

VARIABILIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES NATURALES DE CASTAÑA *Bertholletia excelsa* EN LA REGIÓN DE MADRE DE DIOS, AMAZONIA PERUANA

Hugo PANDURO¹, Ronald CORVERA-GOMRINGER³, Diana CASTRO-RUIZ⁴,
Jean-François RENNO², Dennis del CASTILLO-TORRES³, Mildred
GARCÍA⁵, Edgar CUSI³, Richer RÍOS-ZUMAETA¹, Carlos ANGULO⁴, Jhon
ALVARADO⁴, Carmen GARCIA-DAVILA⁴

¹ Facultad de Ciencias Forestales, Escuela de Ecología, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), Iquitos, Perú.

² Institut de Recherche pour le Développement, Université de Montpellier, Unité Mixte de Recherche Diversité Adaptation et Développement des Plantes (UMR DIADE), Montpellier, France.

³ Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), Dirección de Investigación en Manejo Integral del Bosque y Servicios Ecosistémicos (BOSQUES), Puerto Maldonado, Perú.

⁴ Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), Iquitos, Perú.

⁵ Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP), Facultad de Ciencias Biológicas, Iquitos, Perú.

* Correo electrónico: huenpaga29@gmail.com

RESUMEN

Fue determinada la variabilidad genética poblacional de la castaña *Bertholletia excelsa* en la región de Madre de Dios, mediante el análisis de 11 marcadores microsatélites en un total de 108 árboles. Los resultados globales mostraron una gran diversidad alélica (89 alelos, con una media de 8.09 alelos por *locus*), a nivel poblacional la mayor riqueza alélica fue encontrada en Iberia ($A_R = 4.82$) y la menor en Itahuania ($A_R = 3.64$), estas mismas localidades fueron las únicas que presentaron exceso de heterocigotos. Los resultados del análisis factorial de correspondencia (AFC) muestra una fuerte sobreposición genética entre la mayoría de las localidades analizadas. Los resultados del índice de Fijación (F_{st}) muestra que las localidades de Iñapari y Iberia están más relacionadas entre sí ($F_{st} = 0.048$), pero ligeramente diferenciadas con las demás localidades (los valores de F_{st} con las demás poblaciones variaron entre -0.001 a 0.193). El dendrograma basado en la distancia genética de Nei (1978) muestra que las 11

localidades se encuentran conformando tres agrupaciones genéticas diferentes, (A): Amigos, Pukiri, Itahuania y Manuripe; (B): Heath, Tambopata, Virgen del Carmen, Pariamanu, Iberia e Iñapari; y (C) conformada solo por la localidad de Alerta. Las agrupaciones dentro de los clusters podrían ser atribuidos a las escasas barreras físicas entre las localidades dentro de cada cluster, en tanto que las diferenciaciones entre los clusters podrían estar relacionado a la presencia de ríos entre estas agrupaciones, los cuales podrían constituir barreras físicas infranqueables para el flujo de genes entre estas agrupaciones.

PALABRAS CLAVE: Amazonia peruana, genética de poblaciones, microsatélites, nuez de Brasil.

GENETIC VARIABILITY OF NATURAL POPULATIONS OF CHESTNUT *Bertholletia excelsa* IN THE MADRE DE DIOS REGION, PERUVIAN AMAZON

ABSTRACT

Population genetic variability of Brazil nut *Bertholletia excelsa* in the Madre de Dios region was determined by analyzing 11 microsatellites markers in a total of 108 trees. The global results showed a great allelic diversity (89 alleles, with a mean of 8.09 alleles per *locus*), at the localities level the highest allelic richness was found in Iberia ($A_R = 4.82$) and the lowest in Itahuania ($A_R = 3.64$), this the same localities were the only ones that presented an excess of heterozygotes. The results of the correspondence factor analysis (AFC) show a strong genetic overlap between most of the analyzed localities. The results of the Fixation Index (F_{st}) show that the localities of Iñapari and Iberia are more related to each other ($F_{st} = 0.048$), but slightly differentiated with the other localities (the values of F_{st} with the other localities varied between -0.001 to 0.193). The dendrogram based on the genetic distance of Nei (1978) shows that the 11 localities are forming three different genetic groupings, (A): Amigos, Pukiri, Itahuania and Manuripe; (B): Heath, Tambopata, Virgen del Carmen, Pariamanu, Iberia and Iñapari; and (C) made up only of the Alert locality. The groups within the clusters could be attributed to the few physical barriers between the localities within each cluster, while the differentiations between the clusters could be related to the presence of rivers between these groups, which could constitute insurmountable physical barriers to for gene flow between these clusters.

KEYWORDS: Tradicional medicine, medicinal plants, respiratory diseases.

INTRODUCCIÓN

Los bosques amazónicos peruanos se caracterizan por presentar una elevada riqueza de especies, lo que constituye desde el punto de vista florístico, su cualidad más relevante (Gentry, 1993; Alvarez-Montalván *et al.*, 2021), esto es originado en gran parte por la diversidad de pisos ecológicos presentes en nuestra Amazonía (Zapata, 2001). Actualmente estos bosques vienen sufriendo drásticas reducciones debido a la ocupación territorial antrópica, la cual ejerce una fuerte presión sobre los bosques, poniendo en peligro su diversidad florística y faunística. Una de las principales consecuencias es la reducción de las poblaciones y pérdida de especies, muchas de las cuales todavía no fueron estudiadas en profundidad, desconociéndose sus características biológicas y genéticas, informaciones básicas para establecer planes de mejoramiento adecuados para estas especies.

La región de Madre de Dios no es ajena a esta realidad, siendo una de las regiones con mayor aumento poblacional de los últimos años, debido principalmente a las mejoras en la conectividad terrestre y la explotación mineral. La minería aurífera legal e ilegal viene experimentando un fuerte crecimiento desde finales del siglo pasado, con sitios de acción en diferentes áreas de esta región, causando el deterioro del suelo y pérdida de la flora y fauna en extensas zonas, especialmente en áreas aledañas a los ríos (Román-Dañobeyta *et al.*, 2021). La región de Madre de Dios, es la única región del Perú que presenta concentraciones importantes de bosques de castaña (aproximadamente 2'500,000 ha), de las cuales 1'600,000 son aprovechadas como áreas de recolección (Corvera-Gomringer *et al.*, 2010). Según Chiriboga-Arroyo *et al.*, (2020), entre el 31 y 45% de los ingresos familiares dependen directa o indirectamente de la explotación de este recurso; Madre de Dios

exporta anualmente más de 5 mil toneladas, con un valor aproximado de 30 millones de dólares (MIDAGRI, 2021), es decir, es una actividad vital y sostenible para la región. Esta actividad es considerada como sostenible, debido a que la cosecha de los frutos de la castaña no causa disturbios en los ecosistemas naturales (Zuidema & Boot, 2002). Sin embargo, los reportes de los últimos 20 años muestran que sus poblaciones naturales de castaña, vienen sufriendo drásticas reducciones que en los últimos años han ido en aumento debido a la deforestación, falta de regeneración natural y el aumento en la tasa de mortalidad de adultos (Chiriboga-Arroyo *et al.*, 2020).

A pesar de su importancia económica para la región, aún existe vacíos de información sobre este recurso, la escasa información existente está relacionada mayormente a estudios de germinación de semillas y técnicas de injertación para obtención de plantas elite (Corvera-Gomringer *et al.*, 2010). Los estudios sobre la variabilidad genética de sus poblaciones naturales en la región de Madre de Dios están limitadas a la evaluación del estado de conservación y estructuración genética de siete poblaciones naturales aledañas a la ciudad de Puerto Maldonado (Reátegui-Zirena *et al.*, 2009), sin embargo, aún se desconoce cuál es el estado de conservación de los pools genéticos que se encuentran en localidades más alejadas. Completar esta información es de vital importancia no solo para la supervivencia de la especie y su futura evolución, sino también como una fuente potencial para futuros planes de mejoramiento genético de la misma (Kanashiro, *et al.*, 1997).

En ese sentido el presente estudio busco determinar la variabilidad genética de la castaña en poblaciones naturales de la región de Madre de Dios, con el objetivo de generar información que sirva de base para futuros planes de conservación y manejo sostenible, así como de mejoramiento genético de la especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fue colectado tejido foliar de castaña *Bertholletia excelsa*, en 11 localidades de la región de Madre de Dios (Figura 1): provincia de Manu en Los Amigos, Itahunia y Pukiri; Provincia de Tambopata en Manuripe, Virgen del Carmen, Pariamanu, Tambopata y Heath; Provincia de Tahuamanu en Iñapari, Iberia y Alerta.

El ADN fue extraído de 0,1 g de tejido de hojas secas utilizando un método CTAB modificado (Doyle &, 1987). La amplificación de ADN para 11 loci microsateélites (Tabla 1) se realizó utilizando cebadores diseñados para *Bertholletia excelsa* por Reis et al. (2009) en un volumen total de 10µl, conteniendo 1x de Buffer, 2.5mM de MgCl₂, 0.2mM de dNTPs, 0.4µM de cada primer, 0.04U/µl de Taq ADN polimerasa, 20ng de ADN molde y

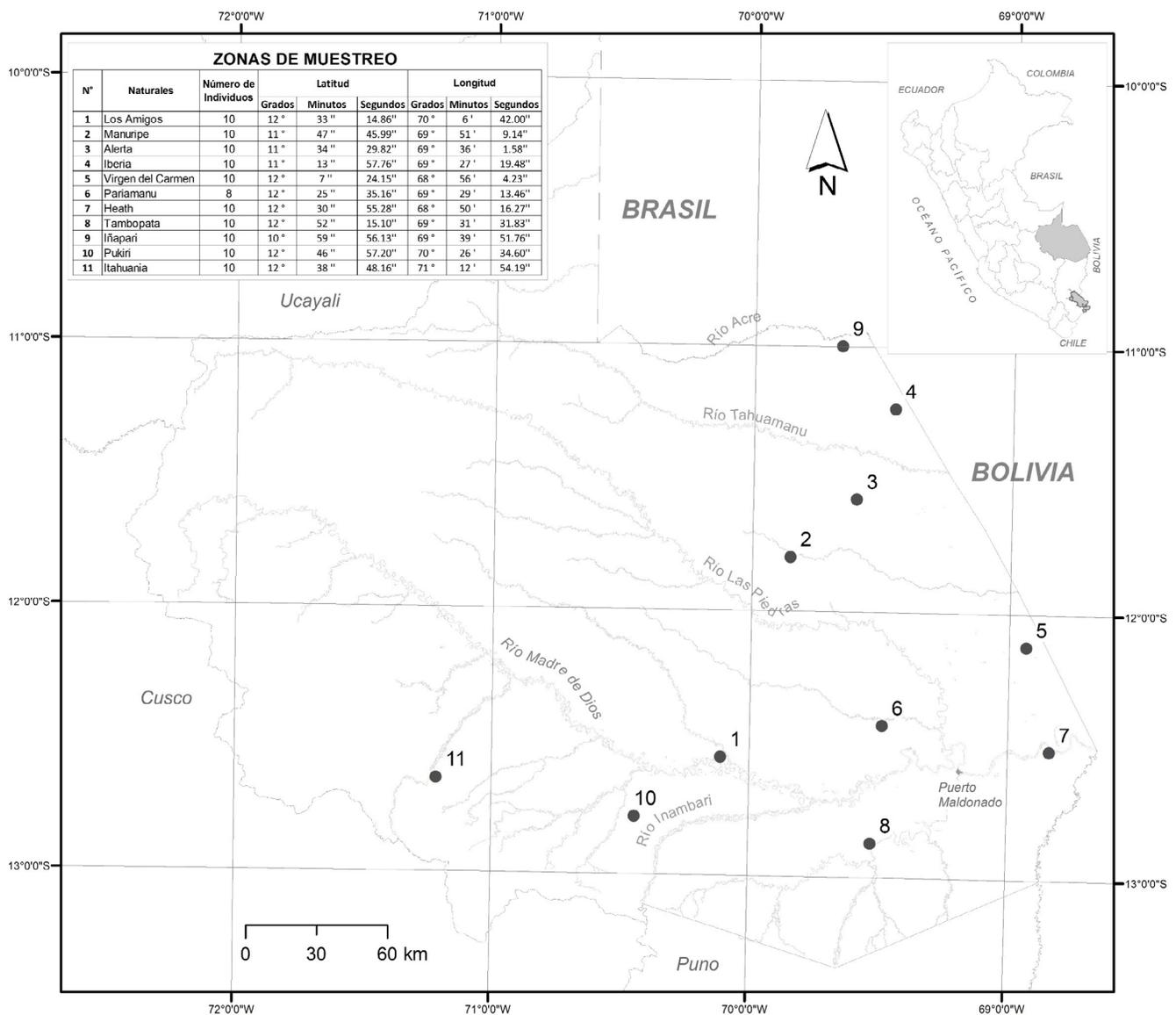


Figura 1: Mapa de ubicación de las 11 zonas de muestreo de castaña *Bertholletia excelsa* en la región de Madre de Dios.

Tabla1. Índices genéticos obtenidos a partir de 11 loci microsatélites de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

Localidades	n	A _T	A _R	Media		F _{IS}
				H _o	H _e	
Los Amigos	10	45	4.09	0.58	0.55	0.08*
Manuripe	10	50	4.55	0.64	0.61	0.11*
Alerta	10	47	4.27	0.59	0.56	0.17
Iberia	10	53	4.82	0.64	0.61	0.05*
Virgen del Carmen	10	45	4.09	0.60	0.57	0.15
Pariamanu	08	49	4.45	0.63	0.59	0.14*
Heath	10	49	4.45	0.61	0.58	0.15
Tambopata	10	43	3.91	0.57	0.54	-0.01*
Iñapari	10	52	4.73	0.59	0.56	0.24
Pukiri	10	45	4.09	0.53	0.51	0.01*
Itahuania	10	40	3.64	0.55	0.52	-0.10*

Abreviaturas: Número de individuos (n), número total de alelos (A_T), media de número de alelos o riqueza alélica (A_R), media de heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_e) y coeficiente de endogamia (F_{IS}). *= no se puede rechazar la panmixia.

agua ultrapura. La PCR fue programada con las siguientes condiciones: denaturación inicial a 96°C x 2 min; seguida de 35 ciclos de: denaturación a 94°C x 1 min., hibridación por 1 min., con temperatura óptima para cada primer y extensión a 72°C por 30 s; finalmente seguida de una extensión final a 72°C por 30 min.

ANÁLISIS DE DATOS

Fue determinada variabilidad genética: número de alelos, riqueza alélica, heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observadas (H_o), en cada una de las once localidades evaluadas con la ayuda del software GenAlex versión 6.0 (Peakall & Smouse 2005); así como las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg, calculadas comparando los valores de F_{IS} observada con los valores F_{IS} teóricas por 1000 poblaciones panmicticas artificiales, generadas por 1000 permutaciones

al azar entre los alelos en cada locus con ayuda del software Genetix versión 4.05 (Belkhir *et al.*, 2004). El Análisis Factorial de Correspondencia (AFC), la diferenciación genética entre las localidades estimada en base al índice de fijación (F_{st}), el flujo genético estimado mediante el número de migrantes (Nm) por generación, así como la distancia genética entre las localidades fueron estimados con la ayuda del software Genetix versión 4.05 (Belkhir *et al.*, 2004).

La relación entre distancia genética y distancia geográfica fue determinada mediante un análisis de correlación entre el logaritmo natural de la distancia geográfica y la distancia genética de Rousset (F_{st}/1-F_{st}) con ayuda del software estadístico BioStat. Las relaciones genéticas entre las localidades evaluadas del género *Bertholletia* fueron estimados mediante un dendrograma UPGMA (Unweighted Pair Group Method with

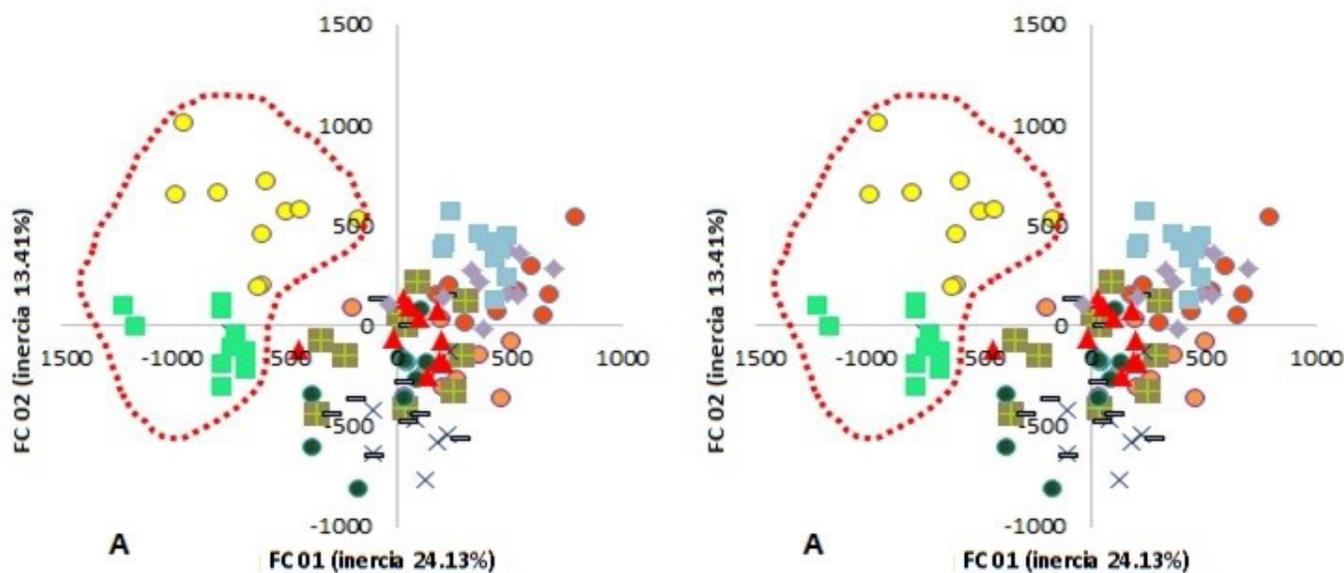


Figura 2: Proyección gráfica de los resultados del AFC para los ejes A) 1 y 2; B) 1 y 3 encontrados en los individuos de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

the Arithmetic Averaging) a partir de la distancia genética de Rousset con ayuda de los softwares Phylip versión 3.69 y Treeview (Page, 1996).

La estructura genética fue determinada mediante el análisis de asignación Bayesiano implementado en el software STRUCTURE ver. 2.3.4 (Falush *et al.*, 2003), desarrollado por Pritchard *et al.* (2000). El número de grupos genéticos más probable fue determinando mediante el valor máximo del estadístico Delta K (ΔK), estimado según el método de Evanno *et al.* (2005).

RESULTADOS

VARIABILIDAD GENÉTICA DE LOS ALELOS DENTRO DE CADA LOCALIDAD

Iberia fue la localidad que presento el mayor número de alelos ($A_T=53$), y por consiguiente la mayor riqueza alélica ($A_R=4.82$), entre las once localidades analizadas. Mientras que Itahuania presentó los índices más bajos ($A_T=40$ y $A_R=3.64$). Los resultados del coeficiente de endogamia (F_{IS})

muestra que las localidades de Alerta, Virgen del Carmen, Iñapari y Heath presentaron un desvío a la panmixia, mientras que en las siete localidades restantes no se pudo rechazar la panmixia. La heterocigosidad observada y la esperada difieren poco en todas las localidades, mostrando un exceso de heterocigotos solo en las localidades de Iberia, Tambopata, Pukiri y Itahuania (Tabla 1).

Los resultados del análisis factorial de correspondencia (AFC) muestra que las localidades no están claramente diferenciados a nivel genético, observándose una fuerte superposición entre la mayoría de ellas. Sin embargo, las localidades de Iñapari y Iberia están más relacionadas entre sí y presentan una ligera diferenciación con las demás localidades (Figura 2 A y B). Los valores de F_{ST} mostraron que estas mismas localidades fueron las que presentaron mayor diferenciación genética con respecto a las nueve localidades restantes. Iñapari presento los mayores valores de F_{ST} con las localidades de Amigos, Pukiri y Itahuania ($F_{ST} = 0.19$), pudiendo está ser considerada como

diferenciación genética alta según la clasificación de Hartl & Clark (1997). Con las demás localidades Iñapari presento valores moderados de diferenciación genética (valores de F_{st} variaron de 0.08 a 0.14) excepto con Iberia donde presento una estructuración genética pequeña ($F_{st} = 0.05$), todos estos valores presentaron significancia estadística (Tabla 2).

Todas las localidades presentaron flujo de genes (Nm) entre ellas, las localidades con mayor flujo de genes fueron los Amigos-Pukiri y Virgen del Carmen-Heath ($Nm = \infty$ infinito), en tanto que Iñapari-Itahuania ($Nm = 1.05$) y Pukiri-Iñapari ($Nm = 1.08$) fueron las que presentaron el menor flujo de genes, es decir, fueron las más aisladas genéticamente (Tabla 3).

Los valores de la distancia genética (Nei, 1978) mostraron que la localidad de Iñapari presento las mayores distancias genéticas con

el restante de poblaciones (distancias variaron de 0.16 a 0.42) a excepción de Iberia con la que presento una distancia genética menor (0.10). La localidad de Amigos fue la que presento la mayor distancia genética con Iñapari (0.42), en tanto que esta misma localidad presento una distancia genética de 0.00 con Pukiri, mostrando de estas localidades no presentan ninguna diferenciación genética entre ellas (Tabla 4).

Las localidades con mayor distancia geográfica lineal fueron Itahuania y Heath con (258.64 km) y las más cercanas fueron Iñapari y Iberia con (34.29 km). Los valores de distancia genética de Rousset ($F_{st}/1-F_{st}$) variaron entre 0,24 (Iñapari-Itahuania) a 0,00 (Amigos-Pukiri) (Tabla 5). El análisis de correlación evidenció que las distancias genéticas observadas entre las 11 localidades de la castaña *Bertholletia excelsa* estudiadas, tienen cierta dependencia de la distancia geográfica

Tabla 2. Índices de F_{st} calculados a partir de 11 *loci* microsatélites de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

	Manuripe	Alerta	V. Carmen	Pariamanu	Heath	Tambopata	Pukiri	Itahuania	Iberia	Iñapari
Amigos	0.03n.s.	0.04*	0.06***	0.07**	0.07***	0.05*		0.02n.s.	0.12***	0.19***
Manuripe		0.04**	0.07***	0.03*	0.05***	0.07***	0.07**	0.05**	0.11***	0.13***
Alerta			0.04n.s.	0.06*	0.02*	0.09**	0.09***	0.08***	0.10***	0.14***
V. Carmen				0.02n.s.	0.00n.s.	0.03n.s.	0.07***	0.10***	0.08***	0.10***
Pariamanu					0.01n.s.	0.04*	0.10***	0.08***	0.06**	0.08***
Heath						0.04*	0.11***	0.11***	0.08**	0.10***
Tambopata							0.10***	0.09***	0.08***	0.12***
Pukiri								0.07***	0.16***	0.19***
Itahuania									0.11***	0.19***
Iberia										0.05*

Abreviaturas: *** $p \leq 0.001(99.9\%)$; ** $p \leq 0.01(99\%)$; * $p \leq 0.05(95\%)$; ns = no significativo.

Tabla 4. Valores de distancia genética (Nei 1978) obtenidos de 11 loci de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

	Manuripe	Alerta	V. Carmen	Pariamanu	Heath	Tambopata	Pukiri	Itahuania	Iberia	Iñapari
Amigos	0.05	0.10	0.11	0.12	0.13	0.08	0.00	0.03	0.25	0.42
Manuripe		0.08	0.14	0.07	0.10	0.13	0.12	0.08	0.25	0.29
Alerta			0.08	0.12	0.05	0.15	0.14	0.13	0.20	0.30
V. Carmen				0.05	0.01	0.05	0.12	0.17	0.16	0.19
Pariamanu					0.02	0.06	0.17	0.13	0.13	0.16
Heath						0.06	0.19	0.18	0.16	0.20
Tambopata							0.14	0.12	0.13	0.23
Pukiri								0.09	0.30	0.37
Itahuania									0.19	0.39
Iberia										0.10

Tabla 5. Valores de distancia genética de Rousset ($F_{st}/1-F_{st}$) (arriba de la diagonal) de 11 loci microsatélites de castaña *Bertholletia excelsa* y distancias geográficas en kilómetros (debajo de la diagonal) entre las 11 localidades de castaña analizadas en la región de Madre de Dios.

	Amigos	Manuripe	Alerta	V. Carmen	Pariamanu	Heath	Tambopata	Pukiri	Itahuania	Iberia	Iñapari
Amigos	-	0.03	0.06	0.07	0.07	0.08	0.05	0.00	0.02	0.14	0.23
Manuripe	88.37	-	0.04	0.07	0.03	0.05	0.08	0.08	0.06	0.12	0.15
Alerta	122.47	36.85	-	0.04	0.06	0.03	0.10	0.10	0.09	0.11	0.17
V. Carmen	137.08	106.32	94.42	-	0.02	0.00	0.03	0.08	0.11	0.08	0.11
Pariamanu	69.31	80.42	94.89	69.09	-	0.01	0.04	0.11	0.09	0.07	0.08
Heath	138.59	135.97	133.13	44.67	71.22	-	0.02	0.13	0.12	0.09	0.11
Tambopata	72.61	123.91	143.68	104.88	49.96	83.80	-	0.11	0.10	0.08	0.14
Pukiri	44.45	126.90	162.03	179.03	110.64	176.64	99.70	-	0.08	0.19	0.23
Itahuania	120.26	175.31	211.82	255.08	189.11	258.64	185.05	85.28	-	0.12	0.24
Iberia	162.46	75.77	41.13	113.41	132.080	156.97	181.43	201.59	247.23	-	0.05
Iñapari	178.28	90.69	63.74	147.34	159.76	190.23	207.40	215.20	248.80	34.29	-

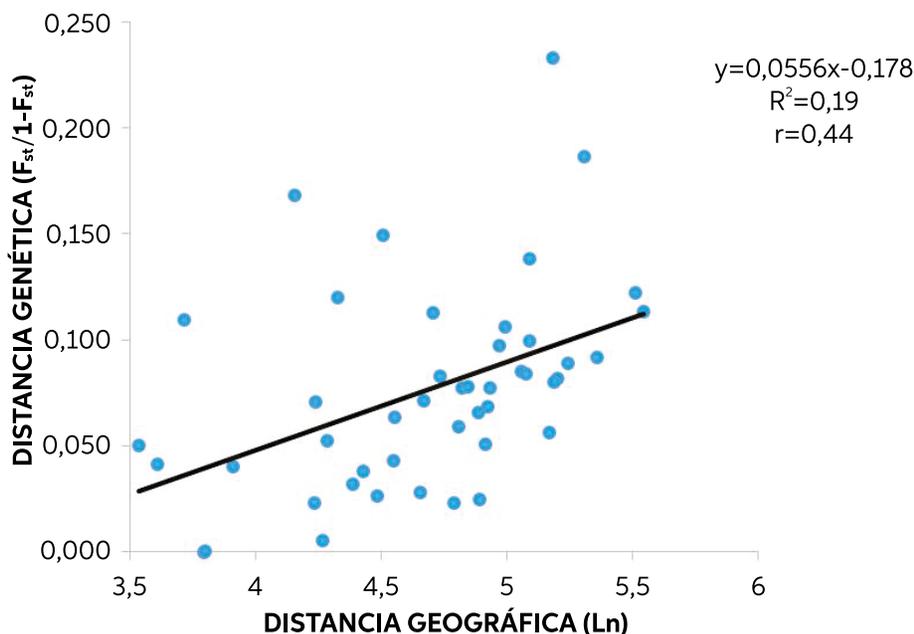


Figura 3: Representación gráfica del análisis de correlación entre la distancia genética de Rousset ($F_{st}/1-F_{st}$) y la distancia geográfica Km (Ln) de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

siguiendo un modelo de distribución exponencial ($r = 0.44$ %, $gl = 10$, $p = 0.002$), mostrando que existe una correlación moderada entre ellas, es decir que las distancias genéticas encontradas son explicadas en parte por la distancia geográfica entre las localidades estudiadas (Figura 3).

RELACIONES INTERPOBLACIONALES

El dendograma con las relaciones entre las 11 localidades de la castaña *Bertholletia excelsa*, basado en la distancia genética de Nei y obtenido según el criterio de agrupamiento del Vecino Próximo (Neighbor Joining). Muestra que las 11 localidades se encuentran conformado tres grandes agrupaciones o *cluster* diferentes, (A): Amigos, Pukiri, Itahuania y Manuripe; (B): Heath, Tambopata, Virgen del Carmen, Pariamanu, Iberia e Iñapari; en tanto que la agrupación (C) está conformada solo por la localidad de Alerta (Bootstrap = 91%). Las localidades más próximas en el grupo (A) fueron Amigos y Pukiri y en

el (B) fueron Iberia e Iñapari, estas asociaciones son estables, lo cual es inferido de los valores de bootstrap mayores a 50% (69% y 95%, respectivamente). Si bien el dendograma muestra también que Heath y Virgen del Carmen son localidades cercanas entre sí, pero esta relación no tiene robustez estadística debido a que el valor del bootstrap fue menor del 50%, mostrando que la relación entre estas localidades no es sólida (Figura 4).

ANÁLISIS DE ESTRUCTURACIÓN POBLACIONAL

Los resultados del Análisis bayesiano de estructuración, analizados mediante el estadístico ΔK (delta K), muestra que las poblaciones analizadas se dividen preferentemente en dos grandes grupos genéticos o *cluster* ($K = 2$) como observado en la figura 5A; representados en la figura 5B en verde claro y rojo. En la figura 5B se observa, además, que los individuos de las localidades

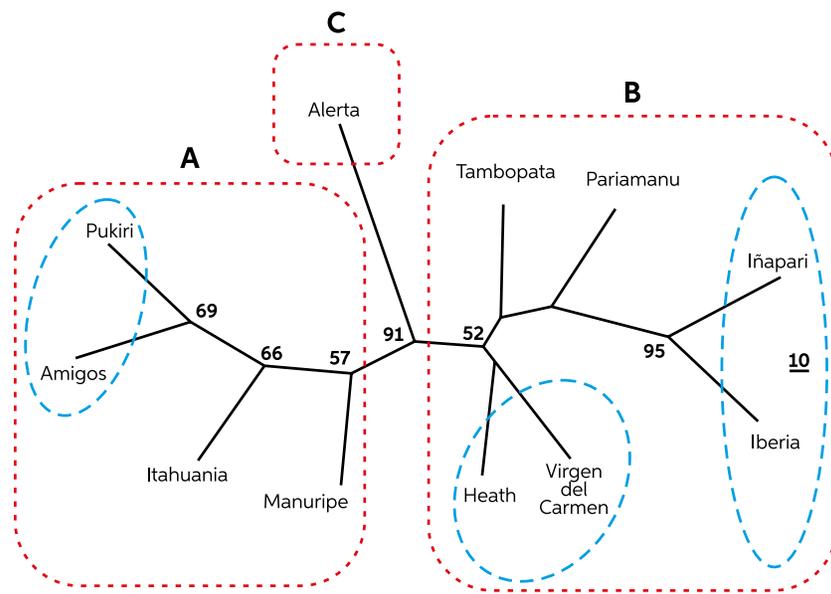


Figura 4: Dendrograma construido a partir de las Distancias (Nei, 1978) según el criterio de agrupamiento Neighbor Joining. Los números en los nudos corresponden a los valores de bootstrap obtenidos con 100 réplicas, en el dendrograma solo son mostrados los valores de bootstrap iguales o superiores a 50.

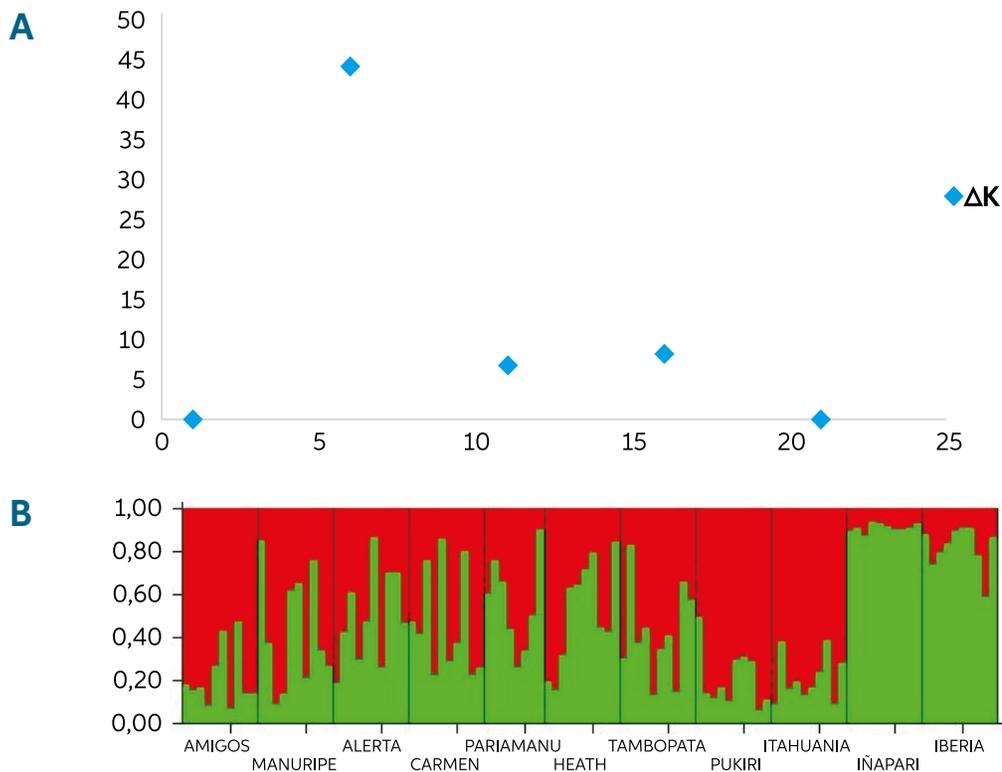


Figura 5: A) Esquema gráfico que representa el cálculo de "Delta K", B) Representación gráfica de la estructuración poblacional de 11 loci microsatélites de castaña *Bertholletia excelsa* provenientes de 11 localidades de la región de Madre de Dios.

de Iñapari y Iberia presentan una membresía (Q) igual o mayor al 0.80 del *cluster* representado aquí en verde claro. Mientras que las demás poblaciones presentan un Q entre 0.20 a 0.80s del *cluster* representado en rojo.

DISCUSIÓN

La castaña es un producto forestal no maderable que ha sido señalado como una especie importante para las estrategias de conservación y desarrollo de los bosques lluviosos amazónicos. Esta especie, no solo es considerada clave para el mantenimiento de la diversidad biológica de los ecosistemas, sino también una gran oportunidad para el desarrollo y crecimiento económico de la región (Chiriboga-Arroyo *et al.*, 2020). Actualmente la expansión demográfica de la región de Madre de Dios constituye una fuerte amenaza para las poblaciones naturales de esta especie, que vienen siendo reducidas por el establecimiento de nuevos poblados, la deforestación para las extracciones auríferas y el cambio de uso de la tierra, lo cual genera sobrepresión sobre las mismas (Caballero-Espejo *et al.*, 2018; Alarcón-Aguirre *et al.*, 2021). Hasta el momento existe muy reducida información sobre la variabilidad genética de las poblaciones naturales de castaña, siendo esta carencia la que dificulta la elaboración de futuros planes de manejo y conservación de este recurso, poniendo en riesgo su supervivencia y futura evolución (problema ya señalado por Kanashiro *et al.*, 1997 para la castaña en el estado de Acre, Brasil). Los estudios sobre la variabilidad genética de las poblaciones naturales de castaña en la región de Madre de Dios estuvieron limitadas a la evaluación del estado de conservación y estructuración genética de siete poblaciones naturales aledañas a la ciudad de Puerto Maldonado (Reátegui-Zirena *et al.*, 2009), sin embargo, aún se desconocía cuál era el

estado de conservación, la variabilidad genética y el flujo de genes de los pools que se encuentran en localidades más alejadas. Recientemente fue evaluado los efectos de la degradación del hábitat sobre la genética de la especie en la región de Madre de Dios, mostrando la importancia de la conectividad del paisaje en la preservación de la especie (Chiriboga-Arroyo *et al.*, 2020)

VARIABILIDAD GENÉTICA POBLACIONAL

Nuestros resultados muestran que la castaña en la región de madre de Dios presento una gran variabilidad genética (polimorfismo) en las 11 localidades analizadas. El número de alelos (AT) variaron entre 40 a 53 alelos por localidad. Estos valores fueron relativamente superiores a los encontrados por Reátegui-Zirena *et al.* (2009) para esta especie en otras poblaciones de castaña en Amazonía peruana (AT = 31 a 35 alelos); en tanto que se encuentran en el rango de los reportados por Sujii *et al.* (2015) para nueve poblaciones de los estados de Acre, Amazonas, Roraima y Amapá en la Amazonía brasilera (AT = 72 a 40 alelos); y fueron grandemente inferiores a los reportados por Cabral *et al.* (2017) para 198 individuos aledaños a la ciudad de Itaúba del estado de Mato Grosso en Brasil (AT = 173 a 193 alelos). Nuestros valores de riqueza alélica (AR) variaron entre 3.64 a 4.82 y fueron inferiores a los reportados por otros autores para la misma especie (Reátegui-Zirena *et al.*, 2009: AR = 5.83 a 5.17; Cabral *et al.*, 2017: AR = 17.3 a 19.3), en tanto fueron similares a las encontradas por Sujii *et al.* (2015) para tres (de sus nueve) poblaciones naturales ubicadas a los alrededores de la confluencia del río Amazonas y el río Negro en la Amazonía brasilera (AR = 3.00 a 5.30) y fueron superiores a las reportadas por Chiriboga-Arroyo y acompañantes en el 2020 (AR = 2.190 a 2.560) para adultos de castaña evaluados en la región de Madre de Dios. Estas diferencias podrían estar relacionadas a la ubicación geográfica de las

localidades analizadas, es decir, las poblaciones con menor riqueza alélicas están ubicadas en posiciones periféricas en la distribución natural de la especie y posiblemente fueron originadas por un número menor de árboles pioneros por lo que es de esperar que presente una menor diversidad genética. En tanto que las localidades ubicadas en una posición más central en la distribución natural de la especie en la Amazonia continental presentan una mayor variabilidad genética debido al mayor número de poblaciones vinculantes; o en su defecto podría deberse a la pérdida de variabilidad por disminución de la biomasa de la especie en zonas con alta presión antropogénica (Chiriboga-Arroyo *et al.*, 2020; Conte, 2004). La diversidad genética de una especie es esencial para asegurar su capacidad de adaptación frente a los contrastes ambientales. Los altos valores de riqueza alélica encontrado en la castaña es una característica de las plantas leñosas o plantas perennes, las cuales suelen presentar elevados niveles de variabilidad genética en comparación con las plantas no leñosas o herbáceas. Lo cual se debe a que las especies perennes poseen tiempos de vida relativamente largos, sistemas efectivos de dispersión de polen y semillas lo que promueven el flujo genético (Hamrick, *et al.* 1992). Estos mecanismos aseguran la sobrevivencia y la adaptación de estas especies; ya que la pérdida de esta variabilidad disminuye el potencial evolutivo y el suceso reproductivo de las mismas (Frankham *et al.*, 2008; Chiriboga-Arroyo *et al.*, 2020). La heterocigosidad observada fue menor que la esperada en la mayoría de localidades, mostrando un exceso de heterocigotos solo en las localidades de Tambopata y Itahuania. Cuando la heterocigosidad observada es menor a la esperada se asume que en esa población ha sido producida mayormente por apareamientos endogámicos de lo que se espera por azar, es decir que los progenitores eran individuos genéticamente muy relacionados,

originando así un mayor incremento de homocigosidad (Wright, 1969).

Los resultados del coeficiente de endogamia (F_{IS}) nos señalan que, de las 11 localidades estudiadas solo Alerta, Virgen del Carmen, Iñapari y Heath mostraron un desvío a la panmixia, mientras que en las siete localidades restantes no se pudo rechazar la panmixia; es decir que la reproducción se realizó al azar. Las localidades de Tambopata y Itahuania fueron las únicas que presentaron valores de F_{IS} negativos (-0.01^* y -0.10^* , respectivamente), lo que impide que se puede descartar la no consanguinidad en estas poblaciones por el valor negativo de los mismos (Sujii *et al.*, 2015).

DIFERENCIACIÓN GENÉTICA Y RELACIONES FITOGEOGRÁFICAS ENTRE LOCALIDADES

La proyección gráfica de los resultados del AFC para los ejes 1 & 2 y 1 & 3 del análisis factorial de correspondencia (AFC) muestran que las localidades de castaña de Madre de Dios presentan una gran superposición entre la mayoría de ellas, es decir que no están claramente diferenciadas a nivel genético, a excepción de Iñapari y Iberia, que parecen presentar una ligera diferenciación con respecto a las demás localidades. Los resultados de F_{ST} y distancias genéticas (Nei, 1978) confirman este supuesto; mostrando que Iñapari y Iberia presentan una estructuración (diferenciación) genética de moderada a alta (según la clasificación de Hartl & Clark, 1997), con relación a las nueve localidades restantes, los valores de F_{ST} entre estos dos grupos de localidades variaron entre 0,06 a 0.19 y las distancias genéticas entre 0.13 a 0.42. Reátegui-Zirena *et al.* (2009) estimó valores mucho menores de ambos parámetros para otras localidades de castaña en la región de Madre de Dios (valores de F_{ST} variaron entre 0,00 a 0.038 y de distancias genéticas entre 0.00 a 0.04), las diferencias encontradas podrían estar relacionadas a que las localidades

estudiadas por Reátegui-Zirena *et al.* (2009) se encontraban geográficamente mucho más cercanas entre sí (distancias variaron de 18 a 96 km) en comparación de las localidades evaluadas en el presente estudio, cuyas ubicaciones geográficas son mucho más distantes (distancias variaron de 34 a 258 km). El valor de 0.57 del índice correlación de Pearson (Hernández-Lalinde, *et al.*, 2018) entre las distancias genéticas de Rousset (1997) y las distancias geográficas lineales, muestra que existe una correlación positiva moderada entre estas distancias en todas las localidades analizadas. Este valor es mayor al estimado por Reátegui-Zirena *et al.* (2009) para esta especie ($r = 0.38$), valor que según la escala de Pearson es una correlación positiva baja. Nosotros pensamos que las reducidas distancias geográficas entre las localidades evaluadas por Reátegui-Zirena *et al.* (2009) no permitió observar con mayor precisión el efecto de la distancia geográfica sobre la distancia genética en esta especie.

Los resultados de número de migrantes por generación (N_m), refuerzan nuestro supuesto, mostrando que las distancias geográficas podrían estar influenciando en las diferenciaciones genéticas, ya que los menores flujos genéticos fueron encontrados entre Iñapari y las demás localidades (valores de N_m variaron entre 1.05 a 2.98), en contraste entre localidades cercanas los valores de número de migrantes por generación fueron elevados entre la mayoría de poblaciones, siendo que Pukiri & Amigos y Virgen del Carmen & Heath presentaron valores al infinito, lo que significa que mantienen un elevado flujo de genes. Asimismo, el número reducido de alelos privados por localidad (1 a 2 alelos) y baja representatividad en las frecuencias de los alelos en las localidades (menores a 1% entre las frecuencias de alelos de la población total de la castaña), los sitúan como alelos raros (alelos esporádicamente presentes en una localidad). Los valores mínimos de N_m encontrados por Reátegui-Zirena

et al. (2009) fueron mucho mayores a los reportados en este estudio (menor valor de $N_m = 6.26$) y el número de alelos privados fueron solamente cinco. Lo cual corrobora el supuesto del papel de las distancias geográficas en la diferenciación de las poblaciones por aislamiento genético debido a bajo flujo de genes. Ya que la capacidad de dispersión de la especie, las barreras geográficas, distancias y estructura poblacional, son las que determinan el impacto del flujo genético en las poblaciones (Orell *et al.*, 1999). Asimismo, Slatkin (1994) nos indica que, si existe la presencia de un bajo flujo genético entre las localidades, más alelos privados son los que surgirán.

Finalmente, los resultados del análisis bayesiano de estructuración poblacional y el dendrograma de Neighbor-Joining (elaborado a partir de las distancias genéticas de Nei), mostraron la conformación de las dos mismas agrupaciones de localidades o clusters (Cluster (A): Amigos, Manuripe, Alerta, Virgen del Carmen, Pariamanu, Heath, Tambopata, Pukiri e Itahuania; y Cluster (B): Iberia e Iñapari); el análisis bayesiano de estructuración además muestra que estos dos clusters no se superponen entre ellos; reforzando nuestro supuesto de la presencia de dos grupos genéticos distintos de castaña en la región de madre de Dios. Dos grupos genéticos distintos también fue reportado en plantas adultas de la región de Madre de Dios por Chiriboga-Arroyo *et al.*, (2020). Estructuración genética poblacional también fue encontrada para esta especie en la Amazonia brasilera (Sujii *et al.*, 2015), donde fueron reportados cuatro grupos genéticos distintos y sin superposición entre nueve poblaciones de los estados de Acre, Amazonas, Roraima y Amapa, con distancias geográficas entre las poblaciones, variando de <130 a >2000 kilómetros. Estos autores reportaron que poblaciones cercanas (distancia <200 km) no presentaban estructuración genética entre ellas, a excepción de un par de poblaciones que presentaron estructuración

genética baja ($F_{st} = 0.014$) entre ellas a pesar de estar ubicadas a 130 km de distancia una de la otra. Nosotros encontramos estructuración genética mayores a menores distancias geográficas entre localidades situadas a 36 km una de la otra (Manuripe y Alerta $F_{st} = 0.04$). Inclusive, ya fue encontrado estructuración genética entre grupos de individuos de castaña habitando espacios menores (18.8 ha o 0.19 km²) en mato Grosso (Brasil) pero los individuos de estos tres clusters estaban superpuestos territorialmente (Cabral *et al.*, 2017).

Para poder entender cuáles serían los posibles factores que estarían o han estado históricamente influenciando la estructuración genética entre estos dos grupos de localidades, analizaremos algunas variables físicas diferenciales entre ellas. i) el tipo de relieve topográfico entre las localidades, mientras las localidades del cluster (B) (Iñapari y Iberia) están situados en un bosque de relieve colinoso, las localidades del cluster (A) (Amigos, Manuripe, Alerta, Virgen del Carmen, Pariamanu, Heath, Tambopata, Pukiri e Itahuania) se encuentran en un área mucho más baja y plana, esto podría estar afectando la dispersión del polen por parte de los agentes polinizadores. Sin embargo, según la literatura, los himenopteros polinizadores de la castaña cuyo sistema de reproducción es alogámica; son abejas (euglosinas) grandes y robustas capaces de sobrevolar colinas y realizar vuelos largos (aproximadamente 2.5 km), por lo que los bosques colinosos no representarían un obstáculo para el movimiento de estas abejas (Tonhasca *et al.*, 2002; Dressler, 1982). ii) la diferencia en el tipo de suelo, tanto las localidades del cluster (B) (Iñapari y Iberia) se encuentran ubicadas sobre un tipo de suelo denominados Caramay Apurimac (suelos con baja fertilidad debido a la deficiencia de nitrógeno y fosforo), las localidades del cluster (A) (Amigos, Manuripe, Alerta, Virgen del Carmen, Pariamanu, Heath, Tambopata, Pukiri

e Itahuania) se encuentran ubicadas sobre suelos acrisoles, que según la clasificación de suelos de la Amazonía peruana, son ácidos, pobres en nutrientes y bien drenados. Los suelos, el clima, el drenaje y la topografía son fundamentales para la conformación de la diversidad y composición florística de los bosques (John *et al.*, 2007), las castañas de las localidades del cluster (B) (Iñapari y Iberia) forman parte de un bosque donde predominan la shiringa (*Hevea brasiliensis*) y el Bambu, en tanto que en los suelos acrisoles del cluster (A) la castaña es la especie predominante sobre otras especies frutales, forestales y herbáceas. En esta unidad se reporta alta diversidad florística y mayor heterogeneidad que en las zonas montañosas, donde se observa un reducido número de especies, de tamaños pequeños y mala conformación. Entonces, es bien posible que composiciones florísticas diferentes, posean una entomofauna diferente y específica de estos tipos de bosques. Esto podría originar que tanto las abejas euglosinas como el añuje *Dasyprocta agouti* y la ardilla *Sciurus spadiceus* que son sus principales polinizadores y dispersores, respectivamente (Motta, 2002; Peres & Baidier, 1997; Zuidema & Boot, 2002; Mori, 1992); estén especializados en un tipo de hábitat, y restrinjan sus actividades solo dentro de estos ecosistemas. Esto estaría generando una barrera al flujo de genes entre las dos agrupaciones de castaña. iii) asimismo, no podemos excluir la probabilidad de la acción humana en la estructuración de las dos agrupaciones de castaña en la región de Madre de Dios; esto debido a que Iñapari e Iberia son localidades que fueron fuertemente explotadas durante la época del caucho lo que origino extensas áreas deforestadas; además, la intensiva colecta de semillas pudo causar bajo reclutamiento (Peres *et al.*, 2003), con la consecuente erosión genética y diferenciación de las poblaciones. Esto sumado al papel de los indios precolombianos como consumidores y "dispersores de semillas" (Sujii *et al.*,

2015), que podrían en algún grado haber influenciado el flujo de genes o la diferenciación entre las poblaciones.

Por último, nuestros datos muestran que la diversidad alélica entre las dos agrupaciones de castaña es diferente, observándose un mayor promedio de alelos entre los individuos de los dos clusters. En el cluster (B) las dos localidades en conjunto presentaron en promedio tres alelos por individuo (66 alelos en 20 individuos); en tanto que el cluster (A) las nueve localidades en conjunto presentaron en promedio un alelo por individuo (86 alelos en 88 individuos). Esto podría ser un indicativo de que el cluster (B) sería una agrupación históricamente más antigua (ya que estas suelen poseer mayor diversidad genética) con relación a la agrupación (A) que representaría un evento de colonización más reciente en el proceso de dispersión histórica de la castaña en la Amazonía peruana. Es decir, es muy probable que la castaña haya comenzado su proceso de colonización a partir de las localidades de Iberia e Iñapari; sin embargo, análisis de otras localidades cercanas en la Amazonía brasileña y boliviana son necesarias para corroborar este supuesto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón Aguirre, G.; Canahuire Robles, R.R.; Guevara Duarez, F.M.; Rodríguez Achata, L.; Gallegos Chacón, L.E.; Gárate-Quispe, J. 2021. Dinámica de la pérdida de bosques en el sureste de la Amazonia peruana: un estudio de caso en Madre de Dios. *Ecosistemas* 30(2): 2175. DOI: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2175>
- Alvarez-Montalván, C.E.; Manrique-León, S.M.; Vela-Da Fonseca, M.; Cardozo-Soarez, J.; Callo-Ccorcca, J.; Bravo-Camara, P.; Castañeda-Tinco, I.; Alvarez-Orellana, J. 2021. Composición florística, estructura y diversidad arbórea de un bosque amazónico en Perú. *Scientia Agropecuaria*, 12(1): 73-82. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.009>
- Belkhir, K. ; Borsa, P. ; Chichi, I. ; Raufast, N. ; Bonhomme, F. 2004. *Genetix* 4.05.2. (<https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>). Acceso: 19/07/2021
- Caballero-Espejo, J.; Messinger, M.; Román-Dañobeytia, F.; Ascorra, C.; Fernandez, L.E.; Silman, M. 2018. Deforestation and Forest Degradation Due to Gold Mining in the Peruvian Amazon: A 34-Year Perspective. *Remote Sensing*, 10(12): 1903. DOI: <https://doi.org/10.3390/rs10121903>
- Cabral, J.C., Baldoni, A.B., Tonini, H., Azevedo, V.C.R., Giustina, L.D., Tiago, A.V., Rossi, A.A.B., 2017. Diversity and genetic structure of the native Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) population. *Genetics and Molecular Research*. 16 (3): gmr16039702. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr16039702>
- Chiriboga-Arroyo, F.; Jansen, M.; Bardales-Lozano, R.; Ismail, S.A.; Thomas, E.; García, M.; Corvera-Gomringer, R.; Kettle, C.J. 2020. Genetic threats to the Forest Giants of the Amazon: Habitat degradation effects on the socio-economically important Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa*). *Plants People Planet*, 3(2):194-210. DOI: <https://doi.org/10.1002/ppp3.10166>
- Conte, R. 2004. *Estrutura genética de populações de Euterpe edulis Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozimicos e microssatélites*. Tesis de doctorado. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, Brasil. 124pp.
- Corvera-Gomringer, R.; del Castillo Torres, D.; Suri Palomino, W.; Cusi Auca, E.; Canal Zamora, A. 2010 *La Castaña Amazónica (Bertholletia excelsa)*. Manual de cultivo. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, Iquitos. 74pp.

- Doyle, J.J. ; Doyle J.L. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Dressler, R.L. 1982. Biology of the Orchid Bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13: 373-394. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.002105>
- Evanno, G.; Regnault, S.; Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure. A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8): 2611–2620. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2005.02553.x>
- Falush, D. T.; Wirth, B.; Linz, J. K.; Pritchard, M. Stephens et al., 2003. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science* 299: 1582–1585.
- Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. 2008. *Fundamentos de Genética da Conservação*. Sociedade Brasileira de Genética. 280pp.
- Gentry, A.H. 1993. Tropical forest biodiversity and the potential for new medicinal plants. En: Kinghorn, D; Balandrin, M. (Eds). *Human Medicinal Agents from plants*. p. 13–20.
- Hamrick, J.L.; Godt, M.J.; Sherman-Broyles, S.L. 1992. Factor influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 6: 95–124. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00120641>
- Hartl, D.; Clark, A. 1997. *Principles of population genetics*. Sunderland: Sinauer Associates, Massachusetts. 683p.
- Hernández-Lalinde J. D; Espinosa-Castro, J. F; Fernández González, J.E; Chacón Rangel, J.G; Carrillo-Sierra, S-M; Bermúdez-Pirela, V. 2018. Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y suposiciones. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 37(5):587-95
- John R.; Dalling J.W.; Harms K.E.; Yavitt J.B.; Stallard R.F.; Mirabello M.; Hubbell S.P.; Valencia R.; Navarrete H.; Vallejo M; Foster R.B. 2007. Soil nutrients influence spatial distributions of tropical tree species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(3), 864-869. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0604666104>
- Kanashiro, M.; Harris, S.A.; Simons, A. 1997. RAPD diversity in Brazil nut *Bertholletia excelsa* (Humb. & Bonpl., Lecythidaceae). *Silvae Genetica*, 46(4): 219–223.
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2021. Reporte estadístico de Castaña. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego- Programa Sierra y Selva Exportadora, Lima. 14pp.
- Mori, S. A. 1992. The Brazil Nut Industry - Past, Present, and Future. En: Plotkin, M.; Famolare, L. (Eds). *Sustainable harvest and marketing of rainforest products*. Island Press, Washington D.C. p. 241-251.
- Motta, M. 2002. Reproductive phenology and pollination of the brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. Lecythidaceae) in Eastern Amazonia. En: Kevan P; Imperatriz Fonseca, V.L. (Eds). *Pollinating Bees: the conservation link between agriculture and nature*. p. 245-254.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3): 583 - 590. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/89.3.583>
- Orell, M.; Latí, K.; Koivula, K.; Rytönen, S.; Welling, P. 1999. Immigration and gene flow in a northern willow tit (*Parus montanus*) population. *Journal of Evolutionary Biology*, 12(2): 283-295. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1999.00030.x>
- Page, R.D.M. 1996. TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Bioinformatics*, 12(4): 357-358. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/12.4.357>
- Peakall, R.; Smouse, P.E. 2005. GenAlEx 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288-295. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Peres, C.A.; Baider, C. 1997. Seed dispersal, spatial distribution and population structure of Brazilnut trees (*Bertholletia excelsa*) in southeastern Amazonia. *Journal of Tropical*

- Ecology*, 13(4): 595-616. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0266467400010749>
- Peres, C. A.; Baider, C.; Zuidema, P. A.; Wadt, L. H. O.; Kainer, K. A.; Gomes-Silva, D. A. P.; Salomao, R. P.; Simões, L. L.; Franciosi, E. R. N.; Cornejo Valverde, F.; Gribel, R.; Shepard, G. H.; Kanashiro, M.; Coventry, P.; Yu, D. W.; Watkinson, A. R.; Freckleton, R. P. 2003. Demographic Threats to the Sustainability of Brazil Nut Exploitation. *Science*, 302(5653): 2112–2114. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1091698>
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945–959. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Ramírez Chávez, J. 2006. Experiencia de manejo sostenible de la castaña (*Bertholletia excelsa*) el Parque Nacional Bahuaja Sonene y Reserva Nacional Tambopata - Madre de Dios Perú. *Boletín IFP Fundación EQUITAS*, especial 2.
- Reis, A.; Braga, A. C.; Lemes, M. R.; Gribel, R., Collevatti, R. 2009. Development and characterization of microsatellite markers for the Brazil nut tree *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Lecythidaceae). *Molecular Ecology Resources*, 9(3), 920–923. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02481.x>
- Reátegui-Zirena, E.; Renno, J-F.; Carvajal, F.; Corvera, R.; del-Castillo D.; García-Dávila, C. 2009. Evaluación de la variabilidad genética de la castaña *Bertholletia excelsa* en la región de Madre de Dios, Perú, mediante marcadores microsatélites. *Folia Amazónica* 18(1-2), 41-50. DOI: <https://doi.org/10.24841/fa.v18i1-2.331>
- Román-Dañobeytia, F.; Cabanillas, F.; Lefebvre, D.; Farfan, J.; Alferez, J.; Polo-Villanueva, F.; Llacsahuanga, J.; Vega, C.M.; Velasquez, M.; Corvera, R.; Condori, E.; Ascorra, C.; Fernández, L.E.; Silman, M.R. 2021. Survival and early growth of 51 tropical tree species in areas degraded by artisanal gold mining in the Peruvian Amazon. *Ecological Engineering*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.106097>
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145(4): 1219–1228. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/145.4.1219>
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En: Real, L. (Eds). *Ecological Genetics*. p. 3-17.
- Sujii P. S.; Martins, K; Wadt, L.H.O.; Azevedo, V.C.R.; et al. 2015. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. *Conservation Genetics*, 116: 955-964. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0714-4>
- Tonhasca, A. Jr.; Blackmer, J.L.; Albuquerque, G.S. 2002. Abundance and diversity of Euglossine Bees in the fragmented landscape of the Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica*. 34(3): 416-422. DOI: [https://doi.org/10.1646/0006-3606\(2002\)034\[0416:aadoeb\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1646/0006-3606(2002)034[0416:aadoeb]2.0.co;2)
- Wright, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations: The theory of gene frequencies*. University of Chicago Press, Chicago. 520pp.
- Zapata, S. 2001. *Posibilidades y potencialidad de la agroindustria en el Perú en base a la biodiversidad y los bionegocios*. Comité Biocomercio Perú. 70pp.
- Zuidema, P.; Boot, R. 2002. Demography of the Brazil Nut Tree (*Bertholletia excelsa*) in the Bolivian Amazon: impact of seed extraction on recruitment and population dynamics. *Journal of Tropical Ecology*, 18(1): 1-31. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0266467402002018>

Recibido: 27 de octubre de 2021 **Aceptado para publicación:** 13 de diciembre de 2021