

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Escuela de Formación Profesional
de Ciencias Biológicas.

**“VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Attalea moorei* (Glassman) Zona
“SHAPAJA”, PROVENIENTE DE CINCO POBLACIONES NATURALES DE LA
AMAZONIA PERUANA”**

TESIS

Requisito para optar el título profesional de

BIÓLOGO

AUTORA:

María de Fátima Sánchez Márquez

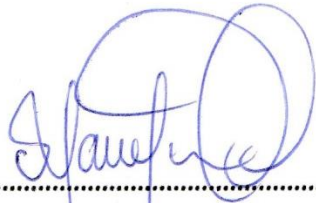
IQUITOS – PERÚ
2017

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



.....
Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL AGUILA, Dr.

Presidente



.....
Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA, M.Sc

Miembro



.....
Blga. EMÉRITA ROSABEL TIRADO HERRERA

Miembro

ASESORES



.....
Blgo. JUAN CARLOS CASTRO GOMEZ, Dr.



.....
Blga. CARMEN ROSA GARCÍA DÁVILA, Dra.



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 015

Iquitos, 06 de octubre de 2017

En la ciudad de Iquitos, a los tres días del mes de octubre del 2017 y, siendo las 8.10 horas, se reunió en el auditorio de las Direcciones de Escuelas de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP el Jurado Calificador y Dictaminador de la tesis que suscribe, designado con Resolución Directoral N° 0115-2014-DEFP-B-FCB-UNAP, presidido e integrado por; **Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL ÁGUILA, Dr., (Presidente); Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA, Mgr., (Miembro) y Blga. EMÉRITA ROSABEL TIRADO HERRERA, (Miembro)**, para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: **“VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Attalea moorei* (Glassman) Zona, “SHAPAJA” PROVENIENTE DE CINCO POBLACIONES NATURALES DE LA AMAZONIA PERUANA”**, por la Bachiller **MARÍA DE FÁTIMA SÁNCHEZ MÁRQUEZ** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2013-II, graduada de bachiller con **R.R. N° 0787-2014-UNAP** de fecha 14 de abril del 2015, reconociendo como asesores a los siguiente profesionales: **Dr. JUAN CARLOS CASTRO GÓMEZ y Dra. CARMEN ROSA GARCÍA DÁVILA.**



Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante **RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP**; realizó la evaluación del desempeño de la bachiller, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por la Bachiller y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dió como veredicto; APROBADO **LA SUSTENTACIÓN DE TESIS, CALIFICADO COMO BUENA**; quedando en consecuencia la candidata **apta** para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del título profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 9.20 horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente acta de sustentación por triplicado.

Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL ÁGUILA, Dr.
PRESIDENTE

Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA, Mgr.
MIEMBRO

Blga. EMÉRITA ROSABEL TIRADO HERRERA
MIEMBRO



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS Nº 012

Iquitos, 06 de octubre de 2017



J. Souza
Blgo. Javier Souza Tecco, M.Sc.
SECRETARIO ACADEMICO



E. Tejada
Emelda Tejada Del Castillo
Jefa de Registro y Servicios Académicos

En la ciudad de Iquitos, a los tres días del mes de octubre de 2017, se reunió en el auditorio de las Direcciones de Escuelas de Ciencias Biológicas - UNAP, el jurado Calificador y Dictaminador de la tesis que su presbitero e integrador es EMERITA ROSA CÁRSTERA (Miembro), para evaluar la tesis titulada: "VARIABILIDAD GENÉTICA DE ATLETA MORSA (Glasman) Zona "SHAPALA" PROVENIENTE DE CINCO POBLACIONES NATURALES DE LA AMAZONIA PERUANA", por la Bachiller MARÍA DE FÁTIMA SÁNCHEZ MÁRQUEZ de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2012 II, graduada de bachiller con R.R. Nº 0787-2014-UNAP de fecha 14 de abril del 2015, recomiendo como asesores a los siguiente profesionales: Dr. JUAN CARLOS CASTRO GÓMEZ y Dr. CARMEN ROSA CÁRSTERA DÁVILA.

Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante RESOLUCIÓN DECANAL Nº 206-2013-FCH-UNAP, realizó la evaluación del desempeño de la bachiller, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por la bachiller y aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dio como veredicto: LA SUSTENTACIÓN DE TESIS, CALIFICADO COMO BACHILLER, quedando en consecuencia la candidata apta para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del título profesional por la autoridad universitaria competente y su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 9:30 horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente acta de sustentación por triplicado.

Blgo. JORGE LUIS MATARANA DEL ÁGUILA, Dr.
PRESIDENTE

Blgo. EMERITA ROSA CÁRSTERA, Mgr.
MIEMBRO

Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTURA, Mgr.
MIEMBRO

DEDICATORIA

A la persona que más amo en esta vida, es a mi madre **ANGELICA**, por estar siempre a mi lado y apostar por mi futuro. Siempre me dio ánimo apoyo.

A mis hermanos que siempre se mostraron orgullosos con mis logros **PRISCILLA, ANTHONY** y **THALIA**. Por ser una familia siempre unida a pesar de las adversidades.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana por la oportunidad de desarrollarme profesionalmente, por abrirme las puertas de sus aulas y la enseñanza de sus profesores.

A mi madre, por ser la persona que más me apoyó en todo este camino, por su paciencia, fortaleza y ser siempre positiva y pensar que la vida nos tiene preparado algo mejor.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP, al Laboratorio de Biología y Genética Molecular-LBGM y al proyecto “Biología, Ecología y prospección química de palmeras promisorias del género *Attalea*-FICYT”. Por la subvención y la oportunidad ofrecida para la realización de esta investigación.

A mis asesores, la Dra. Carmen Rosa García Dávila; jefe del Laboratorio de Biología y Genética Molecular del IIAP-LBGM, que me dio la oportunidad de conocer este nuevo mundo de la ciencia denominada genética. Gracias por su amistad, experiencia, orientación y dedicación brindada, lograré cumplir con el objetivo establecido. Al Dr. Juan Carlos Castro Gómez, por su asesoramiento e indispensables correcciones en la tesis, además por la amistad brindada hacia mi persona.

Al Blgo. Ángel Martín Rodríguez del Castillo, coordinador general del proyecto Biología, ecología y prospección química de palmeras promisorias del género *Attalea* en la Amazonía Peruana (FICYT 185-IB-2013) financiado por Innovaté Perú, del cual formó parte el presente proyecto de tesis, por la oportunidad y la confianza brindada, además por la disponibilidad de tiempo y facilidad durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Jean Christophe Pintaud, que en paz descanse, por todo el apoyo brindado en la identificación y colección de muestras biológicas que sirvieron en el presente estudio, además por sus enseñanzas y valores.

Al Dr. Kember Mejía Carhuanca, director del Programa de Investigación en Biodiversidad Amazónica - PIBA, por la disponibilidad de su tiempo y por el gran apoyo e información proporcionada para la elaboración del presente trabajo.

A la Blga. Diana Castro, M.Sc., por su amistad, paciencia y enseñanza brindada para poder desarrollar el presente trabajo.

A una persona que me brindó todo el apoyo moral, que siempre fue mi fortaleza y que me demostró que la perseverancia es el primer paso para lograr mucho en esta vida, a tí Carlos Fonseca.

A mis compañeros del IIAP y del Laboratorio de Biología y Genética Molecular-LBGM: A los trabajadores Carlos, Eduardo, Jhon, por las enseñanzas y estar siempre apoyándome en todo el proceso. A mis amigos José, Hugo, David, Rodrigo y Aaron por escucharme en todo momento. A mis amigas Rossana, Mayra y Lucero por demostrarme que siempre hay que rescatar lo mejor de cada situación. Como también a la amistad de Christian por encontrar la manera de sacar una sonrisa. Todos ellos constituyen una gran familia, con quienes compartimos siempre grandes momentos.

A mis amigos de la Universidad (UNAP – Ciencias Biológicas) quiero agradecerles por su sincera amistad en esos cinco años de estudio, donde compartimos muchas experiencias que han quedado marcados en cada uno de nosotros.

INDICE

	Pag.
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO	vii
INDICE	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	2
2.1. DESCRIPCION DE LA ESPECIE EN ESTUDIO	3
2.1.1 Posición taxonómica de <i>Attalea moorei</i>	3
2.1.2 Distribución de <i>Attalea moorei</i>	3
2.1.3 Descripción botánica <i>Attalea moorei</i>	3
2.1.4 Ecología de <i>Attalea moorei</i>	6
2.1.5 Usos de <i>Attalea moorei</i>	6
2.2. USOS DE MARCADORES MOLECULARES DE ADN	7
2.2.1 Marcadores moleculares	7
2.2.2 Microsatélites	8
2.2.3 Diversidad Genética	9
2.2.4 Flujo Genético y Estructura Poblacional	9
2.3. ESTUDIOS GENÉTICOS EN PALMERAS	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1. Área de trabajo	11
3.2. Lugares de muestreo y números de especímenes analizados	11
3.3. Colecta y conservación del material biológico	12
3.4. Análisis de Laboratorio	12
3.4.1 Extracción del ADN	12
3.4.2 Determinación de la calidad y concentración del ADN extraído.....	13
3.4.3 Verificación de la extracción de ADN por electroforesis.....	13
3.4.4 Amplificación de los microsatélites vía PCR	14
3.4.5 Visualización de los productos de amplificación	15
3.4.6 Corrida de las muestras en el analizador genético.....	15

3.5.	Análisis de Datos.....	15
3.5.1	Identificación y determinación del tamaño de alelos	15
3.5.2	Diversidad alélica y variabilidad intrapoblacional	15
3.5.3	Variabilidad Interpoblacional.....	16
3.5.3.1	Análisis Factorial de Correspondencia (AFC)	16
3.5.3.2	Índice de Fijación.....	17
3.5.3.3	Distancia Genética.....	17
3.5.4	Flujo Genético	18
3.5.5	Estructuración genética	18
3.5.6	Relaciones interpoblacionales	19
3.5.7	Correlación entre la distancia genética y distancia geográfica	19
IV.	RESULTADOS.....	20
4.1.	Diversidad Alélica.....	20
4.2.	Variabilidad Genética Intrapoblacional	23
4.3.	Variabilidad Genética Interpoblacional.....	23
4.3.1	Análisis Factorial de Correspondencia.....	23
4.3.2	Índice de Fijación (F_{ST}).....	25
4.3.3	Distancia Genética	25
4.4.	Flujo genético	26
4.5.	Estructuración genética	26
4.6.	Relaciones interpoblacionales.....	27
4.7.	Correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica	28
V.	DISCUSION.....	30
VI.	CONCLUSIONES	35
VII.	RECOMENDACIONES	36
VIII.	BIBLIOGRAFIA	37
IX.	ANEXOS.....	49
X.	GLOSARIO	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Comunidad de <i>Attalea moorei</i> en la localidad de Ojos de Agua (San Martín). Foto: Ángel Martín Rodríguez del Castillo.....	4
Figura 02. A) Racimo sin frutos; B) Fruto cerrado; C) Fruto abierto. Foto: María de Fátima Sánchez Márquez.....	5
Figura 03. Mapa de la ubicación de las cinco poblaciones naturales de shapaja <i>Attalea moorei</i> en la Amazonia peruana.....	12
Figura 04. Frecuencias alélicas observadas en los diez loci analizados en las cinco poblaciones naturales de shapaja <i>Attalea moorei</i> en la Amazonia peruana.....	21
Figura 05. Proyección grafica de los resultados del AFC para los ejes A) 1 y 2; B) 1 y 3, encontrados en los individuos de shapaja <i>Attalea moorei</i> provenientes de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.	24
Figura 06. Distribución del genoma de cada individuo en los cuatro cluster inferidos (K = 4). Cada espécimen está representado por una barra vertical. La longitud del color de las barras en el eje vertical define la proporción de membresía (Q) al cluster 1 (azul), cluster 2 (amarillo), cluster 3 (rojo) y cluster 4 (verde claro).....	27
Figura 07. Dendrograma mostrando los resultados del análisis Neighbor Joining, para las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i> en la Amazonia Peruana. Los números en los nudos corresponden a los valores de bootstrap obtenidos con 100 réplicas.....	28
Figura 08. Proyección gráfica del análisis de correlación entre la distancia genética ($F_{ST}/1-F_{ST}$) y la distancia geográfica lineal (Km) de las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i> en la Amazonia peruana.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Nombre, motivo de repetición, fluoróforo, secuencia y tamaño en pb (pares de bases) de los productos de 10 pares de cebadores microsatélites desarrollados por Choo et al., para <i>Attalea phalerata</i>	14
Tabla 02. Clasificación de Valores de F_{ST} (Tomado de Hartl & Clark).....	17
Tabla 03. Valores de la diversidad genética obtenidos para cada uno de los 10 loci microsatélites evaluados en las cinco poblaciones naturales de shapaja <i>Attalea moorei</i> en la Amazonia peruana.	20
Tabla 04. Alelos privados (A) y sus respectivas frecuencias (F) observados en diez locus de shapaja <i>Attalea moorei</i> proveniente de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.	22
Tabla 05. Valores de la variabilidad genética de shapaja <i>Attalea moorei</i> obtenidos en cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.	23
Tabla 06. Resultados del índice de fijación (F_{ST}) calculados a partir del análisis de diez loci microsatélites para las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i> de la Amazonia peruana.	25
Tabla 07. Distancia genética entre poblaciones (Nei, 1978) estimada a través del análisis de diez loci microsatélites para los individuos de <i>Attalea moorei</i> proveniente de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.....	25
Tabla 08. Resultados del número de migrantes por generación (Nm) considerado a partir del análisis de diez loci microsatélites para las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i> de la Amazonia peruana.	26

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 01. Electroforesis de la extracción de ADN de <i>Attalea moorei</i>	49
Anexo 02. Condiciones de amplificación del ADN DE <i>Attalea moorei</i> vía SSR-PCR.	49
Anexo 03. Electroforesis de la amplificación del ADN de <i>Attalea moorei</i> vía SSR-PCR. 50	
Anexo 04. Obtención de los pesos de los alelos mediante un Analizador Genético 3130xl (Applied Biosystems).....	50
Anexo 05. Electroferogramas de los paneles duplex	51
Anexo 06. Frecuencias alélicas encontradas en los 10 <i>loci</i> microsatélites analizadas en las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i>	52
Anexo 07. Valores de ΔK como función de K. El punto donde da el mayor salto de ΔK corresponde al valor de K con mayor probabilidad (K= 4).	56
Anexo 08. Valores de distancia genética ($F_{st}/1-F_{st}$), distancia geográfica lineal (km) y logaritmo neperiano estimadas entre las cinco poblaciones naturales de <i>Attalea moorei</i> de la Amazonia peruana.....	56

I. INTRODUCCION

La Amazonia peruana posee una alta riqueza de ecosistemas, que es superior a la de cualquier otro bosque tropical del mundo (1,2). Estos ecosistemas florísticos se caracterizan por presentar una mega diversidad de especies, especialmente en el grupo de las palmeras (2,3). La diversidad de palmeras está compuesta en un mayor porcentaje por los géneros *Bactris*, *Geonoma*, *Astrocaryum* y *Attalea* (2,4).

Ésta última, se encuentra distribuida desde Centro América hasta la parte norte de Argentina y Paraguay. Está mayormente diversificada en América del Sur y su rango altitudinal abarca desde los bosques sub-andinos hasta el llano amazónico; en los ecosistemas de bosque húmedo tropical y en bosques secos como los campos rupestres y el cerrado. Son palmeras pequeñas, acaulescentes con hojas grandes, o masivas con estípites de hasta 25 metros; de hojas pinnadas, las inflorescencias con flores pistiladas, estaminadas o con flores de ambos sexos en la misma inflorescencia. El fruto generalmente grande, con un endocarpio leñoso muy duro; 1-2 o más semillas (5,6).

Históricamente las especies del género *Attalea*, representan un gran potencial económico y de desarrollo para muchas comunidades amazónicas (7). Como es el caso de la “shapaja” *Attalea moorei*, que es utilizada por la gente local como alimento tanto en forma básica (fruto, palmito), como derivada (aceite vegetal); además sus hojas sirven como material de construcción en el techado de viviendas, de su estípite se obtiene carbón y se elaboran artesanías (8,9). Sin embargo, recientemente la demanda de la ocupación del suelo para el establecimiento de parcelas agrícolas ha generado una drástica reducción de estas palmeras en localidades cercanas a las grandes urbes amazónicas, especialmente en las regiones de San Martín, Amazonas y Madre de Dios (10,11). Debido a esta ocupación del suelo por la explosión demográfica, muchas de las “shapajas” fueron diezmadas en la Amazonía peruana (12,13), causando una inminente deforestación y progresivamente la desaparición de la especie en estas áreas.

A pesar de la gran importancia económica del género *Attalea*, aún existen grandes vacíos de información sobre sus especies. Esto debido principalmente a la gran complejidad de los caracteres morfológicos de las palmeras de este género, que sumados a la falta de material biológico adecuado en las colecciones, originó que su descripción taxonómica sea poco entendida, porque hasta el momento se han considerado de 29 a 73 especies según la taxonomía morfológica de diferentes autores (6).

Estudios basados solo en descriptores morfológicos no son a menudo suficientes al momento de la identificación de las especies de este género (5), debido principalmente a que muchos de los caracteres diagnósticos presentan variación (plasticidad morfológica), lo que origina una sobreposición entre muchos de los caracteres morfológicos evaluados (4,14). En los últimos años, estos trabajos taxonómicos se han complementado con análisis moleculares que evalúan estrictamente la variación genética de la especie, sin sufrir la influencia ambiental (15,16). Estudios recientes en *Attalea moorei* con marcadores universales como los Inter Secuencias Simples Repetidas, demostraron diferenciación genética entre las poblaciones de San Martín y Loreto, mostrando la necesidad de ampliar las investigaciones con marcadores moleculares específicos para estas especies (13).

El presente estudio tuvo como finalidad contribuir al conocimiento de esta especie a través de la evaluación mediante marcadores microsatélites de cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* en la Amazonía peruana, para estimar su variabilidad genética intra e interpoblacional, el flujo de genes y la correlación entre sus distancias genéticas y geográficas entre las poblaciones. Esto generará información que sirva de base para planes de conservación y manejo sostenido, así como de futuros programas de mejoramiento genético de la especie.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE EN ESTUDIO

2.1.1 Posición taxonómica de *Attalea moorei*

Según el sistema de clasificación del *World Checklist of Select Plant Families* (WCSP) y el APG IV (17), *Attalea moorei* (Glassman) Zona posee la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	:	Plantae
División	:	Angiosperms
Clado I	:	Monocots
Clado II	:	Commelinids
Orden	:	Arecales
Familia	:	Arecaceae
Género	:	<i>Attalea</i>
Especie	:	<i>Attalea moorei</i> (Glassman) Zona.

Nombres comunes:

La palmera *Attalea moorei* es conocida también como “shapaja” (Perú).

2.1.2 Distribución de *Attalea moorei*

El género *Attalea* está distribuido en toda la región Neotropical continental de América Central hasta América del Sur, especialmente de México a Bolivia, Paraguay, el sur de Brasil y en algunas islas caribeñas (6) (Figura 01). Dentro de este género la especie *Attalea moorei* presenta una amplia distribución geográfica en el Perú, principalmente en las áreas boscosas húmedas, en las regiones de Huánuco, Loreto, San Martín y en Madre de Dios (10,18).

2.1.3 Descripción botánica *Attalea moorei*

La familia Arecaceae (antes llamadas Palmae) son monocotiledóneas (19), constituidas por 200 géneros y 2450 especies aproximadamente. La tribu más importante de esta familia es Cocoseae, en el cual se encuentra el género *Attalea*, este género está constituido entre 29 y 73 especies aproximadamente (según

diferentes autores). Está conformado tanto de palmeras pequeñas como de gran tamaño, que se caracterizan por tener un único tallo recto (6). La shapaja forma parte de este género, esta especie era llamada *Sheleea moorei* (10) hasta el 2002 en la que una revisión taxonómica la denominó como *Attalea moorei* (20) y que luego fue corroborada por los estudios de Govaerts y Dransfield (21). Esta especie posee la siguiente descripción taxonómica:

Palmas monocaulas de 10-20 m de altura con un tronco de 19 a 92 cm de diámetro, inermes y con cicatrices foliares poco visibles. Las hojas de esta especie alcanzan los 6,0 metros de longitud aproximadamente y cuentan con un indumento parduzco en el lado abaxial de las hojas. Contiene de 200 a 300 pinnas o foliolos en cada lado del raquis dispuestas regularmente en un solo plano, son asimétricas en el ápice con una proyección lateral de color marrón. Las pinnas están separadas en una distancia de 3,0 a 3,5 cm y mide 1,05-1,40 m de largo con 4 a 6 cm de ancho (6,10) (Figura 01).



Figura 01. Comunidad de *Attalea moorei* en la localidad de Ojos de Agua (San Martín). Foto: Ángel Martín Rodríguez del Castillo.

Posee los dos tipos de flores en una misma planta (monoica), pero funcionalmente dioica; tanto las flores femeninas como las masculinas están en cada palma de forma asincrónica, lo que evita la autofecundación (6). Tienen la inflorescencia interfoliar en racimos que salen del medio de las corona de las hojas y que en su estado de inmadurez está envuelta dentro de una vaina o espata (11). Cuenta además, con un eje principal (raquis de unos 40 cm de largo y pedúnculo de unos 50

cm de largo), densamente empaquetados con una serie de pequeñas ramas llamadas raquillas, que miden de 11-15 cm de largo y están cubiertas con un indumento blanquecino (4,10). Las flores son blancuzcas a amarillentas, estaminadas unilaterales (estambres muy largos) y dispuestas en un lado de la raquilla (5,10).

Cada palmera produce entre 3 a 4 racimos de frutos, cada uno de 25 a 30 kg. Los frutos son angulares y miden de 8,0 a 10,2 cm de largo y de 3,5 a 4,0 cm de diámetro. Tiene un mesocarpio seco-fibroso y un endocarpio leñoso-grueso conteniendo en su interior cúmulos de fibras visibles organizado en círculos. Presentan de 3 a 4 semillas que tienen forma elíptica y son considerados oleaginosas, miden de 4,5 a 6,0 cm de largo y de 0,6 a 0,8 cm de diámetro (4,8,10) (Figura 02; A, B, C). A pesar de ello, muchos de estos caracteres son sobrepuestos y confundidos con otras especies, por lo que se necesita ser muy minucioso al momento de determinar la especie.



Figura 02. A) Racimo sin frutos; B) Fruto cerrado; C) Fruto abierto. Foto: María de Fátima Sánchez Márquez.

2.1.4 Ecología de *Attalea moorei*

Las poblaciones dependen de su capacidad de reemplazar los individuos que mueren a través de su producción o propagación, haciendo que el estudio de la estructura poblacional sea un proceso importante (22).

La persistencia de las palmas en su ambiente natural se relaciona a una cantidad de variables ecológicas, que garantizan su regeneración (23,24). Las semillas de estas especies son dispersadas por mamíferos terrestres como el tapir, primates y roedores que se ingieren las frutas (25,26,27). A veces las semillas, germinan allí mismo y crecen como “epífitas” en la palmera, es de esperar entonces, que muchos de los cambios en la diversidad y estructura poblacional, estén sujetos a los múltiples factores al momento de la regeneración (23,24). Además, son considerados indicadores de la calidad del suelo, ya que al crecer en suelos pobres en nutrientes indica que estos son inadecuados para la agricultura (5).

Su rango ecológico abarca prácticamente todos los ecosistemas neotropicales desde las dunas de arena costeras, ecosistemas de tierras bajas hasta el bosque sub-Andino de 1200-1600 m.s.n.m. (6), en todo tipo de hábitats como bosques tropicales, secos o húmedos, pantanos, sabanas, etc (5). En la cuenca amazónica están en zonas bien drenadas de la llanura de inundación o en laderas y mesetas con buen drenaje en donde forma asociaciones relativamente densas llamadas “shapajales” (18,28).

2.1.5 Usos de *Attalea moorei*

La shapaja juega un papel importante para las comunidades amazónicas, diferentes partes de esta palmera son utilizadas ancestralmente como fuente de alimento, materia prima para la construcción de viviendas, medicina y elaboración de diversos utensilios. Además, de que su sola presencia sirve como indicador ecológico del tipo de suelo (por lo general son asociadas a suelos no aptos para la agricultura) para el poblador amazónico (29).

Las almendras de sus semillas son utilizadas para la alimentación directa ya sea cruda o cocinada. Estos frutos poseen un alto contenido de aceites saludables, en alfa y beta carotenos (vitamina A), tocoferoles (vitamina E), antioxidantes, minerales, aminoácidos esenciales y también sirven para la industria de los cosméticos y con potencial para la producción de biocombustibles (8,30). Estos aceites también pueden ser utilizados con fines antiinflamatorios, antirreumáticos, antitrombótico, anticonceptiva, contra la obesidad y para el tratamiento de la leucemia (31). Asimismo, muchas de las partes de los frutos no utilizados puedan ser empleados para la elaboración de diferentes productos, de las cuales se destaca el carbón activado, el cual tiene mucha demanda en el Perú por la simplicidad de su producción (32).

Las hojas tiernas o palmito de estas palmeras pueden ser utilizados no solo como alimento en el momento del corte, sino también como alimento de las larvas (suris) de los coleópteros que ahí se producen y los cuales también son consumidos ya sea crudo o cocinado (11,31); los aceites de estas larvas también son utilizadas en la medicina tradicional amazónica (11,33). Los pobladores rurales tradicionalmente utilizan las hojas de esta especie en la construcción del techo de las viviendas (30,31) y aprovechan los troncos cilíndricos como postes (horcones) de sus casas (11,31,33). De igual manera las hojas tiernas son utilizadas para la fabricación de utensilios artesanales, particularmente canastas, hamacas, redes de pesca, esteras, bolsos, abanicos, sombreros, escobas, adornos para eventos festivos y herramientas de trabajo, que al ser vendidos generan una fuente de ingreso económico para los hogares de bajos recursos (11,31).

2.2. USOS DE MARCADORES MOLECULARES DE ADN

2.2.1 Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son regiones del ADN (genes conocidos o fragmentos de secuencia), que tienen variaciones (polimorfismos) y en muchos casos permiten evidenciar la posición e identidad de un gen (15,34). Debido a ello, tiene múltiples usos, como la diferenciación de individuos, de clones, mapeo de genomas,

cuantificación de la variabilidad genética (intra e inter-poblacional), dar soporte a los programas de mejoras genéticas, estimación de la dispersión de especies, entre otros usos. De igual manera, los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en *loci* únicos o múltiples y son de tipo dominante o co-dominante (35). Por tanto, estos marcadores moleculares en la actualidad han sido extendidos a todas las especies, inclusive en plantas donde antes eran limitadas (16).

2.2.2 Microsatélites

Los marcadores moleculares microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats, por sus siglas en ingles), se caracterizan por ser fragmentos cortos de ADN, conformados de uno a seis pares de bases que se repiten de manera consecutiva (36). Son muy abundantes y están dispersos por el genoma de los eucariontes (37). Su uso se ha popularizado para el análisis de la diversidad genética de poblaciones, debido principalmente a su facilidad de amplificación, a partir de pequeñas cantidades de ADN, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); además, debido a su naturaleza codominante se puede diferenciar los heterocigotos de homocigotos, lo que permite conocer los niveles de diversidad alélica en los diferentes loci (15,38,39). El elevado polimorfismo que presenta este marcador es originado por la variación de sus unidades repetitivas, que genera diferencias en la longitud de su secuencia (40). Esto se debe quizás a procesos de mutación, selección e inserción, ya sean en los microsatélites o en las regiones flanqueantes alternando el tamaño de la región del microsatélite. La duplicación de una secuencia microsatélite en otra región del genoma da lugar a la generación de marcadores microsatélites multilocus (36,41). Por todas características los microsatélites son considerados como los marcadores por excelencia, ya que han remplazado a muchos marcadores moleculares, tales como RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) y AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), en estudios que estiman parámetros demográficos y evolutivos de las poblaciones naturales (42, 43).

2.2.3 Diversidad Genética

Es el componente básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie. Por tanto, su conocimiento es importante para la conservación, sustentabilidad, incremento de la productividad agrícola, como para el avance de los conocimientos en la genética evolutiva. Asimismo, con este conocimiento se puede evaluar la capacidad de respuesta de las poblaciones y de las especies ante los cambios ambientales naturales; evaluar los riesgos de la pérdida de especies, poblaciones y recursos genéticos que disminuyen nuestra capacidad de sobrevivencia. Además, al conocer la riqueza genética de la especie y su distribución geográfica se puede planear las estrategias de conservación y aprovechamiento de sus poblaciones, así como obtener variedades mejoradas genéticamente (44, 45).

2.2.4 Flujo Genético y Estructura Poblacional

Es la transferencia de genes de una población a otra y puede ser en mayor o menor grado (46). El impacto del flujo de genes está determinado por la capacidad de dispersión de la especie, así como por barreras y distancias geográficas (47). El estudio del flujo genético es un tema vital en biología evolutiva, ya que es un componente importante en la estructuración de las poblaciones, porque determina hasta qué punto una población es una unidad evolutiva independiente (48). Si existe una gran cantidad de flujo génico entre poblaciones locales, entonces todas las poblaciones evolucionan juntas; pero si hay poco flujo génico cada población evoluciona en forma casi independiente. (49,50,51).

2.3. ESTUDIOS GENÉTICOS EN PALMERAS

Teniendo como principal indicador los aspectos morfológicos y con el propósito de ampliar el conocimiento de la diversidad genética de la familia Arecaceae, Gaitán (52), desarrolló de 21 a 23 pares de cebadores para amplificar microsatélites del tipo GA/CA para las especies *Ceroxylon sasaimae*, *Ceroxylon alpinum* y *Attalea*

amigdalina. Este estudio fue el primer reporte sobre aislamiento de microsatélites en *A. amigdalina* y permitió los primeros estudios de diversidad genética con estos marcadores de las tres especies en Colombia.

Otros de los estudios moleculares en la familia Arecaceae, fue de Aspajo *et al.* (53), quienes evaluaron la variabilidad genética de tres poblaciones de *Mauritia flexuosa* en la Amazonia peruana, mediante marcadores DALP (Amplificación Directa de Polimorfismo de Longitud). Los resultados demostraron diferenciación genética entre las poblaciones, la cual fue atribuida a las grandes distancias geográficas entre ellas, que combinadas a la existencia de ríos entre las poblaciones, podrían estar actuando como barreras naturales que restringen el flujo genético.

Choo *et al.* (54), encontraron 75 regiones microsatélites para el genoma de *Attalea phalerata*, de las cuales 14 fueron altamente polimórficas (B121, C11, D106, D124, A106, C5, D2, D3, D110, A103, B101, B102, B103 y C122). Después verificaron los *loci* con 569 individuos, resultando que cuatro de ellos (D2, D3, D110 y C122), mostraron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy – Weinberg y alelo nulo, los otros 10 *loci* microsatélites resultaron fiables y polimórficos para análisis de parentesco y diversidad poblacional.

En *Attalea moorei*, Castro *et al.* (13), analizaron la variabilidad genética de esta especie en las regiones San Martín y Loreto mediante dos marcadores ISSR. Los resultados muestran que las poblaciones de la región San Martín al igual que de la región Loreto presentan una mayor relación al interior de cada región que entre las regiones, sugiriendo que en el pasado estas poblaciones quizás constituían amplios manchales en la Amazonía, que posteriormente por ocupación antropogénica fueron gradualmente fraccionadas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de trabajo

El estudio fue realizado en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular – LBGM, del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP); ubicado en la Estación Biológica de Quistococha, Carretera Iquitos - Nauta km 4.5, distrito de San Juan Bautista, Iquitos – Loreto – Perú. El LBGM es un laboratorio que trabaja con distintas especies tanto de flora y fauna. Tiene áreas de extracción de ADN, PCR, electroforesis y análisis de datos que cuentan con los equipos especializados para estos trabajos moleculares.

3.2. Lugares de muestreo y números de especímenes analizados

Fueron analizados un total de 155 especímenes de “shapaja” *Attalea moorei* provenientes de cinco poblaciones naturales en la Amazonia Peruana; región Loreto: Jenaro Herrera (31) y Santa Lucia (27); región San Martín: Pucacaca (32); región Huánuco: Tingo María (35), y región Madre de Dios: Puerto Maldonado (30), (Figura 03).



Figura 03. Mapa de la ubicación geográfica de las cinco poblaciones naturales de “shapaja” *Attalea moorei* en la Amazonia peruana.

3.3. Colecta y conservación del material biológico

De cada individuo seleccionado, con estípites visibles y fructificación o rastros de ellas, se colectaron segmentos del foliolo apical (5 x 2 cm). Las muestras colectadas fueron transferidas a tubos con tapa rosca de 50 mL, rotulados y conteniendo aproximadamente 15 g de Silica gel y almacenadas a temperatura ambiente, hasta el momento de la extracción del ADN.

3.4. Análisis de Laboratorio

3.4.1 Extracción del ADN

El ADN fue extraído con el protocolo CTAB de Doyle & Doyle (55) modificado, descrito a continuación:

Se colocó 100 mg de muestra en un microtubo de 2 mL que contenía dos perlas de acero para ser triturado en un Tissue Lyser (TissueLyser II, Qiagen). Una vez triturado se agregó 1 mL de buffer CTAB calentado a 60°C (CTAB 2%, NaCl 1 M, EDTA 0,1 M pH 8, Tris Base 0,2 M) y 10 µl de proteinasa K (10 mg/ml). La mezcla fue incubada por 24 h (en baño maría a 60 °C). Para la separación del material genómico del resto de tejidos no digeridos, se adicionó 1 mL de cloroformo, se combinó y se centrifugó a 8000 rpm x 5 minutos. Después, el sobrenadante fue transferido a un microtubo de 1,5 mL, el cual fue precipitado con igual volumen de isopropanol frío por 2 h a -20 °C y centrifugado a 13000 rpm x 15 minutos. El ADN precipitado se lavó dos veces con etanol al 70% a 13000 rpm x 15 minutos, secado en una centrifuga al vacío por 15 minutos a 45 °C y finalmente el ADN genómico fue resuspendido en 30 µl de agua ultrapura.

3.4.2 Determinación de la calidad y concentración del ADN extraído

La calidad y concentración del ADN extraído fueron determinadas con un biofotómetro, para lo cual se utilizó 1,5 µl de la muestra. La absorbancia se midió utilizando las longitudes de onda de 260 y 280 nm, mientras que la calidad de la extracción (ratio), fue evaluada en un rango aceptable entre 1,7 – 2,0 (A_{260}/A_{280}). La concentración del ADN se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$[A_{260} \times \text{FD} \times 50\mu\text{g}/\mu\text{l}]$$

Dónde: A: Absorbancia

FD: Factor de dilución

3.4.3 Verificación de la extracción de ADN por electroforesis

La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8% durante 1 h a 100 voltios y teñidos con gel red (10 mg/ml). Las bandas de ADN fueron visualizadas en un transiluminador de luz UV y fotografiadas con un sistema de fotodocumentación de geles (Kodak, GEL LOGIE 100) (Anexo 01).

3.4.4 Amplificación de los microsatélites vía PCR

La amplificación de los *loci* microsatélites fue realizada a partir de 10 pares de primers desarrollados por Choo *et al.*, para la especie *Attalea phalerata* (54). La reacción de amplificación vía PCR fue realizada en un volumen total de 10 μ l, conteniendo Buffer 1x, 2,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de desoxirribonucleotidos, 0,4 μ M de cada cebador, 0,04 U/ μ l de Taq ADN polimerasa, 20 ng de ADN genómico y agua ultrapura. La amplificación se efectuó en un termociclador Eppendorf Mastercycler, programado con las siguientes condiciones: denaturación inicial a 94°C x 2 min; seguida de 30 ciclos compuestas por: denaturación a 94 °C x 45 s, hibridación a 57,9-65,3°C x 45 s, extensión a 72 °C por 30 s; y una extensión final a 72°C por 10 min (Anexo 02). Los primers utilizados son indicados en la Tabla 01.

Tabla 01. Nombre, motivo de repetición, fluoróforo, secuencia y tamaño en pb (pares de bases) de los productos de 10 pares de cebadores microsatélites desarrollados por Choo *et al.*, 2010 para *Attalea phalerata*.

N°	Locus	Motivo repetitivo	Fluoróforo	Secuencia del cebador (5' - 3')	Tamaño del producto (pb)	Temperatura de hibridación (°C)
1	B102_8	GA ₂₁	FAM	F= AGCACTAATGTGCATGTATGTG R= CCATTCCCTCTACAAGGATAAC	160-190	57,9
2	D124_5	ATCT ₁₀	NED	F= GGTGGTGATTGAACTGAACTC R= GCTGATGCTTGCTGACAG	233-299	57,9
3	A106_2	CA ₁₁	FAM	F: CATTGGCATTCTTACACATTC R: CTTGGGGTGAAGTACTTTAC	158-178	57,9
4	B121_4	TC ₁₂	FAM	F: CCTGGAGCATCAATGGAC R: TCCGAGAACCCTAAACCTG	121-147	57,9
5	C5_4	GTT ₉	HEX	F: AAGATGACCGTAGCATTAAACAG R: TCCCATGTTTTCTTAGTCTTC	251-275	57,9
6	C11_7	CAA ₉	NED	F: AGTCGTGAACTCTACCACTTC R: TGTTGCCCTCAGATATAGATC	214-238	57,9
7	D2_1	ATCT ₇	NED	F: CTGTCCTGCACAAGAAGTTGA R: AAGTTGGCGCATATCAATGAC	200-217	57,9
8	D3_2	ATCT ₅	HEX	F: ACAGGTGTGGTTCAATCAAT R: GGAGGGATAGACAAAGGAAG	228-283	57,9
9	A103_3	GT ₉	FAM	F: CAATGCAAGAGACAAGCATAAC R: GCACACTTGATGACATTTTATG	235-259	65,3
10	C122_3	CAA ₈	HEX	F: TCCTCCACCTCCAATGGTAG R: TTCGACATGACGAGAACGTC	257-275	65,3

3.4.5 Visualización de los productos de amplificación

Los productos amplificados fueron resueltos mediante electroforesis en geles de agarosa al 2%, a razón de 3 μ l de gel red/3 μ l de productos. La electroforesis se realizó en tampón de corrida TBE 1X (TBE 10X (Tris base, Ácido bórico, EDTA 0.5 M Ph 8) y agua destilada) a 100 voltios durante 15 min. La visualización y registro fotográfico se realizó con un transiluminador de luz UV y mediante un sistema de imagen GEL LOGIE 100, KODAK. (Anexo 03).

3.4.6 Corrida de las muestras en el analizador genético

Para ello, 1 μ l del producto amplificado fue mezclado con 8,7 μ l de formamida y 0,3 μ l del marcador de peso molecular GeneScan 500 ROX. Esta mezcla fue denaturada a 96°C por 5 min y luego enfriada a 4°C. El tamaño de los amplicones obtenidos se determinó mediante electroforesis capilar en un analizador genético 3130XL (Applied Biosystems) (Anexo 04).

3.5. Análisis de Datos

3.5.1 Identificación y determinación del tamaño de alelos

Una vez obtenido los electroferogramas, se identificó el tamaño de cada uno de alelos mediante el programa Peak Scanner versión 1,0 (<https://products.appliedbiosystems.com>) (Anexo 05).

3.5.2 Diversidad alélica y variabilidad intrapoblacional

La diversidad genética fue analizada con el programa Genetix v 4.05.2 (56), que nos permitió calcular el número de alelos por locus (N), la riqueza alélica (A_R), la diversidad alélica (A_T), los valores de la heterocigosidad observada (H_o) y la heterocigosidad esperada (H_e) y el coeficiente de endogamia (F_{is}) en cada locus por cada población.

La deficiencia o exceso de heterocigotos promedio en cada locus se basa en la idea de que la subdivisión de una población causa un efecto similar a la

endogamia y este efecto se puede medir por la reducción en la proporción de genotipos heterocigóticos, es decir, en términos de H.

El coeficiente de endogamia (F_{IS}) mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo debido a la existencia de cruzamientos no al azar dentro de su subpoblación. Sus valores varían entre -1 y +1. Cuando el valor de F_{IS} es negativo uno, indica que existe exceso de heterocigosidad. Si el valor F_{IS} es positivo uno, significa que existe déficit de heterocigosidad. (47, 51).

$$F_{IS} = \frac{H_S - H_I}{H_S} = \frac{H_E - H_O}{H_E}$$

Dónde: $H_S = H_E$ = Heterocigosidad esperada

$H_I = H_O$ = Heterocigosidad observada

Además, con el programa GenAlex v 6,4 se evaluó las frecuencias alélicas por locus y el número de alelos exclusivos (alelos presentes sólo en una localidad). Las diferencias estadísticas significativas fueron estimadas con intervalos de confianza de 95% (57).

3.5.3 Variabilidad Interpoblacional

3.5.3.1 Análisis Factorial de Correspondencia (AFC)

Este análisis describe las agrupaciones entre las variables cualitativas de un conjunto de individuos, independientemente de su pertenencia a grupos definidos, poblaciones o procedencia geográfica. Tiene como objetivo principal generar una representación gráfica de los individuos en un espacio de dos o tres dimensiones en función de sus proximidades (58). Para este análisis se elaboró una matriz binaria en base a los alelos por cada *locus* informativo. Para el procesamiento de los datos se utilizó el Software Genetix v 4.05.2 (56). El AFC fue utilizado como método exploratorio para visualizar si existían diferencias genéticas entre las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei*.

3.5.3.2 Índice de Fijación

El efecto de la subdivisión de la población se mide con el parámetro denominado "índice de fijación" (simbolizado por F_{ST}), que es la reducción promedio en la heterocigosidad de una subpoblación debido a la deriva génica por azar. El Índice de fijación (F_{ST}) indica el grado de diferenciación entre las poblaciones estudiadas, es decir, que tan diferentes o parecidos son estas. Los F_{ST} fueron calculados con ayuda del Software Genetix v 4.05.2 (56), utilizando el estimador de Weir & Cockerham (59) y Weir (60).

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

Dónde:

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

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

Los valores del F_{ST} varían entre 0 y 1. Cuando el valor de F_{ST} = cero o menor a cero, indica que no existe divergencia genética entre los distintos grupos, es decir, se comportan como si fueran uno sólo. Si el valor F_{ST} = uno, la estructuración es máxima, lo que sugiere que los grupos están fijados (47, 51). El grado de diferenciación entre grupos fueron clasificados siguiendo los criterios de Hartl & Clark (61), los que pueden ser vistos en la Tabla 02:

Tabla 02. Clasificación de Valores de F_{ST} (Tomado de Hartl & Clark) (61)

0.00 – 0.05	Diferenciación genética pequeña
0.05 – 0.15	Diferenciación genética moderada
0.15 – 0.25	Diferenciación genética alta
$F_{ST} > 0.25$	Diferenciación genética muy alta

3.5.3.3 Distancia Genética

A partir de la distancia genética de Nei (62), se realizó un análisis para medir la diferenciación genética entre pares de poblaciones, es decir, cuanto más parecidas sean las dos poblaciones el grado de diferenciación entre ellas será

menor. Los valores cercanos a 0 indican una alta similitud, mientras que los valores cercanos a 1 indican una completa diferencia entre las poblaciones (47).

3.5.4 Flujo Genético

Las tasas de migración (flujo génico) fueron estimadas de forma lineal a partir de los valores del Índice de Fijación F_{ST} , expresada en número de migrantes por generación (Nm) donde $Nm = (1-F_{ST}) / 4 * F_{ST}$ (63). Estos patrones determinan hasta qué grado una población es una unidad independiente. Una medida del flujo genético que resulta fácil de calcular es la Nm , este parámetro nos indica el número de migrantes efectivos y se obtiene multiplicando el tamaño efectivo (N_e) de la población por la tasa de migración (m). Si $Nm \geq 1$, el flujo genético supera los efectos de la deriva génica y previene la diferenciación local. Si el $Nm \leq 1$, entonces la deriva génica actúa independientemente en cada una de las poblaciones (47).

3.5.5 Estructuración genética

La estructura genética de las poblaciones fue evaluada mediante el análisis de asignación Bayesiano a través del programa Structure v 2.3.1 (64). Dentro de sus usos incluyen el inferir la presencia de poblaciones distintas según los individuos de cada población, el estudio de zonas híbridas, como también la identificación de los migrantes y de los individuos mezclados (65, 66). Para estimar la estructura genética los individuos son asignados probabilísticamente a uno de los grupos genéticos (K), donde K puede tomar valores desde uno hasta cualquier número dado por el usuario. Estos datos son corridos 10 veces por cada valor de K y cada corrida tuvo un “burn-in” de 10000 pasos, seguidos de 100000 iteraciones (67). Al final se estableció el número de grupos genéticos que tuvo mayor probabilidad, determinando el valor máximo del estadístico ΔK , según el método de Evanno et al (68).

3.5.6 Relaciones interpoblacionales

Las relaciones entre poblaciones fueron estimadas por medio del programa NEIGHBOR del software PHYLIP versión 3.5 (69). El dendrograma se visualizó en el software TREEVIEW (70) y los valores que presentan indican el porcentaje de ocurrencia que existe entre la unión de los grupos según su estructuración.

3.5.7 Correlación entre la distancia genética y distancia geográfica

Para verificar si las diferencias observadas se deben al distanciamiento geográfico entre las poblaciones estudiadas, se hizo una correlación con las distancias genéticas. Para este análisis, primero con el programa Google Earth se midió las distancias geográficas entre las poblaciones (en Km). Los datos de distancia genética y distancia geográfica obtenidos se analizaron si muestran correlación con el coeficiente r de Pearson (71), en el software Microsoft Excel 2013. Los resultados fueron verificados con la prueba de Mantel (72) con el programa Genetix versión 4.05.2 (56).

IV. RESULTADOS

4.1. DIVERSIDAD ALÉLICA

Un total de 121 alelos fueron encontrados en los 155 individuos de shapaja *Attalea moorei* evaluados mediante diez *loci* microsatélites. El *locus* que presentó la mayor diversidad alélica fue el D124 con 23 alelos, a diferencia del *locus* D2 que presentó solo tres alelos (Figura 04). El promedio de alelos por *locus* fue $12,1 \pm 5,3$.

Los valores de la heterocigosidad observada (H_o) variaron de 0,337 para el *locus* D3 a 0,878 para el *locus* C122, con una media de 0,587. En tanto que la heterocigosidad esperada (H_e) varió entre 0,377 (*locus* D3) y 0,853 (*locus* D124), con una media de 0,621. Los resultados negativos del Coeficiente de Endogamia (F_{IS}) se encontraron en los *loci* C11, D2 y C122, mostrando un exceso de heterocigotos en estos *loci* (Tabla 03).

Tabla 03. Valores de la diversidad genética obtenidos para cada uno de los 10 *loci* microsatélites evaluados en las cinco poblaciones naturales de shapaja *Attalea moorei* en la Amazonia peruana.

LOCUS	A	H_o	H_e	F_{IS}
B102	12	0,679	0,722	0,060
D124	23	0,817	0,853	0,041
B121	15	0,730	0,779	0,063
C5	13	0,344	0,551	0,377
A106	14	0,583	0,648	0,100
C11	10	0,558	0,532	-0,049
D2	3	0,620	0,445	-0,391
D3	7	0,337	0,377	0,105
A103	14	0,419	0,644	0,350
C122	10	0,878	0,663	-0,323
Media	12.1	0,587	0,621	0,080

Abreviaturas: Número de alelos (A), Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_e) y Coeficiente de endogamia (F_{IS}).

Del total de alelos encontrados, el alelo 237 (D3) fue el que presentó la mayor frecuencia alélica (1,000); en tanto que el alelo 218 (D2) presentó la menor

frecuencia (0,014). El *locus* D124 presentó los alelos con frecuencias más homogéneas entre todos los *loci* analizados, a diferencia del *locus* D2, que presentó el predominio del alelo 214 en todas las poblaciones (frecuencias variaron de 0,609 a 0,800). Los tamaños de los alelos variaron de 118 a 286 pb (Figura 04, Anexo 06).



Figura 04. Frecuencias alélicas observadas en los diez *loci* analizados en las cinco poblaciones naturales de shapaja *Attalea moorei* en la Amazonia peruana.

Alelos privados

Fueron identificados un total de 38 alelos (alelos propios o exclusivos de una población) en las cinco poblaciones analizadas, sin embargo, las frecuencias de estos alelos fueron bajas en relación a los alelos comunes. La población con mayor número de alelos privados fue Madre de Dios (26) y las de menor número fueron Pucacaca y Tingo María (cada una con 02 alelos). La frecuencia alélica más alta fue presentada por el alelo 268 del *locus* C5 (0,200) en la población de Tingo María, la frecuencia más baja fue 0,016 presentada por el alelo 188 del *locus* B102 (Tabla 04).

Tabla 04. Alelos privados (A) y sus respectivas frecuencias (F) observados en diez *locus* de shapaja *Attalea moorei* proveniente de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.

LOCUS	POBLACIONES										TOTAL
	Jenaro Herrera		Santa Lucia		Tingo Maria		Pucacaca		Madre de Dios		
	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	
B102	188	0,016							162	0,050	05
									164	0,067	
									166	0,100	
									180	0,083	
D124			228	0,037					266	0,117	07
									278	0,017	
									280	0,017	
									282	0,017	
									284	0,017	
B121									128	0,117	03
									130	0,150	
									146	0,067	
C5	234	0,016			268	0,200			256	0,050	07
	260	0,065							258	0,083	
									270	0,183	
									272	0,050	
A106			166	0,093	170	0,029			162	0,017	05
			186	0,074					188	0,033	
C11			243	0,037			237	0,047	217	0,033	03
D2											-
D3							245	0,016	227	0,017	04
									239	0,083	
									255	0,017	
A103			256	0,058							01
C122									255	0,067	03
									265	0,050	
									277	0,033	
TOTAL	03		05		02		02		26		38

4.2. VARIABILIDAD GENÉTICA INTRAPOBLACIONAL

El mayor número de alelos y riqueza alélica fue presentado por la población de Madre de Dios ($A_T= 91$, $A_R=9,1$) en tanto que el menor número de alelos y riqueza alélica fue presentado por la población de Tingo María ($A_T= 39$, $A_R=3,9$). La media de la heterocigosidad esperada siempre fue mayor que la observada en todas las poblaciones analizadas (mostrando déficit de heterocigotos) a excepción de la población de Pucacaca, donde la heterocigosidad esperada fue ligeramente menor que la observada ($H_e = 0,616$, $H_o =0,628$), demostrando un exceso de heterocigotos. El coeficiente de endogamia (F_{is}) varió entre 0,112 (Jenaro Herrera) a -0,004 (Pucacaca). En tres de las cinco poblaciones no se pudo rechazar la panmixia (Santa Lucía, Madre de Dios y Pucacaca); es decir están en equilibrio, las otras dos presentaron desviación a la panmixia (Jenaro Herrera y Tingo María) (Tabla 05).

Tabla 05. Valores de la variabilidad genética de shapaja *Attalea moorei* obtenidos en cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.

Poblaciones	N	A_T	A_R	Media		F_{is}
				H_e	H_o	
Jenaro Herrera	31	55	5.5	0,559	0,507	0,112
Santa Lucía	27	58	5.8	0,639	0,620	0,049*
Tingo María	35	39	3.9	0,550	0,497	0,111
Pucacaca	32	59	5.9	0,616	0,628	-0,004*
Madre de Dios	30	91	9.1	0,742	0,730	0,033*

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), esperada (H_e) y coeficiente de endogamia (F_{is}) por población, * = No se puede rechazar la panmixia

4.3. VARIABILIDAD GENÉTICA INTERPOBLACIONAL

4.3.1 ANALISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIA

Los resultados del análisis de AFC (Figura 05, A y B) muestra que las poblaciones de *Attalea moorei* presentan estructuración genética muy marcada entre ellas. Pero, que las poblaciones de Jenaro Herrera y Santa Lucía están más relacionadas entre sí que con el resto de poblaciones analizadas. En tanto, que las poblaciones de Madre

de Dios, Pucacaca y Tingo María presentan una marcada diferenciación genética entre ellas y las demás poblaciones, lo cual queda más evidenciado en la figura 05 B.

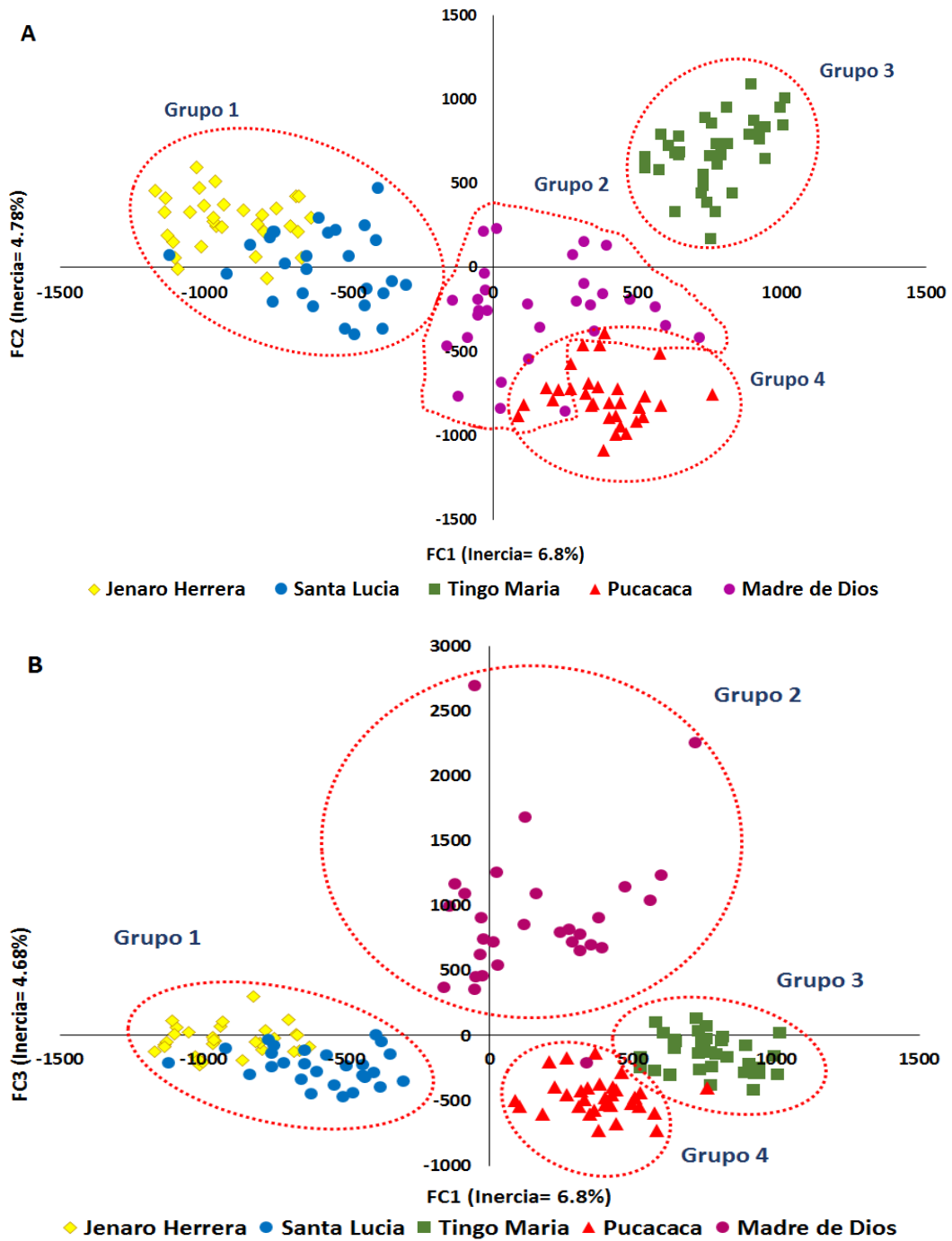


Figura 05. Proyección grafica de los resultados del AFC para los ejes A) 1 y 2; B) 1 y 3, encontrados en los individuos de shapaja *Attalea moorei* provenientes de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.

4.3.2 INDICE DE FIJACION (F_{ST})

Las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* mostraron diferenciación genética entre ellas altamente significativas y diferentes de cero ($***p \leq 0,001\%$). El mayor valor de diferenciación genética fue encontrado entre las poblaciones de Jenaro Herrera y Tingo María ($F_{ST}= 0,295$), mientras que el menor valor lo presentaron las poblaciones de Jenaro Herrera y Santa Lucia ($F_{ST}= 0,081$) (Tabla 06).

Tabla 06. Resultados del índice de fijación (F_{ST}) calculados a partir del análisis de diez *loci* microsatélites para las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* de la Amazonia peruana.

	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
Jenaro Herrera	-	0,081***	0,295***	0,281***	0,156***
Santa Lucia	-	-	0,232***	0,174***	0,107***
Tingo María	-	-	-	0,248***	0,127***
Pucacaca	-	-	-	-	0,147***
Madre de Dios	-	-	-	-	-

***: Significativo para $p = \leq 0.001\%$

4.3.3 DISTANCIA GENETICA

Los resultados de la distancia genética de Nei (1978) mostraron que las poblaciones de Jenaro Herrera y Santa Lucia son las más relacionadas (0,145), en tanto que las poblaciones de Jenaro Herrera y Pucacaca son las más distantes genéticamente (0,868) (Tabla 07).

Tabla 07. Distancia genética entre poblaciones (Nei, 1978) estimada a través del análisis de diez *loci* microsatélites para los individuos de *Attalea moorei* proveniente de cinco poblaciones naturales de la Amazonia peruana.

	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
Jenaro Herrera	-	0,145	0,782	0,868	0,411
Santa Lucia	-	-	0,607	0,466	0,321
Tingo María	-	-	-	0,649	0,282
Pucacaca	-	-	-	-	0,460
Madre de Dios	-	-	-	-	-

4.4. FLUJO GENETICO

Los resultados del flujo genético, determinado por el número de migrantes (Nm) por generación y calculado en base a los valores de F_{ST} , muestran valores bajos de flujo de genes entre las poblaciones, siendo que las poblaciones de Jenaro Herrera y Tingo María presentaron el menor flujo de genes ($Nm = 0,60$), en tanto la misma población de Jenaro Herrera presentó el mayor flujo de genes con la población de Santa Lucia ($Nm = 2,83$) entre las poblaciones analizadas (Tabla 08).

Tabla 08. Resultados del número de migrantes por generación (Nm) considerado a partir del análisis de diez *loci* microsatélites para las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* de la Amazonia peruana.

	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
Jenaro Herrera	-	2,83	0,60	0,64	1,36
Santa Lucia	-	-	0,83	1,18	2,09
Tingo María	-	-	-	0,76	1,71
Pucacaca	-	-	-	-	1,45
Madre de Dios	-	-	-	-	-

4.5. ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA

Los resultados del análisis bayesiano de estructuración (Anexo 07), analizados a través del estadístico ΔK (delta k), muestra que las poblaciones analizadas se dividen preferentemente en cuatro grupos genéticos o *cluster* ($K=4$), aquí representados en Azul, verde claro, amarillo y rojo. Cada población está conformando por un único *cluster* a excepción de Jenaro Herrera y Santa Lucia que comparten un mismo grupo genético o *cluster* (azul). Casi todos los individuos dentro de los *clusters* presentan membresías (Q) muy cercanos al 1.0 (Figura 06).

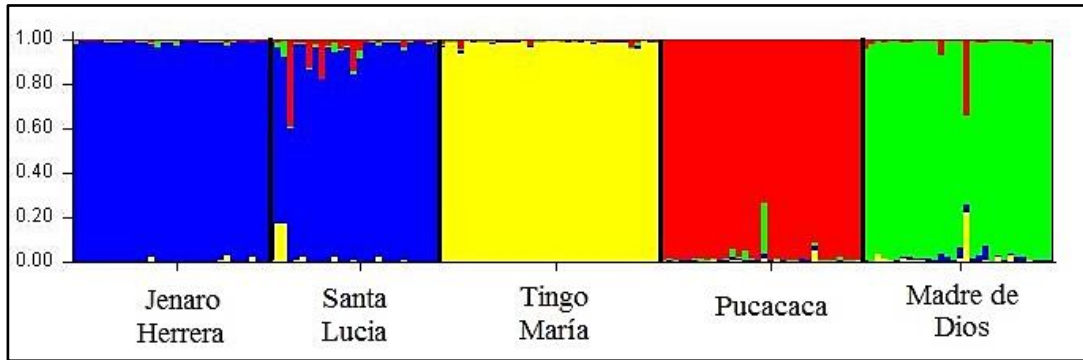


Figura 06. Distribución de la estructura genética de cada individuo en los cuatro *cluster* inferidos ($K = 4$). Cada espécimen está representado por una barra vertical. La longitud del color de las barras en el eje vertical define la proporción de membresía (Q) al *cluster* 1 (azul), *cluster* 2 (amarillo), *cluster* 3 (rojo) y *cluster* 4 (verde claro)

4.6. RELACIONES INTERPOBLACIONALES

El dendrograma elaborado según el criterio de agrupamiento del Vecino Próximo (Neighbor Joining) y en base a la distancia genética de Nei (1978), muestra cuatro agrupaciones principales (Figura 07). Además muestra que las poblaciones de Jenaro Herrera y Santa Lucía son las más relacionadas entre sí (Bootstrap = 99%), y la tienen como grupo hermano a la población de Pucacaca (Bootstrap = 70%). Las poblaciones de Madre de Dios y Tingo María parecen ser grupos más distantes de los otros tres analizados, pero sus relaciones genéticas no pueden ser explicadas con exactitud por presentar valores de Bootstrap menores a 50%, lo cual significa que su posición en el dendrograma es variable.

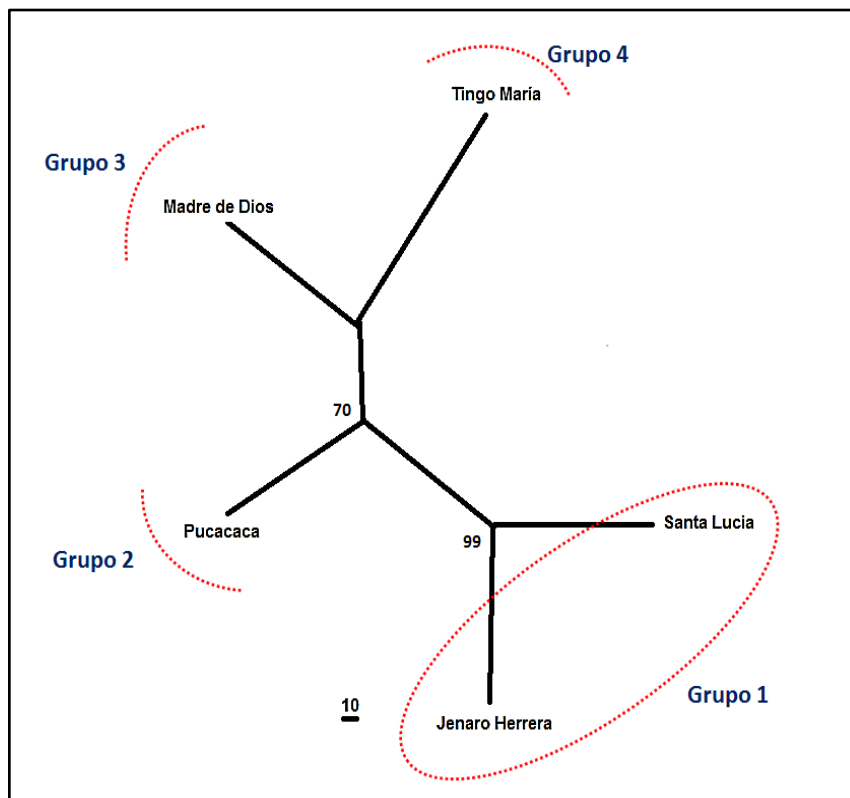


Figura 07. Dendrograma mostrando los resultados del análisis Neighbor Joining, para las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* en la Amazonia Peruana. Los números en los nudos corresponden a los valores de bootstrap obtenidos con 100 réplicas.

4.7. CORRELACION ENTRE LA DISTANCIA GENÉTICA Y LA DISTANCIA GEOGRAFICA

Las localidades con mayor distancia geográfica lineal fueron Santa Lucía y Madre de Dios (1042,24 km) y las más cercanas fueron Santa Lucía y Pucacaca con 114,89 km (Anexo 08). Los valores de distancia genética ($F_{ST}/1-F_{ST}$) variaron entre 0,145 (Jenaro Herrera–Santa Lucía) y 0,868 (Jenaro Herrera–Pucacaca).

El análisis de correlación evidenció que las distancias genéticas observadas entre las cinco poblaciones de la shapaja *Attalea moorei* estudiadas, no tiene dependencia de la distancia geográfica lineal siguiendo un modelo de distribución exponencial ($r = -0,007$ %, $gl = 4$, $p = 0,985$) (Figura 08) (Anexo 08).

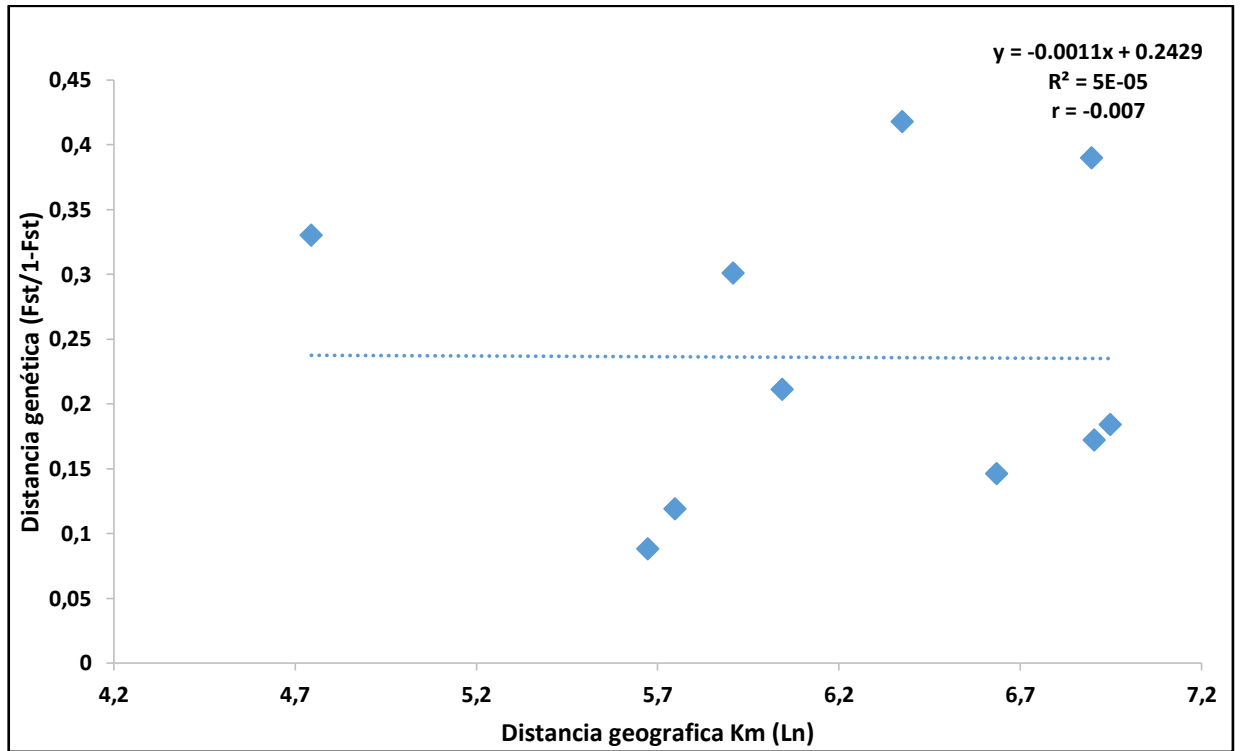


Figura 08. Proyección gráfica del análisis de correlación entre la distancia genética ($F_{ST}/1-F_{ST}$) y la distancia geográfica lineal (Km) de las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* en la Amazonia peruana.

V. DISCUSION

El género *Attalea* agrupa palmeras de gran importancia ecológica y económica para los pobladores amazónicos (73). Este género se caracteriza por presentar una gran complejidad en sus caracteres morfológicos (plasticidad morfológica), que sumado a las colecciones casi inexistentes o inadecuadas no ha permitido hasta el momento una adecuada identificación taxonómica de las especies presentes en el territorio peruano. Anteriormente las palmeras hoy agrupadas en el género *Attalea* estaban agrupadas en cinco géneros distintos, con base en la estructura de las flores masculinas: *Attalea* (sensu estricto) *Scheelea*, *Orbignya*, *Maximilliana*. Ahora el nuevo **Genera Palmarum** (libro) las agrupa en el género *Attalea* (21). Las especies de este género varían entre 29 y 76, según diferentes autores (6). Un ejemplo de este género es *Attalea moorei*, que ha tenido varios conflictos en su nomenclatura. Esta especie fue identificada como *Sheleea moorei* (10), hasta que en el 2002 una revisión taxonómica la denominó como *Attalea moorei* (20) y años más adelante los estudios de Govaerts y Dransfield lo corroboraron (6,21).

Actualmente, muchos estudios basados en análisis morfológicos, complementados con análisis moleculares (15,16) y estudios filogenéticos han permitido comprender en alguna proporción a este complejo grupo de palmeras neotropicales, observando la división del género *Attalea* principalmente en dos clados bien definidos: uno a las especies del antiguo género *Attalea sensu stricto*, y otro que incorpora a las demás especies de *Attalea sensu lato* (73,74,75). El estudio genético poblacional realizado mediante marcadores moleculares universales (ISSR) en la especie *Attalea moorei*, muestra una fuerte diferenciación genética entre las poblaciones sanmartinenses y loretananas, así como una gran diversidad genética (22 genotipos) (13). El presente estudio realizado mediante marcadores microsatélites muestran un alto polimorfismo en los 10 *loci* microsatélites analizados (A=12,1), el polimorfismo encontrado es comparable a los encontrados en otras palmeras, tales como *Attalea phalerata* (A=12,1) (54), *Bactris gasipaes* (A=12,5) (38), y mayores a las encontradas en *Attalea amigdalina* (A=6,13) (52), *Euterpe edulis* (A=0,75) (76), *Cocos nucifera* (A=7,35) (77), *Phoenix atlántica* (A=8,8) y *Phoenix dactylifera* (A=9,06) (78).

La heterocigosidad observada (H_o) fue menor que la heterocigosidad esperada (H_e), en cuatro de las cinco poblaciones evaluadas, lo que muestra un déficit de heterocigotos en las poblaciones analizadas. Esto podría deberse a que se está dando procesos de polinización entre individuos cercanos o emparentados entre sí o por efecto de tasas bajas en la dispersión de semillas, lo que podría causar el aumento del número de homocigotos (79,80,81). Resultados similares fueron reportados en otras especies de palmeras como *Bactris gasipaes* (82) y *Mauritia flexuosa* (83). Así mismo, el coeficiente de endogamia (F_{is}) mostró que en tres de las cinco poblaciones (Santa Lucía, Pucacaca y Madre de Dios) no se pudo rechazar la panmixia, indicando que estas poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, es decir que todos los individuos de la población tienen la misma posibilidad de reproducirse (16); solo en dos de ellas se rechazó la panmixia (Tingo María y Jenaro Herrera), esto sugiere que el flujo génico entre estas poblaciones de shapaja ocurren entre individuos emparentados. Los valores de endogamia reportados en este estudio para Tingo María y Jenaro Herrera ($F_{is}=0,1$) fueron semejantes a los reportados para la palmera *Euterpe edulis* (76) y mucho menor a la reportada para *Mauritia flexuosa* ($F_{is}=0,2$) por Recalde (83).

Los resultados del Análisis Factorial de Correspondencia (AFC), muestra que las poblaciones de *Attalea moorei* se encuentran fuertemente diferenciadas entre sí, a excepción de Jenaro Herrera y Santa Lucía que están más relacionadas genéticamente (Figura 5, A y B). Esto es corroborado por los resultados del índice de fijación (F_{st}) que muestra una diferenciación genética entre las poblaciones analizadas, con valores en un rango de 0,081 a 0,295 (promedio de $F_{ST}=0,185$), los cuales según la escala de Hartl & Clark (61) estaría indicando diferenciación genética moderada a muy alta entre las poblaciones analizadas. Los bajos niveles de flujo genético (Nm) y elevados valores de distancia genética entre ellas, corroboraron estos resultados. Estudios de estructuración en poblaciones naturales de otras palmeras muestra diferentes niveles de estructuración, valores moderados de estructuración fueron reportados para *Bactris gasipaes* ($F_{st}=0,16$) en Costa Rica (38)

y *Mauritia flexuosa* ($F_{st}=0,11$) en la Amazonía Ecuatoriana (83), en tanto que para la palma de aceite *Elaeis guineensis* Jacq. (84), reportaron valores de diferenciación genética (estructuración) baja ($F_{st}=0,028$), al igual que *Attalea amygdalina* ($F_{st}=0,0634$) y *Astrocaryum mexicanum* ($F_{st}=0,040$), en la que presentaron bajos niveles de índice de fijación, no mostrando diferencias significativas entre las poblaciones (52,85).

El dendograma de relaciones entre las poblaciones de *Attalea moorei* muestra la conformación de cuatro grupos genéticos entre las poblaciones analizadas: (A) Jenaro Herrera y Santa Lucia, (B) Madre de Dios, (C) Tingo María y (D) Pucacaca. Siendo que las poblaciones de Jenaro Herrera y Santa Lucia fueron las más relacionadas genéticamente. Los resultados del análisis bayesiano de estructuración poblacional confirman que las poblaciones de shapaja analizadas se encuentra fuertemente estructuradas y se encuentran en un proceso de divergencia genética, mostrando la existencia de cuatro grupos genéticos o *cluster* entre las cinco poblaciones evaluadas y corroborando que Jenaro Herrera y Santa Lucia comparten casi el 100% de su genoma (valor de Q muy cercano a 100%), lo que significa que constituyen un solo *cluster*. Estos resultados parecen corroborar los reportados en los estudios genéticos realizados por Castro *et al.* (13) en seis poblaciones de la shapaja *Attalea moorei* evaluados mediante marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat); quienes mostraron también que poblaciones cercanas del llano Amazónico (Loreto: Bagazán, Supay y Colpa) estaban más relacionados entre sí que con otras poblaciones de selva Alta (San Martín: Cedamillo, Shapaja y Chayahuaqui).

Finalmente, los resultados de la correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética entre las poblaciones analizadas muestran que no existe correlación entre estos dos parámetros ($r=-0,007$), es decir, que el distanciamiento geográfico no puede explicar la distancia genética entre ellas. Por ejemplo, la población de Tingo María, que es la población tipo de esta especie (10) no es la más distante geográficamente de las demás poblaciones evaluadas, pero, es la más distante genéticamente. Esto hace suponer que hay otros factores que podrían

estar contribuyendo a la diferenciación entre ellas. Entonces, si la distancia geográfica, no es la responsable principal de la distancia genética entre las poblaciones que otros factores podrían estar influenciando?.

Trataremos de explicar los posibles factores que estarían influenciando la estructuración genética entre las poblaciones, i) la presencia de una barrera física que limite el flujo de genes entre algunas poblaciones, por ejemplo, las poblaciones de Santa Lucia y Pucacaca, a pesar de tener la menor distancia geográfica no poseen la menor distancia genética entre ellas. En este caso la Cordillera Escalera (altitud: 1119 m.s.n.m), podía estar actuando como una barrera geográfica natural entre ellas, lo que estaría restringiendo el flujo de genes entre estas poblaciones (86). ii) El aumento de la altitud por efecto de la vertiente oriental de la cordillera de los Andes, es otro de los factores que podría estar contribuyendo a la diferenciación entre las poblaciones del Llano Amazónico (Santa Lucia y Jenaro Herrera) y las poblaciones de selva alta (Pucacaca, Madre de Dios y Tingo María), no solo originando un efecto vicariante entre estos dos grupos de poblaciones, sino también, actuando como una barrera infranqueable por algunos polinizadores y dispersores, y por ende restringiendo el flujo de genes (87). iii) En los últimos 15 años la selva alta viene siendo sometido a una creciente ocupación territorial, este proceso de colonización ha originado, que grandes extensiones de bosques naturales sean reemplazadas por el hombre para el desarrollo de sus actividades económicas (establecimiento de parcelas agrícolas, crianza de animales y minería) (88). Esto trajo como consecuencia, la discontinuidad de la floresta amazónica, observándose actualmente pequeños parches forestales rodeados de extensas zonas de cultivo, esto ocasionó una drástica reducción de las poblaciones naturales de muchos animales y plantas (26). En el caso de la shapaja *Attalea moorei* (que es una especie de amplia distribución geográfica, la cual es atribuida a su historia evolutiva), sus poblaciones se han visto drásticamente reducidas o eliminadas de algunas zonas, es decir las poblaciones fueron fragmentadas o limitadas a unos pocos individuos, sin conexión entre las poblaciones. En el caso de las poblaciones de selva alta analizadas, la fragmentación unida a la distancia geográfica entre las

poblaciones, constituyen elementos infranqueables que limitan el flujo de genes y a la larga originan el aislamiento genético entre las poblaciones (10,11). iv) La disminución de agentes dispersores para esta especie, los cuales están compuestos por una diversidad de frugívoros; que incluyen roedores (*Agouti paca*, *Dasyprocta punctata*, *Sciurus sp.*), primates (*Cebus apella*), tapires (*Tapirus terrestris*) y aves raptoras (*Caracara plancus*) (25,27,29,54,89). Estos agentes dispersores son cazados por los seres humanos para su alimentación, generando un limitante en la dispersión de semillas entre las poblaciones y por ende el bajo flujo genético (26). De igual manera el impacto que genera las actividades industriales en muchas de las zonas naturales, también influye en esta sobreexplotación. Un reporte sobre la construcción de vías por parte de la comunidad Waorani en Ecuador, determinó la influencia de estos trabajos a la evidente reducción de la fauna y su capacidad de supervivencia en zonas más alejadas (90,91). v) Las restricciones que poseen los agentes polinizadores para trasladarse a grandes distancias, limitando el éxito de su fertilización entre las poblaciones distantes. Se sugiere que los polinizadores del género *Attalea*, son escarabajos de la familia Curculionidae (26,79,81), los cuales tienen rangos de dispersión de polen muy cortas (81,92), lo que imposibilitaría el flujo de polen entre poblaciones distantes. Los escarabajos distribuían el polen a medida que marchaban lentamente cerca de la flor comiendo pétalos y estambres (79,80), por lo que el flujo de genes está limitado entre las poblaciones

VI. CONCLUSIONES

- ❖ La variabilidad genética interpoblacional presentó una estructuración genética muy marcada entre las cinco poblaciones de *Attalea moorei*, a excepción de Jenaro Herrera y Santa Lucia que fueron las más relacionadas.
- ❖ La variabilidad genética intrapoblacional presentó a la población de Madre de Dios con el mayor número de alelos y riqueza alélica, en tanto que el menor número de alelos y riqueza alélica fue presentado por la población de Tingo María.
- ❖ La media de la heterocigosidad esperada siempre fue mayor que la observada (mostrando déficit de heterocigotos) a excepción de la población de Pucacaca, donde la heterocigosidad esperada fue ligeramente menor que la observada.
- ❖ Las poblaciones de “shapaja” de la región de Loreto (Jenaro Herrera y Santa Lucia), presentan un fuerte intercambio de genes entre ellas, pero son muy estructuradas del resto.
- ❖ No existe correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética entre las poblaciones de *Attalea moorei*.

VII. RECOMENDACIONES

- ❖ En estudios posteriores ampliar el rango de análisis utilizando otras regiones microsatélites creados para *Attalea phalerata* y otros diseñados para el género *Attalea*.
- ❖ Realizar estudios morfológicos que ayuden a encontrar características sinópticas entre las poblaciones que en nuestros resultados presentaron una fuerte estructuración genética entre ellas.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Kalliola, R. Amazonía Peruana, vegetación húmeda tropical en el llano subandino. Proyecto Amazonía, Universidad de Turku. Turku, Finlandia. 1993; 265.
2. Mejía, K. Utilización de las palmeras en la Amazonía peruana. En: V Seminario-Taller Internacional Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria y Primer Seminario Internacional Palmas en Sistemas de Producción Agropecuaria para el Trópico. Cali, Colombia. 1997; 75.
3. Hooghiemstra H. The dynamic rainforest ecosystem on geological, quaternary and human time scales. In Verweij P. (ed.), Understanding and capturing the multiple values of tropical forests. Proceedings of the international seminar on valuation and innovative financing mechanisms in support of conservation and sustainable management of tropical forests. 2002: 7-19.
4. Henderson A. Las palmas de la Amazonía. Oxford University Press. 1995; 362.
5. Pintaud J-C. Las palmeras de América del Sur: diversidad, distribución e historia evolutiva. Revista Peruana de Biología. 2008a; 15(1):007- 029.
6. Pintaud J-C. An overview of the taxonomy of *Attalea* (Arecaceae). Revista Peruana de Biología. 2008b; 15(1):055-063.
7. Haynes, J. y J. McLaughlin. Edible palms and their uses. Fact Sheet MDCE-OO-50-1. University of Florida. Extensión Institute Food and Agricultural Sciences. November 2000, 13.

8. Dávila E.; Merino C., Mejía K.; García D.; Sauvain M.; Sotero V. Caracterización química de tres palmeras del género *Attalea*. Revista de Sociedad de Química del Perú. 2011; 77 (3): 7.
9. Borchsenius, F. & Moraes, M. Diversidad y uso de palmeras andinas (Arecaceae). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Botánica Económica de los Andes Centrales. 2006: 412-433.
10. Glassman S.F. Un tratamiento taxonómico de la subtribu palma Attaleinae (Tribu Cococeae). Illinois. Monografías Biológicas. 1999; 59.
11. Paniagua, N.; Bussmann, R.; Macía, M. El bosque si tiene valor; El uso de palmeras campesinas e indígenas de la región de Inambari, Madre de Dios, Perú. Ethnobotany Research & Applications. Diciembre 2011; 13 (3): 1547-3465, 80.
12. Trénel P., M.H.G. Gustafsson, W.J. Baker, C.B. Asmussen-Lange, J. Dransfield & F. Borchsenius. Mid-Tertiary dispersal, not Gondwanan variance explains distribution patterns in the wax palm subfamily (Ceroxyloideae: Arecaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution. 2007; 45: 272-288.
13. Castro, D.; Rodríguez, A.; Chota, W.; Del Castillo, D.; Sotero, V.; Mejía, K.; François, J.; García, C. Variabilidad genética de la shapaja *Attalea moorei* en seis poblaciones naturales de la Amazonía Peruana. Folia Amazónica. 2010; V19 (1-2): 41 – 48.
14. Azofoifa-Delgado, A. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. Agronomía Mesoamericana. 2006. 17(2): 221-242.
15. Balloux, F. & Lugon-Moulin, N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology. 2002. 11: 155-165.

16. Ferreira, M. y Grattapaglia D. Introducción al uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético. EMBRAPA, Brasilia, Brasil. 1998; 205.
17. APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. The Linnean Society of London, Botanical Journal of the Linnean Society. 2016; 181, 1-20.
18. Moussa, F.; Kahn, F.; Henderson, A.; Brako, L.; Hoff, M. Las palmeras en los valles principales de la Amazonia Peruana. 1992; 21 (2): 565-597.
19. Pintaud J-C., Malaurie B., Kahn F. Promising palms for bioenergy production, IRD-DIA-PC. 18.
20. Zona S. Name changes in *Attalea*. Palms. 2002; 46: 132-133.
21. Govaerts R. & J. Dransfield. 2005. World checklist of palms. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
22. Van der Valk, A.G. Establishment, colonization and persistence. D.C. Glenn, R.K. Peet & T.T. Veblen (eds.), Plant succession, theory and prediction. Chapman & Hall, Londres. 1992; 60-102.
23. Correa, D. & Vargas, O. Regeneración de palmas en bosques nativos y plantaciones del santuario de fauna y flora Otún-Quimbaya (Risaralda, Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Departamento de Biología. 2009; 22.
24. Cavellier, J. & Santos, C. Efectos de plantaciones abandonadas de especies exóticas y nativas sobre la regeneración natural de un bosque montano en Colombia. . Revista Biológica Tropical. 1999; 47(4): 775-784.
25. Quiroga-Castro, V. & Roldan, A. The Fate of *Attalea phalerata* (Palmae) Seeds dispersed to a Tapir Latrine. BIOTROPICA. 2001; 33(3):472-477.

26. Choo, J. Ethnobiology and the population ecology of Neotropical palms. Ph.D. Dissertation, University of Texas at Austin, Austin, Texas, USA. 2010b; 141.
27. Kahn, A. & Arana, C. Las palmeras en el marco de la investigación para el desarrollo en América del Sur. Revista Peruana Biológica. Noviembre 2008; 15 (1): 005-006.
28. Kahn, F. Las palmeras del Arbo­rétum Jenaro Herrera (Provincia de Requena, Departamento de Loreto, Perú). Contribución al estudio de la flora y de la vegetación de la Amazonia Peruana. XVII. 1990; 45(1) 341.
29. Basley, H.; Grandez, C.; Paniagua, N.; Louise, M.; Lykke, S. Palmas (Arecaceae) útiles en los alrededores de Iquitos, Amazonia Peruana. Revista Peruana Biológica. Noviembre 2008; 15(1): 121-132.
30. Brañas, M. Los techos de hoja de palmera en la vivienda tradicional Amazónica. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. Iquitos-Perú. Marzo, 2015; 61.
31. Moraes, M.; Borchsenius, F; Blicher-Mathiesen, U. Notes on the Biology and use of the Motacu palm (*Attalea phalerata*, Arecaceae) from Bolivia. Economic Botany. Bolivia.1996; 50 (4): 423-428.
32. Zamora, G. Obtención de carbón activado a partir de semillas, de dos palmeras de la Amazonia Peruana, Shapaja (*Attalea phalerata*) y Aguaje (*Mauritia flexuosa*). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 2010; 79.
33. Albán, J.; Milán, B.; Kahn, F. situación actual de la investigación etnobotánica sobre palmeras de Perú. Revista Peruana Biológica. Noviembre 2008; 15(1): 133-142.

34. Nuez, F. y Carrillo, J.M. Los marcadores genéticos en la mejora vegetal. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. 2000; 570.
35. Valadez, E. y Günter, K. Huellas de ADN en genomas de plantas (teoría y protocolos de laboratorio). Universidad Autónoma de Chapingo/Mundi Prensa. México. 2000; 148.
36. Elmeer, K.; Sarwath, H.; Malek, J.; Braum, M.; Hamwich, A. New microsatellite markers for assessment of genetic diversity in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Biotech*, 2011. 1:91-97.
37. Tautz, D. & Renz, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.*1985; 12(10): 4127-38.
38. Hernández JA, Mora-Urpí J, Rocha OJ. Diversidad genética y relaciones de parentesco de las poblaciones silvestres y cultivadas de pejibaye (*Bactris gasipaes*, Palmae), utilizando marcadores microsatelitales. *Revista Biológica Tropical*. 2008; 56(1):217–245.
39. Johnson, C.; Cullis, T.; Cullis, A.; Cullis, C. DNA markers for variety identification in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* .2009; 84 (6): 591–594.
40. Martins, C. Chromosomes and repetitive DNAs: a contribution to the knowledge of fish genome. In *fish Cytogenetics*. Eds: E. Pisano, C. 2007.
41. Goldstein, D.B. y Schlotterer, C. *Microsatellites: evolution and applications*. Nueva York, EE.UU. Oxford University Press. 1999; 368.
42. Becerra, V. & Paredes, M. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica*. 2000; 60 (3):270.

43. Morgante, M. and Olivieri, A. MPCR-amplified microsatellite as markers in plant genetics. *Plant J.* 1993; 3: 175-182.
44. Jame, P. y Lagoda, P.J.L. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecology and Evolution.* 1996; 11: 424–429.
45. Feldman M.W.; Bergman, A.; Pollock, D.D.; Goldstein, D.B. Microsatellite genetic distances with range constraint: analytic description and problems of estimation. *Genetics.* 1997; 145: 207-216.
46. Gorgonio, M. Variabilidad y estructura genética de *Quercus eduardii* (Fagaceae) en Sierra fría, Aguascalientes. Universidad de la Sierra Juárez. Ixtlán de Juárez, Oax. Setiembre 2012; 74.
47. Piñero, D.; Barahona, A. Eguiarte, L.; Rocha, A.; Salas, R. La variabilidad genética d las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. 2008; 415-435.
48. Lessa, E. Guia de estudio de genética de poblaciones. Laboratorio de Evolucion. Facultad de Ciencias Montevideo, Uruguay. 2004; 75.
49. Slatkin, M. 1985a. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.
50. Slatkin, M. Flujo Génico y Estructura de las Poblaciones. Laboratorio de Evolucion. Facultad de Ciencias. 1994; 11.
51. Eguiarte, L.; Aguirre, E.; Scheinvar, E.; González, A.; Souza, V. Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en

especies de plantas mexicanas. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Octubre del 2010; 30.

52. Gaitán, S. Obtención y uso de secuencias microsatélites GA/CA en estudio de diversidad genética en las especies de palmas colombianas *Ceroxylon sasaimae*, *Ceroxylon alpinum* y *Attalea amigdalina*. 2003; 169: 106 – 123.
53. Aspajo, F.; Rodríguez, A.; Corazón-Guivin, M.; Freitas, L.; Del Castillo, D.; Castro, D.; García, M.; Renno, J.; García, C. Caracterización genética de los morfotipos de aguaje *Mauritia flexuosa*. F. (Arecaceae) y análisis de la variabilidad de tres poblaciones naturales en la Amazonía Peruana. *Folia Amazónica*. 2008; V17 (1-2): 75-82.
54. Choo, J.; Ishak, H.; Simpson, B.; Mueller, U.; Juenger, T. Characterization of 14 microsatellite loci in a tropical palm, *Attalea phalerata* (Arecaceae). University of Texas at Austin, Austin, Texas, USA. *American Journal of Botany*. 2010; 105–106.
55. Doyle, J.J.; Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 1987; 19:11-15.
56. Belkhir, K.; Borsa, P.; Chichi, I.; Raufast, N. & Bonhomme, F. Genetix 4.05.2, logiciel ielsous windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire génome, populations, interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. 2004.
57. Peakall R. y Smouse P. E. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra. 2006.

58. Castillo, W. & Rodríguez O. Algoritmo e implementación del Análisis Factorial de Correspondencias. Escuela de Matemática, Universidad de Costa Rica. 2002; 20.
59. Weir B.S. & Cockerham C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure, *Evolution*. 1984; 38 (6):1358-1380.
60. Weir, B.S. *Genetic data analysis*. Sinauer. Sunderland, Massachusetts, USA. 1990; 377.
61. Hartl, D. & Clark, A. *Principles of population genetics*. Tercera edición. Sinauer Associates, Tnc. Canada. 1997; 479.
62. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 1978; 89:583-590.
63. Wright, S. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 2. The theory of gene frequencies. University of Chicago Press, Chicago. 1969; 520.
64. Pritchard, J.; Wen, X.; Falush, D. Documentation for *Structure* software: Version 2.3. Department of Human Genetics University of Chicago. February 2010; 39.
65. Falush, D., Stephens, M., and Pritchard, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*. 2007; 7:574– 578.
66. Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. Inference of population structure using multi locus genotype data. *Genetics*. 2000; 155:945–959.
67. Falush, D.; Stephens, M.; Pritchard, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 2003; 164:1567-1587.

68. Evanno, G.; Regnaut, S.; Goudet, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 2005; 14:2611-2620.
69. Felsenstein, Phylogeny Inference Package (PHYLIP). Versión 3.5. University of Washington, Seattle. 1993.
70. Page R. D. M. Treeview. Tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. Division of Environmental and Evolutionary Biology, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow. Glasgow, Scotland, UK. 1996.
71. Suárez M. Coeficiente de correlación de Pearson para datos agrupados en intervalos. 2011. Página web: www.repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/767.
72. Mantel N. "The detection of disease clustering and a generalized regression approach". *Cancer Research*. 1967; 27(2): 209–220.
73. Rodríguez Del Castillo, A.; García, C.; Mejía, K.; Pintaud, J-C. *Attalea*: Insights into the Diversity and Phylogeny of an Intriguing Genus. 2016. *Palms*, V60 (3): 109-124.
74. Meerow, A.W.; L. Noblick, J.W.; Borrone, T.L.P; Couvreur, M.; Mauro-Herrera, W.J.; Hahn, D.N.; Kuhn, K.; Nakamura, N.H.; Oleas and R.J. Schnell. Phylogenetic analysis of seven WRKY genes across the palm subtribe Attaleinae (Arecaceae) identifies *Syagrus* as sister group of the coconut. 2009. 4(10): PLoS ONE e7353. doi: 10.1371/journal.pone.0007353.
75. Meerow, A.W.; L. Noblick, D.E.; Salas-Leiva, V.; Sánchez, J.; Francisco-Ortega, B.; Jestrow, K.; Nakamura. Phylogeny and historical biogeography of the cocosoid palms (Arecaceae, Arecoideae, Cocoseae) inferred from sequences of six WRKY gene family loci. 2014. *Cladistics* doi: 10.1111/cla.12100.

76. Gaiotto, F. A., D. Grattapaglia & R. Vencovsky. 2003. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity* 94: 399-406.
77. Rajesh, M.K.; Nagarajan, P.; Jerard, B.A.; Arunachalam, V.; Dhanapal, R. 2008. Microsatellite variability of coconut accessions (*Cocos nucifera* L.) from Andaman and Nicobar Islands. *Current Science*, 94(12): 1627-1631.
78. Henderson, S. A.; Billote, N.; Pintaud, J-C. 2006. Genetic isolation of Cape Verde Island *Phoenix atlántica* (Arecaceae) revealed by microsatellite markers. 7: 213-223.
79. Valente, R., & Vanin, S. A. 2002. Curculionidae (Coleoptera) em inflorescência de *Attalea maripa* (Aubl.) Mart. (Arecaceae). In P. L. B. Lisboa (Ed.), *Caxiuana População tradicionais, Meio Físico e Diversidade biológica* (pp. 483-502). Belém-Brazil: Museu Paraense Emílio Goeld.
80. Consiglio, T. K. y Bourne, G. R. 2001. Pollination and breeding system of a neotropical palm *Astrocaryum vulgare* in Guyana: a test of the predictability of syndromes. *J. Trop. Ecol.* 17: 577–592.
81. Kùchmeister, H., A. Webber, G. Gottsberger & I. Silberbauer Gottsberger. 1998. A polinização e sua relação com a termogênese em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. *Acta Amazonica* 28: 217–245.
82. Cole, D., White, L., & Nair, P. 2007. Maintaining genetic resources of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth): The role of seed migration and swidden-fallow management in northeastern Perú. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 189-204.

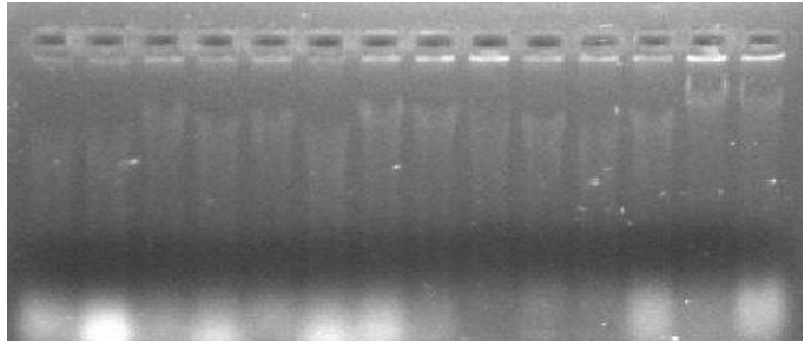
83. Recalde, E.A. 2013. Estructura genética de poblaciones de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) en el Parque Nacional Yasuní (PNY). Tesis para optar en título de licenciado en Ciencias biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 73.
84. Barrera Galvis, S.N. 2011. Estructura genética de poblaciones naturales de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) procedentes de Angola. Tesis para obtener el título de Magister en ciencias agrarias con énfasis en genética y fitomejoramiento, Universidad Nacional de Colombia, 60.
85. Eguiarte, L. E., N. Perez-Nasser & D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69: 217-228.
86. Williams, R. S. R., y Plenge H. 2009. *Cordillera Escalera, la ruta de la biodiversidad*. Geográfica EIRL, Lima - Perú.
87. FAO. 2004. Cordillera de los andes, una oportunidad para la integración y desarrollo de América del Sur. Elaborado por Francisco Mendoza. 1-126.
88. Barrantes, R. y Glave, M. 2014. Amazonia peruana y desarrollo económico. Instituto de estudios peruanos. Grupo de análisis para el desarrollo. 1-255.
89. Galetti, M. y Guimarães, R. Jr. 2004. Seed dispersal of *Attalea phalerata* (Palmae) by Crested caracaras (*Caracara plancus*) in the Pantanal and a review of frugivory by raptors. *12 (2):133-135*.
90. Suárez, E., Zapata-Ríos, G., Utreras, V., Strindberg, S., & Vargas, J. 2012. Controlling access to oil roads protects forest cover, but not wildlife communities: a case study from the rainforest of Yasuní Biosphere Reserve (Ecuador). *Animal Conservation* 1-10.
91. Wright, J., Zeballos, H., Domínguez, I., Gallardo, M., Moreno, M., & Ibáñez, R. 2000. Controlling access to oil roads protects forest cover, but not wildlife

communities: a case study from the rainforest of Yasuní Biosphere Reserve (Ecuador). *Conservation Biology* 14: 227-239.

92. Knudsen, T., Tollsten, L., & Ervik, F. 2001. Flower Scent and Pollination in Selected Neotropical Palms. *Plant Biology* 3: 642-653.

IX. ANEXOS

Anexo 01. Electroforesis de la extracción de ADN de *Attalea moorei*.



Corrida electroforética en gel de agarosa al 0.8%, revelando las bandas de ADN total extraído del tejido foliar de 14 individuos de *Attalea moorei*.

Anexo 02. Condiciones de amplificación del ADN DE *Attalea moorei* vía SSR-PCR.

2A. Concentraciones para la amplificación de los primers.

REACTIVO	[] inicial	[] final	Cantidad inicial
Bf	10X	1 X	1 μ l
dNTPs	2 mM	0.2 mM	1 μ l
MgCl ₂	25mM	2.5 mM	1 μ l
Primer Forward	10 μ M	0.4 μ M	0.4 μ l
Primer Reverse	10 μ M	0.4 μ M	0.4 μ l
Taq - polymerasa	5U/ μ l	0.1 U/ μ l	0.2 μ l
PREMIX			4.0 μl
ADN	100ng/ μ l	-	2.0 μ l
H2O	-	-	4.0 μ l
TOTAL			10 μl

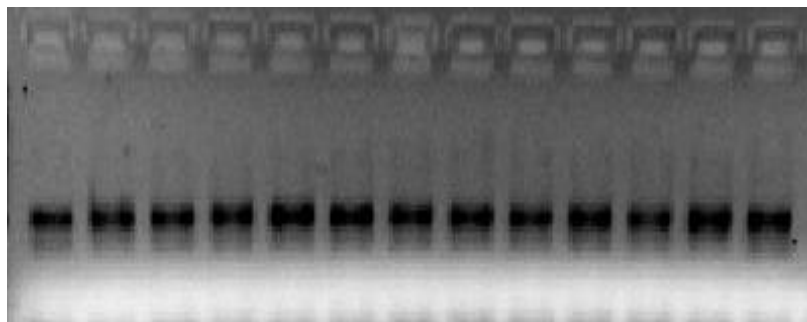
2B. Perfil de Temperatura para la amplificación de los primers.



2C. Termociclador Eppendorf utilizado para la PCR en el presente estudio.



Anexo 03. Electroforesis de la amplificación del ADN de *Attalea moorei* vía SSR-PCR.



Corrida electroforética en gel de agarosa al 2%, revelando las bandas de ADN amplificadas de 13 individuos de *Attalea moorei* mediante marcadores microsatélites.

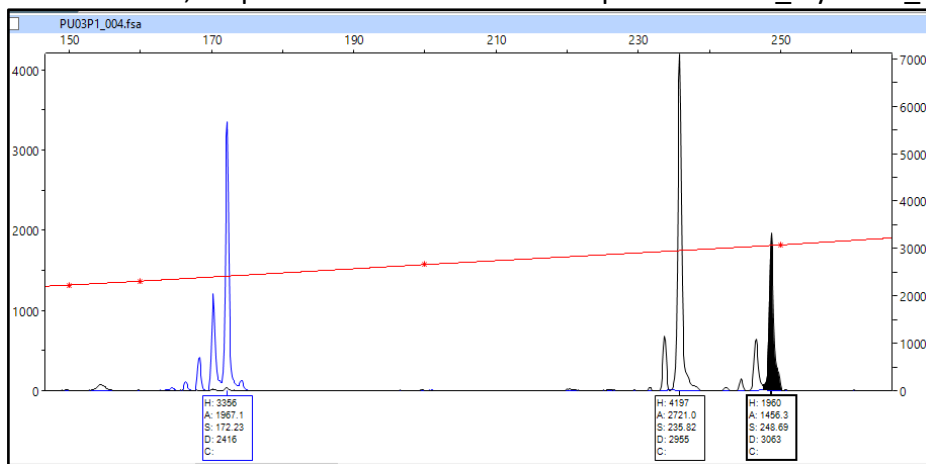
Anexo 04. Obtención de los pesos de los alelos mediante un Analizador Genético 3130xl (Applied Biosystems)

Los alelos de los microsatélites serán leídos mediante electroforesis capilar, para realizarlo se tomará las siguientes condiciones:

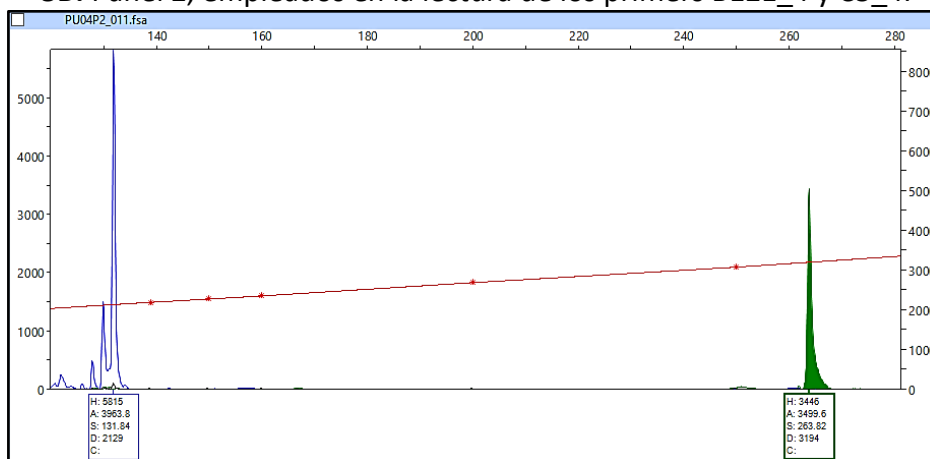
Reactivos	Cantidad
Formamida	8.7 μ l
ROX	0.3 μ l
PCR	1.0 μ l
Total	10.0 μ l

Anexo 05. Electroferogramas de los paneles duplex

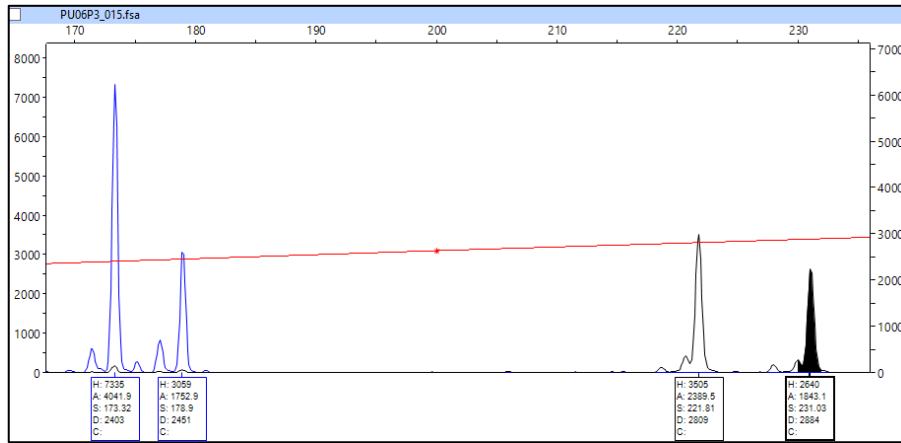
5A. Panel 1, empleados en la lectura de los primers B102_8 y D124_5.



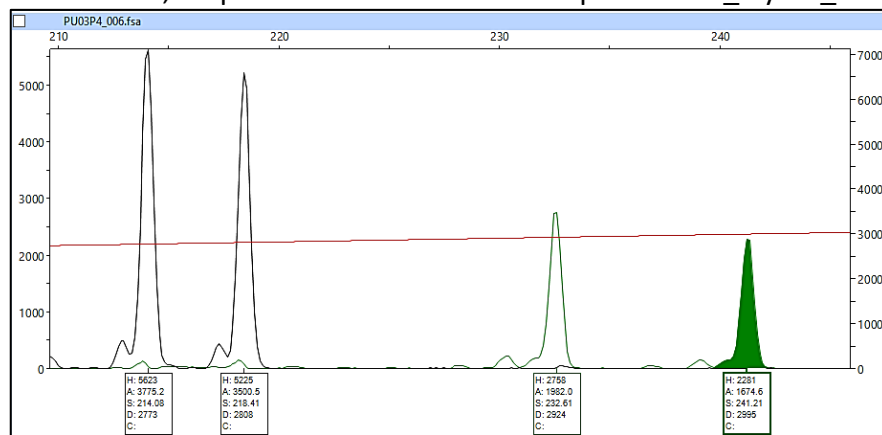
5B. Panel 2, empleados en la lectura de los primers B121_4 y C5_4.



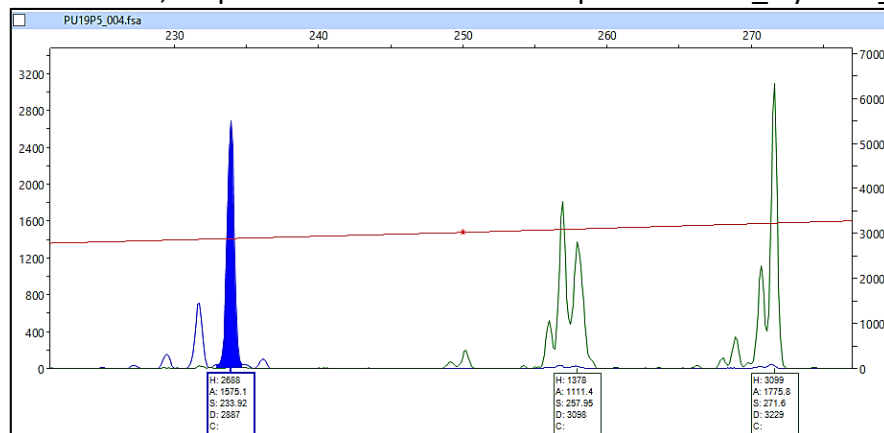
5C. Panel 3, empleados en la lectura de los primers A106_2 y C11_7.



5D. Panel 4, empleados en la lectura de los primers D2_1 y D3_2.



5E. Panel 5, empleados en la lectura de los primers A103_3 y C122_3.



Anexo 06. Frecuencias alélicas encontradas en los 10 *loci* microsatélites analizadas en las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei*.

Locus	Alelo	Jenaro	Santa Lucia	Tingo	Pucacaca	Madre de
-------	-------	--------	-------------	-------	----------	----------

		Herrera		María		Dios
B102_4	162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050
	164	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067
	166	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	168	0.226	0.352	0.071	0.016	0.067
	170	0.323	0.204	0.000	0.000	0.000
	172	0.194	0.056	0.029	0.141	0.083
	174	0.145	0.333	0.286	0.344	0.300
	176	0.065	0.019	0.614	0.313	0.150
	178	0.016	0.037	0.000	0.188	0.067
	180	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083
	182	0.016	0.000	0.000	0.000	0.033
	188	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000
D124_5	228	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000
	234	0.000	0.000	0.271	0.047	0.067
	236	0.016	0.000	0.329	0.156	0.100
	238	0.048	0.148	0.014	0.047	0.017
	240	0.113	0.056	0.000	0.031	0.000
	242	0.145	0.093	0.086	0.000	0.017
	244	0.065	0.056	0.229	0.000	0.033
	246	0.032	0.185	0.000	0.000	0.017
	248	0.000	0.000	0.000	0.016	0.150
	250	0.081	0.093	0.000	0.313	0.017
D124_5	252	0.097	0.000	0.000	0.156	0.050
	254	0.048	0.000	0.000	0.016	0.083
	256	0.048	0.056	0.000	0.016	0.133
	258	0.048	0.111	0.000	0.016	0.017
	260	0.226	0.148	0.000	0.031	0.017
	262	0.032	0.000	0.071	0.063	0.000
	264	0.000	0.019	0.000	0.094	0.083
	266	0.000	0.000	0.000	0.000	0.117
	278	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
	280	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
	282	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
	284	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
286	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	
B121_4	118	0.242	0.278	0.000	0.000	0.000
	120	0.032	0.000	0.000	0.000	0.033

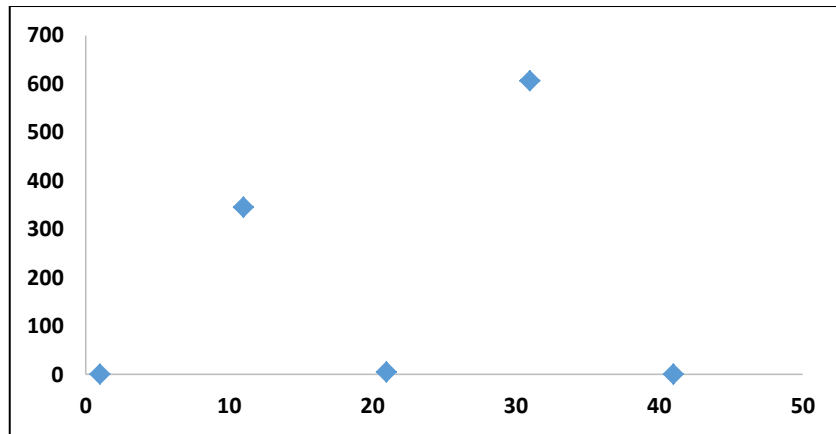
Locus	Alelo	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
B121_4	122	0.306	0.074	0.000	0.000	0.000
	124	0.419	0.111	0.000	0.000	0.150
	126	0.000	0.019	0.071	0.063	0.033

	128	0.000	0.000	0.000	0.000	0.117
	130	0.000	0.000	0.000	0.000	0.150
	132	0.000	0.167	0.000	0.172	0.150
	134	0.000	0.296	0.000	0.094	0.200
	136	0.000	0.037	0.300	0.078	0.083
	138	0.000	0.000	0.057	0.078	0.000
	140	0.000	0.000	0.286	0.375	0.000
	142	0.000	0.019	0.143	0.109	0.000
	144	0.000	0.000	0.143	0.031	0.017
	146	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067
C5_4	234	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000
	250	0.290	0.000	0.000	0.000	0.067
	252	0.516	0.481	0.000	0.000	0.083
	254	0.000	0.000	0.000	0.031	0.050
	256	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050
	258	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083
	260	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000
	262	0.065	0.000	0.071	0.000	0.033
	264	0.048	0.444	0.200	0.969	0.233
	266	0.000	0.074	0.529	0.000	0.167
	268	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000
	270	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183
	272	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050
A106_2	162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
	164	0.323	0.000	0.000	0.000	0.067
	166	0.000	0.093	0.000	0.000	0.000
	168	0.081	0.019	0.000	0.000	0.000
	170	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000
	172	0.194	0.000	0.157	0.094	0.050
	174	0.032	0.315	0.171	0.813	0.283
	176	0.000	0.000	0.643	0.000	0.317
	178	0.000	0.111	0.000	0.047	0.033
	180	0.000	0.037	0.000	0.047	0.000
	182	0.177	0.204	0.000	0.000	0.067
	184	0.194	0.148	0.000	0.000	0.133
	186	0.000	0.074	0.000	0.000	0.000
	188	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
Locus	Alelo	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
C11_7	217	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
	219	0.016	0.222	0.343	0.000	0.017
	223	0.984	0.574	0.000	0.203	0.200
	225	0.000	0.111	0.000	0.125	0.000
	229	0.000	0.037	0.571	0.000	0.400

	231	0.000	0.000	0.086	0.375	0.250
	235	0.000	0.000	0.000	0.234	0.083
	237	0.000	0.000	0.000	0.047	0.000
	241	0.000	0.019	0.000	0.016	0.017
	243	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000
D2_1	200	0.000	0.056	0.186	0.125	0.000
	214	0.694	0.648	0.800	0.609	0.667
	218	0.306	0.296	0.014	0.266	0.333
D3_2	227	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
	233	0.000	0.204	0.314	0.297	0.000
	237	1.000	0.796	0.686	0.469	0.683
	239	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083
	241	0.000	0.000	0.000	0.219	0.200
	245	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
	255	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017
A103_3	228	0.145	0.192	0.000	0.000	0.083
	230	0.452	0.481	0.814	0.031	0.517
	232	0.000	0.000	0.000	0.016	0.050
	234	0.000	0.038	0.000	0.391	0.050
	236	0.032	0.000	0.000	0.141	0.000
	238	0.000	0.000	0.000	0.016	0.067
	240	0.000	0.019	0.000	0.031	0.083
	242	0.000	0.000	0.000	0.063	0.067
	244	0.129	0.096	0.029	0.000	0.000
	248	0.032	0.058	0.000	0.000	0.000
	250	0.065	0.058	0.000	0.250	0.067
	252	0.081	0.000	0.157	0.063	0.000
	254	0.065	0.000	0.000	0.000	0.017
	256	0.000	0.058	0.000	0.000	0.000
C122_3	255	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067
	257	0.000	0.000	0.000	0.031	0.017
	259	0.371	0.352	0.429	0.391	0.200
	261	0.000	0.000	0.071	0.234	0.067
	265	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050

Locus	Alelo	Jenaro Herrera	Santa Lucia	Tingo María	Pucacaca	Madre de Dios
C122_3	267	0.097	0.037	0.000	0.000	0.183
	269	0.452	0.611	0.000	0.156	0.033
	271	0.065	0.000	0.114	0.000	0.350
	273	0.016	0.000	0.386	0.188	0.000
	277	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033

Anexo 07. Valores de ΔK como función de K. El punto donde da el mayor salto de ΔK corresponde al valor de K con mayor probabilidad (K= 4).



Anexo 08. Valores de distancia genética ($F_{st}/1-F_{st}$), distancia geográfica lineal (km) y logaritmo neperiano estimadas entre las cinco poblaciones naturales de *Attalea moorei* de la Amazonia peruana.

Poblaciones	Distancia geográfica (Km)	Ln distancia geográfica	Distancia genética ($F_{st}/1-F_{st}$)
JH-SL	291	5.673	0.145
JH-TM	586.91	6.375	0.782
JH-Pu	367.87	5.908	0.868
JH-MDD	989.52	6.897	0.411
SL-TM	421.37	6.044	0.607
SL-Pu	114.89	4.744	0.466
SL-MDD	1042.24	6.494	0.321
TM-Pu	313.43	5.748	0.649
TM-MDD	761.38	6.635	0.282
Pu-MDD	996.35	6.904	0.460

X. GLOSARIO

- **ADN:** Acrónimo de Ácido Desoxirribo Nucleico, contiene la información genética por la que se regula la vida de un organismo y su estructura consiste en una doble hélice formada por dos cadenas de unos elementos denominados nucleótidos (A, T, G y C).
- **AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism):** Fragmento amplificado de longitud polimórfica. Es un tipo de marcador molecular que involucra la amplificación de un conjunto específico de fragmentos de restricción mediante PCR utilizando un precursor marcado
- **Alelo:** Cada una de las diferentes variantes que presenta un gen se denomina alelo.
- **Autogamia:** Proceso de autofecundación que conduce a la homocigosis.
- **Coefficiente de Correlación:** La relación de la covarianza de dos variables a la media geométrica de sus varianzas. Varía entre +1 y -1.
- **Correlación:** La interdependencia de dos variables. Opuesto a independencia. Implica a variables simétricas.
- **Cromosoma:** Contiene una única molécula de ADN fuertemente empaquetada.
- **Cuello de botella:** Situación drástica de la reducción del número de reproductores en una población.
- **Deriva genética:** Fenómeno genético que surge como consecuencia del azar en la transmisión de genes de padres a hijos y por lo tanto se debe al hecho de que las poblaciones tienen, con mucha frecuencia y un número de reproductores estadísticamente reducido.
- **Diploidía:** Condición en que cada cromosoma existe en pares. Así cada cromosoma presenta un homólogo. Los cromosomas homólogos presentan igual longitud, posición de centrómero y secuencia de genes. Los genes presentes en cromosomas homólogos codifican para la misma característica, pero no necesariamente con igual modalidad. En este último caso se tienen alelos. Ej: Aa representa alelos y cada uno está presente en un homólogo.

- **Distancia genética:** Refleja en qué medida existen diferencias entre los genes de ambas poblaciones o entre sus frecuencias.
- **Ecotipo:** Subunidad de la especie que no está sujeta a pérdida de fertilidad por recombinación genética con otras unidades similares dentro de su ecoespecie.
- **Electroforesis:** Técnica para separar moléculas de diferentes tamaños y cargas, típicamente DNA ó proteínas.
- **Endogamia:** Consanguinidad, grupo endógeno.
- **Equilibrio genético:** La condición de una población en la que las generaciones sucesivas constan de los mismos genotipos con las mismas frecuencias, con respecto a determinados genes.
- **Escala geográfica:** Existencia de varios niveles en la perspectiva de los espacios geográficos y ecológicos.
- **Especiación:** Proceso por el cual se forman nuevas especies.
- **Especie:** Organismos con reproducción sexual, es un grupo de máximo intracruzamiento, al menos en potencia y que conserva sus semejanzas dentro de sus propios límites naturales.
- **Especificidad:** Grado de variación de la natural cualitativa del efecto de un gen. La distinción entre especificidad y expresividad se basa en que son apreciaciones cualitativas y cuantitativas, respectivamente.
- **Estructura genética:** Cualquier patrón en la composición genética de los individuos dentro de una población.
- **Fecundación:** La fusión de los gametos masculino y femenino y de sus núcleos, son lo cual su ulterior desarrollo, por regla general es imposible.
- **Fenotipo:** Puede referirse a una característica morfológica, productiva, de comportamiento, fisiológica, etc. Además, siempre será el resultado de la expresión de los genes de que es portado un individuo influenciada por los factores ambientales.

- **Flujo Génico:** Intercambio de genes (en una ó ambas direcciones) a una baja tasa entre dos poblaciones.
- **Gen:** Es una secuencia lineal de nucleótidos de ADN que constituye una unidad de información. Cada gen ocupa dentro del cromosoma una porción determinada que recibe el nombre de *locus*.
- **Genética:** Ciencia de la herencia, que incluye el estudio de su base química, expresión en el desarrollo, mejora de animales y plantas y actividades humanas.
- **Genoma:** conjunto de instrucciones genéticas que se encuentran en una célula.
- **Genotipo:** Es la constitución genética de un individuo o el conjunto de los genes existentes en cada uno de los núcleos celulares.
- **Heterocigoto:** Cuando un individuo posee un gen posee en los dos cromosomas de sus células diploides están presentes dos variantes diferentes de ese gen.
- **Homocigoto:** Cuando un individuo posee un gen que en los dos cromosomas de sus células diploides está presente la misma variante de ese gen.
- **Isogamia:** La falta de diferenciación de los gametos en masculino y femenino.
- **Ley de Hardy-Weinberg:** Principio que sostiene que las frecuencias de alelos y de genotipos permanecerán en equilibrio en una población infinitamente grande, donde los individuos se cruzan al azar y en ausencia de mutación, migración y selección.
- **Loci:** Plural de *locus*.
- **Locus:** Posición ocupada por un gen en un cromosoma en relación con su orden lineal.
- **Morfogénesis:** Diferenciación de estructuras durante el desarrollo.
- **Nucléolo:** Región del núcleo celular que se ocupa de la producción y ensamblaje de los ribosomas de las células.
- **Nucleótido:** Unidad monomérica de ácidos nucleicos. En el DNA se encuentran los desoxirribonucleótidos, que están formados por la unión

covalente de una base (Adenina, Guanina, Citosina, Timina) + azúcar (2' Desoxirribosa) + Fosfato. En el RNA se encuentran los ribonucleótidos, que están formados por la unión covalente de una base (Adenina, Guanina, Citosina, Uracilo) + azúcar (Ribosa) + Fosfato.

- **Panmixia:** Población en la que todos los individuos son socios potenciales. No hay restricciones de apareamiento, ni genética ni de comportamiento, sobre la población, y que por lo tanto toda la recombinación es posible.
- **Población:** Grupo local de la misma especie y que se reproducen entre sí.
- **Primer:** Se refiere a una secuencia corta (generalmente RNA) que se sintetiza a partir de la enzima primasa en la forma de primosoma, utilizando como templado cada una de las hebras del DNA que se autoduplicarán. El primer proporciona un extremo 3' OH libre para que las enzimas DNA polimerasas prosigan el proceso de síntesis de DNA. Finalmente, los primers son eliminados y reemplazados por secuencias de DNA.
- **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR):** Es un método in vitro para la amplificación enzimática de secuencias específicas de DNA. Utiliza iniciadores y la DNA polimerasa Taq. La amplificación ocurre a través de ciclos de denaturación, anillamiento con primer y extensión con DNA polimerasa. La secuencia de DNA se amplifica 10^6 veces.
- **SSR:** Secuencia Simple Repetida. También conocido como microsatélite. Tipo de marcador molecular que involucra amplificación por PCR de secuencias de DNA seleccionadas repetidas en tándem.
- **Variabilidad:** La capacidad de un individuo o grupo de individuos para producir gametos que posean variación genotípica.
- **Variabilidad genética:** Diversidad en las frecuencias de los genes. Puede referirse a las diferencias entre individuos o las diferencias entre poblaciones. Las mutaciones son la causa fundamental de la variabilidad genética, pero mecanismos tales como reproducción sexual y la deriva genética también contribuyen a la misma