOTOGRAMA CON LOS FRAGMENTOS DE ADN MICROSATELITES

Electroferograma mostrando los picos con los fragmentos de ADN microsatélites obtenidos en el analizador genético (Applied Biosystems 3130 XL) para la caoba *Swietenia macrophylla*.

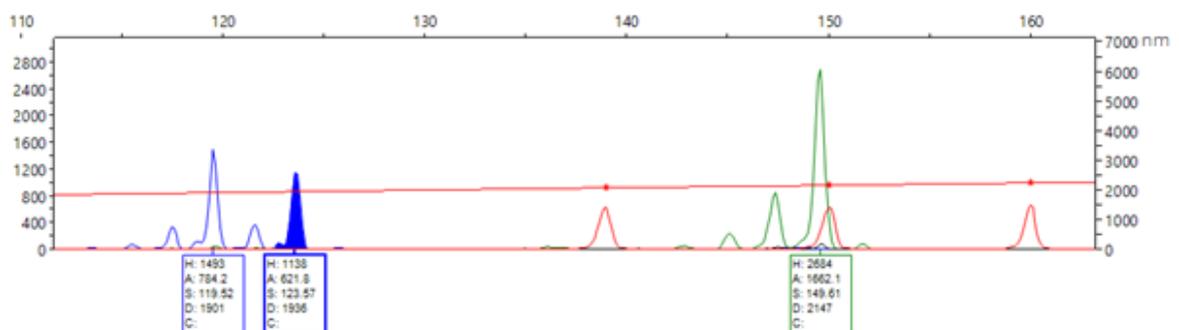
PANEL 1 (Duplex)



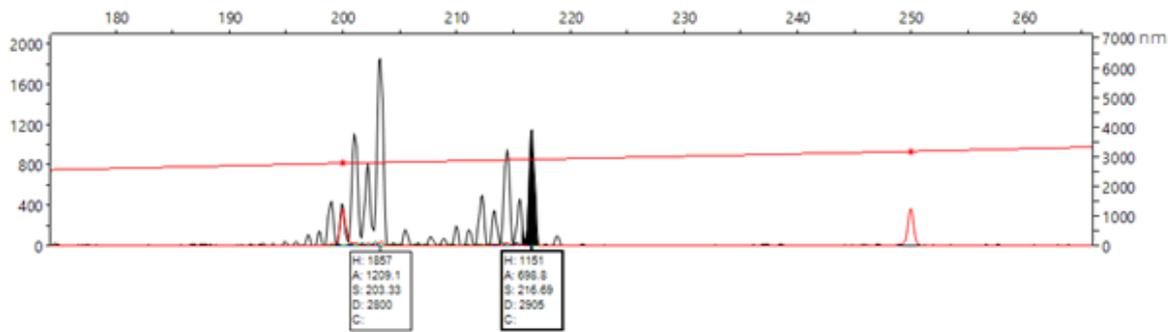
PANEL 2 (Triplex)



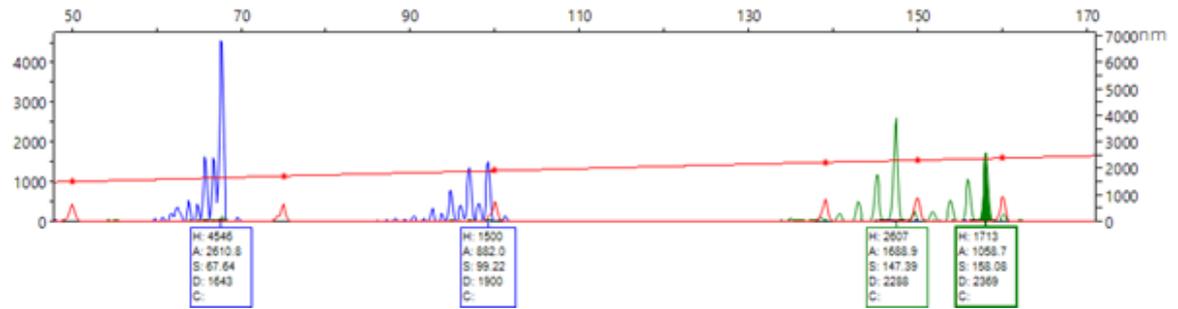
PANEL 3 (Duplex)



PANEL 3N (Monoplex)



PANEL 4 (Duplex)



ANEXO 5: LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AFC: Análisis Factorial de Correspondencia.

F_{st} : Diferenciación entre poblaciones.

dNTP`s: Desoxinucleótidos trifosfatos.

EDTA: Ácido Etileno Diamino Tetra acético.

MgCl₂: Cloruro de Magnesio.

NaCl: Cloruro de Sodio.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Pb: Pares de bases

pH: Potencial de Hidrogeno.

TBE: Tris Borato EDTA.

Tris Base: Tris Hidroximetil Amino Metano.

Vis/UV: Luz ultravioleta visible

CTAB: Bromuro de Cetil Trimetil Amonio

H₂O mili-Q: Agua ultrapura: destilada, ultrafiltrada, autoclavada.

Taq: *Thermus aquaticus* Enzima termoestable.

FC: Factor de Correspondencia

SSR: Secuencias Simples Repetidas

**ANEXO 6: FRECUENCIA ALELICA ENCONTRADA EN 10 LOCI
MICROSATÉLITES DE CAOBA *Swietenia macrophylla* PROVENIENTES DE LA
AMAZONÍA PERUANA**

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 01	261	0,8281	0,7903	0,8600	0,8667	0,4483	0,6957
	263	0,0313	0,0000	0,0200	0,0167	0,0345	0,0000
	265	0,0000	0,0161	0,0200	0,0333	0,0000	0,0000
	267	0,0000	0,0323	0,0000	0,00000	0,0000	0,0000
	273	0,0313	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0217
	275	0,0469	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	279	0,0156	0,0323	0,0600	0,0333	0,0690	0,0000
	281	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0172	0,0000
	283	0,0156	0,1129	0,0000	0,0500	0,3448	0,2174
	285	0,0313	0,0161	0,0000	0,0000	0,0862	0,0652
287	0,0000	0,0000	0,0000	0,0400	0,0000	0,0000	0,0000

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 22	120	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
	122	0,0625	0,0161	0,0800	0,0167	0,0000	0,0000
	132	0,0938	0,0645	0,0800	0,0833	0,0517	0,0000
	134	0,4688	0,4677	0,3600	0,6333	0,7069	0,4348
	136	0,1406	0,0968	0,2000	0,0667	0,1034	0,1304
	138	0,0313	0,1613	0,1000	0,0500	0,0862	0,2174
	140	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	142	0,0156	0,0000	0,0400	0,0167	0,0517	0,1957
	144	0,0469	0,0000	0,0200	0,0333	0,0000	0,0000
	146	0,0938	0,1129	0,0800	0,0500	0,0000	0,0000
	148	0,0000	0,0645	0,0200	0,0333	0,0000	0,0000
	150	0,0156	0,0161	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	158	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

<i>LOCUS</i>	<i>ALELO</i>	<i>IÑAPARI</i>	<i>BREU</i>	<i>PUERTO ESPERANZA</i>	<i>OTORONGO</i>	<i>YURIMAGUAS</i>	<i>PITHECIA</i>
<i>SM 31</i>	100	0,0156	0,0161	0,0800	0,0167	0,0000	0,0000
	102	0,0156	0,0161	0,0600	0,0000	0,0345	0,0000
	104	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0217
	106	0,0000	0,0000	0,0600	0,0167	0,0345	0,0217
	108	0,2031	0,1613	0,0800	0,1500	0,1552	0,0870
	110	0,1719	0,1129	0,1200	0,1833	0,1552	0,1087
	112	0,0938	0,0968	0,0400	0,0167	0,0172	0,0435
	114	0,0313	0,0968	0,0800	0,0667	0,1379	0,2609
	116	0,0156	0,1290	0,0000	0,0000	0,0690	0,0870
	118	0,0781	0,0968	0,1000	0,1333	0,0345	0,0652
	120	0,0000	0,0323	0,0200	0,0667	0,0690	0,0000
	122	0,0469	0,0161	0,0000	0,0500	0,0862	0,0217
	124	0,0313	0,0000	0,0200	0,0500	0,0172	0,0870
	126	0,0000	0,0000	0,0200	0,0333	0,0172	0,0217
	132	0,0000	0,0161	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
	136	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0690	0,0000
	138	0,1563	0,1290	0,1400	0,1500	0,0690	0,1087
	140	0,0469	0,0484	0,1200	0,0167	0,0000	0,0217
	142	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	144	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0345	0,0000
146	0,0469	0,0161	0,0000	0,0000	0,0000	0,0217	
148	0,0313	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
150	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000	
152	0,0156	0,0161	0,0200	0,0333	0,0000	0,0217	

<i>LOCUS</i>	<i>ALELO</i>	<i>IÑAPARI</i>	<i>BREU</i>	<i>PUERTO ESPERANZA</i>	<i>OTORONGO</i>	<i>YURIMAGUAS</i>	<i>PITHECIA</i>
<i>SM 32</i>	146	0,0156	0,0000	0,0000	0,0333	0,0000	0,0217
	150	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	152	0,1250	0,0161	0,1200	0,0333	0,0517	0,0435
	154	0,2969	0,4194	0,4000	0,4833	0,6552	0,6957
	156	0,0781	0,0000	0,0600	0,1000	0,0000	0,0000
	158	0,2031	0,2258	0,0200	0,0500	0,0000	0,0217
	160	0,1406	0,1129	0,1000	0,1000	0,1207	0,0217
	162	0,0156	0,1613	0,0600	0,0333	0,1724	0,0652
	164	0,0469	0,0484	0,1200	0,0500	0,0000	0,0217
	166	0,0469	0,0000	0,0400	0,0333	0,0000	0,1087
	168	0,0156	0,0161	0,0800	0,0667	0,0000	0,0000
	172	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 40	117	0,0000	0,0161	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
	119	0,0000	0,0161	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	121	0,0000	0,0484	0,0000	0,0000	0,0172	0,0000
	123	0,0000	0,0161	0,0200	0,0000	0,1897	0,1957
	125	0,0625	0,0161	0,0200	0,0167	0,0345	0,0000
	127	0,3438	0,3548	0,3800	0,3333	0,0517	0,1304
	129	0,2188	0,0968	0,1200	0,3000	0,1207	0,2391
	131	0,2656	0,1774	0,1600	0,2500	0,1034	0,0870
	133	0,0156	0,0000	0,1400	0,0667	0,0000	0,0000
	135	0,0938	0,2581	0,1200	0,0000	0,4310	0,3261
	137	0,0000	0,0000	0,0200	0,0333	0,0517	0,0000
	139	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0217

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 45	139	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	141	0,0156	0,0000	0,0000	0,0333	0,0000	0,0217
	143	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	145	0,0938	0,0161	0,0800	0,0167	0,0000	0,0435
	147	0,1719	0,2097	0,4000	0,0167	0,1207	0,0435
	149	0,3438	0,2419	0,1000	0,5500	0,5862	0,6522
	151	0,0781	0,2097	0,0200	0,0500	0,0000	0,0217
	153	0,0469	0,0645	0,0000	0,0333	0,0345	0,0000
	155	0,0938	0,0645	0,1200	0,1167	0,0862	0,0217
	157	0,0313	0,1613	0,0600	0,0333	0,1724	0,0652
	159	0,0313	0,0161	0,1000	0,0333	0,0000	0,0217
	161	0,0469	0,0000	0,0400	0,0333	0,0000	0,1087
	163	0,0156	0,0161	0,0800	0,0667	0,0000	0,0000
	167	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 46	177	0,0156	0,0167	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	181	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	185	0,0000	0,0167	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	189	0,0313	0,0167	0,0000	0,0500	0,0000	0,0000
	191	0,1250	0,1167	0,0909	0,1667	0,1034	0,0909
	193	0,0156	0,0167	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	195	0,0469	0,0167	0,0455	0,0333	0,0000	0,0455
	197	0,1250	0,1500	0,1364	0,1333	0,0345	0,2273
	199	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	201	0,0313	0,0333	0,0000	0,0833	0,0000	0,0000
	203	0,1406	0,1167	0,1136	0,1333	0,1897	0,1364
	205	0,0156	0,0333	0,0455	0,0667	0,2414	0,1591
	207	0,1250	0,1167	0,1364	0,0167	0,1034	0,0000
	209	0,0938	0,1000	0,0909	0,1167	0,1897	0,0227
	211	0,1250	0,0667	0,1136	0,0167	0,0690	0,0227
	213	0,0625	0,1500	0,0682	0,0333	0,0000	0,1818
	217	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0172	0,0909
	219	0,0156	0,0167	0,0227	0,0667	0,0517	0,0227
221	0,0313	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
223	0,0000	0,0167	0,0909	0,0000	0,0000	0,0000	
227	0,0000	0,0000	0,0455	0,0000	0,0000	0,0000	

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 47	107	0,0000	0,0323	0,0000	0,0000	0,1724	0,1739
	111	0,0469	0,0484	0,1400	0,0333	0,0517	0,0000
	115	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0172	0,0000
	117	0,0781	0,0806	0,0800	0,0333	0,0000	0,0000
	119	0,0469	0,0484	0,0600	0,1667	0,0000	0,0652
	121	0,3281	0,2097	0,1600	0,2667	0,1724	0,0217
	123	0,2500	0,4032	0,2600	0,1500	0,4310	0,5870
	125	0,1250	0,0645	0,1600	0,2167	0,1552	0,1522
	127	0,0781	0,0968	0,1200	0,1000	0,0000	0,0000
	129	0,0000	0,0161	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	131	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	145	0,0313	0,0000	0,0200	0,0167	0,0000	0,0000

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 34	104	0,0000	0,0161	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	106	0,0156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	108	0,7031	0,6774	0,6800	0,7167	0,7241	0,5870
	110	0,1094	0,0484	0,0600	0,1500	0,0000	0,0000
	112	0,0000	0,0000	0,0600	0,0000	0,0862	0,0217
	114	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0217
	116	0,0000	0,0000	0,0200	0,0167	0,0000	0,0652
	118	0,0156	0,0161	0,0200	0,0000	0,0345	0,0000
	120	0,0781	0,1290	0,1400	0,0333	0,0690	0,2174
	122	0,0000	0,0000	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	124	0,0156	0,0161	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	126	0,0313	0,0323	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000
	128	0,0000	0,0484	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	130	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0345	0,0000
	132	0,0156	0,0161	0,0200	0,0167	0,0345	0,0652
134	0,0156	0,0000	0,0000	0,0333	0,0172	0,0217	

LOCUS	ALELO	IÑAPARI	BREU	PUERTO ESPERANZA	OTORONGO	YURIMAGUAS	PITHECIA
SM 51	132	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
	134	0,0781	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	138	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0172	0,0217
	142	0,0156	0,0645	0,0200	0,0833	0,0000	0,0000
	144	0,0000	0,0000	0,0600	0,0000	0,0000	0,0000
	146	0,1094	0,1129	0,0400	0,1167	0,3793	0,1957
	148	0,0313	0,0161	0,0800	0,1000	0,1379	0,1522
	150	0,0781	0,1129	0,1400	0,0333	0,0000	0,0000
	152	0,0469	0,0645	0,0800	0,0167	0,1034	0,1304
	154	0,0781	0,0806	0,1400	0,1000	0,1552	0,0435
	156	0,1719	0,1452	0,0600	0,1833	0,1034	0,1957
	158	0,1406	0,1613	0,0800	0,1000	0,0690	0,2391
	160	0,1250	0,1290	0,0400	0,0333	0,0345	0,0000
	162	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
	164	0,0156	0,0000	0,0800	0,0333	0,0000	0,0000
	166	0,0469	0,0484	0,0400	0,0500	0,0000	0,0000
	168	0,0000	0,0000	0,0400	0,0000	0,0000	0,0000
	170	0,0469	0,0484	0,0200	0,0833	0,0000	0,0217
	172	0,0156	0,0000	0,0400	0,0167	0,0000	0,0000
174	0,0000	0,0161	0,0000	0,0500	0,0000	0,0000	

ANEXO 7: PARAMETROS DE DIVERSIDAD GENÉTICA OBTENIDOS PARA DIEZ MICROSATÉLITES DE CAOBA *Swietenia macrophylla* PROVENIENTES DE SEIS POBLACIONES NATURALES DE LA AMAZONÍA PERUANA

LOCUS

<i>POBLACION</i>		<i>sm 01</i>	<i>SM22</i>	<i>SM31</i>	<i>SM32</i>	<i>SM40</i>	<i>SM45</i>	<i>SM46</i>	<i>SM47</i>	<i>SM34</i>	<i>SM51</i>
<i>IÑAPARI</i>	HE	0,3135	0,7465	0,8934	0,8368	0,7624	0,8343	0,9132	0,809	0,4931	0,9107
	HO	0,3125	0,5625	0,8125	0,6875	0,6563	0,75	0,875	0,75	0,4688	0,9063
	FIS	0,00322	0,2495	0,09183	0,18078	0,14116	0,10253	0,04247	0,07405	0,05005	0,00498
<i>BREU</i>	HE	0,3659	0,7361	0,9096	0,7435	0,7758	0,8318	0,9107	0,78	0,5262	0,9053
	HO	0,3871	0,8387	0,9032	0,7097	0,7742	0,7097	0,9333	0,8065	0,5806	0,871
		-0,05882	-0,14202	0,00709	0,04624	0,00208	0,14894	-0,02525	-0,03448	-0,10542	0,03858
<i>PUERTO ESPERANZA</i>	HE	0,2596	0,8147	0,9298	0,8016	0,7959	0,8033	0,9218	0,8539	0,52	0,9371
	HO	0,28	0,8	0,88	0,72	0,8	0,72	0,9091	0,8	0,52	0,84
		-0,08039	0,0184	0,05461	0,10373	-0,00524	0,10559	0,01408	0,06433	0	0,10559
<i>OTORONGO</i>	HE	0,248	0,5893	0,9011	0,7446	0,7429	0,6819	0,9158	0,8328	0,4684	0,9153
	HO	0,2667	0,5667	0,7667	0,6333	0,8	0,6333	0,9333	0,9667	0,4333	0,7667
		-0,07657	0,03899	0,1514	0,15166	-0,07823	0,07239	-0,01946	-0,16401	0,07598	0,16468
<i>YURIMAGUAS</i>	HE	0,6782	0,4852	0,9165	0,533	0,7592	0,614	0,8542	0,7405	0,4676	0,7992
	HO	0,7241	0,5172	0,931	0,5172	0,7586	0,5172	0,8276	0,6897	0,4828	0,8276
		-0,06909	-0,06734	-0,01613	0,03002	0,00081	0,16	0,0317	0,06977	-0,03294	-0,03624
<i>PITHECIA</i>	HE	0,4744*	0,7237	0,8957	0,5072	0,7903	0,5652	0,871	0,6106	0,6116	0,8415
	HO	0,4348*	0,7391	0,913	0,4783	0,913	0,4783	0,9545	0,5217	0,6087	0,7826
		0,08524	-0,02186	-0,01987	0,05837	-0,15935	0,15679	-0,09838	0,14839	0,00485	0,07151

ANEXO 8: REFUGIOS DEL PLEISTOCENO EN LA AMAZONÍA A PARTIR DE CUATRO FAMILIAS DE PLANTAS PROPUESTO POR PRANCE (1973)

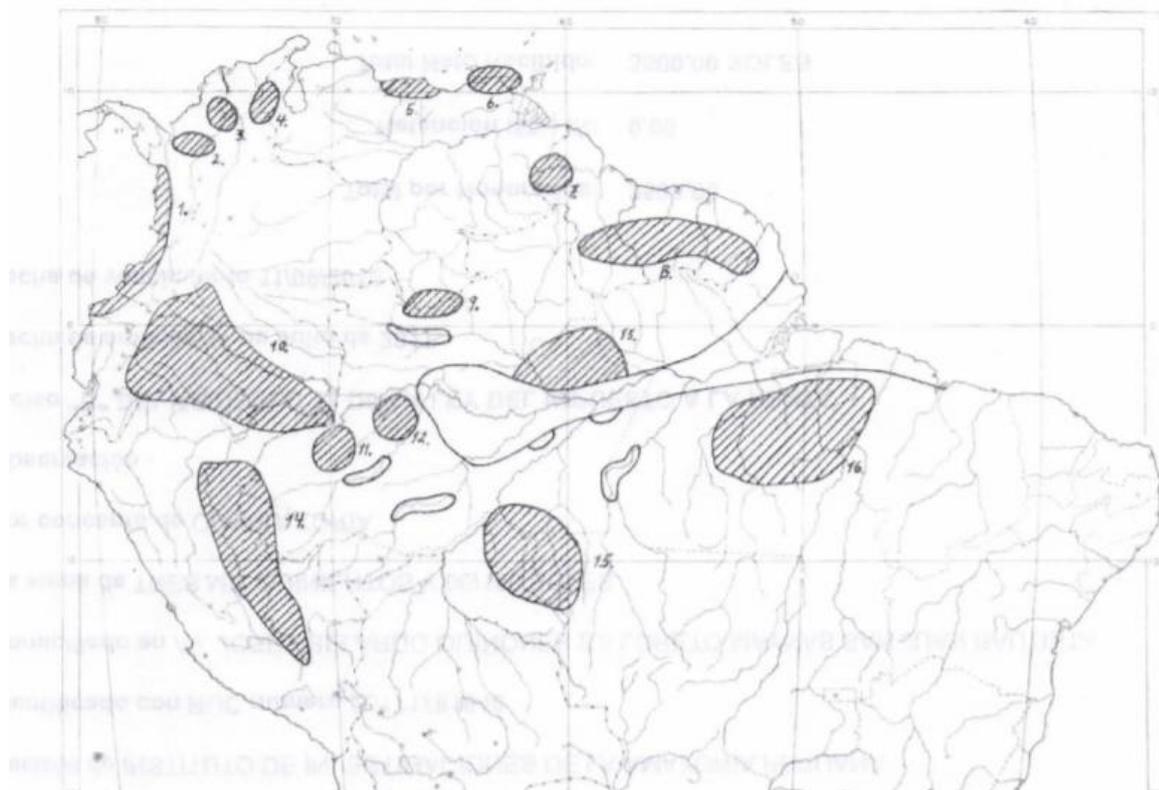


Fig. 24 — Forest refuges proposed in this paper. 1 — Chocó. 2 — Nechi. 3 — Santa Marta. 4 — Catumbo. 5 — Rancho Grande. 6 — Paria. 7 — Imataca. 8 — Guiana. 9 — Imeri. 10 — Napo. 11 — Olivença. 12 — Tefé. 13 — Manaus. 14 — East Peru. 15 — Rondônia-Aripuanã. 16 — Belém-Xingú.