

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**



**CACRACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y  
MOLECULAR DEL GÉNERO *Dipteryx* Schreb.  
en LA AMAZONÍA PERUANA.**

Presentado por:

**David Roy Aldana Gomero**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO FORESTAL

---

Lima - Perú  
2019

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para calificar la sustentación del Trabajo de Tesis, presentado por el ex-alumno de la Facultad de Ciencias Forestales, Bach. **DAVID ROY ALDANA GOMERO**, titulado “CACRACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL GÉNERO DIPTERYX SCHREB. EN LA AMAZONÍA PERUANA.”.

Oídas las respuestas a las observaciones formuladas, lo declaramos:

.....

con el calificativo de .....

En consecuencia queda en condición de ser considerado APTO y recibir el título de INGENIERO FORESTAL.

La Molina, 31 de Mayo de 2018

.....  
Dra. Maria Isabel Manta Nolasco  
Presidente

.....  
Ing. Rosa Maria Hermoza Espezua  
Miembro

.....  
Mg. Sc. Manuel Chavesta Custodio  
Miembro

.....  
PhD. Carlos Reynel Rodriguez  
Asesor

.....  
Dra. Euridice Nora Honorio Coronado  
Coasesor

## *DEDICATORIA*

*No sé cómo expresar el cariño y agradecimiento que siento a mi familia y en especial a mis padres, por su empeño en brindarme su apoyo incondicional para salir adelante, por los sacrificios realizados y ser ejemplos de superación y admiración, por creer en mí en cada momento para verme cumplir mis metas.*

*Este trabajo que me llevó realizarlo más de un año es para ustedes con mucho amor y cariño.*

## AGRADECIMIENTOS

*Quiero expresar mi más sincero agradecimiento 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 la Dra. Carmen Rosa García Dávila, Dra. Eurídice Honorio Coronado, PhD. Carlos Reynel, por la orientación en esta investigación, por todos los conocimientos brindados, por la paciencia, empeño, dedicación y apoyo permanente en la realización de la tesis.*

*A mis amigos por los consejos brindados y la amistad mostrada; Christian, Eduardo, Carlos, Guillain, Rodrigo, Aarón, Jhon, Hugo, Stephanie, Lucero, Mayra, Rossana, María. A todos ellos gracias, por formar una familia de trabajo, por compartir mi estancia en la ciudad de Iquitos, haciéndola más agradable y placentera, no los olvidaré.*

## RESUMEN

*Dipteryx* Scherb. (Fabaceae) es un género neotropical que ocurre en América del Sur, América Central y el Caribe. En el Perú, se reportan seis especies de *Dipteryx* (Macbride 1892, Brako & Zarucchi 1993). La delimitación morfológica de estas especies no es clara, por lo cual, existe una incertidumbre en la determinación de las especies y su rango de distribución geográfico en Perú. En el presente estudio se realizó la caracterización morfológica de 74 especímenes del género *Dipteryx* colectados en los departamentos de Loreto, Ucayali, Huánuco y Madre de Dios utilizando el análisis morfométrico de 22 caracteres vegetativos y la caracterización molecular de 32 de estos especímenes mediante la secuenciación de las regiones del cloroplasto *psbA-trnH* y *matK*. Los resultados muestran que existen tres grupos morfológicos y genéticamente diferenciados: Uno conformado por especímenes de *D. micrantha* morfotipo 1, un segundo grupo conformado por especímenes de *D. micrantha* morfotipo 2 y un tercer grupo formado por especímenes de *D. charapilla*. Los caracteres morfológicos como ancho del foliolo, longitud del foliolo, longitud de raquis y número de foliolos por hoja, ayudaron a discriminar los grupos antes mencionados. Así mismo, el análisis genético indicó que el marcador molecular *psbA-trnH* discrimina mejor a las especies de *Dipteryx*. *D. micrantha* morfotipo 1 está distribuida en los departamentos de Loreto, Ucayali y Madre de Dios; en tanto que *D. micrantha* morfotipo 2 se encuentra distribuida en los departamentos de Ucayali y Loreto, y *D. charapilla* tiene una distribución restringida a dos localidades en el departamento de Loreto (Jenaro Herrera y Puerto Almendras). Así mismo, ponemos en evidencia el erróneo uso del nombre *D. odorata* o *Courouma odorata* para el Perú, probablemente estos nombres son utilizados para referirse a especímenes de *D. charapilla* en los herbarios o a nivel comercial a los dos morfotipos de *D. micrantha*.

**Palabras claves:** *Dipteryx*, Morfología, Shihuahuaco, Análisis de componentes, Secuencia nucleotídica, ADN.

# ÍNDICE GENERAL

	Página
<b>I. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>II. Revisión de Literatura.....</b>	<b>5</b>
<b>1. Contexto.....</b>	<b>5</b>
<b>2. El Género <i>Dipteryx</i>.....</b>	<b>5</b>
2.1. Historia.....	5
2.2. Descripción Botánica .....	6
2.3. Ecología.....	8
2.4. Aprovechamiento Forestal en Perú .....	8
<b>3. Caracterización morfológica.....</b>	<b>9</b>
3.1. Definición. ....	9
3.2. Estudios de caracterización morfológica .....	10
<b>4. Caracterización molecular .....</b>	<b>11</b>
4.1. Marcadores moleculares.....	11
4.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	11
4.3. Barcoding de plantas.....	12
4.4. Regiones Barcoding incluidas.....	12
4.4.1. Gen psbA-trnH.....	12
4.4.2. Gen Mutarsa K - matK .....	13
4.5. Filogenética molecular .....	14
4.6. Estudios moleculares. ....	15
4.7. Relación entre la genética y la morfología .....	15
<b>III. Materiales y Métodos .....</b>	<b>17</b>
<b>1. Lugares de muestreo .....</b>	<b>17</b>
<b>2. Recopilación de material biológico.....</b>	<b>17</b>
<b>3. Determinación de especímenes botánicos.....</b>	<b>18</b>
<b>4. Caracteres morfológicos evaluados. ....</b>	<b>22</b>
<b>5. Extracción de ADN y obtención de secuencias. ....</b>	<b>24</b>
5.1. Extracción de ADN .....	24
5.2. Verificación de la extracción.....	25
5.3. Reacción de amplificación y Secuenciamiento .....	25
<b>6. Procesamiento de los datos. ....</b>	<b>28</b>
6.1. Para la caracterización morfológica. ....	28
6.1.1. Transformación de datos morfológicos.....	28
6.1.2. Análisis Multivariado .....	28
6.2. Para la Caracterización molecular.....	29
6.2.1. Edición y Alineamiento de las secuencias.....	29
6.2.2. Análisis de polimorfismo del ADN y determinación de haplotipos.....	29
6.2.3. Determinación de los modelos de evolución molecular y divergencia genética.....	30
6.2.4. Análisis filogenético.....	30
<b>IV. Resultados y discusión.....</b>	<b>31</b>
<b>1. Caracterización morfológica.....</b>	<b>31</b>
1.1. Análisis de agrupamiento .....	31
1.2. Análisis de ordenación.....	31
1.3. Análisis discriminante .....	33
1.4. Análisis de similitud .....	34

1.5.	Distribución morfológica.....	36
<b>2.</b>	<b>Caracterización molecular.....</b>	<b>38</b>
2.1.	Polimorfismo del ADN.....	38
2.2.	Variabilidad genética del gen psbA-trnH + matK.....	39
2.2.1.	Proporción de haplotipos.....	39
2.2.2.	Relación filogenética.....	39
2.2.3.	Distancia genética intra e interespecíficas.....	40
2.3.	Distribución molecular.....	41
<b>3.</b>	<b>Discusiones.....</b>	<b>43</b>
3.1.	De los resultados morfométricos.....	43
3.2.	De los resultados moleculares.....	45
<b>V.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>49</b>
<b>VI.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>51</b>
<b>VII.</b>	<b>Referencias bibliográficas.....</b>	<b>53</b>
<b>VIII.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>63</b>

## Índice de tablas

	Página
Tabla 1: Lugares de muestreo del género <i>Dipteryx</i> en la Amazonía peruana.....	19
Tabla 2: Características morfológicas evaluadas.....	23
Tabla 3: Secuencias de los primers usados en el género <i>Dipteryx</i> Schreb.....	26
Tabla 4: Resultados de los cuatro primeros componentes del análisis de ordenación de 61 especímenes de <i>Dipteryx</i> en la Amazonia peruana, considerando 22 caracteres.....	33
Tabla 5: Resultados de ANOSIM y NPMANOVA probando la consistencia de los grupos de <i>Dipteryx</i> en la Amazonía Peruana.....	35
Tabla 6: Comparación morfológica de las especies de <i>Dipteryx</i> presentes en la Amazonía Peruana.....	35
Tabla 7: Parámetros genéticos para los marcadores moleculares matK y psbA- trnH de las especies estudiadas del género.....	38
Tabla 8: Proporción de haplotipos del gen psbA-trnH+matK de todos los individuos analizados.....	39
Tabla 9: Distancia genética intraespecífica e interespecífica de los grupos de <i>Dipteryx</i> con bootstrap de 100 repeticiones del gen psbA-trnH + matK.....	40

## Índice de figuras

	Página
Figura 1: Distribución global del género <i>Dipteryx</i> .....	7
Figura 2: Mapa de ubicación de las 74 muestras botánicas del género <i>Dipteryx</i> obtenidas para este estudio. ....	21
Figura 3: Ejemplo de las características morfológicas cuantitativas de los foliolos tomados a los especímenes de <i>Dipteryx</i> . ....	22
Figura 4: Esquema metodológico de la caracterización molecular .....	24
Figura 5: Análisis de agrupamiento UPGMA y ordenación PCA de 61 especímenes de <i>Dipteryx</i> . ....	32
Figura 6: Gráfico de dispersión que muestra los dos primeros ejes del Análisis Discriminante (LDA) basado en 22 medidas morfológicas cuantitativas de especies de <i>Dipteryx</i> .....	34
Figura 7: Morfología y distribución geográfica de las especies de <i>Dipteryx</i> en Perú. ....	37
Figura 8: Árbol filogenético de Máximo likelihood con modelo T92 y bootstrap de 100 repeticiones del gen psbA-trnH+matK. ....	40
Figura 9: Red de Haplotipos psbA-trnH+matK y su distribución en la Amazonia Peruana.....	42

## *Índice de anexos*

	Página
Anexo 1 Herbarios.....	63
Anexo 2 Matriz de correlación de los 24 caracteres morfológicos.....	64
Anexo 3 Matriz correlaciones de los componentes principales con los caracteres morfológicos.....	65
Anexo 4 Matriz de varianzas de los ejes con los caracteres morfológicos del análisis discriminante. ....	66
Anexo 5 Matriz de corrección de escímenes con el análisis discriminante.....	67
Anexo 6 Muestras analizadas. ....	68
Anexo 7 Haplotipos de los genes MATK Y PSBA-TRNH.....	76

## I. INTRODUCCIÓN

El género *Dipteryx* pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Papilionideae y a la tribu Dipterygeae junto a *Pterodon*, *Taralea*. *Dipteryx* presenta doce especies de madera dura que se encuentran distribuidas en América del Sur, América Central, siendo Brasil el país que presenta mayor número de especies de este género (Figura 1).

Las especies de *Dipteryx* en Perú son principalmente apreciadas como madera en la industria forestal debido a su dureza, ideal para pisos y aplicaciones externas (Reynel et al. 2003). Los registros reportados en *Peru Forestal en Numeros* se hay extraido mas de 900 mil metros cúbicos de madera rolliza de *Dipteryx* en el periodo 2010–2015, con una creciente demanda de exportaciones principalmente a China (Putzel et al. 2010). Para la mayoría de especies maderables en Perú, monitorear la extraccion y asegurar el manejo sostenible de las especies forestales es un desafio. Un factor limitante para el manejo sostenible del genero *Dipteryx* en Perú es la presencia de especies con delimitación morfológica poco clara y muchas veces con sobreposición de caracteres sinópticos (diferenciales). Hasta el momento a existido un solo intento de actualización de la situación taxonómica de las especies (de Lima, 1989) desde la ultima revisión del género realizada en 1949 por Ducke. Esta falta de información taxonómica significa que los rangos de distribución de las especies no estan claros, la abundancia y ecología no pueden ser fácilmente evaluadas, por lo que es difícil diseñar estrategias de manejo viables y efectivas. Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar el conocimiento de la taxonomía y distribución de las especies de *Dipteryx* en el Perú.

La primera vez que se describió el género *Dipteryx* fue en 1775 por Fusée Aublet, quien la describió bajo el nombre de *Coumarouna*; años después se nombró *Dipteryx* por el botánico Johan C.D. Schreber (Francisco 2010). El género *Dipteryx* se asemeja vegetativamente con *Taralea*, ya que tienen hojas gruesas y raquis alado, y con otros géneros y especies como *Apuleia* por el fuste y con *Geofroea inermis* por sus frutos.

En el Perú, se ha registrado la presencia de al menos seis especies de *Dipteryx*, cuatro especies citadas en Flora del Perú bajo el genero *Coumarouna* Aublet que actualmente es

sinónimo de *Dipteryx* (McBride 1943): *D. micrantha* Harms, *D. charapilla* (J.F Macbr.), *D. ferrea* (Ducke) Ducke y *D. odorata* (Aubl.)Willd, y estudios posteriores han reportado a dos especies adicionales: *Dipteryx alata* Vogel (Brako y zarucchi 1993, Vásquez 1997, Montegaudo & Huamán 2010, Montegaudo et al. 2015), y *Dipteryx rosea* Spruce ex Benth. (de Lima 1989, Brako y Zarucchi 1993). Los registros de herbarios muestran que la mayoría de estas especies se encuentran en Loreto (Spichiger et al. 1989, Brako y Zarucchi 1993, Vásquez 1997). Sin embargo, en campo aparentemente no es fácil determinar estas especies, por lo que la comercialización y exportación de la madera se lleva a cabo bajo el nombre de Coumarouna odorata o *Dipteryx* spp (Shihuahuco, cumarú o *charapilla*).

Las descripciones botánicas e identificaciones se basan tradicionalmente en los caracteres morfológicos de las especies, sin embargo, no siempre estos caracteres pueden establecer los límites taxonómicos de las especies de un género. Por esta razón a partir de 1990 la literatura registra la incorporación de la morfometría foliar en las plantas, la cual utiliza los análisis multivariados para ayudar a la delimitación de las especies (Marcus 1990). Las técnicas multivariadas son útiles en la taxonomía debido a que permiten comparar muestras de organismos provenientes de diferentes localidades o de lo que se cree taxones diferentes o iguales (Borazan y Babac 2003). Esta herramienta ha sido usada satisfactoriamente para determinar los caracteres discriminantes de las variedades de *Hymenaea courbaril* (Souza et al. 2014), y de las especies de los géneros *Quercus* (Martínez-Cabrera et al. 2011) e *Indigofera* (Soladoye et al. 2010).

Además, a partir del año 2003, se dio a conocer una nueva herramienta de identificación de especies basada en secuencias nucleotídicas, utilizadas como código de barras para plantas, que sirve para identificar especies sin la necesidad de contar con muchos caracteres visibles (Ferreira y Grattapaglia 1998, Hebert 2003). Estas herramientas cuando se utilizan en forma combinada pueden ser de gran ayuda, más aún cuando se utilizan para la verificación de especies y para explicar confiablemente las relaciones genéricas y supragenéricas.

El objetivo del presente estudio es contribuir al conocimiento taxonómico, dendrológico y genético del género *Dipteryx* Scherber. en la Amazonía peruana. Para esto se colectó material biológico de árboles provenientes de bosque naturales y se recopiló especímenes de herbarios con el fin de contestar las siguientes preguntas: (1) ¿Cuáles son los caracteres morfológicos que diferencian las especies de *Dipteryx* en el Perú?, (2) ¿Se logran diferenciar los grupos morfológicos mediante la aplicación de marcadores moleculares de los genes

cloroplásticos Mutarsa k (*matK*) y *psbA-trnH*?, (3) ¿Cuál es la distribución geográfica de las especies de *Dipteryx* caracterizadas morfológica y molecularmente?, (4) ¿Es *Dipteryx odorata* la especie que más se comercializa? Este estudio dará las bases para entender mejor la ecología, delimitar la distribución de estas especies y desarrollar óptimos planes de manejo y conservación de *Dipteryx* en la Amazonía Peruana.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1. CONTEXTO

El presente estudio se realizó 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” del Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú).

Además, las muestras obtenidas en el presente estudio se utilizarán en el proyecto Proyecto Large Scale Project on Timber Verification al Instituto Thünen, que busca desarrollar una base de datos genética de referencia para verificar la procedencia de la madera.

### 2. EL GÉNERO *DIPTERYX*

#### 2.1. HISTORIA

El género *Dipteryx* se encuentra dentro de la tribu Dipterygeae juntos a los géneros *Pterodon* y *Taralea* (Pennington *et al.* 2001; Francisco 2010; Cardoso *et al.* 2012). Aublet (1775) describió al género *Dipteryx* por primera vez bajo el nombre de *Coumarouna*, tomando como especie tipo a *C. odorata*, luego Schreber (1791) agrupó a *Taralea* y *Coumarouna* bajo el género *Dipteryx*, el cual se basó solo en las características florales sin considerar las diferencias entre sus frutos. Posteriormente en el congreso de Viena de 1905 este nombre fue conservado sobre *Coumarouna* y *Taralea* fue considerado un género distinto (Francisco 2010). En la actualidad esto es verificado por los estudios morfológicos y filogenéticos que determinaron que los géneros *Dipteryx* y *Taralea* son distintos (Francisco 2010; Cardoso 2012; Cardoso 2013).

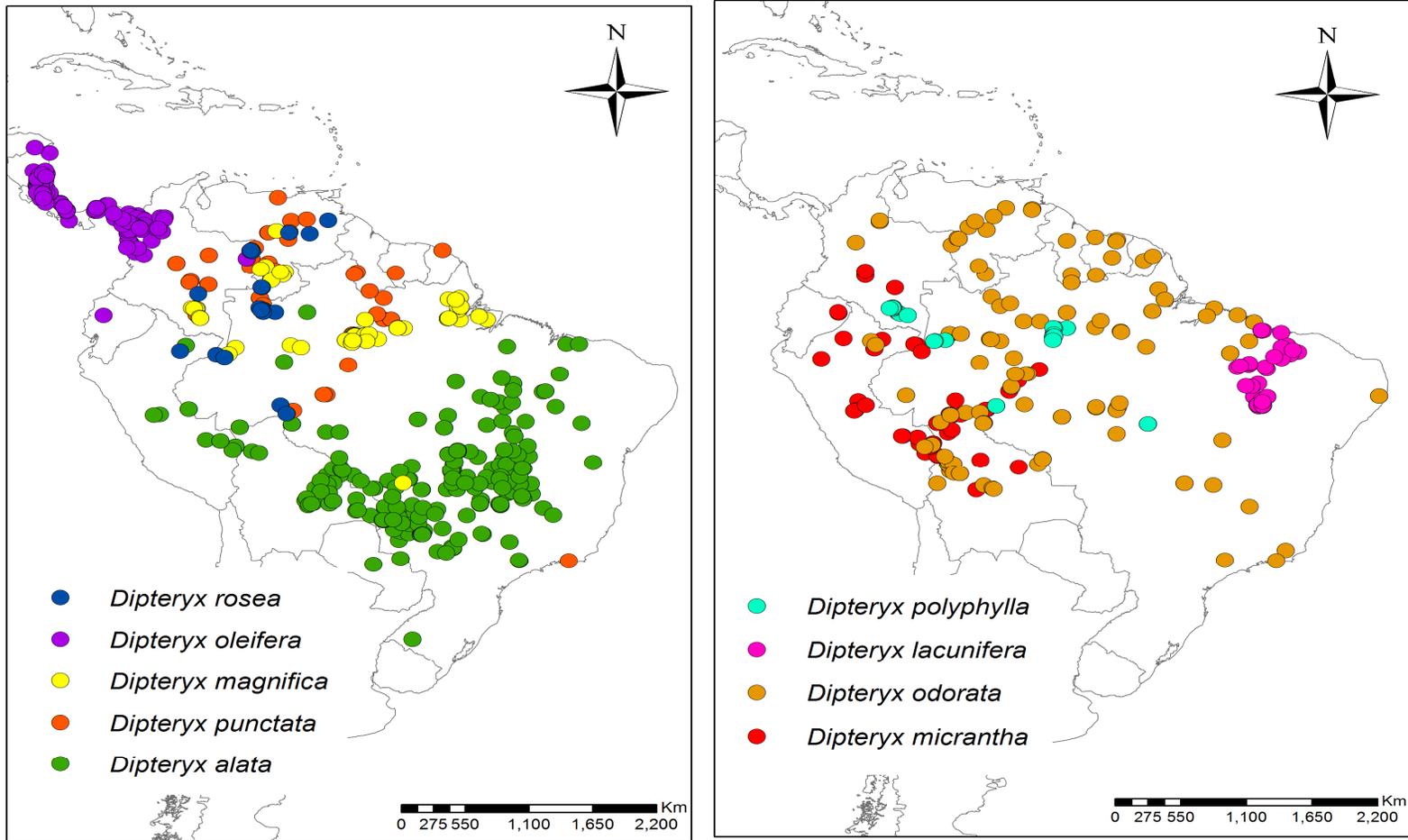
El género *Dipteryx* presenta doce especies, nueve aceptadas y tres por resolver, distribuidas en América del Sur, América Central, en países como Costa Rica, Panamá, Guyana, Surinam, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, y Paraguay (The plant List 2013; Tropicos 2016). Brasil es el país que presenta mayor número de especies de este género (ocho especies; Figura 1). Para el Perú, Macbride en 1943 reportó cuatro especies de este género: *D. charapilla* (J.F. Macbr.) Ducke, *D. ferrea* (Ducke) Ducke, *D. micrantha*

Harms, *D. odorata* (Aubl.) Willd., y dos especies adicionales fueron agregadas en el listado de especies de angiospermas y gimnospermas de Perú (Brako & Zarucchi 1993): *D. alata* Vogel y *D. rosea* Spruce ex Benth. El servidor Web The Plant List al 2017 muestra como sinónimos botánicos de *D. micrantha* y *D. rosea* a *D. ferrea* y *D. charapilla* respectivamente. Los registros de herbarios y otras referencias bibliográficas muestran que *Dipteryx alata* se encuentra en Loreto, Huanuco y Ucayali (Vásquez 1997, Montegaudó & Huamán 2010, Montegaudó et al. 2015) y *Dipteryx micrantha* se encuentra en los departamentos de Ucayali y Madre de Dios (Reynel et al. 2003; Baldeon et al. 2003), estudios recientes (Pariente 2017) muestran que *D. micrantha* se encuentra en Loreto, Huanuco y Ucayali, y que *D. alata* se encuentra en los departamentos de Ucayali y Madre de Dios, mientras *Dipteryx odorata* (Spichiger et al. 1989) y *Dipteryx rosea* (De Lima 1989, Pariente 2017) fueron escasamente reportadas en Loreto.

## 2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Vásquez (1997) presenta la siguiente descripción para el género *Dipteryx* Schreb., el cual se caracteriza por presentar hojas alternas, paripinnadas o aparentemente imparipinnadas, raquis alado aplanado o alado, prolongado en el ápice, foliolos 5-9(11), generalmente grandes, glabros, a veces con puntos translucidos, nervio medio excéntrico, estípelas ausentes, estípulas pequeñas o ausentes. Inflorescencia en panículas terminales, brácteas y bractéolas presentes o ausentes; cáliz 2-labiado, caduco, a menudo glandular-punteados; corola rosada-blancuzca; 10 estambres, monadelfos, a veces 5 pequeños o abortivos. Fruto drupáceo, indehiscente, ovoide, aceitoso; semillas aromáticas.

En las claves taxonómicas, las especies de *Dipteryx* se caracterizan por el número de foliolos, forma del ápice (agudo, acuminado, obtuso o cuspidado), forma de la base (Retusa, obtusa, cuneada), consistencia del foliolo (membranoso, cartaceo, coriáceo), forma de foliolos (oblongos, elípticos, lanceolados), patrón de venación (broquidódromo, caspedódromo), presentar hojas con raquis alada hasta estrechamente alado, peciolo y raquis surcado el tamaño y el color de las flores (lilas, rosadas, fucsias), textura del cáliz (coriáceo o membranoso), tamaño y forma del fruto (elíptico o oblongo) y las semillas (McBride 1943, Vásquez 1997, Spichiger 1989, Francisco 2010).



*D. casiquiarensis*, *D. coreacea* y *D. emarginata* son conocidas solo por las muestras tipos colectadas en Venezuela, Guiana, y Brasil, respectivamente.

**Figura 1: Distribución global del género *Dipteryx*.**

FUENTE: Elaboracion propia, Kew: Geocat

### **2.3. ECOLOGÍA**

La floración del género *Dipteryx* ocurre durante la estación seca en los meses de julio a noviembre y la fructificación en los meses de Septiembre a Diciembre (Reynel 2003). La polinización no es conocida para todas las especies, solo se conoce que es realizada por abejas en *Dipteryx alata* (Oliveira 2008). El género tiene una dispersión primaria de semillas realizada por los murciélagos frugívoros (*Artibeus* spp.) y una dispersión secundaria realizada por el añuje (*Dasyprocta* spp) y las ardillas (*Sciurus* spp), siendo las semillas parte de la dieta de estos animales (Romo 2004, Brightsmith 2005). Los murciélagos se alimentan del mesocarpo carnoso. Estos murciélagos alejan los frutos de los árboles progenitores, haciendo que el fruto pueda caer durante el transporte o la semilla puede caer cerca del nido cuando terminan de alimentarse, por eso aparecen a menudo bajo las hojas de palmas o cerca de los bordes de caminos forestales abiertos que facilitan su movimiento a través del bosque (Howe 1986, Janzen et al. 1976, Putzel et al. 2011). Cuando los frutos caen al suelo, los mamíferos terrestres inician la dispersión secundaria (Ruiz et al. 2010). Además, puede presentar una dispersión hidrocora, es decir, mediante el agua por quebradas o ríos (Ducke 1940).

Se ha registrado la presencia de semillas de *Dipteryx* en bosques maduros, aunque también están presentes bajo nidos de murciélagos en bosques de sucesión, demostrando el movimiento de estas semillas entre bosque primario y secundario, y en una variedad de hábitats, desde los bosques de tierras bajas hasta los bosques de tierras altas (Romo 1997, Romo 2004, Putzel 2011).

El género *Dipteryx* presenta una adaptación esciofita en el primer estadio de desarrollo (Louman 2001, Romo et al. 2004), pero luego necesita aumento de luz para continuar su crecimiento comportándose luego como heliófita (Louman 2001). Por lo tanto, presenta adaptaciones morfológicas de acuerdo a su estadio de desarrollo.

### **2.4. APROVECHAMIENTO FORESTAL EN PERÚ**

Cuando se extrae madera de *Dipteryx* en el Perú, ésta es registrada como *charapilla* o Shihuahuaco, bajo los nombres científicos de *Dipteryx odorata* y *Coumarouna odorata* respectivamente (SERFOR 2016). Según los registros reportados en Perú Forestal en Números se ha extraído cerca de 193 mil metros cúbicos de madera de estas dos especies en el 2015, con una creciente demanda en las exportaciones principalmente dirigidas a la China (Putzel, 2010). La comercialización en el país se realiza como madera rolliza, madera

aserrada, parquet, carbón, durmientes. Siendo los departamentos con mayor extracción de estas especies Madre de Dios (126 mil m<sup>3</sup>), Loreto (47 mil m<sup>3</sup>), Ucayali (17 mil m<sup>3</sup>), Pasco (162 m<sup>3</sup>) y Junín (125 m<sup>3</sup>) (SERFOR, 2016).

### **3. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA**

#### **3.1. DEFINICIÓN.**

Los individuos que conforman una especie vegetal están bajo interacciones de adaptación con el medio donde se desarrollan. Estas adaptaciones se almacenan en el genoma a lo largo del tiempo entre los miembros de la población que conforman la especie y puede expresarse o no en características fenotípicas que permitan ser identificadas. Las características que lo conforman corresponden a la descripción morfológica de la planta, estas características se denominan descriptores morfológicos. Un descriptor es una característica fácil de medir, registrar o evaluar que ayuda a la diferenciación y expresa el atributo de manera precisa y uniforme (Franco e Hidalgo 2003).

La caracterización morfológica es la determinación de un conjunto de caracteres mediante el uso de descriptores que permiten diferenciar taxonómicamente a las especies y que son comunes a todos los individuos de una especie. Algunos caracteres pueden ser altamente heredables, fáciles de observar y expresables en cualquier ambiente y serán los más útiles al momento de diferenciar especies (Hernández 2013, Franco e Hidalgo 2003). Además está basada en rasgos cuantitativos y cualitativos, dentro de los cuantitativos incluyen a las medidas morfométricas. La morfometría ha tenido un avance con el desarrollo de métodos informáticos de análisis de imagen, los que facilitan el proceso de medición de los descriptores (González-Andres 2001).

Además se debe tener en cuenta que los cambios fenotípicos inducidos por el ambiente en un organismo se denominan plasticidad fenotípica (Nuñez-Farfán *et al.* 2003) y que cuando un género presenta esta plasticidad hace complicado delimitar adecuadamente las especies, por lo cual se espera una superposición de caracteres morfológicos. Sin embargo, esta plasticidad podría ser una ventaja adaptativa a ambientes heterogéneos o de transición como presenta la Amazonia Peruana (Pedroso *et al.* 2010). Además, si estas condiciones se mantienen a lo largo del tiempo el fenotipo experimentará una asimilación genética lenta, lo cual podría terminar en un proceso de especiación (Lande 2009).

### 3.2. ESTUDIOS DE CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Antiguamente las descripciones e identificaciones se basaban únicamente en caracteres morfológicos de las especies, pero no siempre estos caracteres establecen los límites taxonómicos de las especies de un género. Los límites morfológicos podrían ser más ténues cuando las especies presentan plasticidad fenotípica asociada a las condiciones ambientales en las que se desarrollan (Pedroso et al. 2010). Por esta razón a partir de 1990 la literatura registra la incorporación de nuevas herramientas al momento de identificar especies, como es la morfometría tradicional el cual utiliza análisis multivariados (Marcus 1990).

Estos nuevos análisis morfométricos ayudaron de manera rápida a determinar qué características son necesarias evaluar para identificar grupos taxonómicos (Souza et al. 2014, Danquah et al. 2011). Estas mediciones se aplican generalmente a las hojas debido a que son órganos importantes para la producción de la planta por la fotosíntesis y la transpiración. El tamaño, forma y disposición de las hojas tienen asociación significativa con los factores ambientales y difieren por el entorno en el que crecen, y la influencia de luz sobre la rama (Bruschi et al. 2003). Poder conocer las características morfométricas que diferencian las especies complejas sería de mucha ayuda para los inventarios rápidos en donde rara vez se cuenta con material fértil para determinar las especies.

Los estudios de caracterización morfológica en especies forestales, han sido usados para evaluar y comparar la variación morfológica entre especies de un mismo género que son muy similares entre sí. Además, permiten determinar cuáles caracteres separan las especies. Este es el caso del *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* realizado por Martínez-Cabrera et al. (2011) que muestra que los caracteres cuantitativos como el patrón de venación, la forma y número de areolas, entre otros, contribuyeron a la distinción de cada especie. Además, el estudio morfométrico del género *Indigofera* Linn realizado por Soladoye et al. (2010) menciona que los caracteres foliares como ancho y largo del foliolo son los que principalmente contribuyen significativamente para la delimitación de las diferentes especies de este género. En el caso de *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) se trabajó al nivel de variedades, quedando las seis variedades agrupadas en tres especies y en donde el análisis morfométrico se complementó con información geográfica y de hábitat para delimitar mejor las especies (Souza et al. 2014).

Además, estudios recientes del género *Dipteryx* en la amazonia peruana, donde se analiza los patrones de nervaduras del foliolo, dio como resultado dos grupos de especies

claramente diferenciables de 1) *D. alata*, *D. micrantha* y 2) *D. charapilla*, *D. rosea*, *D. ferrea* y que la especie *D. odorata* ha sido erróneamente reportada para el Perú (Pariente 2017).

## **4. CARACTERIZACION MOLECULAR**

### **4.1. MARCADORES MOLECULARES**

Un marcador de ADN es un punto de referencia en un cromosoma, que puede o no corresponder a un gen (marcadores moleculares). Los marcadores moleculares se fundamentan en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias del ADN entre individuos (Azofeifa-Delgado 2006; Ferreira y Grattapaglia 1998). La utilización de marcadores moleculares incluye la identificación de las variaciones del ADN y proteínas. Una de las ventajas del uso de los marcadores moleculares es que no cambian por efecto del medio ambiente, ni por la fase de desarrollo de la planta como es el caso de las características fenotípicas, como el vigor, calidad de fuste y diversas características morfológicas que cambian a lo largo del desarrollo de la planta y son influenciados por el ambiente. Los marcadores moleculares se pueden también aplicar a cualquier tipo de material vegetal, indiferente a la época del año en que se realiza el análisis siempre que se pueda obtener la cantidad adecuada de ADN (Martínez et al. 2010; Ferreira y Grattapaglia 1998).

### **4.2. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

La PCR es una técnica que comprende la síntesis in vitro de millones de copias de un segmento específico de ADN en presencia del ADN polimerasa, la cual se basa en el apareamiento y la polimerización enzimática de un par de oligonucleótidos utilizados como iniciadores “primers” que delimitan la secuencia ADN de doble cadena (Ferreira y Grattapaglia 1998). La reacción de cadena de la polimerasa ha sido uno de los avances más espectaculares que se han suscitado en los últimos décadas dentro del campo de la biología molecular (Zavala 2005).

Las secuencias cortas de ADN llamadas “primers” son diseñadas para enlazar el inicio y el final del ADN molde. Para realizar la PCR se debe añadir el ADN molde con los primers, los nucleótidos libres y la enzima Taq polimerasa en la máquina de PCR. Un ciclo de PCR consta de tres etapas: desnaturalización, apareamiento y elongación o polimerización (Ferreira y Grattapaglia 1998).

### **4.3. BARCODING DE PLANTAS**

DNA Barcoding o DNA barcode es una técnica desarrollada por Herbet et al. (2003) y consiste en identificar especies mediante el análisis de pequeñas secuencias nucleotídicas del ADN (Cadavid 2013). Los códigos de barras vienen siendo utilizados para la identificación de especies crípticas, confirmación de especies recientemente descritas, conocimiento de dietas alimenticias de los animales, paleoecología, monitoreo del comercio de subproductos animales y de madera (Costion et al. 2011; Valentini et al. 2006, Kress 2017).

Para considerar a una región como DNA barcode, ésta debe ser fácil de amplificar y secuenciar, debe ser idéntica en la misma especie, pero diferente entre especies, debe ser estandarizada para diferentes grupos taxonómicos, debe ser filogenéticamente informativa para asignarlo a un grupo taxonómico y de fragmento corto para permitir la amplificación de ADN degradado (Valentini et al. 2006).

Se ha demostrado que la región del gen mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad 1 (COI) es ideal como código de barras para varios grupos de aves, peces, mamíferos, lepidópteros y otros insectos (Paz et al. 2011). En el caso de plantas y hongos los genes mitocondriales no son muy informativos por presentar baja sustitución, lo que significa que la variación de la secuencia entre individuos del mismo género es baja (Hebert 2003; Cadavid 2013). Estudios en plantas han demostrado que los genes del cloroplasto son más efectivos para identificar especies, como el gen *matK* y *rbcL*. Estas regiones fueron aprobadas por el CBOL (Consortium for the Barcode of Life, Plant Working Group 2009) como DNA barcode. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que estos marcadores, aun combinados, no pueden diferenciar especies en algunas familias de Angiospermas, por lo que se ha propuesto otros marcadores como la región transgénica *psbA-trnH*, la región nuclear ITS y el intron *trnL* (Chen et al. 2010; Costion et al. 2011; Paz et al. 2011; Taberlet et al. 2007).

### **4.4. REGIONES BARCODING INCLUIDAS**

#### **4.4.1. GEN PSBA-TRNH**

Es un gen espaciador no codificante del cloroplasto de cadena corta (aprox. 500 a 1000bp) y posee alto porcentaje de sitios variables. Esto significa que puede ofrecer altos niveles de discriminación de especies. Sin embargo, las secuencias nucleotídicas obtenidas de este gen presentan problemas al momento de alinear, debido a las altas tasas de inserción y delección

que podrían mostrar (Chase et al. 2007; Kress et al. 2005). Además, también pueden presentar inversiones dentro de la secuencia nucleotídica, lo cual si no se reconoce adecuadamente puede sobrestimar el número de sustituciones, separando taxones cercanamente relacionadas y uniendo taxones distantemente relacionadas que muestran la misma forma de inversión (Whitlock et al. 2010). Por esta razón se debe tener mucho cuidado durante el alineamiento de las secuencias de este gen.

La región psbA-trnH presenta en algunos grupos de plantas una cadena corta (aprox 300bp) y en otros grupos como las orquídeas presenta una cadena larga (aprox. 1000 pb) debido a que contiene copias de otro gen que se encuentra dentro de esta región (Chang et al. 2006; Kress & Erickson 2007). A pesar de presentar un número variable de bases, este gen demuestra altos porcentajes de identificación de especies de plantas terrestres (68-69%) y más aún cuando se complementa con otros genes (CBOL Plant Working Group 2009).

La región psbA-trnH ha sido usada para hacer análisis filogenéticos e identificar especies en varios grupos taxonómicos incluyendo estudios con especies de la familia Fabaceae. Este gen fue utilizado para determinar la especie en plantas medicinales de Fabaceae, y presentó determinaciones aceptadas en un 93% de los 152 individuos evaluados (Gao et al. 2013). La aplicación del primer psbA-trnH ayudó también a esclarecer las relaciones taxonómicas entre los géneros Acaceae e Ingaeae (Fabaceae) (Miller et al. 2003). Además, se demostró que el gen psbA-trnH y rbcL juntos pueden realizar una estimación de la riqueza de especies arbóreas en el bosque tropical en zonas poco conocidas o en poblaciones crípticas debido a que presentan mayor poder discriminativo de especies (Costion et al. 2011). También se utilizó para reforzar la congruencia de la filogenia de códigos de barras (psbA-trnH, matK, rbcL) con la filogenia de plantas terrestres según la clasificación de APG (Grupo filogenia de Angiospermas) y esta información junto con información demográfica ayudó a dar una mejor idea de la evolución de la comunidad y de los factores bióticos y abióticos que pueden afectar a la diversidad de las especies (Kress et al. 2009, 2010).

#### **4.4.2. GEN MUTARSA K - MATK**

Es un gen codificante, con una cadena completa de aproximadamente 1500bp que codifica para una proteína mutarasa. La región codificante de matK se encuentra situado dentro de un intron del gen trnK. El gen matK posee una alta tasa de evolución por lo cual este ha sido utilizado para realizar la reconstrucción filogenética y evolución de órdenes, familias e incluso género y especies (Yu et al. 2011, Gao et al. 2011).

La aplicación de este gen ha sido útil para ordenar las tribus y clados. Por ejemplo, en la familia Fabaceae ayudaron a aclarar las relaciones entre taxones, permitiendo identificar que el género *Monopteryx* es hermano de los géneros de la tribu Dipterygeae (Cardoso *et al.* 2012, 2013, 2015). En la tribu Acacieae ayudó a establecer las relaciones filogenéticas de los géneros *Acacia* y *Faidherbia* y sus subgéneros (Miller & Bayer 2001) y además identifico siete clados en la subfamilia Papilionidae (Wojciechowski *et al.* 2004)

Además, también han sido aplicados para identificar especies de plantas medicinales de la familia Fabaceae en China, consiguiendo identificar el 80% de especies y el 96% géneros de un total de 1335 muestras de plantas (Gao *et al.* 2011). Cuando este marcador es usado solo muestra buen resultado discriminativo de especies, pero al utilizarse adicionalmente con otro gen aumenta su poder. Con el gen *rbcL* para identificar especies forestales de un bosque seco tropical en la India donde se identificaron el 95% de las 143 especies evaluadas (Nithaniyal *et al.* 2014). Así mismo Burgess *et al.* (2011) también utilizó genes (*matK*, *rbcL* y *psbA-trnH*) combinados para discriminar géneros y especies de angiospermas. Además se utilizó para identificar especies de los géneros *Acacia*, *Dalbergia* empleando los genes *rbcL*, ITS, *psbA-trnH* (Purushothaman *et al.* 2014, Hartvig *et al.* 2015).

#### **4.5. FILOGENÉTICA MOLECULAR**

La filogenética molecular es la reconstrucción de historias evolutivas de los organismos a partir de datos de secuencias moleculares, teniendo en cuenta que las mutaciones que se producen en un determinado gen se acumulan a largo del tiempo. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la velocidad con que se acumulan las mutaciones no es constante, si no que depende de los cambios morfológicos o los factores ambientales (Pallás *et al.* 2008, Muller-Sterl y Werner 2004).

La obtención de filogenias moleculares en plantas se basa en la selección, extracción, amplificación y secuenciación de regiones de ADN nuclear, mitocondrial o cloroplásticos. Finalmente, se obtienen árboles filogenéticos teniendo como base diferentes modelos evolutivos y métodos de reconstrucciones filogenéticas.

Los modelos evolutivos son modelos matemáticos que intentan demostrar como se fijan los cambios a lo largo del tiempo en la secuencia de ADN, a partir de estos modelos se puede calcular las distancias genéticas entre las secuencias. Existen varios modelos como el de Jukes con un parámetro (JC), Kimura con dos parámetros (K2P), Hasegawa, Kishino y

Yano con cuatro parámetros (HKY85), Tamura y Nei (TN93) y General reversible de ocho parámetros (GTR). El modelo K2P asume que la frecuencia de los cuatro nucleótidos es la misma y las mutaciones ocurren con igual probabilidad de manera independiente a lo largo de la secuencia (Pallás et al. 2008).

La reconstrucción filogenética se realiza utilizando el método de Maxima parsimonia, Maxima verosimilitud y/o método bayesiano. El método de Maxima verosimilitud (ML, maximum likelihood) es un método que tiene muchas ventajas como, por ejemplo, es estadísticamente fiable y considera la información de todas las posiciones del alineamiento. Además, no sólo dice cuál es el árbol más verosímil, sino que, si hacemos la inferencia con distintos modelos, también podemos saber cuál es el modelo de evolución que mejor encaja en los datos (ofreciéndonos información del proceso evolutivo que ha conducido a la situación actual). La desventaja mayor de este método es que si el modelo de evolución es incorrecto, posiblemente el árbol también será incorrecto (Pallás et al. 2008, Abascal et al. 2014).

#### **4.6. ESTUDIOS MOLECULARES.**

Un trabajo de investigación recientemente realizado por el Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana - IIAP del genero *Dipteryx* en la amazonia peruana basado en el análisis de marcadores moleculares de microsatelites, con muestras poblacionales de *D. micrantha* de siete localidades de Ucayali y Madre de Dios, muestra entre sus resultados que las muestras poblaciones analizadas tienen una gran semejanza genética entre ellas (Diaz 2018).

#### **4.7. RELACIÓN ENTRE LA GENÉTICA Y LA MORFOLOGÍA**

Las diferentes técnicas de identificación, como caracterización anatómica de la madera, caracterización química, caracterización morfológica, etc., han sido desarrolladas para resolver problemas de identificación, siendo la más estable los estudios de anatomía de madera. Sin embargo, estas técnicas deben de usarse de manera integral con la genética cuando estas solas no puedan responder las preguntas de identificación o cuando las preguntas de investigación sean difíciles de aclarar (Dormontt E. E. *et al.* 2015).

La genética y la morfología son dos herramientas complementarias que se utilizan en estudios filogenéticos y taxonómicos para la determinación y la confirmación de nuevas especies. Decimos que son complementarias porque para poder aplicar la genética, primero debemos conocer la especie de interés, y esto es solo posible revisando la descripción

realizada con los caracteres morfológicos por los taxónomos. El análisis taxonómico suele tardar mucho por lo que el uso de la genética molecular podría acelerar el descubrimiento de nuevas especies. Más aún, el uso de la genética es muy valioso cuando se trabaja con material botánico cuyas características fenotípicas podrían variar dependiendo de la edad o condición ecológica de la planta. En el caso del DNA barcoding el uso de esta técnica depende del desarrollo de las bases de datos de referencia inicial de las especies y podría ser complicado conseguir regiones que sean diferenciadas en grupos taxonómicos muy diversos y con divergencia reciente (Hajibabaei *et al.* 2007). Entonces, los estudios moleculares y morfológicos pueden ser de gran ayuda cuando se utilizan en forma combinada y más aún como herramienta de verificación de especies.

Un claro ejemplo es el estudio publicado en 2011, donde se utilizó marcadores moleculares del núcleo y del plastidio para estudiar el género *Cedrela*. Reveló 4 nuevas especies que forman unidades morfológicas y genéticamente distintas y que además están apoyadas por su bien definida y restringida distribución geográfica y sus características ecológicas. Sin embargo, el estudio también pudo identificar 3 grupos genéticamente distintos de *Cedrela odorata* que morfológicamente no fueron separadas, lo cual sugiere que deben hacerse más estudios de apoyo a este grupo genéticamente distinto. Esta información reveló especies crípticas y demostró ser útil en la identificación de las especies incluidas en los apéndices del Convenio sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (Pennington & Muellner 2010).

Otro ejemplo, es el estudio realizado del clado Dipterygeae, en el cual se utilizaron marcadores moleculares del núcleo y del plastidio y la caracterización morfológica para analizar la tribu Dipterygeae. Evidenció que los tres géneros, *Dipteryx*, *Taralea* y *Pterodon*, están morfológica y molecularmente diferenciados y que tienen un ancestro en común (Francisco 2010).

En el comercio de madera el uso de técnicas moleculares podría utilizarse para identificar, en la cadena de suministro de madera, si el origen de extracción de la madera o los productos maderables provienen del lugar declarado. Sin embargo, esta aplicación aún está siendo desarrollada y necesita mayores estudios para que pueda aplicarse (Dormontt E. E. *et al.* 2015).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **1. LUGARES DE MUESTREO**

El estudio tuvo una fase de campo en la Amazonía baja peruana para poder complementar las colectas botánicas del género *Dipteryx* y obtener muestras frescas para el estudio genético. Para esto, se muestrearon 17 localidades donde existía el reporte de presencia de especímenes de *Dipteryx* distribuidos naturalmente según las bases de datos, tales como investigaciones, reportes forestales, libros, colecciones botánicas de herbarios, etc. En total, se muestrearon 12 localidades en Loreto, cuatro localidades en Ucayali y una en Madre de Dios (Tabla 1, Figura 2).

Sin embargo, el lugar de muestreo Jenaro Herrera y en el Huayo son áreas de alta actividad antrópica, en donde la ubicación y la distribución de los árboles de *Dipteryx* sugieren que estos individuos han sido plantados.

#### **2. RECOPIACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO**

Se recopilaron 74 muestras botánicas del género *Dipteryx* para la Amazonía Peruana, de las cuales 56 muestras fueron colectadas durante el presente estudio y como parte del proyecto de verificación genética de la madera de especies maderables tropicales. Las muestras botánicas fueron prensadas en papel periódico, codificadas y conservadas con solución de alcohol-agua (en proporción 1:1 respectivamente) para posteriormente ser secadas en un secador de 50 a 60° C por 8 horas. Durante la colecta en campo, se tomaron fragmentos de hojas y/o cambium de cada individuo colectado para la extracción de ADN. Estos fragmentos de material biológico de aproximadamente 10 cm<sup>2</sup> fueron conservados en bolsas ziploc conteniendo sílica gel para ser secados rápidamente. Hubo un control exhaustivo del material para lograr el secado eficiente de las muestras y para esto se realizó el cambio de la sílica cuando ésta cambia de color por saturación de agua.

Para obtener los fragmentos de hojas se utilizó una tijera y para el cambium un sacabocado y un bisturí. Los materiales utilizados fueron desinfectados con alcohol de 90° para evitar la contaminación entre muestras. Todas las muestras botánicas fueron foto documentadas

usando una cámara digital NIKON D800 y depositadas como muestra testimonio de este estudio en el Herbario Herrerense (HH) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).

### **3. DETERMINACIÓN DE ESPECÍMENES BOTÁNICOS.**

Los especímenes fueron clasificados en grupos por dos botánicos especialistas del género *Dipteryx*, Haroldo de Lima y Catarina Carvalho del Jardín Botánico de Río de Janeiro, teniendo en cuenta los caracteres morfológicos de las hojas, flores y frutos

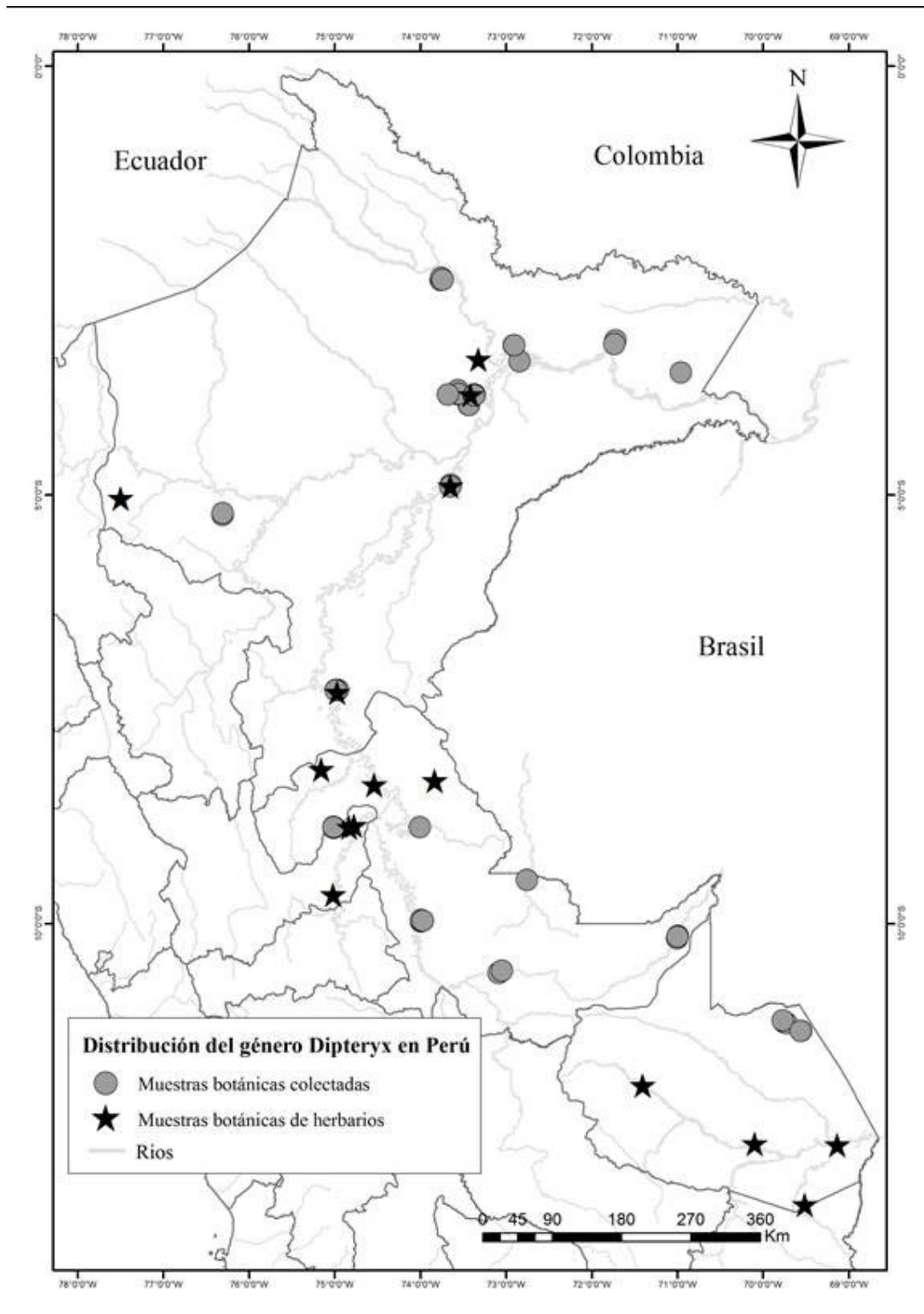
Diez especímenes colectados en las localidades de Jenaro Herrera y el arboreto “El Huayo” en el departamento de Loreto fueron identificadas como *Dipteryx charapilla*. Otros 61 especímenes colectados en Loreto, Ucayali, Huánuco y Madre de Dios fueron determinados como *Dipteryx micrantha*. Se incluyeron las muestras tipo de *D. charapilla* (Schunke 362) y *D. micrantha* (Tessman 4967) correspondientes a los códigos 71 y 74, respectivamente y el espécimen 43 que fue considerado como *Dipteryx* sp. (Flores 53). Los especímenes de *D. micrantha* fueron divididos en dos morfotipos que se diferencian a simple vista por el tamaño y número de foliolos: el morfotipo 1 con 38 especímenes presenta foliolos grandes, elíptico-ovalados, y 6-10 foliolos por hoja; y el morfotipo 2 con 23 especímenes presenta foliolos pequeños, oblongos y 8-14 foliolos por hoja.

**Tabla 1: Lugares de muestreo del género *Dipteryx* en la Amazonía peruana.**

<b>ID</b>	<b>Lugar</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Longitud</b>	<b>Latitud</b>	<b>Características</b>
1	Allpahuayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, R.N.Allpahuayo - Mishana, parcela permanente (RAINFOR)	-73,43388	-3,95006	Bosque primario de tierra firme con suelo arcilloso o franco arcilloso (Vásquez, R. 1997)
2	Jenaro Herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera, Jenaro Herrera Centro de investigación del IIAP	-73,64759	-4,87896	Bosque de terraza con suelos arenoso limoso (Claussi et al. 1992)
3	Iñapari	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iñapari, Concesión MADERACRE	-69,72675	-11,15454	Concesion forestal maderable con bosque primario
5	Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Estación de investigación Forestal	-75,00368	-8,87631	Bosque de colinas medias
11	Huirirma	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. El Napo, Huirirma Native Community	-73,76553	-2,49128	Bosque de terraza baja a media
12	Yanamono	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Indiana, Yanamono, Explorama Lodge	-72,84524	-3,43935	Bosque de planicie inundable con suelos limosos y suelos arcillosos o franco arcillosos bien drenados en tierra firme (Vásquez, R. 1997)
13	Sucusari	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Indiana, Sucusari, Explornapo Camp	-72,9035	-3,2515	Bosque de planicie inundable con suelos franco arcilloso y suelos arcillosos y franco arcilloso bien drenados en tierra firme (Vásquez, R. 1997)
14	Contamana	Dpto. Loreto, Prov. Ucayali, Dist. Contamana, Contamana	-74,98722	-7,26939	Bosque de colinas medias a altas
16	Yarina	Dpto. Loreto, Prov. Mayna, Dist. Iquitos, Comunidad Campesina Yarina	-73,56356	-3,820749	Bosque de colinas bajas ligeramente disectados, suelos profundos a moderadamente profundos (MINAM 2015)
18	Breu	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Distr. Yurua, Comunidad Nativa Santa Rosa	-72,75622	-9,48503	Bosques de terraza media
19	Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	-73,37338	-3,83333	Bosques de terraza media

Continuación Tabla 1

<b>ID</b>	<b>Lugar</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Longitud</b>	<b>Latitud</b>	<b>Características</b>
20	Gastabala	Dpto. Loreto, Prov. Purus, Dist. Purus, Comunidad Gastabala	-71,00557	-10,16469	Bosque húmedo tropical de colina baja, suelos arcillosos, profundos y bien drenados (SERNANP 2013)
21	Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	-73,98959	-9,96392	Bosques de terraza alta
22	Inuya	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Raymondi, Comunidad San Juan de Inuya	-73,05022	-10,54662	Bosque de terraza media a altas
30	Pevas	Dpto. Loreto, Prov. Mariscal Ramón Castilla, Dist. Pevas	-71,73775	-3,23854	Bosque de terraza alta a colinas bajas, con suelos arcillosos bien drenados (MINAM-SERNANP 2016)
32	Tangarana	Dpto. Loreto, Prov. Mariscal Ramon Castilla, Dist. San Pablo	-70,95866	-3,569	Bosque de terraza alta a colinas bajas, con suelos arcillosos bien drenados (MINAM-SERNANP 2016)
35	Jeberos	Dpto. Loreto, Prov. Alto Amazonas, Dist. Jeberos	-76,30881	-5,21932	Bosque húmedo de terraza media (GRL 2015)

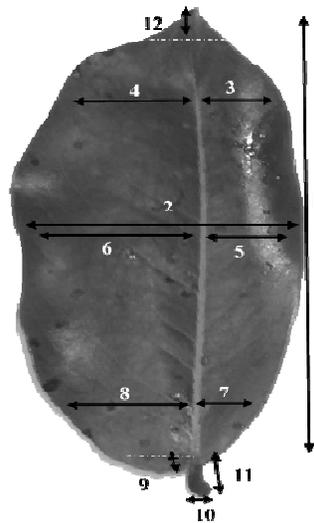


**Figura 2:** Mapa de ubicación de las 74 muestras botánicas del género *Dipteryx* obtenidas para este estudio.

FUENTE: Elaboración propia con muestras de los Herbarios HH, MOL, F, RB, US y muestras colectadas

#### 4. CARACTERES MORFOLÓGICOS EVALUADOS.

La morfología foliar fue analizada usando 30 caracteres vegetativos morfológicos de los cuales 24 son variables cuantitativas y seis son variables cualitativas (Tabla 2, Figura 3). Las variables cuantitativas incluyen variables como el largo y ancho de los folíolos, el desplazamiento de la vena media en los folíolos (debido a que el lado exterior del folíolo es más ancho que la parte interior dando como resultado una base asimétrica), entre otros. Las mediciones fueron tomadas en 3 a 4 folíolos maduros por espécimen, usando una regla con 1 mm de precisión. Las imágenes digitales se analizaron en el programa Image J (Schneider *et al.* 2012). Asimismo, otros cinco caracteres morfológicos florales fueron evaluados a siete especímenes fértiles disponibles, es así que se evaluó también el color de la flor (registrado durante la colecta en campo), longitud de flor, del pedicelo, del cáliz y la corola a tres flores maduras por espécimen.



Los números refieren a los caracteres descritos en la tabla 2.

**Figura 3: Ejemplo de las características morfológicas cuantitativas de los folíolos tomados a los especímenes de *Dipteryx*.**

*FUENTE: Elaboración propia*

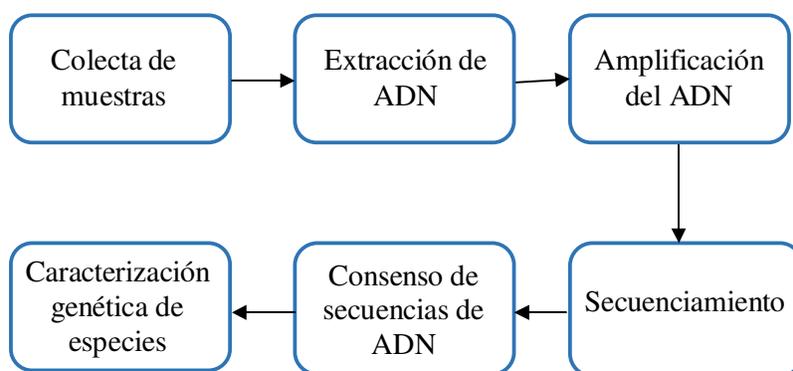
**Tabla 2: Características morfológicas evaluadas.**

<i>N°</i>	<i>Caracteres morfológicos</i>	<i>Abreviación</i>	<i>Unidad</i>
Foliares - Variables cuantitativas			
1	Longitud de foliolo	LF	cm
2	Ancho del medio del foliolo	AF	cm
3	Ancho menor del tercio superior del foliolo	AS1	cm
4	Ancho mayor del tercio superior del foliolo	AS2	cm
5	Ancho menor medio del foliolo	AM1	cm
6	Ancho mayor medio del foliolo	AM2	cm
7	Ancho menor del tercio basal del foliolo	AB1	cm
8	Ancho mayor del tercio basal del foliolo	AB2	cm
9	Extensión de base	EB	cm
10	Ancho del peciolulo	APL	cm
11	Longitud de peciolulo	LPL	cm
12	Longitud de ápice	LAP	cm
13	Longitud peciolulo /Longitud foliolo	LPF	cm
14	Longitud / Ancho del foliolo	LAF	cm
15	Longitud de peciolo	LP	cm
16	Longitud de raquis	LR	cm
17	Ancho de raquis medio	AR	cm
18	Ancho de ala medio	AL	cm
19	Distancia promedio entre foliolos	PF	
20	Número de foliolos por hoja	N	
21	Desplazamiento vena media (AIM-AEM)/(AIB-AEB)		
22	Proporción basal/apical (AIS+AES)/(AIB+AEB)		
23	Promedio de ángulo de base		
24	Ancho / Longitud peciolulo		
Foliares - Variables cualitativas			
25	Disposición de foliolos		
26	Forma de foliolo		
27	Base del foliolo		
28	Ápice del foliolo		
29	Borde del foliolo		
30	Patrón de nervadura		
Florales – Variables cualitativas y cuantitativas			
31	Color		
32	Longitud total de la flor		cm
33	Longitud de pedicelo		cm
34	Longitud de cáliz		cm
35	Longitud de corola		cm

## 5. EXTRACCIÓN DE ADN Y OBTENCIÓN DE SECUENCIAS.

El análisis molecular (extracción de ADN, obtención y análisis de secuencias nucleotídicas) se realizó en el Laboratorio Biología y Genética Molecular (LBGM) del IIAP, en la Estación Experimental Fernando Alcántara Bocanegra, ubicada en la carretera Iquitos-Nauta km 4.5, distrito de San Juan Bautista, región Loreto, Perú.

Para un mejor entendimiento de la metodología usada para la caracterización molecular, se realizó el siguiente esquema (Figura 4).



**Figura 4:** Esquema metodológico de la caracterización molecular

*FUENTE: Elaboración propia*

### 5.1. EXTRACCIÓN DE ADN

Fue extraído el ADN total de 32 especímenes de *Dipteryx* obtenidos a partir de tejido foliar o cambium (seca y preservadas en silica gel), el método de extracción utilizado fue el de CTAB (Protocolo modificado de Doyle & Doyle 1987) el cual se describe a continuación:

- 1) Pesar y triturar 350mg de hoja en el “Tissuelyser II” y ponerla en un microtubo de 2.0 ml conteniendo 300µl de Buffer de extracción calentado a 60°.
- 2) Completar con 600 µl de buffer de extracción o hasta enrazar hasta 1,0 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 minutos. Centrifugar a 8000 rpm por 5 minutos.
- 5) Tomar 500  $\mu$ l de sobrenadante y ponerlo en un microtubo nuevo de 1,5 ml.
- 6) Agregar 750  $\mu$ l de isopropanol frío, mezclar suavemente por inversión durante 2 minutos. Poner las muestras al congelador por 2 horas.
- 7) Centrifugar a 13000 rpm por 15 minutos. Desechar la parte líquida de la solución cuidadosamente procurando no perder el pellet de ADN en el fondo del tubo.
- 8) Agregar 750  $\mu$ l de etanol al 70%, vortexear. Centrifugar a 13000 rpm por 15 minutos. Desechar la parte líquida cuidando de no perder el pellet de ADN.
- 9) Secar el sedimento en un bloque de calor a 37°C.
- 10) Diluya el precipitado en 30  $\mu$ l de agua ultrapura. Guardar el extracto en el congelador.

## **5.2. VERIFICACIÓN DE LA EXTRACCIÓN**

Para la evaluación de la pureza y concentración aproximada del ADN extraído se usó el método espectrofotométrico de Maniatis *et al.* (1989), que mide las longitudes de ondas de 260 nm y 280 nm. Se utilizó un Biophotometro de la marca Eppendorf, este equipo determina la pureza del ADN extraído por división de las longitudes de ondas de 260 nm y 280 nm., considerándose como ADN puro los que presentaban rangos entre: 1,7-2,0.

Para constatar el grado de fragmentación que presenta el ADN extraído, fue realizado una verificación en electroforesis en gel de agarosa al 0,8%, 3  $\mu$ L del ADN extraído se mezcló con 3  $\mu$ L del buffer de siembra (Gel red). La migración de ADN se realizó en una cámara electroforética horizontal (Marca Bio Rad, modelo Mini Sub Cell GT) conteniendo buffer (TBE 1X). Las condiciones de la corrida electroforética fueron: 100 Voltios (V) por 45 minutos.

La visualización del ADN en gel y el registro de los mismos fueron realizados en un fotodocumentador de luz UV, en un sistema de imagen KODAK, modelo GEL LOGIC 100.

## **5.3. REACCIÓN DE AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIAMIENTO**

A partir del ADN extraído se realizó la amplificación del gen por medio del PCR. Las regiones empleadas corresponden a un fragmento del gen matK y al espaciador intergenico psbA-trnH. La secuencia de los primers utilizados se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3: Secuencias de los primers usados en el género *Dipteryx* Schreb**

<i>Región</i>	<i>Pb</i>	<i>Cebador</i>	<i>Secuencia (5' 3')</i>	<i>Autor</i>
<i>psbA-trnH</i>	300-1000	psbA	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	Shaw et al. 2005
		trnH	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	
<i>MatK</i>	850	1R_KIM	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGTTTC	Ki-Joong Kim <sup>1</sup>
		3F_KIM	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG	

<sup>1</sup>Ki-Joong Kim, School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, Korea, unpublished primers.

Las amplificaciones de la región *matK* se realizó en un volumen final de 10 µl. Se utilizó, 0,5 µl de 10x PCR buffer, 2 µl de 25 mM MgSO<sub>4</sub>, 0,5 µl de 2 mM de dNTPs, 0,8µl de 10 µM de cada primer, 0,4 µl de 1U/µl Taq polimerasa (Hot start) y 1, 3,5 y 1,75 µl de 100 ng/µl de ADN de *D. micrantha* morfotipo 1 (Dm1), *D. micrantha* morfotipo 2 (Dm2) y *D. charapilla* respectivamente, y se completó con agua Milli-Q. Las condiciones de reacción de PCR fueron: desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos de 95°C por 30 segundos (desnaturalización), 56,8°C para Dm1 y 57°C para *D. charapilla* ambos por 30 segundos (hibridación) y 72°C por 1 minuto (elongación). Seguida de una extensión final a 72°C por 5 min. Para Dm2 las condiciones de reacción de PCR fueron: desnaturalización inicial a 94°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos (desnaturalización), 6,1°C por 1,5 minutos (hibridación) y 72°C por 2,5 minutos (elongación). Seguida de una extensión final a 72°C por 7 min.

Las amplificaciones de la región *psbA-trnH* se realizó en un volumen final de 10 µl. Se utilizó para Dm1; 1µl de 10X PCR buffer, 1,2 µl de 25 mM MgSO<sub>4</sub>, 2 µl de 2 mM de dNTPs, 0,9 µl de 10 µM de cada cebador, 0,7 µl de 1U/µl Taq polimerasa (Hot start) y 2,5µl de 100 ng/µl de ADN, se completó con Milli-Q. Para Dm2; 1µl de 10X PCR buffer, 1,2 µl de 25 mM MgSO<sub>4</sub>, 2 µl de 2 mM de dNTPs, 0,8 µl de 10 µM de cada cebador, 0,7 µl de 1U/µl Taq polimerasa (Hot start) y 2,5µl de 100 ng/µl de ADN, se completó con agua Milli-Q. Para *D. charapilla*; 1 µl de 10X PCR buffer, 1 µl de 25 mM MgSO<sub>4</sub>, 2 µl de 2 mM de dNTPs, 1,2µl de 10 µM de cada cebador, 0,7 µl de 1U/µl Taq polimerasa (Hot start) y 1,3µl de 100 ng/µl de ADN, se completó con agua Milli-Q. Las condiciones de reacción de PCR fueron: desnaturalización inicial a 94°C por 1 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos (desnaturalización), 63,5°C para Dm1, 65°C para *D. charapilla* y 60,5°C ambos por 40 segundos (hibridación) y 72°C por 40 segundos (elongación). Seguida de una extensión final a 72°C por 5 min.

La verificación del producto amplificado fue realizada por electroforesis en gel de agarosa al 2%, 3  $\mu$ L del ADN amplificado fue mezclado con 3  $\mu$ L del buffer de siembra (Gel red). La migración de ADN se realizó en una cámara electroforética horizontal (Marca Bio Rad, modelo Mini Sub Cell GT) conteniendo buffer (TBE 1X), las condiciones fueron: 100 Voltios (V) por 30 minutos y fotodocumentado en un sistema de imagen KODAK, modelo GEL LOGIC 100.

El PCR de secuenciamiento fue realizado con el kit comercial de secuenciamiento ABI PRISM Big Dye Terminators v3.1 Cycle Sequencing el cual utiliza el método enzimático de incorporación de desoxinucleótidos marcados con fluorocromos. El volumen final de la reacción fue de 10  $\mu$ l, para el gen matK contenía 6  $\mu$ l del producto de PCR; 2  $\mu$ l de Big dye; 0,8  $\mu$ l de uno de los primers y 1,2  $\mu$ l de agua Milli-Q, para el gen psbA-trnH contenía 3  $\mu$ l del producto de PCR; 2  $\mu$ l de Big dye; 1,3  $\mu$ l de uno de los primers y 3,7  $\mu$ l de agua Milli-Q. Las condiciones de temperatura fueron: desnaturalización inicial a 96°C por 1 minuto, seguida de 30 ciclos consistentes en: 96°C por 15 segundos (desnaturalización), 50°C por 15 segundos (hibridación), 60°C por 4 minutos (extensión), seguida de una extensión final a 72°C por 10 minutos.

La purificación de los productos de secuenciamiento (eliminación de los productos no incorporados durante la PCR), fue realizada por precipitación y limpieza con alcohol. Este proceso consiste en agregar 40  $\mu$ l de isopropanol 65%, dejar a temperatura ambiente por 20 min, posteriormente centrifugar en 4°C a 14000 rpm por 25 min, remover el isopropanol por inversión. Posteriormente lavar el ADN por adición de 200  $\mu$ l de etanol 60% y centrifugación en 4°C a 14000 rpm por 5 min, luego remover el etanol y finalmente, secar al vacío a 45°C por 15 min.

De cada gen estudiado fue obtenido dos secuencias nucleotídicas (sentido senso - Forward y antisense - Reverse) con ayuda de un analizador genético Applied Biosystems ABI3130XL. Las secuencias fueron analizadas con el software Sequencing Analysis v5.3.1. La obtención de las dos secuencias nucleotídicas permitió obtener casi toda la secuencia de la región de interés en las muestras en estudio.

## **6. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.**

### **6.1. PARA LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.**

El análisis morfológico fue realizado en base a 74 muestras botánicas recopiladas de herbarios y colectadas en campo. En total, se trabajó con 10 muestras de *D. charapilla* (Dch), 38 muestras de *D. micrantha* morfotipo 1 (Dm1), 23 muestras de *D. micrantha* morfotipo 2 (Dm2), una muestra tipo de *D. micrantha*, una muestra tipo de *D. charapilla* y una muestra determinada como *D. sp.*

#### **6.1.1. TRANSFORMACIÓN DE DATOS MORFOLÓGICOS**

Los valores de las variables tomados de los foliolos por espécimen fueron promediados, ordenando los datos en una matriz general de datos. Previo al análisis, las variables cuantitativas continuas como las longitudes fueron multiplicadas por 10 y sumadas más 1 en el caso de valores pequeños, y las proporciones fueron multiplicadas por 100. Estas variables y los ángulos se transformaron con logaritmo base 10 (Log10) y la variable cuantitativa discreta (número de foliolos) fue transformada usando la raíz cuadrada ( $\sqrt{x}$ ). Las seis variables cualitativas fueron utilizadas como información complementaria para la descripción morfológica de las especies de *Dipteryx*.

La transformación es deseable para estabilizar la varianza sobre el rango de la variable y mejorar la simetría alrededor de la media y la aproximación a una distribución normal para proporcionar expresiones más naturales de la característica estudiada y para que pueda resultar en un análisis más interpretable.

#### **6.1.2. ANÁLISIS MULTIVARIADO**

Previo al análisis multivariado, se excluyeron 13 individuos con diámetro menor a 15 cm con el fin de enfocar en los individuos maduros con características morfológicas definidas. Asimismo, se realizó una prueba de correlación entre los caracteres para determinar la relación entre ellas y excluir aquellas que estuvieran altamente correlacionadas. Después de la exclusión de algunos individuos y variables, el análisis de datos se realizó utilizando una matriz con 61 especímenes y 22 variables cuantitativas por medio de métodos multivariados de agrupamiento y similitud usando el software PAST versión 3.1 (Hammer et al. 2001).

Primero, los datos fueron analizados usando el análisis de agrupamiento a través de la media aritmética no ponderada (UPGMA) basado en la matriz de disimilitud de Bray-Curtis. Segundo, se realizó el análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Discriminantes

(LDA) utilizando la misma matriz de datos. Además, se realizó el análisis de similaridad (ANOSIM; Clarke 1993) y el análisis multivariado no paramétrico de la varianza (NPMANOVA; Anderson 2001) con 10 000 permutaciones y distancia de Bray-Curtis para evaluar la diferencia significativa entre las tres especies determinadas. Finalmente, se desarrollaron mapas de distribución de las especies de *Dipteryx* definidas para Perú utilizando los 74 especímenes recopilados para el presente estudio.

## **6.2. PARA LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR**

El análisis molecular fue realizado usando 32 especímenes de las 74 muestras botánicas evaluadas en el estudio morfométrico. En total, se trabajó con 6 muestras de *D. charapilla* (Dch), 15 muestras de *D. micrantha* morfotipo 1 (Dm1) y 10 muestras de *D. micrantha* morfotipo 2 (Dm2) y una muestra determinada como *D. sp.*

### **6.2.1. EDICIÓN Y ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS**

Las secuencias brutas (Forward y Reverse) fueron alineadas y editadas con ayuda del programa BioEdit v.7.0.9. (Hall 1999) generando una secuencia consenso para cada espécimen de cada gen. La veracidad de la composición de bases nucleotídicas fue realizada por comparación con el cromatograma de las secuencias analizadas con ayuda del programa Chromas 2.6. Las secuencias consenso de todos los especímenes analizados fueron alineadas en una matriz única y de manera independiente para el gen psbA-trnH y para la región parcial de matK con ayuda del software de alineamiento múltiple ClustalW de Thompson et al. (1994) contenido en el software BioEdit v.7.0.9. Para mantener la homología de las bases nucleotídicas de los especímenes estudiados en la matriz general fue necesario la inserción de espacios o “gaps”. Los extremos de la matriz fueron igualados eliminando las bases nucleotídicas de las secuencias más largas. Una vez obtenidas las secuencias alineadas, estas fueron concatenados en una matriz general usando las dos secuencias obtenidas (psbA-trnH + matK) con la finalidad de aumentar el número de bases nucleotídicas a analizar.

### **6.2.2. ANÁLISIS DE POLIMORFISMO DEL ADN Y DETERMINACIÓN DE HAPLÓTIPOS**

Fueron determinados con ayuda del software DnaSP v.5.00 (Librado & Rozas 2009), el número de Haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), número de sitios variables, número de sitios conservados, número de sitios parsimonia (S). Los análisis fueron realizados para los genes concatenados y para los genes individuales.

### **6.2.3. DETERMINACIÓN DE LOS MODELOS DE EVOLUCIÓN MOLECULAR Y DIVERGENCIA GENÉTICA**

Se determinó el modelo de evolución nucleotídica para la matriz con genes concatenados, a partir de 24 modelos alternativos y de acuerdo con los valores del Criterio de Información Akaike-AIC (Akaike 1973) basado en el Análisis de Filogenia y Evolución (APE), usando el software MEGA 6 (Nei & Kumar 2000, Tamura *et al.* 2013). El mejor modelo de evolución determinado fue Tamura 3 parámetros (T92). Este modelo fue utilizado para estimar las distancias genéticas intra e interespecíficas de los grupos.

### **6.2.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICO**

Las relaciones filogenéticas entre las especies de *Dipteryx* fueron evaluadas con los dos genes concatenados (psbA-trnH + matK). Esta concatenación se realizó no solo con la finalidad de aumentar el número de nucleótidos, sino también el número de sitios variables, así como mejorar el nivel de confianza en los dendrogramas. El análisis se basó en el modelo de evolución Tamura 3 parámetros (T9) previamente determinado. El dendrograma fue construido bajo el criterio de Máxima Verosimilitud-MV o Maximum Likelihood-MLE (Felsenstein 1981). El nivel de confianza fue testado mediante el método no paramétrico bootstrap (Felsenstein, 1985), con 100 réplicas. Para ayudar a determinar la relación evolutiva de los grupos se adicionó una secuencia nucleotídica concatenada con ambos genes de la especie *Dipteryx oleifera*. Estas secuencias pertenecen al mismo individuo y fueron obtenidas del servidor virtual GenBank: GQ982209 (gen psbA-trnH0) y JX295933.1 (gen matK). La secuencia o grupo externo adicionada al análisis está distribuido geográficamente en centro América, desde Nicaragua hasta Colombia, fuera del rango de distribución de las especies de interés.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

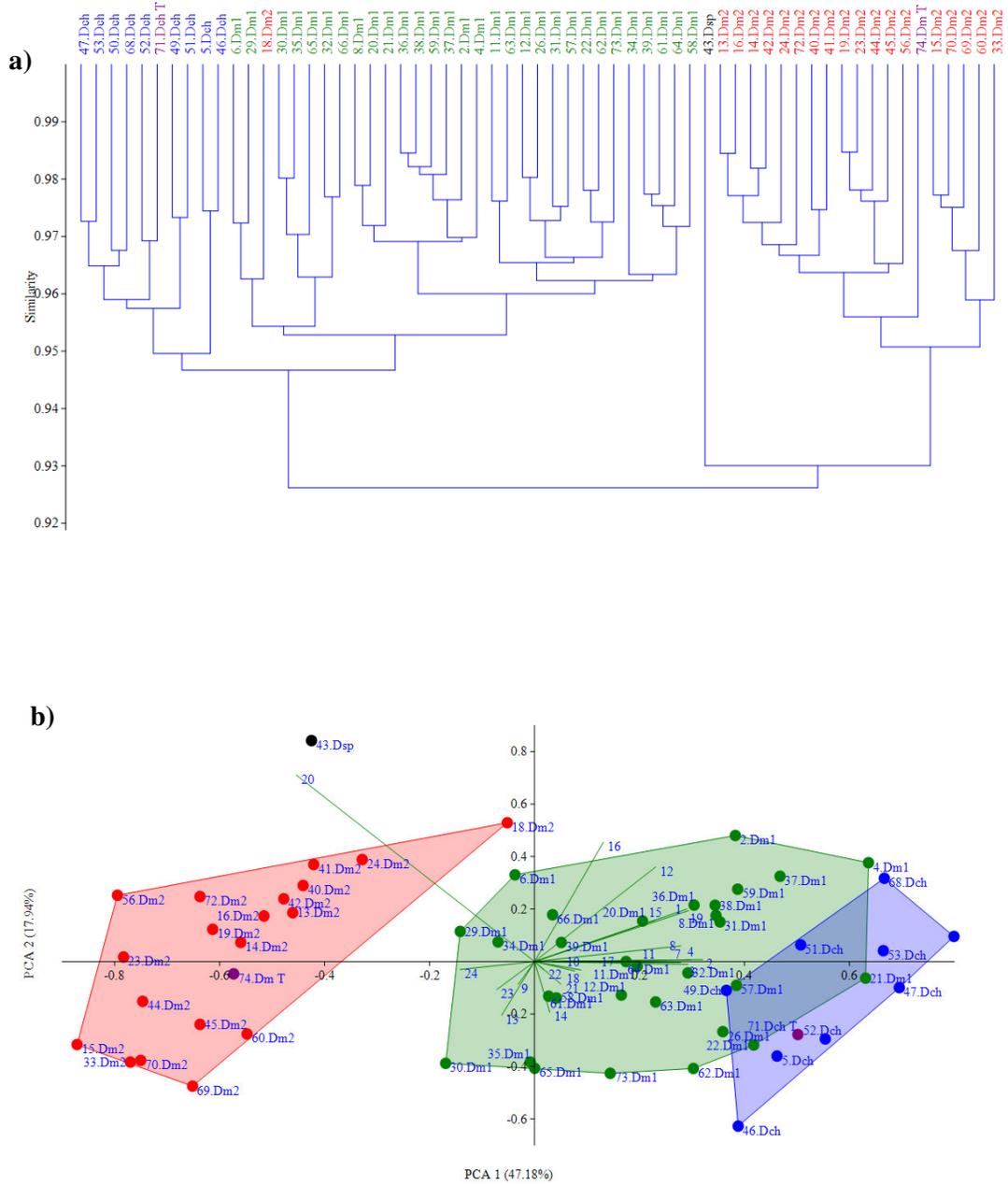
El análisis de correlación de los 24 caracteres mostró que los caracteres del 3 al 8 están fuertemente correlacionados. Sin embargo, los caracteres 3, 4, 7 y 8 ayudan a diferenciar mejor las especies por lo que fueron incluidas en los análisis, y los otros caracteres fueron excluidas. Por lo tanto, los análisis de datos se realizaron con 22 variables cuantitativas (Anexo 2).

#### 1.1. ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

El análisis de agrupamiento (UPGMA), al 0,948 de similitud, muestra que los 61 especímenes de *Dipteryx* están agrupados en tres grandes grupos (Figura 5a). Un grupo que se encuentra formado por especímenes de *D. charapilla* y la muestra tipo de la misma especie (70.Dch), un segundo grupo cercano que contiene las muestras de *D. micrantha* morfotipo 1 y una muestra de *D. micrantha* morfotipo 2 (18.Dm2), y un tercer grupo que incluye los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 2 y la muestra tipo de la especie (73.DmT).

#### 1.2. ANÁLISIS DE ORDENACIÓN

En el análisis de ordenación (PCA), los cuatro primeros componentes explican el 82,5% de la variación, obteniendo los dos primeros componentes el 47,2% y 17,9%, respectivamente (Figura 5b). En el primer componente resalta la cercanía entre los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 1 y *D. charapilla*, y estos a su vez fueron más distantes a los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 2. Los caracteres más importantes que explicaron la variación del primer componente fueron el ancho del foliolo (Valor de correlación:  $r = 0,97$ ) y la longitud del foliolo (0,90); mientras distancia entre foliolos (0,87), longitud del peciolulo (0,82) y número de foliolos por hoja (-0,70) fueron también importantes. Longitud de raquis (0,80) y la proporción entre ancho y longitud del foliolo (-0,74) fueron más importantes para el segundo componente, y extensión de base (0,87) fue importante para el tercer componente (Tabla 4, Anexo 3).



(a) agrupamiento UPGMA y (b) ordenación PCA de 61 especímenes de *Dipteryx* de la Amazonia Peruana y basados en 22 caracteres morfológicos. *Dipteryx micrantha* morfotipo 1 (verde), *D. micrantha* morfotipo 2 (rojo) y *D. charapilla* (azul). Códigos 71 y 74 corresponden a muestras tipo de *D. charapilla* (Schunke 362) y *D. micrantha* (Tessman 4967), respectivamente, y 43 a un espécimen de *Dipteryx* sp.

**Figura 5: Análisis de agrupamiento UPGMA y ordenación PCA de 61 especímenes de *Dipteryx*.**

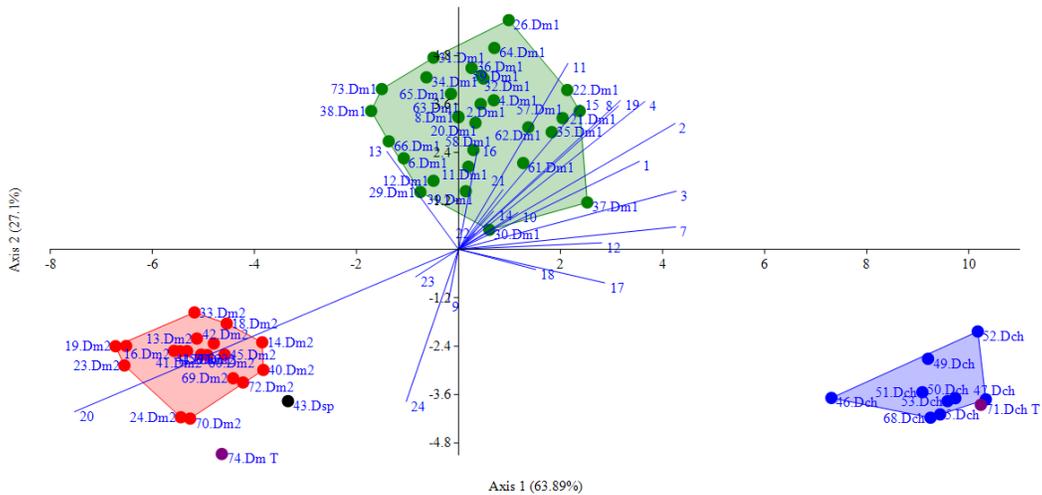
**Tabla 4: Resultados de los cuatro primeros componentes del análisis de ordenación de 61 especímenes de *Dipteryx* en la Amazonia peruana, considerando 22 caracteres.**

<i>ID</i>	<i>Carácter</i>	<i>PC 1</i>	<i>PC 2</i>	<i>PC 3</i>	<i>PC 4</i>
1	Longitud de foliolo	0,90	0,38	0,03	0,03
2	Ancho del medio del foliolo	0,97	0,01	0,10	0,01
3	Ancho menor del tercio superior del foliolo	0,92	-0,02	0,13	0,13
4	Ancho mayor del tercio superior del foliolo	0,91	0,01	0,21	-0,11
7	Ancho menor del tercio basal del foliolo	0,89	-0,01	0,11	0,24
8	Ancho mayor del tercio basal del foliolo	0,92	0,12	0,18	-0,08
9	Extensión de base	-0,08	-0,14	0,87	0,34
10	Ancho del peciolulo	0,44	-0,10	0,27	0,17
11	Longitud de peciolulo	0,82	-0,01	0,22	-0,40
12	Longitud de ápice	0,51	0,49	-0,41	0,46
13	Longitud peciolulo/Longitud foliolo	-0,27	-0,54	0,22	-0,53
14	Ancho / Longitud del foliolo	0,18	-0,74	0,15	-0,05
15	Longitud de peciolo	0,67	0,28	0,18	-0,32
16	Longitud de raquis	0,37	0,80	0,13	-0,25
17	Ancho de raquis medio	0,50	0,00	0,22	0,45
18	Ancho de ala medio	0,39	-0,11	0,07	0,35
19	Distancia promedio entre foliolos	0,87	0,36	0,00	-0,20
20	Numero de foliolos por hoja	-0,70	0,67	0,19	-0,02
21	Desplazamiento vena media	0,26	-0,27	-0,14	-0,22
22	Proporción basal/apical	0,15	-0,17	0,10	-0,17
23	Promedio de ángulo de base	-0,39	-0,35	0,65	0,27
24	Ancho / Longitud peciolulo	-0,56	-0,07	-0,03	0,57
	Eigenvalor	0,227	0,086	0,046	0,038
	% varianza	47,18	17,95	9,52	7,84
	% varianza acumulada	47,18	65,13	74,65	82,49

### 1.3. ANÁLISIS DISCRIMINANTE

El análisis discriminante (LDA) define claramente los tres grupos de *Dipteryx* definidos; y donde el espécimen 73 correspondiente a la muestra tipo de *D. micrantha* y el espécimen 42 dejado como indeterminado fueron más similares a *D. micrantha* morfotipo 2, y el espécimen 70 correspondiente a la muestra tipo de *D. charapilla* fue más similar a los especímenes de *D. charapilla*. El primer eje discriminante es responsable del 63,8% de la variación total, y fue determinado principalmente por el número de foliolos (Valor de varianza: -0,05) y el ancho del foliolo (0,03). El segundo eje, responsable del 27,1% de la variación total, fue determinado por la longitud del peciolulo (0,03); mientras el tercer eje, responsable del 5,6%, fue determinado por ancho de raquis (0,05) y ancho de ala medio

(0,03) (Figura 6, Anexo 4). Además, el análisis detectó que un 93,4% (57 especímenes) de los especímenes de *Dipteryx* se clasificaron correctamente y el 6,6% (4 especímenes) se clasificó como otra especie de *Dipteryx* que el asignado en el estudio (Anexo 5). En este caso, tenemos a las muestras tipo de *D. charapilla* (71.Dch-T) y *D. micrantha* (74.Dm-T) siendo estos especímenes clasificados como *D. charapilla* y *D. micrantha* morfotipo 2 respectivamente, y a los especímenes 41 y 43 que tienen diámetro de 18,5 y 18,1 respectivamente que se clasificaron como *D. sp* y *D. micrantha* morfotipo 2.



**Figura 6:** Gráfico de dispersión que muestra los dos primeros ejes del Análisis Discriminante (LDA) basado en 22 medidas morfológicas cuantitativas de especies de *Dipteryx*.

#### 1.4. ANÁLISIS DE SIMILITUD

Los especímenes 74, 43 y 71 fueron asignados a los grupos correspondientes (74 y 43 a *D. micrantha* morfotipo 2 y 71 a *D. charapilla*) antes de realizar los análisis de ANOSIM y PERMANOVA. Estos análisis muestran que hay diferencia significativa entre los tres grupos (Tabla 5), habiendo cierta distancia y diferencia significativa entre los dos morfotipos de *D. micrantha* (RANOSIM = 0,81, FPERMANOVA = 37,1; ambos  $p < 0,001$ ) y entre *D. micrantha* morfotipo 2 y *D. charapilla* (RANOSIM = 0,94, FPERMANOVA = 37,6; ambos  $p < 0,001$ ).

Las diferencias morfológicas cuantitativas y cualitativas de los tres grupos formados se resumen en la tabla 6 utilizando los valores promedios de los 61 especímenes utilizados en

los diferentes análisis, y en la figura 7 se muestra una imagen representativa por grupo formado.

**Tabla 5: Resultados de ANOSIM y NPMANOVA probando la consistencia de los grupos de *Dipteryx* en la Amazonía Peruana.**

N°	Especie	1	2	3
1	<i>D. charapilla</i>		0,5736 (0,0003)	0,9377 (0,0003)
2	<i>D. micrantha</i> morfotipo 1	10,26 (0,0003)		0,8097 (0,0003)
3	<i>D. micrantha</i> morfotipo 2	37,58 (0,0003)	37,13 (0,0003)	

Los valores R de ANOSIM se dan por encima de la diagonal y los valores F de PERMANOVA se dan por debajo de la diagonal. Los números entre paréntesis son valores de *p* corregidos por Bonferroni.

**Tabla 6: Comparación morfológica de las especies de *Dipteryx* presentes en la Amazonía Peruana**

Carácter	<i>D. micrantha</i>	<i>D. micrantha</i>	<i>D. charapilla</i>
	morfotipo 1 (Dm1)	morfotipo 2 (Dm2)	
Foliolo	Elíptico-ovalado	Oblongo- alargado	Ovalado
Nervadura del foliolo	Eucamptódroma	Oblongo- elíptico	Elíptico-ovalado
Borde del foliolo	Eucamptódroma	Eucamptódroma	Eucamptodroma
Borde del foliolo	Entero	Entero	Entero
Base del foliolo	Redonda a obtusa	Redonda a cordada	Redonda
Ápice del foliolo	Ampliamente acuminado	Ampliamente acuminado	Cuspidado
Foliolos basales	Opuestos	Opuestos	Alternos
Número de foliolos	7 (6 – 10)	10 (8 – 12)	6 (5 – 8)
Longitud de foliolo	11,6 cm (6,3 – 22,4 cm)	7,4 cm (4,5 – 13,1 cm)	14,4 cm (8,9 – 21,3 cm)
Ancho de foliolo	5,4 cm (3,4 – 8,0 cm)	3 cm (2,2 – 4,6 cm)	6,8 cm (4,9 – 8,5 cm)
Longitud de peciolulo	0,6 cm (0,4 – 0,8 cm)	0,3 cm (0,2 – 0,5 cm)	0,5 cm (0,4 – 0,6 cm)
Ancho de peciolulo	0,2 cm (0,1 – 0,3 cm)	0,2 cm (0,1 – 0,2 cm)	0,2 cm (0,1 – 0,3 cm)
Distancia entre foliolos	4,0 cm (2,0 – 6,8 cm)	2,3 cm (1,2 – 4,2 cm)	4,2 cm (1,8 – 6,5 cm)
Longitud del raquis	13,3 cm (5,7 – 22,8 cm)	10,9 cm (5,2 – 19,1 cm)	10,8 (5,5 – 15,2 cm)

Continuación Tabla 6

Carácter	<i>D. micrantha</i>	<i>D. micrantha</i>	<i>D. charapilla</i>
	morfotipo 1 (Dm1)	morfotipo 2 (Dm2)	
Color de la flor	Lilas	Rosadas	Fucsia
Longitud de flor	1,3 cm (1,0 – 1,5 cm)	0,8 cm (0,6 – 1,1 cm)	2,7 cm (2,2 – 3,0 cm)
Longitud de pedicelo	0,2 cm (0,2 – 0,3 cm)	0,1 cm (0,1 – 0,2 cm)	0,5 cm (0,4 – 0,6 cm)
Longitud de cáliz	0,2 cm (0,2 – 0,3 cm)	0,2 cm (0,1 – 0,2 cm)	0,4 cm (0,2 – 0,6 cm)
Longitud de corola	0,9 cm (0,6 – 1,0 cm)	0,5 cm (0,3 – 0,7 cm)	1,7 cm (1,4 – 1,9 cm)

### 1.5. DISTRIBUCIÓN MORFOLOGICA

Los resultados del análisis morfológico muestran que *D. micrantha* morfotipo 1 tiene amplia distribución y ocurre en los departamentos de Loreto (zona sur), Ucayali, Madre de Dios y Huánuco (Figura 7a); *D. micrantha* morfotipo 2 ocurre en Loreto y Ucayali (Figura 7b); y *D. charapilla* en Perú está restringida al departamento de Loreto donde existen reportes en las localidades de Jenaro Herrera, Puerto Almendras y Río Mazán (Figura 7c).

a) *Dipteryx micrantha* morfotipo 1



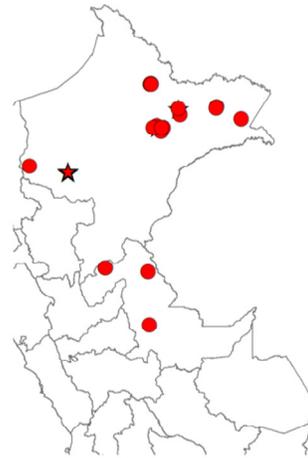
*G. Hidalgo s.n.*



b) *Dipteryx micrantha* morfotipo 2



*G. Hidalgo s.n.*



c) *Dipteryx charapilla*



*G. Flores 173*



Las estrellas en los mapas representan los especímenes con diámetro menor a 15 cm que no fueron utilizados en los análisis multivariados.

**Figura 7: Morfología y distribución geográfica de las especies de *Dipteryx* en Perú.**

## 2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.

En total se obtuvieron 32 secuencias de *matK* y 32 secuencias de *psbA-trnH* correspondientes a las tres especies de *Dipteryx* estudiadas en la caracterización morfológica y una secuencia de la especie *Dipteryx oleifera* obtenida de GenBank, dando un total de 33 secuencias.

### 2.1. POLIMORFISMO DEL ADN

Las secuencias obtenidas de *matK* representan un segmento de este gen localizado entre la posición 516 y 1287 del gen completo de la especie *D. odorata* (Código GenBank: JX295898). Por lo tanto, las secuencias que se obtuvieron presentan 772 pares de bases nucleotídicas. Mientras, las secuencias obtenidas del gen *psbA-trnH* representan la región completa de este gen, con una longitud de 546 pares de bases nucleotídicas.

La información obtenida de las secuencias para los genes *matK* y *psbA-trnH* se presentan en la tabla 7. El gen *matK* presenta 4 sitios variables, siendo todos informativos, mientras el gen *psbA-trnH* presenta 57 sitios variables, siendo 35 sitios informativos. En cuanto a haplotipos, el gen *matK* presentó 5, en tanto que el gen *psbA-trnH* presentó 7. Cuando las secuencias de ambos genes fueron analizadas juntas el número de haplotipos fue 10, observándose también un aumento en la diversidad haplotípica, el número de sitios variables y los sitios informativos.

**Tabla 7: Parámetros genéticos para los marcadores moleculares *matK* y *psbA-trnH* de las especies estudiadas del género.**

<b>Parámetro Genético</b>	<b><i>matK</i></b>	<b><i>psbA-trnH</i></b>	<b><i>psbA-trnH + matK</i></b>
N° de secuencias (N)	32	32	32
N° de haplotipos (H)	5	7	10
Diversidad haplotípica (Hd)	0,7117	0,7379	0,7863
Número de bases nucleotídicas	772	547	1319
N° total de sitios (Excluyendo gaps)	771	381	1152
Número de sitios variables	4	57	61
Número de sitios conservados	767	488	1255
Sitios informativos parsimonia (P)	4	35	39

## 2.2. VARIABILIDAD GENÉTICA DEL GEN PSBA-TRNH + MATK

### 2.2.1. PROPORCIÓN DE HAPLOTIPOS

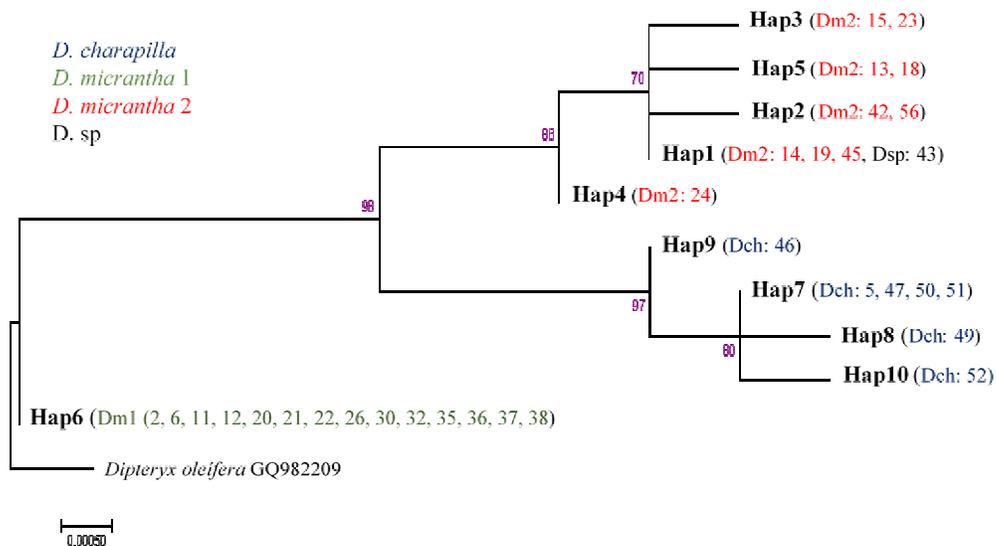
Cuando concatenados las dos regiones analizadas de los 32 individuos evaluados se encontraron diez haplotipos. *Dipteryx micrantha* morfotipo 1 fue la menos variable, mostrando un solo haplotipo (Hap6); entanto que *Dipteryx micrantha* morfotipo 2 fue la mas varible con cinco haplotipos. No se observo ningún haplotipo compartido entre las especies (Tabla 8).

**Tabla 8: Proporción de haplotipos del gen psbA-trnH+matK de todos los individuos analizados.**

<i>Especie</i>	<i>Haplotipos</i>	<i>H</i>	<i>Especímenes</i>
<i>Dipteryx micrantha</i> <i>morfotipo 1</i>	Hap6	14	2.Dm1, 6.Dm1, 11.Dm1, 12Dm1, 20.Dm1, 21.Dm1, 22.Dm1, 26Dm1, 30.Dm1, 32.Dm1, 35.Dm1, 36.Dm1, 37.Dm1, 38.Dm1
<i>Dipteryx micrantha</i> <i>morfotipo 2</i>	Hap3	2	15.Dm2, 23.Dm2
	Hap5	2	13.Dm2, 18.Dm2
	Hap2	2	42.Dm2, 56.Dm2
	Hap1	4	14.Dm2, 19.Dm2, 45.Dm2, 43.Dsp
	Hap4	1	24.Dm2
<i>Dipteryx charapilla</i>	Hap9	1	46.Dch
	Hap7	4	5.Dch, 47.Dch, 51.Dch, 50.Dch,
	Hap8	1	49.Dch
	Hap10	1	52.Dch

### 2.2.2. RELACIÓN FILOGENÉTICA

El dendograma obtenido muestra que los 32 individuos de *Dipteryx* analizados mas el grupo externo, se encuentran conformando tres grupos genéticos diferentes: el primer grupo conformado por los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 2 (bootstrap = 86%), el segundo grupo constituido por todos los especímenes de *D. charapilla* (bootstrap = 97%). Estos dos grupos presentan un ancestro común que es diferente al ancestro del grupo tres, que está constituido por los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 1. Este último grupo está más relacionado con *D. oleífera* (utilizado como grupo externo) que con los grupos dos primeros grupos (Figura 8).



**Figura 8:** Árbol filogenético de Máximo likelihood con modelo T92 y bootstrap de 100 repeticiones del gen psbA-trnH+matK.

### 2.2.3. DISTANCIA GENÉTICA INTRA E INTERESPECÍFICAS

Las distancias genéticas tanto a nivel intraespecífico como a nivel interespecífico fueron mayores de cero, a excepción de *D. micrantha* morfotipo 1, que presentó una distancia intraespecífica nula ( $D = 0$ ), debido a que todos los individuos analizados comparten un único haplotipo. La distancia genética interespecífica de las especies *D. micrantha* morfotipo 1 y *D. micrantha* morfotipo 2 fue menor ( $D = 6,545$ ) a la estimada entre las otras combinaciones entre especies, y siendo la variación mayor ( $D = 8,143$ ) entre *D. charapilla* y *D. micrantha* morfotipo 2 (Tabla 9).

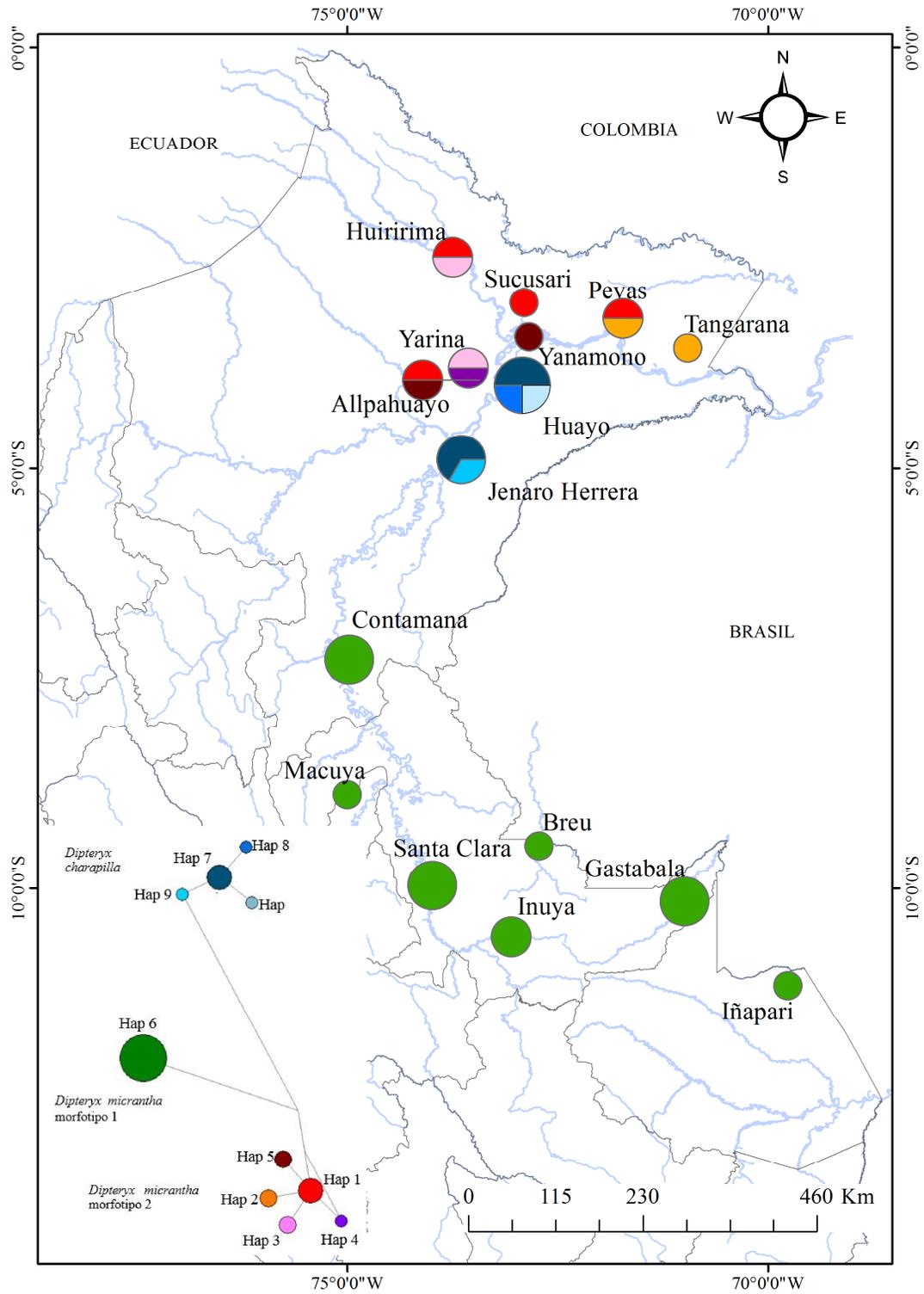
**Tabla 9:** Distancia genética intraespecífica e interespecífica de los grupos de *Dipteryx* con bootstrap de 100 repeticiones del gen psbA-trnH + matK.

N°	Especie	1	2	3	4
1	<i>D. charapilla</i>	0,857	8,143	6,688	9,143
2	<i>D. micrantha</i> morfotipo 1		0,0000	6,545	1
3	<i>D. micrantha</i> morfotipo 2			1,164	7,545
4	<i>D. oleifera</i>				-

Los valores en la diagonal representan la divergencia genética intraespecífica, los valores en la región superior representan la divergencia genética interespecífica.

### **2.3. DISTRIBUCIÓN MOLECULAR**

Los haplotipos de los tres grupos genéticos identificados se encuentran distribuidos en la amazonía peruana, el haplotipo de *D. micrantha* morfotipo tiene amplio rango de distribución encontrándose en los departamentos de Loreto, Ucayali y Madre de Dios; los haplotipos de *D. micrantha* morfotipo 2 se encuentra distribuido al norte de Loreto; y los haplotipos de *D. charapilla* tiene una distribución restringida y localizada en las localidades de Jenaro Herrera y Puerto Almendras (Arboreto El Huayo), en el departamento de Loreto (Figura 9).



El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos por cada haplotipo, construido con las 32 secuencias de *Dipteryx*.

**Figura 9: Red de Haplotipos psbA-trnH+matK y su distribución en la Amazonia Peruana.**

### 3. DISCUSIONES

#### 3.1. DE LOS RESULTADOS MORFOMÉTRICOS

Los resultados de los análisis morfométricos muestran consistentemente la presencia de tres grupos morfológicos distintos de *Dipteryx* en la Amazonía Peruana: *D. micrantha* morfotipo 1, *D. micrantha* morfotipo 2 y *D. charapilla*. Los dos morfotipos de *D. micrantha* son considerados como taxones diferentes. A simple vista, el morfotipo 1 pareciera corresponder a individuos de *D. micrantha* con características vegetativas de mayor tamaño que el morfotipo 2, esto estaría concordando con los resultados obtenidos por Pariente (2017), el cual menciona que *D. alata* y *D. micrantha* en base al patrón de nervaduras forman un único grupo sin diferencia dentro del mismo, sin embargo, la proporción encontrada en este estudio entre los caracteres es diferente entre los morfotipos definiendo formas particulares en las hojas y en las flores, además *D. micrantha* morfotipo 2 presenta mayor similitud morfológica al Tipo de *D. micrantha*. *D. micrantha* morfotipo 1 presenta generalmente 3 pares de foliolos elípticos (5,4 cm x 11,6 cm) con flores de 1,3 cm de longitud promedio (1,0 a 1,5 cm) y *D. micrantha* morfotipo 2 presenta 5 pares de foliolos alargados (3,0 cm x 7,4 cm) con flores de 0,8 cm de longitud promedio (0,6 a 1,1 cm). La superposición de caracteres en algunos individuos de los dos morfotipos muestra la plasticidad fenotípica de la especie *D. micrantha* potencialmente relacionada a la adaptación a ambientes heterogéneos de la Amazonía peruana (Pedroso et al. 2010).

Los morfotipos de *D. micrantha* difieren considerablemente de *D. charapilla* que presenta generalmente tres pares de foliolos ovalados (6,8 cm x 14,4 cm) con flores de 2,2 a 3,0 cm de longitud, y además en el estudio realizado por Pariente (2017) también se puede observar esta diferenciación morfológica entre ambos grupos. Los caracteres morfológicos evaluados en los especímenes recopilados en el presente estudio no coinciden con las descripciones originales de *D. alata* o *D. odorata*, correspondiendo potencialmente estos nombres a determinaciones equívocas en especímenes colectados en Perú. *Dipteryx alata* podría confundirse vegetativamente con *D. micrantha* morfotipo 2 porque ambas especies presentan foliolos alargados. Sin embargo, los especímenes de *D. alata* revisados en los herbarios virtuales presentan 6 a más pares de foliolos y frutos globosos (4 cm x 5 cm), mientras *D. micrantha* morfotipo 2 presenta 4-6 pares de foliolos y frutos elípticos (3 cm x 5 cm). Además, los lugares de colecta sugieren que estas especies prefieren condiciones ecológicas diferentes; mientras *D. alata* ocurre en bosques de savanna del sureste de Brasil y Bolivia, *D. micrantha* ocurre en los bosques húmedos amazónicos (Barham 2005).

En el caso de *D. odorata*, esta especie podría fácilmente confundirse con *D. charapilla* debido a que ambas especies presentan 6-8 foliolos, foliolos coriáceos y basales alternos, sin embargo, *D. charapilla* se diferencia por la base redonda de los foliolos, ápice cuspidado y flores más grandes que las presentes en *D. odorata* que cuenta con base marcadamente asimétrica y ápice acuminado (Linneo 1800). La cercanía en la descripción morfológica de *D. charapilla* con *D. rosea* reportada para Brasil sugiere potencialmente la presencia de sinonimia entre estas especies, aunque Macbride hace notar que son especies diferentes debido al tamaño de las flores (Macbride 1943). En el caso de *D. ferrea*, esta especie es considerada actualmente un nombre sinónimo de *D. micrantha*, y en base a los resultados *D. férrea* podría ser considerada como *D. micrantha* morfotipo 2, sin embargo, necesita estudios taxonómicos que permitan corroborar esta información.

Cabe resaltar que existe variación en el tamaño de los foliolos de las especies de *Dipteryx* reportadas en Perú. Más aún los individuos pequeños, con diámetro menor a 15 cm, presentan mayor variación en las variables medidas como la longitud y ancho del foliolo. Los individuos pequeños, que se encuentran bajo el dosel o en estado juvenil presentan mayor tamaño foliar que los individuos que se encuentran sobre el dosel o los árboles senescentes, siendo estos eliminados antes de realizar los análisis para evitar el efecto de edad y disponibilidad de luz en los resultados (Morales et al. 1992, Bruschi et al. 2003, Puntieri et al. 2001, Louman 2001, Raven et al. 1992). La importancia de las flores y frutos en estudios taxonómicos han sido de mucha ayuda al identificar especies de *Dipteryx* que se encuentran cercanamente emparentadas (Macbride 1943, Francisco 2010). Es así, que en este estudio se realizó el seguimiento de algunos individuos en campo para poder obtener la descripción morfológica de las flores y los frutos que resultaron ser marcadamente diferentes entre las especies.

Los resultados también muestran que las especies de *Dipteryx* en Perú tienen distribución geográfica distinta (Figura 7). *D. micrantha* se encuentra distribuido en los países de Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y en Perú encontramos que *D. micrantha* morfotipo 1 tiene amplia distribución y ocurre en los departamentos de Loreto (zona sur), Ucayali, Madre de Dios y Huánuco; *D. micrantha* morfotipo 2 ocurre en Loreto y Ucayali; y *D. charapilla* se encuentra en los países de Brasil, Colombia, Venezuela y en Perú está restringida al departamento de Loreto donde existen reportes en las localidades de Jenaro Herrera, Puerto Almendras y Río Mazán. Cabe resaltar que las tres especies de *Dipteryx*

ocurren en el departamento de Loreto, siendo este departamento la región más diversa para el género. En relación a los resultados, es posible considerar *D. alata* y *D. micrantha* del estudio de Pariente (2017) corresponde a los morfotipos 1 y 2 respectivamente.

Por mucho tiempo se ha creído que *Dipteryx odorata* es la especie del género *Dipteryx* con mayor extracción y exportación del Perú, es así que el Ministerio de Agricultura a través del SERFOR incluye en la lista de especies maderables a *Dipteryx odorata* y *Coumarouna odorata*, bajo los nombres comunes de *charapilla* y shihuahuaco, respectivamente. Sin embargo, la revisión exhaustiva de más de 70 especímenes de herbario demuestra que la especie *D. odorata* o *C. odorata* no han sido aún reportada en Perú, resultado que concuerda con el estudio realizado por Pariente (2017), y potencialmente, estos nombres son erróneamente utilizados para nombrar los especímenes de *D. charapilla* (Brako & Zarucchi 1993, Spichiger et al. 1989), o a nivel comercial a los dos morfotipos de *D. micrantha*. Basándose en los volúmenes extraídos a nivel de departamento en el año 2016, podemos indicar que *D. micrantha* morfotipo 1 es probablemente la especie de mayor extracción en el Perú, proveniente de los departamentos de Ucayali y Madre de Dios con volúmenes de 17 mil metros cúbicos y 126 mil m<sup>3</sup>, respectivamente (SERFOR 2016). La extracción en Loreto es también alta (47 mil m<sup>3</sup>) y probablemente corresponde a la extracción de ambos morfotipos de *D. micrantha*. Otros departamentos registrados con extracción de madera de *Dipteryx* son Pasco (162 m<sup>3</sup>), Junín (125 m<sup>3</sup>) (SERFOR 2016).

### **3.2. DE LOS RESULTADOS MOLECULARES.**

Los análisis moleculares son herramientas valiosas para la discriminación de especies taxonómicas cuando los caracteres morfológicos sinópticos presentan sobreposiciones o no están bien delimitados, lo que impide la discriminación precisa de las especies (Hebert *et al.* 2003, Kress 2017). Las secuencias nucleotídicas son utilizadas para la discriminación de plantas a diferentes niveles taxonómicos, debido a que pueden contener suficiente variación y ofrecer elementos nuevos y esclarecedores para resolver tales cuestiones (Kress *et al.* 2009, 2010, Cardoso *et al.* 2012, 2013, 2015). En la discriminación de las especies peruanas del género *Dipteryx* utilizamos la combinación de dos regiones del genoma (genes *matK* y *psbA-trnH*). Cuando analizado por separado, el gen *matK* fue mostrado ser una región muy conservada entre los taxa estudiados, no siendo muy eficaz en la discriminación de las especies de *Dipteryx* peruanas. Dos de las tres especies analizadas (*D. micrantha* morfotipo 1 y *D. charapilla*) compartieron el mismo haplotipo (Hap4), inclusive este haplotipo era

compartido una especie Centroamericana del género *Dipteryx* (*D. oleífera*, grupo externo en el presente estudio). La secuencia nucleotídica de este gen tampoco logró discriminar las especies del género *Dipteryx* en un estudio realizado en Brasil (Francisco 2010). No en tanto, fue muy eficaz en la discriminación entre géneros dentro de la tribu Dipterygeae: *Taralea*, *Pterodon* y *Dipteryx* (Francisco 2010, Cardoso et al. 2012, 2015), mostrando ser eficiente en la discriminación de géneros dentro de esta tribu. A pesar que matK no podría ser utilizado como código de barras para *Dipteryx*, este gen ha sido utilizado para identificar especies de los géneros *Cassia* y *Dalbergia* cuando fue utilizado en combinación con genes como rbcL, psbA-trnH, ITS (Purushothaman et al. 2014, Hartvig et al. 2015). Así mismo, el gen psbA-trnH demostró que a pesar de ser una cadena corta tuvo más sitios informativos que el gen matK. Esto coincide con otros estudios, donde se demostró que este gen tiene un gran potencial para identificar especies dentro de la familia Fabaceae (Gao et al. 2013, Miller et al. 2003). Además, su potencial en la discriminación de especies puede ser incrementado cuando el gen es usado complementariamente con otros genes como matK o rbcL (Costion et al. 2011, Kress et al. 2009, 2010). Debido a todos estos precedentes en el presente estudio se utilizó la combinación psbA-trnH + matK, para lograr potencializar el número de caracteres informativos y así poder discriminar las especies peruanas de *Dipteryx*.

Cabe mencionar, que la obtención de las secuencias del gen matK se realizó con menos dificultad que el gen psbA-trnH. Para poder secuenciar adecuadamente y con eficiencia el gen psbA-trnH es necesario que el producto de la extracción de ADN sea de buena calidad y con pocas impurezas.

*D. oleífera* es una especie de centro América, ámbito biogeográfico que ha completado su levantamiento geográfico hace 5-3 Ma, y los grupos de *Dipteryx* estudiados se encuentran en las formaciones geológicas del centro y norte de Suramérica (los Andes, la cuenca del Amazonas, la del Orinoco, y los escudos geológicos Guayanense y Brasileño) el cual ha dominado el relieve desde hace 245-208 Ma (Reynel et al. 2003). A pesar de la diferencia temporal se asume que *D. oleífera* es el taxón ancestral dentro de análisis debido a que esta especie no está presente en el rango de distribución de las especies de interés.

La filogenia inferida con el análisis de likelihood obtenida a partir del modelo de evolución molecular T92 (Tamura, 1992) muestra que las especies peruanas del género *Dipteryx* están conformando tres grupos genéticos diferentes y que estos son correspondientes a los grupos

determinados en los análisis morfométricos, donde los especímenes de *D. micrantha* morfotipo 1 conforman un primer grupo, *D. micrantha* morfotipo 2 un segundo grupo y *D. charapilla* un tercer grupo. Los resultados del análisis filogenético muestra que los dos morfotipos de *D. micrantha* no forman un grupo monofilético, ellos tienen otras entidades taxonómicas entre sí, para que ellos sean considerados como grupo monofilético tienen que tener un ancestro común, en este caso vemos que *D. micrantha* morfotipo 2 y *D. charapilla* son los taxa que comparten un antecesor y que este es distinto al ancestro de *D. micrantha* morfotipo 1, esto muestra que *D. micrantha* morfotipo 1 presenta un origen distinto a los grupos antes mencionados.

Además el hecho que *D. micrantha* morfotipo 1 este filogenéticamente más relacionada a otra entidad taxonómica no descrita para el Perú (*D. oleifera*) que a *D. micrantha* morfotipo 2; y que la distancia genética entre ambos morfotipos de *D. micrantha* sea mucho mayor (6,546) que la estimada entre *D. micrantha* morfotipo 1 y *D. oleifera*, indican que los dos morfotipos de *Dipteryx* en la Amazonia Peruana no solo son morfológica y morfométricamente diferentes, sino que también forman entidades genéticas distintas. *D. micrantha* morfotipo 1 comparte un ancestro común con *D. oleifera* mostrando que son especies hermanas de un mismo grupo monofilético. Estos dos grupos monofiléticos (*D. micrantha* morfotipo 2 con *D. charapilla* y *D. micrantha* morfotipo 1 con *D. oleifera*) tienen tasas de evolución diferente, siendo que el evento de especiación de *D. micrantha* morfotipo 1 y *D. oleifera* es un evento anterior al de *D. micrantha* morfotipo 2 y *D. charapilla*. Podemos considerar que *D. micrantha* morfotipo 1 es un grupo basal y más antiguo del género *Dipteryx* en la Amazonía Peruana, debido a que su ancestro esta al nodo del cual deriva el ancestro de los otros dos *Dipteryx* peruanos. La presencia de un solo haplotipo en *D. micrantha* morfotipo 1 quizá pueda deberse a que tenemos un número limitado de individuos en nuestros análisis y que, al incorporar un mayor número de especímenes, podremos tener una mayor variación genética dentro del morfotipo. O quizá estemos en el borde de la distribución de este grupo genético y estaríamos ante un efecto fundador o por último quizá se trate de un morfotipo bien antiguo que por efecto de la deriva genética ha fijado un solo haplotipo. Es probable que estos dos grupos monofiléticos hayan quedado aislado debido a los procesos geológicos históricos que modelaron la Amazonía hasta la actualidad como son el surgimiento de la cadena montañosa de sierra de divisor que se levantó en la región de Ucayali en la época del Pleistoceno y que dio origen al aislamiento de las poblaciones de algunas especies (Reynel et al. 2013)

Todo esto nos muestra que la taxonomía del género *Dipteryx* tiene que ser revisada en la Amazonía peruana, debido a que esta subestimando la diversidad específica del género al considerar solo dos entidades taxonómicas (*D. micrantha* y *D. charapilla*) donde hay tres. Así mismo es probable que *D. micrantha* morfotipo 2 y *D. charapilla* sean especies endémicas del Perú que tienen un origen reciente en la historia evolutiva del género.

## V. CONCLUSIONES

- 1) Encontramos tres grupos morfológica y genéticamente diferenciados de *Dipteryx* en la Amazonía Peruana: *D. micrantha* morfotipo 1 distribuido en los departamentos de Loreto, Ucayali, Madre de Dios, Huánuco y Pasco; *D. micrantha* morfotipo 2 distribuido en los departamentos de Loreto y Ucayali; y *D. charapilla* reportado solo en dos localidades del departamento de Loreto.
- 2) Los caracteres morfológicos más resaltantes que diferencian estas tres especies fueron *D. micrantha* morfotipo 1 con 3 a 5 pares de foliolos, foliolos de 5,4 cm x 11,6 cm en promedio, flor color lila con longitud de 1 a 1,5 cm. *D. micrantha* morfotipo 2 con 4 a 6 pares de foliolos, foliolos 3,0 cm x 7,4 cm en promedio, flor color rosada con longitud de 0,6 a 1,1 cm. *D. charapilla* con 3 a 4 pares de foliolos, foliolos de 6,8 cm x 14,4 cm, flor de color fucsia con logitud de 2,2 a 3 cm.
- 3) En el análisis molecular, el gen psbA-trnH presentó la mayor cantidad de sitios informativos entre los grupos, siendo este gen combiando con matK sugeridos como ADN barcode para discriminar las especies de *Dipteryx* en el Perú.
- 4) La revisión de los especímenes demostró que *D. odorata* o *C. odorata* no fueron aún reportadas en Perú, por lo tanto, estos nombres han sido erróneamente utilizados para nombrar a los especímenes de *D. charapilla* o a nivel comercial a los dos morfotipos de *D. micrantha*. Por lo tanto, *D. micrantha* morfotipo 1 es la especie de mayor extracción en el Perú.
- 5) La combinación de los estudios morfométricos y moleculares fueron necesarios y valiosos para delimitar las especies del género *Dipteryx* en la Amazonía peruana y así contribuir con la conservación de las especies y un mejor y adecuado manejo.



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar una revisión taxonómica y molecular de las otras especies del género *Dipteryx* a nivel del Neotrópico para tener las características morfológicas y moleculares que permitan discriminar correctamente todas las especies.
- Hacer la revisión taxonómica de ambos morfotipos de *D. micrantha* y *D. charapilla* para asignar los nombres científicos adecuados.
- Realizar nuevos estudios sobre las descripciones anatómicas de la madera de los tres grupos de *Dipteryx* reportadas en el presente estudio para determinar las características anatómicas de la madera y los usos en la industria de la madera.
- Realizar más inventarios en búsqueda de *Dipteryx charapilla* con el fin de recabar información relevante de su distribución y abundancia que puedan servir para considerar a esta especie en un estado de conservación adecuado.
- Realizar estudios de crecimiento de las especies más comerciales con el fin de poder determinar ciclos de corta adecuados para cada especie.
- Utilizar las muestras botánicas colectadas en el Proyecto Large Scale Project on Timber Verification en las muestras de referencia para el desarrollo desarrollar una base de datos genética de referencia para verificar la procedencia de la madera del género *Dipteryx*.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abascal, F; Irisarri, I; & Zardoy, R. 2014. Filogenia y evolucion molecular. s. l. Consultado 22 de jul. 2016. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/301558498\\_Filogenia\\_y\\_Evolucion\\_Molecular](https://www.researchgate.net/publication/301558498_Filogenia_y_Evolucion_Molecular) [ecular gate.net/publication/301558498\\_Filogenia\\_y\\_Evolucion\\_Molecular](https://www.researchgate.net/publication/301558498_Filogenia_y_Evolucion_Molecular)
- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory. 1971, Tsaghkadzor, AM. Second International Symposium on Information Theory. Petrov, BN; Csaki, F. Budapest, HU. Akadémia Kiado. 267-281.
- Azofeifa-Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 221-242.
- Baldeon, S; Flores, M; Roque, J. Fabaceae endémicas del Perú (en línea). Lima, Perú. Consultado el 23 de jul. 2016. Disponible en <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/v13n2/pdf/a55.pdf>
- Barham, J. 2005. Tribe Dipterygeae. In: Lewis G., Schrire B., Mackinder B., Lock M., eds. *Legumes of the world*. Kew: Royal Botanic Gardens; 250–251.
- Brako, L; Zarucchi, J. 1993. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 45. 1286p.
- Bruschi, P; Grossoni, P; Bussotti, F. 2003. Within-and among-Tree Variation in Leaf Morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Natural Populations. *Trees* 17: 164-172.
- Burgess, KS; Fazekas, AJ; Kesanakurti, PR; Graham, SW; Husband, BC; Newmaster, SG; Percy, DM; Hajibabaei, M; Barrett, SCH. 2011. Discriminating plant species in a local temperate flora using the rbcL+matK DNA barcode (en línea). s. l. Consultado el 27 de oct. 2016. Disponible en <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.2041-210X.2011.00092.x>

- Cadavid S, IC. 2013. Tipificación y separación de especies de plantas del subgenera *Leptospemonum* (Solanaceae: Solanum), usando regiones barcode. Tesis de investigación para optar al título de Magister en Ciencias Biotecnología. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 189 p.
- Cardoso, D; Queiroz, LP; Pennington, RT; Lima, HC; Fonty, E; Wojciechowski, MF; Lavin, M. 2012. Revisiting the phylogeny of papilionoid legumes: new insights from comprehensively sampled early-branching lineages (en línea). s. l. American Journal of Botany. Consultado el 6 de abr. 2016. Disponible en: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3732/ajb.1200380>
- Cardoso, D; Pennington, RT; de Queiroz, LP; Boatwright, JS; Van Wyk, BE; Wojciechowski, MF; Lavin, M. 2013. Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes (en línea). s. l. Elsevier. Consultado el 6 de abr. 2016. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629913002585>
- Cardoso, D; São-Mateus, WMB; da Cruz, DT; Zartman, CE; Komura, DL; Kite, G; Prenner, G; Wieringa, JJ; Clark, A; Lewis, G; Pennington, RT; de Queiroz, LP. 2015. Filling in the gaps of the papilionoid legume phylogeny: The enigmatic Amazonian genus *Petaladenium* is a new branch of the early-diverging Amburaneae clade (en línea). s. l. Elsevier. Consultado el 6 de abr. 2016. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790314004333>
- CBOL (Consortium for the Barcode of Life, US) Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. Washington, US. 4 p.
- Chase, MW; Cowan, RS; Hollingsworth, PM. 2006. A proposal for a standardized protocol to barcode all land plants (en línea). Berlin, DE. Taxon. Consultado el 01 may. De 2016. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/37147373\\_A\\_proposal\\_for\\_a\\_standardised\\_protocol\\_to\\_barcode\\_all\\_land\\_plants](https://www.researchgate.net/publication/37147373_A_proposal_for_a_standardised_protocol_to_barcode_all_land_plants)

- Chen, S; Yao, H; Han, J; Liu, C; Song, J; Shi, L; Zhu, Y; Ma, X; Gao, T; Pang, X; Luo, K; Li, Y; Li, X; Jia, X; Lin, Y; Leon, C. 2010. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species (en linea). California, US. Plos One. Consultado el 15 may 2016. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0008613>
- Claussi, A; Marmillod, D; Blaser, J. 1992. Descripción silvicultural de las plantaciones forestales de Jenaro Herrera. Iquitos, PE. 332 p.
- Costion, C; Ford, A; Cross, H; Crayn, D; Harrington, M; Lowe, A. 2011. Plant ADN barcodes can accurately estimate species richness in poorly known floras. Plos one 6(11): e26841.
- Danquah, J; Appiah, M; Ari, P. 2011. Leaf Morphometric Variation in Two Species of African Mahoganies: *Khaya ivorensis* and *Khaya anthotheca* (Meliaceae). European Journal of Scientific Research 54(3): 325-338.
- De Lima, HC. 1989. A Checklist of the Dipterygeae species. Manuscript doc
- Diaz Soria, R. 2018. Variabilidad genética de “shihuahuaco” *Dipteryx micrantha* en poblaciones naturales de la amazonía peruana, mediante el uso de marcadores microsatélites. Tesis para optar el título de ingeniero en Ecología de Bosques Tropicales. Iquitos, PE. Universidad de la Amazonia Peruana. 72 p.
- Dormontt, EE; Boner, M; Braun, B; Breulmann, G; Degen, B; Espinoza, E; Gardner, S; Guillery, P; Hermanson, JC; Koch, G; Lee, SL; Kanashiro, M; Rimbawanto, A; Thomas, D; Wiedenhoeft, AC; Yin, Y; Zahnen, J; Lowe, AJ. 2015. Forensic timber identification: It's time to integrate disciplines to combat illegal logging. Biological Conservation 191: 790-798.
- Doyle, JJ; Doyle, JL. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12. 13-15 p.
- Ducke, A. 1940. Revision of the species of the genus *Coumarouna* Aubl. or *Dipteryx* Schreb. Tropical Woods 61. 1-10 p.
- Francisco, V. 2010. Filogenia molecular y morfológica de la tribu Dipterygeae (Papilionideae, Leguminosae). Tesis para optar el título de magister. Rio de Janeiro, BR. Escuela Nacional de Botánica tropical. 77 p.

- Franco, T; Hidalgo, R. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Cali, CO. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). 89 p. (Boletín técnico no. 8)
- Ferreira, M.E.; Grattapaglia, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Brasilia, BR. 220 p.
- Gao, T; Sun, Z; Yao, H; Song, J; Zhu, Y; Ma, X; Chen, S. 2011. Identification of fabaceae plants using the DNA barcode matK. *Planta Medica* 77(1): 92-94.
- Gao, T; Ma, X; Zhu, X. 2013. Use of the *psbA-trnH* region to authenticate medicinal species of Fabaceae. *Biological y pharmaceutical bulletin* 36(12): 1975-1979.
- GRL (Gobierno Regional Loreto); Municipio Provincial Alto Amazonas; IIAP (Instituto de Investigacion de la Amazonia Peruana). 2015. Zonificacion Ecológica y Economica – ZEE de la Provincia Alto Amazonas, departamento Loreto. 174p.
- González–Andrés, F. 2001. Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. Valladolid, ES. Instituto Nacional de Educación Agrícola. 279 p. (entre p. 199–217)
- Hall, T. 1999. Bio Edit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98.
- Hammer, Ř; Harper, DAT; Ryan, PD. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): art. 4.
- Hebert, P; Cywinska, A; Ball, S; de Waard, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270(1512): 313-321.
- Hartvig, I; Czako, M; Kjær, ED; Nielsen, LR; Theilade, I. 2015. The Use of DNA Barcoding in Identification and Conservation of Rosewood (*Dalbergia* spp.). *Plos One* 10(9): e0138231.
- Hernández V, A. 2013. Caracterización morfológica de recursos filogenéticos. *Revista biociencias* 2: 113-118.
- Howe, H. 1986. Seed dispersal. Sidney, AUS. 322 p. (entre 123-189).

- Janzen, D; Miller, G; Hackforth-Jones, J; Pond, C; Hooper, K; Janos, D. 1976. Two Costa Rican Bat-Generated Seed Shadows of *Andira Inermis* (Leguminosae). *Ecology* 57(5): 1068-1075.
- Kress, WJ; Erickson, DL. 2007. A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcL* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. *Plos One* 2(6): e508.
- Kress, WJ; Erickson, DL; Jones, FA; Swenson, NG; Perez, R; Sanjur, O; Bermingham, E. 2009. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(44): 18621-18626.
- Kress, WJ; Wurdack, KJ; Zimmer, EA; Weigt, LA; Janzen, DH. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(23): 8369-74.
- Kress, WJ; Erickson, DL; Swenson, NG; Thompson, J; Uriarte, M; Zimmerman, JK. 2010. Advances in the use of DNA barcodes to build a community phylogeny for tropical trees in a Puerto Rican forest dynamics plot. *Plos One* 5(11): 1-8.
- Lande, R. 2009. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of evolutionary biology* 22(7): 1435-1446.
- Librado, P; Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451-1452.
- Linneo, C. 1800. *Species Plantarum*. 4 ed. 3(2): 910. Consultado el 07 de jul. 2016. Disponible en <https://biodiversitylibrary.org/page/26069734>
- Louman, B; Quirós, D; Nilsson, M. 2001. Silvicultura de bosques latifoliados húmedos con énfasis en América Central. Eds. Turrialba, CR. CATIE (Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza). 265 p. (Serie técnica/manual técnico, no. 46)
- Martínez-Cabrera, D; Zavala-Chávez, F; Terrazas, T. 2011. Estudio morfométrico de *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(2): 551-568.
- Maniatis, T; Fritsch, EF; Sambrook, J. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York, US.

- Marcus, LF. 1990. Traditional morphometrics. In morphometrics workshop (1988, Michigan). 1990. Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. Eds. FJ Rohlf; FL Bookstein. Michigan, US. Ann Arbor (MI): University of Michigan Museum of Zoology. p. 77–122.
- Martínez Ruiz, R; Azpiroz Rivero, H; Rojo Martínez, G; Rodríguez de la O, JL; G., Ramírez Valverde, B. 2010. Biotecnología aplicada a los recursos forestales. Puebla, MX. 292 p. (entre 1-36 p.). (Libros Técnicos: Serie Forestal)
- Mcbride, JF. 1943. Flora of Peru. (en línea). Chicago. Consultado el 06 jun. 2016. Disponible en <https://biodiversitylibrary.org/page/2375034>. Botanical Series Field Museum Natural History
- MINAM (Ministerio del Ambiente). 2015. Inventario y evaluación de los bosques de las cuencas de los ríos Itaya, Nanay y Tahuayo en el departamento de Loreto. Lima, Peru. 140p.
- MINAM (Ministerio del Ambiente); SERNANP (Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado). 2016. Expediente técnico Parque Nacional Yaguas. Lima, Peru.
- Miller, JT; Bayer, RJ. 2001. Molecular phylogenetics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae) based on the chloroplast matK coding sequence and flanking trnK intro spacer regions. *American Journal of Botany* 88(4): 697-705.
- Miller, JT; Grimes, JW; Murphy, DJ; Bayer, RJ; Pauline, Y. 2003. A Phylogenetic Analysis of the Acacieae and Ingeae (Mimosoideae: Fabaceae) based on trnK, matK, *psbA* - trnH, and trnL / trnF Sequence Data. *BioOne* 28(3): 558-566.
- Monteagudo, A; Huaman M. 2010. Catálogo de los árboles y afines de la Selva Central del Perú. *Arnaldoa*: 17(2): 203-242.
- Morales, D; Jimenez, S; Wagner, J; Larcher, W. 1992. Caracterización morfológica e histológica de las hojas de sol y sombra de *Persea indica* (L) Spreng. y *Persea americana* Mill. *Vieraea* 21, 61-76.
- Monteagudo, A; Valenzuela, L; Vásquez, R; Rojas, RD, Phillips, O L. Primer catálogo de los árboles y afines de la Reserva Comunal El Sira, Perú. *Arnaldoa*, 21(1), 127-164.

- Muller-Ster, W. 2004. Fundamentos para medicina y ciencias de la vida. Trad. JJ Centelles Serra. Editorial Severté S.A. Barcelona. SP. 46 p.
- Nei, M; Kumar, S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press. New York. US348 p.
- Nithaniyal, S; Newmaster, SG; Ragupathy, S; Krishnamoorthy, D; Vassou, SL; Parani, M. 2014. DNA barcode authentication of wood samples of threatened and commercial timber trees within the tropical dry evergreen forest of India. PLoS ONE 9(9): e107669.
- Núñez-farfán, J; Careaga, S; Fornoni, J; Ruiz-Montoya, L; Valverde, P. 2003. La evolución de la plasticidad fenotípica. Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas 6(1):16-24.
- Oliveira, M; Sigrist, M. 2008. Fenología reproductiva, polinización e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Botânica 31(2): 195-207.
- Pallás, V; Escobar, C; Rodriguez-Penzuela, P; Marcos, JF. 2008. Herramientas biotecnológicas en fitopatología. Ciencia e investigación agraria 35(1): 87-87.
- Pariente, E. 2017. Taxonomía, distribución y aproximación a la situación de conservación de las especies del género *Dipteryx* (fabaceae) en el Perú. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 81 p.
- Paz, A; González, M; Crawford, A. 2011. Códigos de barras de la vida: Introducción Y Perspectiva. Acta Biológica Colombiana 16(3): 161-176.
- Pedroso, HL; Rocha-Filho, LC; Lomonaco, C. 2010. Variación fenotípica de plantas del cerrado (Sabana brasileña) frente a la heterogeneidad ambiental. Revista ecosistemas 19(1): 24-36.
- Pennington, TD; Muellner, AN. 2010. A monograph of *Cedrela* (Meliaceae). Milborn Port, UK. DH books.112 p.
- Pennington, RT; Lavin, M; Ireland, H; Klitgaard, B; Preston, J; Hu, JM. 2001. Phylogenetic relationships of basal papilionoid legumes based upon sequences of the chloroplast trnL intron. Systematic Botany 26(3) 537–556.

- Puntieri, JG; Damascos, MA; Souza, MS. 2001. Tendencias ontogenéticas en el tamaño y la forma de las hojas de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser (Fagaceae). *Ecologia Austral* 11(2) 105-114.
- Purushothaman N; Newmaster SG; Ragupathy, S; Stalin, N; Suresh D; Arunraj DR; Gnanasekaran, G; Vassou, SL; Narasimhan, D; Parani, M. 2014. A tiered barcode authentication tool to differentiate medicinal *Cassia* species in India. *Genetics and Molecular Research* 13(2): 2959-2968.
- Putzel, L. 2010. The tree that held up the forest: Shihuahuaco (*Dipteryx* spp.) and the Chinese timber trade. City University of New York. 156 p.
- Raven, P; Everet, R; Eichhorn, S. 1992. *Biología de las plantas*. Barcelona, SP. Editorial Reverté. Volumen 2, 402p.
- Reynel, C; Pennington, R; Pennington, T; Flores, CC; Daza, A; 2003. *Arboles útiles de la Amazonia peruana y sus usos, un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies*. Lima, PE. 509 p.
- Reynel, C; Pennington, RT; Särkinen, T. 2013. *Cómo se formó la diversidad ecológica del Perú*. Lima, PE. 412 p.
- Romo, M. 1997. Seasonal variation in fruit consumption and seed dispersal by canopy bats (*Artibeus* spp.) in a lowland forest in Peru. *Vida Silvestre Neotropical* 5(2): 110-119.
- Romo, M; Tuomisto, H; Loiselle, B. 2004. On the density-dependence of seed predation in *Dipteryx micrantha*, a bat-dispersed rain forest tree. *Oecologia* 140(1): 76-85.
- Ruiz, J; Boucher, D; Chaves, L; Ingram-Flores, C; Guillen, D; Torrez, R; Martinez, O. 2010. Ecological consequences of primary and secondary seed dispersal on seed and seedling fate of *Dipteryx oleifera* (Fabaceae). *Revista De Biología Tropical* 58(3): 991-1007.
- Schneider, CA; Rasband, WS; Eliceiri, KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat methods* 9(7): 671-675.

- SERNANP (Servicio Nacional de Areas Naturales Protegidas por el Estado). 2013. Diagnostico del proceso de actualizacion del Plan maestro de la Reserva Comunal Purús 2012-2017 (en línea). Peru, Lima. 325 p. Consultado el 23 ene. 2018. Disponible en: [http://old.sernanp.gob.pe/sernanp/archivos/biblioteca/planes\\_maestros\\_2014/Diagnostico%20PM%202012%20-%202017%20RC%20Purus%20ver%20Pub.pdf](http://old.sernanp.gob.pe/sernanp/archivos/biblioteca/planes_maestros_2014/Diagnostico%20PM%202012%20-%202017%20RC%20Purus%20ver%20Pub.pdf)
- SERFOR (Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre). 2016. Perú Forestal en Números 2016 (en línea). Lima, Perú. 204 p. Consultado el 25 nov. 2017. Disponible en <https://www.serfor.gob.pe/wp-content/uploads/2018/10/Anuario-2016.pdf>
- Shaw, J; Lickey, EB; Beck, JT; Farmer, SB; Liu, W; Miller, J; Siripun, KC; Winder, CT; Schilling, EE; Small, RL. 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92(1): 142-166.
- Soladoye, M; Sonibare, M; Chukwuma, E. 2010. Morphometric study of the genus *Indigofera* Linn. (Leguminosae-Papilionoideae) in South-Western Nigeria. *International Journal of Botany* 6(3): 343-350.
- Souza, IM; Silveira Funch, LS; de Queiroz, LP. 2014. Morphological analyses suggest a new taxonomic circumscription for *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioidae). *PhytoKeys* 38: 101-118.
- Spichiger, R; Meroz, J; Loizeau, P; Stutz de Ortega, L. 1989. Contribución a la Flora de la Amazonia Peruana: Los arboles del Arboretum de Jenaro Herrera. Tomo I: Moraceae a Leguminosae (en línea). Consultado el 26 de jun. 2016. Disponible en <http://repositorio.iiap.org.pe/handle/IIAP/130>.
- Taberlet, P; Coissac, E; Pompanon, F; Gielly, L; Miquel, C; Valentini, A; Vermet, T; Corthier, G; Brochmann, C; Willerslev, E. 2007. Metabarcoding. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research* 35(3): 30-32.
- Tamura, K; Stecher, G; Peterse, D; Filipiński, A; Kumar, S. 2013. MEGA 6: Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725 - 2729.

- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight choice. *Nucleic Acids Research* 22 (11): 4673-4680.
- Valentini, A; Pompanon, F; Taberlet, P. 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends in ecology and evolution* 24(2): 110-117.
- Vásquez, R. 1997. Florula de las reservas biológicas de Iquitos, Peru. v. 63, 1046 p. Monographs in systematic botany from the Missouri botanical garden.
- Whitlock, BA; Hale, AM; Groff, PA. 2010. Intraspecific inversions pose a challenge for the *trnH-psbA* plant DNA barcode. *Plos One* 5(7): e11533.
- Wojciechowski, MF; Lavin, M; Sanderson, MJ; 2004. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal Botany* 91(11): 1846–1862.
- Yu, J; Xue, JH; Zhou, SL. 2011. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution* 49(3): 176-181.
- Zavala, J. 2005. Manual de técnicas básicas de biología molecular. Yucatan, MX. 195p. (Serie manuales/Universidad autónoma de Yucatan)

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1 HERBARIOS

<i>N°</i>	<i>Herbario</i>	<i>Acrónimo</i>	<i>Link</i>
1	Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana	HH	-
2	Universidad Nacional Agraria La Molina	MOL	-
3	Field Museum of Natural History	F	<a href="http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/">http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/</a>
4	Jardim Botânico do Rio de Janeiro	RB	<a href="http://jabot.jbrj.gov.br/">http://jabot.jbrj.gov.br/</a>
5	Smithsonian Institution	US	<a href="http://collections.nmnh.si.edu/search/botany/?ti=3">http://collections.nmnh.si.edu/search/botany/?ti=3</a>

**ANEXO 2**  
**MATRIZ DE CORRELACIÓN DE LOS 24 CARACTERES MORFOLÓGICOS.**

ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1		0,88	0,83	0,82	0,85	0,86	0,82	0,88	-0,09	0,35	0,71	0,61	-0,53	-0,21	0,70	0,63	0,46	0,30	0,92	-0,37	0,09	0,04	-0,48	-0,51
2	0,88		0,94	0,96	0,97	0,98	0,93	0,95	-0,01	0,46	0,81	0,46	-0,25	0,28	0,60	0,37	0,45	0,38	0,82	-0,62	0,25	0,19	-0,30	-0,54
3	0,83	0,94		0,92	0,97	0,89	0,93	0,85	0,03	0,45	0,67	0,39	-0,34	0,27	0,52	0,29	0,52	0,49	0,75	-0,59	0,25	0,34	-0,25	-0,39
4	0,82	0,96	0,92		0,89	0,96	0,84	0,91	0,03	0,44	0,82	0,32	-0,15	0,32	0,58	0,37	0,41	0,34	0,77	-0,53	0,34	0,39	-0,25	-0,56
5	0,85	0,97	0,97	0,89		0,91	0,97	0,88	0,00	0,44	0,68	0,48	-0,37	0,27	0,51	0,28	0,51	0,46	0,75	-0,63	0,18	0,17	-0,28	-0,40
6	0,86	0,98	0,89	0,96	0,91		0,86	0,97	-0,01	0,47	0,87	0,43	-0,16	0,28	0,63	0,40	0,39	0,33	0,83	-0,60	0,28	0,18	-0,29	-0,60
7	0,82	0,93	0,93	0,84	0,97	0,86		0,86	0,07	0,43	0,61	0,47	-0,40	0,25	0,47	0,27	0,49	0,42	0,69	-0,59	0,14	0,05	-0,20	-0,34
8	0,88	0,95	0,85	0,91	0,88	0,97	0,86		0,04	0,44	0,85	0,45	-0,21	0,18	0,63	0,48	0,33	0,28	0,84	-0,52	0,06	-0,01	-0,24	-0,59
9	-0,09	-0,01	0,03	0,03	0,00	-0,01	0,07	0,04		0,17	0,01	-0,23	0,12	0,15	-0,03	-0,12	0,20	0,06	-0,17	0,09	-0,21	-0,07	0,75	0,13
10	0,35	0,46	0,45	0,44	0,44	0,47	0,43	0,44	0,17		0,48	0,15	0,09	0,24	0,28	0,15	0,36	0,18	0,30	-0,31	0,17	0,09	0,10	0,26
11	0,71	0,81	0,67	0,82	0,68	0,87	0,61	0,85	0,01	0,48		0,22	0,21	0,23	0,66	0,43	0,30	0,12	0,77	-0,52	0,26	0,14	-0,26	-0,72
12	0,61	0,46	0,39	0,32	0,48	0,43	0,47	0,45	-0,23	0,15	0,22		-0,59	-0,29	0,26	0,40	0,28	0,17	0,51	-0,12	-0,02	-0,21	-0,44	-0,13
13	-0,53	-0,25	-0,34	-0,15	-0,37	-0,16	-0,40	-0,21	0,12	0,09	0,21	-0,59		0,57	-0,17	-0,35	-0,29	-0,28	-0,35	-0,11	0,19	0,11	0,34	-0,16
14	-0,21	0,28	0,27	0,32	0,27	0,28	0,25	0,18	0,15	0,24	0,23	-0,29	0,57		-0,20	-0,51	-0,02	0,17	-0,17	-0,53	0,34	0,29	0,35	-0,07
15	0,70	0,60	0,52	0,58	0,51	0,63	0,47	0,63	-0,03	0,28	0,66	0,26	-0,17	-0,20		0,52	0,32	0,18	0,77	-0,26	0,18	0,07	-0,35	-0,51
16	0,63	0,37	0,29	0,37	0,28	0,40	0,27	0,48	-0,12	0,15	0,43	0,40	-0,35	-0,51	0,52		0,12	0,00	0,68	0,28	-0,11	-0,07	-0,39	-0,36
17	0,46	0,45	0,52	0,41	0,51	0,39	0,49	0,33	0,20	0,36	0,30	0,28	-0,29	-0,02	0,32	0,12		0,48	0,39	-0,31	0,10	0,22	-0,07	-0,05
18	0,30	0,38	0,49	0,34	0,46	0,33	0,42	0,28	0,06	0,18	0,12	0,17	-0,28	0,17	0,18	0,00	0,48		0,26	-0,32	0,00	0,22	-0,01	0,01
19	0,92	0,82	0,75	0,77	0,75	0,83	0,69	0,84	-0,17	0,30	0,77	0,51	-0,35	-0,17	0,77	0,68	0,39	0,26		-0,38	0,12	0,09	-0,55	-0,61
20	-0,37	-0,62	-0,59	-0,53	-0,63	-0,60	-0,59	-0,52	0,09	-0,31	-0,52	-0,12	-0,11	-0,53	-0,26	0,28	-0,31	-0,32	-0,38		-0,33	-0,11	0,14	0,33
21	0,09	0,25	0,25	0,34	0,18	0,28	0,14	0,06	-0,21	0,17	0,26	-0,02	0,19	0,34	0,18	-0,11	0,10	0,00	0,12	-0,33		0,60	-0,18	-0,15
22	0,04	0,19	0,34	0,39	0,17	0,18	0,05	-0,01	-0,07	0,09	0,14	-0,21	0,11	0,29	0,07	-0,07	0,22	0,22	0,09	-0,11	0,60		-0,12	-0,08
23	-0,48	-0,30	-0,25	-0,25	-0,28	-0,29	-0,20	-0,24	0,75	0,10	-0,26	-0,44	0,34	0,35	-0,35	-0,39	-0,07	-0,01	-0,55	0,14	-0,18	-0,12		0,36
24	-0,51	-0,54	-0,39	-0,56	-0,40	-0,60	-0,34	-0,59	0,13	0,26	-0,72	-0,13	-0,16	-0,07	-0,51	-0,36	-0,05	0,01	-0,61	0,33	-0,15	-0,08	0,36	

**ANEXO 3**  
**MATRIZ CORRELACIONES DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES CON LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS.**

ID	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8	PC 9	PC 10	PC 11	PC 12	PC 13	PC 14	PC 15	PC 16	PC 17	PC 18	PC 19	PC 20	PC 21	PC 22
1	0,90	0,38	0,03	0,03	0,02	-0,01	-0,09	-0,05	0,01	-0,09	-0,05	-0,07	-0,11	-0,03	-0,02	0,01	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01
2	0,97	0,01	0,10	0,01	-0,07	0,18	0,00	0,02	0,02	0,03	-0,04	0,02	-0,01	-0,01	0,03	-0,02	-0,03	0,05	0,00	0,00	0,01	-0,01
3	0,92	-0,02	0,13	0,13	0,08	0,29	-0,09	0,00	0,05	0,00	0,01	-0,04	0,07	0,04	-0,07	0,10	-0,05	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,91	0,01	0,21	-0,11	-0,02	0,29	0,03	0,10	0,06	0,01	-0,01	-0,05	0,04	-0,09	-0,01	-0,08	0,05	-0,02	0,00	-0,01	0,00	0,00
7	0,89	-0,01	0,11	0,24	-0,06	0,21	-0,13	-0,08	0,03	-0,03	-0,11	0,15	-0,02	0,13	-0,02	0,01	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,92	0,12	0,18	-0,08	-0,22	0,08	-0,03	-0,07	-0,07	0,07	-0,09	0,02	-0,02	-0,07	0,07	-0,04	-0,04	-0,05	-0,01	0,01	0,00	0,00
9	-0,08	-0,14	0,87	0,34	-0,20	-0,19	-0,03	0,05	0,08	-0,07	0,08	-0,05	0,00	0,04	0,00	-0,03	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	0,44	-0,10	0,27	0,17	0,11	0,14	0,64	-0,48	-0,11	0,02	-0,06	-0,10	-0,07	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	-0,01	-0,02	0,01	0,00
11	0,82	-0,01	0,22	-0,40	-0,12	-0,07	0,24	0,08	-0,13	0,04	-0,07	-0,06	-0,10	0,02	-0,04	0,03	0,00	0,01	0,00	0,01	-0,01	0,00
12	0,51	0,49	-0,41	0,46	-0,25	-0,12	0,17	0,11	0,06	0,05	0,03	-0,01	0,02	0,00	-0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	-0,27	-0,54	0,22	-0,53	-0,18	-0,07	0,42	0,15	-0,16	0,17	-0,01	0,01	0,05	0,09	-0,02	0,03	0,03	-0,02	0,02	0,00	0,01	0,00
14	0,18	-0,74	0,15	-0,05	-0,21	0,38	0,19	0,13	0,01	0,22	0,02	0,17	0,21	0,06	0,10	-0,07	-0,06	0,07	0,00	-0,01	-0,01	0,02
15	0,67	0,28	0,18	-0,32	0,23	-0,36	0,03	-0,14	0,33	0,14	-0,07	0,05	0,05	-0,01	-0,03	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,37	0,80	0,13	-0,25	0,01	-0,02	0,05	-0,10	-0,21	-0,10	0,23	0,12	0,04	-0,01	-0,05	-0,03	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,50	0,00	0,22	0,45	0,57	-0,17	0,11	0,27	-0,22	-0,04	-0,11	0,06	0,02	-0,02	0,01	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,39	-0,11	0,07	0,35	0,37	0,11	-0,22	0,01	-0,08	0,58	0,36	-0,04	-0,15	0,04	0,01	-0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,87	0,36	0,00	-0,20	0,07	-0,11	-0,06	-0,04	-0,06	-0,05	0,07	-0,10	0,06	0,05	0,15	0,05	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	-0,70	0,67	0,19	-0,02	0,02	0,13	0,02	0,05	0,03	0,04	-0,05	0,00	-0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21	0,26	-0,27	-0,14	-0,22	0,25	0,25	0,41	0,29	0,48	-0,25	0,24	0,13	-0,17	0,05	0,09	0,01	-0,02	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
22	0,15	-0,17	0,10	-0,17	0,46	0,48	0,14	0,36	0,25	-0,07	0,23	-0,33	0,21	-0,11	-0,15	0,03	0,05	0,04	-0,03	0,02	0,01	0,01
23	-0,39	-0,35	0,65	0,27	-0,22	0,00	0,06	-0,06	0,02	0,09	0,08	0,21	-0,02	-0,26	0,05	0,19	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
24	-0,56	-0,07	-0,03	0,57	0,22	0,18	0,24	-0,46	0,06	-0,03	0,03	-0,03	0,05	-0,01	0,03	-0,03	0,01	-0,01	0,01	0,01	0,00	0,00

**ANEXO 4**  
**MATRIZ DE VARIANZAS DE LOS EJES CON LOS CARACTERES**  
**MORFOLÓGICOS DEL ANÁLISIS DISCRIMINANTE.**

<i>ID</i>	<i>Axis 1</i>	<i>Axis 2</i>	<i>Axis 3</i>	<i>Axis 4</i>	<i>Axis 5</i>
1	0,021	0,013	-0,010	0,024	0,000
2	0,025	0,019	-0,006	-0,004	0,003
3	0,026	0,009	0,001	-0,015	-0,003
4	0,022	0,022	-0,005	-0,012	-0,002
7	0,026	0,003	-0,006	-0,007	-0,004
8	0,019	0,021	-0,011	0,001	0,000
9	-0,001	-0,008	0,000	-0,030	0,012
10	0,007	0,005	0,007	-0,028	0,031
11	0,013	0,028	-0,010	-0,008	0,013
12	0,017	0,001	0,001	0,056	0,071
13	-0,008	0,015	-0,001	-0,033	0,012
14	0,004	0,006	0,003	-0,029	0,003
15	0,014	0,021	-0,005	0,026	-0,020
16	0,002	0,015	-0,002	0,040	-0,002
17	0,017	-0,005	0,045	0,019	0,017
18	0,009	-0,003	0,029	0,011	0,008
19	0,019	0,022	-0,002	0,028	-0,011
20	-0,045	-0,024	0,004	0,057	-0,016
21	0,005	0,009	0,009	-0,015	0,002
22	0,002	0,002	0,007	-0,012	-0,001
23	-0,005	-0,004	0,013	-0,033	-0,001
24	-0,006	-0,023	0,016	-0,021	0,019

**ANEXO 5**  
**MATRIZ DE CORRECCIÓN DE ESCÍMENES CON EL ANÁLISIS**  
**DISCRIMINANTE.**

<b>N°</b>	<b>Especie</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>Total</b>
<b>1</b>	<i>D. charapilla</i>	9	0	0	0	0	0	9
<b>2</b>	<i>D. micrantha morfotipo 1</i>	0	30	0	0	0	0	30
<b>3</b>	<i>D. micrantha morfotipo 2</i>	0	0	18	1	0	0	19
<b>4</b>	<i>D. sp</i>	0	0	1	0	0	0	1
<b>5</b>	<i>D. charapilla tipo</i>	1	0	0	0	0	0	1
<b>6</b>	<i>D. micrantha tipo</i>	0	0	1	0	0	0	1
	<b>Total</b>	10	30	20	1	0	0	61

**ANEXO 6  
MUESTRAS ANALIZADAS.**

<b>N°</b>	<b>Especie</b>	<b>Código</b>	<b>DAP (cm)</b>	<b>Determinación</b>	<b>Grupo inicial</b>	<b>Grupo final</b>	<b>ADN</b>	<b>Sitio</b>	<b>Localidad</b>	<b>Colector</b>	<b>Fecha</b>	<b>Herbario</b>
1	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL005	14	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Iñapari	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iñapari, MADERACRE logging concession.	Gerardo flores	08/09/2015	HH
2	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL006	17,5	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Iñapari	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iñapari, MADERACRE logging concession.	Gerardo flores	09/09/2015	HH
3	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL008	9,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Iñapari	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iñapari, MADERACRE logging concession	Gerardo flores	11/09/2015	HH
4	<i>Dipteryx micrantha</i>	CBF064	15,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Iberia	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Dist. Iberia, In agricultural property 20 km from Iberia by the Interoceanic Highway. Entrance by stockyard Genova.	Cecilia Ballón	13/02/2015	HH
5	<i>Dipteryx rosea</i>	DAG022	68	<i>D. charapilla</i>	Dch	Dch	Si	J. Herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera, Jenaro Herrera Reserch, Centro de investigacion del IIAP	David Aldana	14/08/2015	HH
6	<i>Dipteryx micrantha</i>	EML001	47,7	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Macuya Forestry Research Station	Eduardo Mejía	19/07/2015	HH

## Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
7	<i>Dipteryx micrantha</i>	EML006	9,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Macuya Forestry Research Station	Eduardo Mejía	22/07/2015	HH
8	<i>Dipteryx micrantha</i>	EML008	16,6	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Macuya Forestry Research Station	Eduardo Mejía	30/07/2015	HH
9	<i>Dipteryx micrantha</i>	EML010	8	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Macuya Forestry Research Station	Eduardo Mejía	04/08/2015	HH
10	<i>Dipteryx micrantha</i>	EML011	9,5	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Macuya	Dpto. Ucayali, Prov. Padre Abad, Dist. Irazola, Macuya Forestry Research Station	Eduardo Mejía	04/08/2015	HH
11	<i>Dipteryx micrantha</i>	LHC132	36	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Gastabala	Dpto. Loreto, Prov. Purus, Dist. Purus, Comunidad Gastabala	Luisa Huaratapairo	16/10/2015	HH
12	<i>Dipteryx micrantha</i>	LHC127	133	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Gastabala	Dpto. Loreto, Prov. Purus, Dist. Purus, Comunidad Gastabala	Luisa Huaratapairo	15/10/2015	HH
13	<i>Dipteryx alata</i>	CBF029	111,3	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Alpahuayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, R.N.Allpahuayo - Mishana, in permanent plot (RAINFOR); ALP01-584	Eurídice Honorio	07/11/2014	HH
14	<i>Dipteryx alata</i>	CBF031	69	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Alpahuayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, R.N.Allpahuayo - Mishana, in permanent plot (RAINFOR); ALP01-585	Eurídice Honorio	18/02/2015	HH
15	<i>Dipteryx alata</i>	DAG002	105	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Huirirma	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. El Napo, Huiririma Native Community	David Aldana, Rossana Díaz	18/07/2015	HH

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
16	<i>Dipteryx alata</i>	DAG006	68	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Huirirma	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. El Napo, Huirirma Native Community	David Aldana, Rossana Díaz	27/07/2015	HH
17	<i>Dipteryx alata</i>	GHP014	13,7	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Sucusari	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Indiana, Sucusari, Explorama Lodge	Gabriel Hidalgo	08/07/2015	HH
18	<i>Dipteryx alata</i>	GHP013	15,2	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Yanamono	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Indiana, Yanamono, Explorama Lodge	Gabriel Hidalgo	06/07/2015	HH
19	<i>Dipteryx alata</i>	GHP015	57,4	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Sucusari	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Indiana, Sucusari, Explorama Lodge	Gabriel Hidalgo	14/07/2015	HH
20	<i>Dipteryx micrantha</i>	DAG010	72	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Contamana	Dpto. Loreto, Prov. Ucayali, Dist. Contamana, Contamana	David Aldana	04/09/2015	HH
21	<i>Dipteryx micrantha</i>	DAG011	111	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Contamana	Dpto. Loreto, Prov. Ucayali, Dist. Contamana, Contamana	David Aldana	05/09/2015	HH
22	<i>Dipteryx micrantha</i>	DAG012	81	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Contamana	Dpto. Loreto, Prov. Ucayali, Dist. Contamana, Contamana	David Aldana	05/09/2015	HH
23	<i>Dipteryx alata</i>	DAG015	65	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Yarina	Dpto. Loreto, Prov. Mayna, Dist. Iquitos, Comunidad Campesina Yarina	David Aldana	11/11/2012	HH
24	<i>Dipteryx alata</i>	DAG016	53	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Yarina	Dpto. Loreto, Prov. Mayna, Dist. Iquitos, Comunidad Campesina Yarina	David Aldana	18/11/2015	HH
25	<i>Dipteryx alata</i>	DAG019	4,4	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Yarina	Dpto. Loreto, Prov. Mayna, Dist. Iquitos, Comunidad Campesina Yarina	David Aldana	23/11/2015	HH
26	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL034	50	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Inuya	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Raymondi, Comunidad San Juan de Inuya	Gerardo Flores	18/11/2015	HH
27	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL038	13	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Tamaya	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Dist. Iparia, Cuenca del Río Tamaya, Concesión Forestal "Oxígeno para el Mundo"	Gerardo Flores	13/12/2015	HH

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
28	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL026	13,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo Flores	24/10/2015	HH
29	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL015	17,1	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo Flores	22/10/2015	HH
30	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL017	49	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo Flores	22/10/2015	HH
31	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL016	38,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo Flores	22/10/2015	HH
32	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL029	103	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Inuya	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Raymondi, Comunidad San Juan de Inuya	Gerardo Flores	05/11/2015	HH
33	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL011	61	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Bolognesi	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, forestry concession at 40 km east of Bolognesi	Gerardo Flores	17/10/2015	HH
34	<i>Dipteryx micrantha</i>	CBF065	38,8	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Iberia	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tahuamanu, Iberia, In agricultural property 20 km from Iberia by the Interoceanic Highway. Entrance by stockyard Genova.	Cecilia Ballon	14/02/2015	HH
35	<i>Dipteryx micrantha</i>	GHP23	200	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Breu	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Distr. Yurua, Comunidad Nativa Santa Rosa	Gabriel Hidalgo	21/02/2016	HH
36	<i>Dipteryx micrantha</i>	LHC130	90	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Gastabala	Dpto. Loreto, Prov. Purus, Dist. Purus, Comunidad Gastabala	Luisa Huaratapairo	16/10/2015	HH
37	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL021	42,9	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo flores	23/10/2015	HH
38	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL013	27,6	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1	Si	Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo flores	22/10/2015	HH

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
39	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL023	22,5	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Santa Clara	Dpto. Ucayali, Prov. Atalaya, Dist. Tahuania, Comunidad Santa Clara	Gerardo flores	23/10/2015	HH
40	<i>Dipteryx micrantha</i>	GFL050	25	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	Gerardo flores	23/04/2016	HH
41	<i>Dipteryx alata</i>	GFL051	18,5	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dsp		Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	Gerardo flores	24/04/2016	HH
42	<i>Dipteryx alata</i>	GFL052	69,3	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Pevas	Dpto. Loreto, Prov. Mariscal Ramon Castilla, Dist. Pevas	Gerardo flores	00/01/1900	HH
43	<i>Dipteryx sp</i>	GFL053	18,1	<i>D. micrantha</i>	Dsp	Dm2	Si	Pevas	Dpto. Loreto, Prov. Mariscal Ramon Castilla, Dist. Pevas	Gerardo flores	00/01/1900	HH
44	<i>Dipteryx alata</i>	DAG005	70	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Huirirma	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. El Napo, comunidad nativa Huiririma	David Aldana, Rossana Díaz	02/07/2015	HH
45	<i>Dipteryx alata</i>	DAG004	36	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Huirirma	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. El Napo, comunidad nativa Huiririma	David Aldana, Rossana Díaz	21/07/2015	HH
46	<i>Dipteryx rosea</i>	DAG024	32	<i>D. charapilla</i>	Dch	Dch	Si	Jenaro Herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera, Jenaro Herrera Reserch, Centro de investigación del IIAP	David Aldana	10/07/2016	HH
47	<i>Dipteryx rosea</i>	DAG025	22,3	<i>D. charapilla</i>	Dch	Dch	Si	Jenaro Herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera, Jenaro Herrera Reserch, Centro de investigación del IIAP	David Aldana	1007/2016	HH

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
48	Dipteryx rosea	DAG026	10,2	D. charapilla	Dch	Dch		Jenaro Herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera, Jenaro Herrera Reserch, Centro de investigación del IIAP	David Aldana	10/07/2016	HH
49	Dipteryx rosea	DAG027	25,7	D. charapilla	Dch	Dch	Si	Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	David Aldana	16/07/2016	HH
50	Dipteryx rosea	DAG028	19,3	D. charapilla	Dch	Dch	Si	Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	David Aldana	16/07/2016	HH
51	Dipteryx rosea	DAG029	21,6	D. charapilla	Dch	Dch	Si	Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	David Aldana	16/07/2016	HH
52	Dipteryx rosea	DAG030	21,2	D. charapilla	Dch	Dch	Si	Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	David Aldana	16/07/2016	HH
53	Dipteryx rosea	DAG031	20,1	D. charapilla	Dch	Dch		Huayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Dist. Iquitos, Centro de investigación y enseñanza Forestal Puerto Almendra, Arboreto "El Huayo"	David Aldana	16/07/2016	HH
54	Dipteryx alata	GFL055	7,9	D. micrantha	Dm2	Dm2		Jeberos	Dpto. Loreto, Prov. Alto Amazonas, Dist. Jeberos	Gerardo Flores	09/07/2016	HH
55	Dipteryx sp	GFL056	5,9	D. micrantha	Dm2	Dm2		Jeberos	Dpto. Loreto, Prov. Alto Amazonas, Dist. Jeberos	Gerardo Flores	09/07/2016	HH

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
56	<i>Dipteryx alata</i>	GFL054	70	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2	Si	Tangarana	Dpto. Loreto, Prov. Mariscal Ramon Castilla, Dist. San Pablo	Gerardo Flores	03/06/2016	HH
57	<i>Dipteryx sp</i>	NN 95	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Area 3*	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Dist. Pucallpa, altura km 4200 Carretera Federico Basadre ex-Cenfor	NN	08/04/1993	MOL
58	<i>Dipteryx alata</i>	Kroll 101	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Dantas	Dpto. Huanuco, Prov. Puerto Inca, Dtto. Yuyapichis, Unidad Modelo de Manejo y Produccion Forestal Dantas	kroll	16/11/1988	MOL
59	<i>Dipteryx alata</i>	Flores 165	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Pucallpa	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Dist. Pucallpa, altura km 4200 Carretera Federico Basadre ex-Cenfor	Imber Flores	23/02/2009	MOL
60	<i>Dipteryx sp</i>	Gutierrez 40	-	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Coronel Portillo	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Loc. Aguaytia-Huacamayo	Abelardo Gutierrez R.	20/02/1962	MOL
61	<i>Dipteryx alata</i>	Jensen 22	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Pachitea	Dpto. Huánuco, Prov. Pachitea, Dist. Honoria, Carrera Tournavista	Eduardo Jenssen R.	30/03/1965	MOL
62	<i>Dipteryx aff. Férra</i>	Jensen 144	68,6	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Pachitea	Dpto. Huánuco, Prov. Pachitea, Dist. Honoria, Carrera Tournavista	Eduardo Jenssen R.	05/12/1964	MOL
63	<i>Dipteryx alata</i>	Reynel 808	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Contamana	Dpto. Loreto, Prov. Ucayali, Dist. Contamana	Carlos Reynel R.	02/11/1982	MOL
64	<i>Dipteryx alata</i>	Foster 5520	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Cocha cashu	Dpto. Madre de Dios, Parque Nacional del Manu, Rio Manu, Estacion biologica Cocha Cashu	Robin B. Foster	11/11/1980	MOL
65	<i>Dipteryx sp</i>	Diaz-Ramirez 9529	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Bahuaja Sonene	Dpto. Madre de Dios, Tambopata, Parque Nacional Bahuaja Sonene	Camilo Diaz & Henry Ramirez	16/11/1997	MOL

Continuación Anexo 6

N°	Especie	Código	DAP (cm)	Determinación	Grupo inicial	Grupo final	ADN	Sitio	Localidad	Colector	Fecha	Herbario
66	<i>Dipteryx sp</i>	Fasabi 157	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Pucallpa	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Dist. Pucallpa, altura km 4200 Carretera Federico Basadre ex-Cenfor	Hilter Fasabi	19/11/2008	MOL
67	<i>Dipteryx sp</i>	Gentry 68734	10	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Cusco amazónico	Dpto. Madre de Dios, Prov. Tambopata, Cuzco amazónico, 15 km ENE de Puerto Maldonado, Transecto #6	Gentry	14/12/1989	MOL
68	<i>Dipteryx sp</i>	Pennington 1138	20	<i>D. charapilla</i>	Dch	Dch		Jenaro herrera	Dpto. Loreto, Prov. Requena, Dist. Jenaro Herrera	R.T. Pennington, C. Reynel, A. Daza	25/10/2002	MOL
69	<i>Dipteryx micrantha</i>	Gutierrez 76	-	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Coronel Portillo	Dpto. Ucayali, Prov. Coronel Portillo, Loc. Aguaytia-Huacamayo	Abelardo Gutierrez R.	08/08/1962	MOL
70	<i>Dipteryx micrantha</i>	Pennington 17090	-	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Reserva Von Humboldt	Dpto. Ucayali, Pucallpa - Tingo Maria km 84, Reserva Von Humboldt	T.D. Pennington, A. Daza, E. ceijas	27/01/2001	MOL
71	<i>Dipteryx rosea</i>	Shunke 362	-	<i>D. charapilla</i>	Dch-tipo	Dch		Mazan	Dpto. Loreto, Rio mazan.	Jose M. Shunke	10/03/1935	US
72	<i>Dipteryx micrantha</i>	Gentry 55993	-	<i>D. micrantha</i>	Dm2	Dm2		Alpahuayo	Dpto. Loreto, Prov. Maynas, Alpahuayo, Km 20 Iquitos- Nauta, ca. 35 km	Al Gentry, R. Vásquez, C. Grandes & N. Jaramillo	16/02/1987	RB
73	<i>Dipteryx sp</i>	Maceda 1152	-	<i>D. micrantha</i>	Dm1	Dm1		Madre de Dios	Dpto. Madre de Dios, Prov. Manu, Puerto Maldonado. Estación biológica Los amigos	A.P. Maceda, F. Espinos	10/12/2003	BRIT
74	<i>Dipteryx micrantha</i>	Tessman 4967	-	<i>D. micrantha</i>	Dm Tipo	Dm2		Loreto	Rio Marañón	G. Tessman	20/01/1925	F

**ANEXO 7**  
**HAPLOTIPOS DE LOS GENES MATK Y PSBA-TRNH**

<p><b>7.1 matK</b></p> <p><b>Hap01:</b> 13.Dm2, 18.Dm2</p> <p>&lt;TTTCTTTTATTTATTAAGGTTGTTTCTTTATGAATATTATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCACAAAACCTT GATTGCTACTTTTTCAAAAAGTAATCCAAGATTCTTCTTGTTTCTATATAATTTTATGTATGTGAATA CGAATCTATCTTCCTTTTCTCCGTAACAAATCCTCTTATTTACGATTAACATCTTTTAGCGTTTTTTT TGAGCGAATCTATTTCTATGCAAAAATAGAACATCTTGTAAGAAGTCTTTGCTAAGGATTTTTTCGTCTA TCGTGTCACTTCAAGGATCCTTTTCATTGATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATTCTGGCTTCA AAGAATACGCCTCTTTAATGAATAAATGGAATACTATCTTATCCTTTTATGGCAATGTCATTTTTAT GTTTGGTCTCAACCAGGAACGATCCATATAAACCAATTATCCGAGCATTCAATTTGACTTTTTAGGCT ATTTTTCAAATGTGCAGCTAAATCCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTGGAAAATTCATTTATAATC GAAATTGTTATAAAAAAGCTTGATACAAGAATTCCAATTATTCTTCTAATTAGATCATTAGCTAAAGC GAAATTTGTAATGTTTTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTGGGCCGATTTCATCCGATTTTGAT ATTATTGACCGGTTTTTGAGATATGCAGAAATCTTTTTATTATTACAATGGATCCTCAAAAAAAA- AGAGTTTGTATCGAATAAA&gt;</p>
<p><b>Hap02:</b> 14.Dm2, 15.Dm2, 19.Dm2, 23.Dm2, 24.Dm2, 43.Dsp, 45.Dm2</p> <p>&lt;TTTCTTTTATTTATTAAGGTTGTTTCTTTATGAATATTATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAAAACCTT GATTGCTACTTTTTCAAAAAGTAATCCAAGATTCTTCTTGTTTCTATATAATTTTATGTATGTGAATA CGAATCTATCTTCCTTTTCTCCGTAACAAATCCTCTTATTTACGATTAACATCTTTTAGCGTTTTTTT TGAGCGAATCTATTTCTATGCAAAAATAGAACATCTTGTAAGAAGTCTTTGCTAAGGATTTTTTCGTCTA TCGTGTCACTTCAAGGATCCTTTTCATTGATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATTCTGGCTTCA AAGAATACGCCTCTTTAATGAATAAATGGAATACTATCTTATCCTTTTATGGCAATGTCATTTTTAT GTTTGGTCTCAACCAGGAACGATCCATATAAACCAATTATCCGAGCATTCAATTTGACTTTTTAGGCT ATTTTTCAAATGTGCAGCTAAATCCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTGGAAAATTCATTTATAATC GAAATTGTTATAAAAAAGCTTGATACAAGAATTCCAATTATTCTTCTAATTAGATCATTAGCTAAAGC GAAATTTGTAATGTTTTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTGGGCCGATTTCATCCGATTTTGAT ATTATTGACCGGTTTTTGAGATATGCAGAAATCTTTTTATTATTACAATGGATCCTCAAAAAAAA- AGAGTTTGTATCGAATAAA&gt;</p>
<p><b>Hap03:</b> 42.Dm2, 46.Dm2</p> <p>&lt;TTTCTTTTATTTATTAAGGTTGTTTCTTTATGAATATTATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAAAACCTT GATTGCTACTTTTTCAAAAAGTAATCCAAGATTCTTCTTGTTTCTATATAATTTTATGTATGTGAATA CGAATCTATCTTCCTTTTCTCCGTAACAAATCCTCTTATTTACGATTAACATCTTTTAGCGTTTTTTT TGAGCGAATCTATTTCTATGCAAAAATAGAACATCTTGTAAGAAGTCTTTGCTAAGGATTTTTTCGTCTA TCGTGTCACTTCAAGGATCCTTTTCATTGATTATGTTAGATATCAA GGAAAATCCATTCTGGCTTCAAGAATACGCCTCTTTAATGAATAAATGGAATACTATCTTATCCT TTTATGGCAATGTCATTTTTATGTTTGGTCTCAACCAGGAACGATCCATATAAACCAATTATCCGAG CATTCAATTTGACTTTTTAGGCTATTTTTCAAATGTGCAGCTAAATCCTTCAGTGGTACGAAGTCAAAT GCTGGAAAATTCATTTATAAATCGAAAATTGTTATAAAAAAGCTTGATACAAGAATTCGAATTTATC TAATTAGATCATTAGCTAAAGCGAAAATTTGTAATGTTTTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTG GGCCGATTTCATCCGATTTTGATATTATTGACCGGTTTTTGAGATATGCAGAAATCTTTTTATTATT ACAATGGATCCTCAAAAAAAA-AGAGTTTGTATCGAATAAA&gt;</p>
<p><b>Hap04:</b> 2.Dm1, 6.Dm1, 11.Dm1, 12.Dm1, 20.Dm1, 21.Dm1, 22.Dm1, 26.Dm1, 30.Dm1, 32.Dm1, 35.Dm1, 36.Dm1, 37.Dm1, 38.Dm1, 5.Dch, <i>D. Oleifera</i> GQ982209</p> <p>&lt;TTTCTTTTATTTATTAAGGTTGTTTCTTTATGAATATTATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAAAACCTT GATTGCTACTTTTTCAAAAAGTAATCCAAGATTCTTCTTGTTTCTATATAATTTTATGTATGTGAATA CGAATCTATCTTCCTTTTCTCCGTAACAAATCCTCTTATTTACGATTAACATCTTTTAGCGTTTTTTT TGAGCGAATCTATTTCTATGCAAAAATAGAACATCTTGTAAGAAGTCTTTGCTAAGGATTTTTTCGTCTA TCTTGTCACTTCAAGGATCCTTTTCATTGATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATTCTGGCTTCA AAGAATACGCCTCTTTAATGAATAAATGGAATACTATCTTATCCTTTTATGGCAATGTCATTTTTAT GTTTGGTCTCAACCAGGAACGATCCATATAAACCAATTATCCGAGCATTCAATTTGACTTTTTAGGCT ATTTTTCAAATGTGCAGCTAAATCCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTGGAAAATTCATTTATAATC GAAATTGTTATAAAAAAGCTTGATACAAGAATTCCAATTATTCTTCTAATTAGATCATTAGCTAAAGC GAAATTTGTAATGTTTTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTGGGCCGATTTCATCCGATTTTGAT ATTATTGACCGGTTTTTGAGATATGCAGAAATCTTTTTATTATTACAATGGATCCTCAAAAAAAA AGAGTTTGTATCGAATAAA&gt;</p>

Continuación Anexo 7

<p><b>Hap05:</b> 46.Dch, 47.Dch, 49.Dch, 50.Dch, 51.Dch, 52.Dch</p> <pre>&lt;TTTTCTTTTATTATTAAGGTTGTTCTTTATGAATATTATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAAAACTT GATTGCTACTTTTTCAAAAAGTAATCCAAGATTCTTCTTGTCTATATAATTTTATGTATGTGAATA CGAATCTATCTTCCTTTTCTCCGTAACAAATCCTCTTATTTACGATTAACATCTTTAGCGTTTTTTT TGAGCGAATCTATTTCTATGCAAAAATAGAACATCTTGTAGAAAGTCTTTGCTAAGGATTTTTTCGTCTA TCTTGTCACTTCAAGGATCCTTTCATTCAATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATTCTGGCTTCA AAGAATACGCCCTTTTAATGAATAAATGGAATACTATCTTATCCTTTTATGGCAATGTCATTTTTAT GTTTGGTCTCAACCAGGAACGATCCATATAAACCAATTATCCGAGCATTCAATTGACTTTTTTAGGCT ATTTTTCAAATGTGCAGCTAAATCCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTGGAAAATTCATTTATAATC GAAATTGTTATAAAAAAGCTTGATACAAGAATTCCAATTATCTTCTAACTAGATCATTAGCTAAAGC GAAATTTGTAAATGTTTTAGGGCATCCCATTAGTAAGCCGGTCTGGGCCGATTTCATCCGATTTTGAT ATTATTGACCGGTTTTTGAGATATGCAGAAATCTTTTTATTATTACAATGGATCCTCAAAAAAAA- AGAGTTTGTATCGAATAAA&gt;</pre>
<p><b>7.2 psbA-trnH</b></p> <p><b>Hap01:</b> 13.Dm2, 18.Dm2, 14.Dm2, 43.Dsp, 19.Dm2, 42.Dm2, 45.Dm2, 46.Dm2</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTAACCTATATTGCTCCTTACTTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATATTATAA TTATA-----TATTTAATATATTTATTTAATTA-ATAATTATTTAATTAATAATTAATATA- TTTATATTTATTAATATTTAATATATTTATTAATATATTTATTTAATATATTTATATAATATATAATTATAA TTTTATTATAATTTTTTTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT----- AGCATTTTTTATAGCATTCTTTATTTAATTCA----- GCATAAGAAATAGAAAAATTTGTGAGTTTCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATT GTTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCC TTCCATTTTTTCTTTCTATAATTAATAAATAAAGACGAATAAAAACTTAGAAGAAAAAAGAATGA TAGCGAAAGAGTAGAAATTCAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap02:</b> 15.Dm2, 23.Dm2</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTAACCTATATTGCTCCTTACTTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATATTATAA TTATATATTTAATATATTTATATTTAATATATTTATATTTAATTA- ATAATTATTTAATTAATAATTAATATA- TTTATATTTATTAATATTTAATATATTTATTAATATATTTATTTAATATATTTATATAATATATAATTATAA TTTTATTATAATTTTTTTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT----- AGCATTTTTTATAGCATTCTTTATTTAATTCA----- GCATAAGAAATAGAAAAATTTGTGAGTTTCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATT GTTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAAGAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCC TTCCATTTTTTCTTTCTATAATTAATAAATAAAGACGAATAAAAACTTAGAAGAAAAAAGAATGA TAGCGAAAGAGTAGAAATTCAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap03:</b> 24.Dm2</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTAACCTATATTGCTCCTTACTTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATATTATAAT TATATATTTAATATATTTATATTTAATATATTTATATTTAATTA- ATAATTATTTAATTAATAATTAATATA- TTTATATTTATTAATATTTAATATATTTATTAATATATTTATTTAATATATTTATATAATATATAATTATAAT TTTATTATAATTTTTTTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT----- AGCATTTTTTATAGCATTCTTTATTTGAATTCA----- GCATAAGAAATAGAAAAATTTGTGAGTTTCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATTGT TTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCTTTTC CATTTTTTCTTTCTATAATTAATAAATAAAGACGAATAAAAACTTAGAAGAAAAAAGAATGATAGCG AAAGAGTAGAAATTCAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap04:</b> 2.Dm1, 6.Dm1, 11.Dm1, 12.Dm1, 20.Dm1, 21.Dm1, 22.Dm1, 26.Dm1, 30.Dm1, 32.Dm1, 35.Dm1, 36.Dm1, 37.Dm1, 38.Dm1</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTAACCTATATTGCTCCTTACTTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATAT-T- TTATATTTATATATTT--TATAT--A---TATT-AAT-T-TT-ATATATA-TTA--TAAATATAAAAT-A--A-T- ATATTA-T-----AA-ATATAAAATAT-A-ATTTTTTAAATATAAAAATA----- TAATTTTTTTTTATTTCAATATTCTTATTCTTTTCTTTAGCATTTTTTATAGCATTCTTTATTTCAATTC AATTTCAAGCATAAGAAATAGAAAAATTTGTGAGTTTCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCAAAT TCTTATTGTTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTT--GT----- AATGAATGTTTCTTTTCCATTTTTTTCTTTTCTATAATTAATAAATAAAGACGAATAAAAACTTAGAA GAAAAAGAATGATAGCGAAAGAGTAGAAATTCAGTATAGTTCA&gt;</pre>

Continuación Anexo 7

<p><b>Hap05:</b> 5.Dch, 46.Dch, 47.Dch, 50.Dch, 51.Dch</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTTAACTCTATATTGCTCCTTTACTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATAT-TTATA-- TA-----ATTT-ATATATTTCTA-----TA--TATTT-AT-A-TA----- -----TA-TA-ATTT-TA-----TATAATTTT-TTATA-TATAATTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT---- AGCATTTTTTATAACATTCCTTTATTTC AATTTC A----- GCATAAGAAATAGAAAATTTGTGAGTTTCCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATT GTTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCC TTTCCATTTTTCTTTTATATAATTAATAA-----GAATAAAAACCTTAGAAGAAAAAAGAAT GATAGCGAAAGAGTAGAAATTC AAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap06:</b> 49.Dch</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTTAACTCTATATTGCTCCTTTACTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATAT-TTATA-- TA-----ATTT-ATATATTTCTA-----TA--TATTT-AT-A-TA----- -----TA-TA-ATTT-TA-----TATAATTTT-TTATA-TATAATTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT---- AGCATTTTTTATAACATTCCTTTATTTC AATTTC A----- GCATAAGAAATAGAAAATTTGTGAGTTTCCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATTGT TTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCCTTTC CATTTTTTCTTTTATATAATTAATAA----- GAATAAAAACCTTAGAAGAAAAAAGAATGATAGCGAAAGAGTAGAAATTC AAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap07:</b> 52.Dch</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTTAACTCTATATTGCTCCTTTACTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATATAT-TTATA-- TA-----ATTT-ATATATTTCTATATA-TTA--TA--TATTT-CT-A-TA----- TTCTATATATTTA-TA-TA-----TA-TA-ATTT-TA-----TATAATTTT-TTATA- TATAATTTTATTTCAATATTCTT-TTCTTT-----GCATTTTTTATAACATTCCTTTATTTC AATTTC A----- GCATAAGAAATAGAAAATTTGTGAGTTTCCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCTAATTTCTTATTGT TTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTTTGTCTCTTTGCAATGAATGTTTCCTTTC CATTTTTTCTTTTATATAATTAATAA----- GAATAAAAACCTTAGAAGAAAAAAGAATGATAGCGAAAGAGTAGAAATTC AAGTATAGTTCA&gt;</pre>
<p><b>Hap08:</b> <i>D. oleifera</i> GQ982209</p> <pre>&lt;TAAAGGAGCAATATTTAACTCTATATTGCTCCTTTACTTTTTAGTAGTCTCGTGATTTATAT-T-TTATA-T--- -ATTT--TATAT--ATAT-AATTT-ATATAATTATA-ATAATTATATAAATAAATAAAT-A----- -----T AATTTT-T----- TTTTATTTCAATATTCTTATTCCTTTTCTTTAGCATTTTTTATAGCATTCTTTATTTC AATTTC A----- GCATAAGAAATAGAAAATTTGTGAGTTTCCTATTATTATTTGTTATTTAGTGATTTCAAATTTCTTATTG TTTTTTTTTTCATCAATCTTTAAAAGAGAAAAAATAATTTT-GT----- AATGAATGTTTCCTTTCCATTTTTTCTTTTCTATAATTAATAAATAAAGACGAATAAAAACCTTAGAAG AAAAAAGAATGATAGCGAAAGAGTAGAAATTC CAGTATAGTTCA&gt;</pre>