

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estructura genética de poblaciones de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae)
en el Parque Nacional Yasuní (PNY).

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en
Ciencias Biológicas

ESTEBAN ANDRÉS RECALDE REDROVÁN

Quito, 2013

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Quito, 26 de Abril de 2013

CERTIFICADO

Yo, Rommel Montúfar G. Director de la Disertación, CERTIFICO: Que el señor Esteban Andrés Recalde Redrován ha realizado la investigación sobre el tema “Estructura genética de *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) en el Parque Nacional Yasuní (PNY)” de acuerdo a las normas y técnicas establecidas. Una vez concluido y revisado el trabajo, conforme con las disposiciones reglamentarias; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Rommel Montúfar G.

DIRECTOR

Todo este trabajo y esfuerzo está dedicado a mi madre,
mi bisabuela y toda mi familia por el apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera empezar agradeciendo a Rommel Montúfar por haberme permitido realizar este trabajo y ser parte del equipo del Laboratorio de Genética Molecular. Por su apoyo y guía durante la elaboración de este trabajo.

A Ana Troya por el apoyo, paciencia, ayuda, enseñanzas y amistad durante todo el tiempo que ha tomado realizar este trabajo.

Agradezco a mi madre, una gran luchadora, por enseñarme a nunca rendirme, a siempre trabajar duro y a salir adelante frente a cualquier problema o circunstancia. A mi bisabuela por todo el amor, cariño y ayuda a lo largo de mi vida que hoy se ve reflejado en este trabajo. A toda mi familia, a mi tía, tíos, primos por creer en mí y apoyarme.

A Karo por todo el apoyo y cariño durante toda esta larga carrera de Biología y el tiempo que nos conocemos, por ser mi novia, mi amiga, mi compañera y la excelente persona que es.

Agradezco de forma muy especial al Dr. Jaime Jaramillo, una gran persona y amigo que no solo compartió enseñanzas sino también experiencias de vida.

A todos mis amigos del colegio, de la universidad y SKUNX por todos esos buenos momentos vividos, las experiencias compartidas en el campo y todas esas cervezas compartidas.

Agradezco al proyecto PALMS FP-7 por el apoyo para la realización de este trabajo.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por el financiamiento para la elaboración de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. <i>Mauritia flexuosa</i> COMO MODELO BIOLÓGICO	3
3.1.1. TAXONOMÍA Y DISTRIBUCIÓN	3
3.1.2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	3
3.1.3. IMPORTANCIA NATURAL Y ECONÓMICA	5
3.2. LOS PANTANOS EN EL PNY, UN ECOSISTEMA IDÓNEO PARA <i>Mauritia flexuosa</i>	6
3.3. METAPOBLACIONES Y FLUJO GÈNICO	7
3.3.1. METAPOBLACIONES	7
3.3.2. FLUJO GÈNICO EN METAPOBLACIONES	8
3.4. MARCADORES MOLECULARES	9
3.4.1. ESTUDIOS MOLECULARES PREVIOS EN <i>Mauritia flexuosa</i>	10
3.4.2. MICROSATÉLITES COMO MARCADORES MOLECULARES	10
3.5. OBJETIVOS	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS	12
4.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS	12
4.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	12
4.1.2. SELECCIÓN DE PANTANOS	12
4.1.3. IDENTIFICACIÓN Y COLECCIÓN DE MUESTRAS	12
4.1.4. MUESTRAS DE SUELOS	13

4.2. EXTRACCIÓN DE ADN	13
4.3. MICROSATÉLITES COMO MARCADORES MOLECULARES	14
4.3.1. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA – PCR	14
4.3.2. VISUALIZACIÓN DE POLIMORFISMOS	14
4.3.3. MEDICIÓN Y TABULACIÓN DE DATOS	14
4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	15
4.4.1. ANALISIS DE COORDENADAS (PCoA)	15
4.4.2. DESEQUILIBRIO LIGADO	16
4.4.3. EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG	16
4.4.4. DIVERSIDAD GÉNICA	17
4.4.5. DIFERENCIACIÓN GÉNICA	18
4.4.6. ANALISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)	19
4.4.7. ANALISIS DE AGRUPAMIENTO JERÁRQUICO POR EL MÉTODO DE VARIANZA MÍNIMA (WARD)	19
5. RESULTADOS	21
5.1. OBTENCIÓN DE DATOS ECOLÓGICOS	21
5.1.1. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE SUELOS	21
5.1.2. ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL	21
5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	22
5.2.1. DESEQUILIBRIO LIGADO Y HARDY-WEINBERG	22
5.2.2. DIVERSIDAD GÉNICA	23
5.2.3. DIFERENCIACIÓN Y VARIACIÓN GÉNICA	23

6. DISCUSIÓN	25
6.1. COMPOSICIÓN ECOLÓGICA DE <i>Mauritia flexuosa</i>	25
6.2. VARIACIÓN GÉNICA DE <i>Mauritia flexuosa</i>	28
6.3. <i>Mauritia flexuosa</i> COMO UN MODELO DE METAPOBLACIÓN	30
6.3.1. ¿HOMOGENIZACIÓN O DIFERENCIACIÓN GÉNICA EN LAS POBLACIONES DE <i>Mauritia flexuosa</i> EN EL PNY?	32
7. CONCLUSIONES	35
8. LITERATURA CITADA	36
9. FIGURAS	45
10. TABLAS	52
11. ANEXOS	59

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Mapa de la ubicación de los cinco pantanos (en azul) muestreados para la toma de muestras de *M. flexuosa*. 45
- FIGURA 2.** Gráfico de barras con corrección logarítmica de la composición florística por estadio (plántulas, juveniles, sub-adultos y adultos) de *M. flexuosa* realizado por pantano en cuadrantes de 250 m x 5 m. 46
- FIGURA 3.** PCoA realizado con los datos del análisis de la matriz edáfica de cada pantano de *M. flexuosa* con la prueba de distancias Euclidianas obtenido con el programa PAST. Porcentaje de variación en el primer eje: 53,23%; porcentaje de variación en el segundo eje: 28,14%. P1-P5: Pantanos estudiados. 47
- FIGURA 4.** PCoA realizado con la matriz de la estructura poblacional en cada pantano de *M. flexuosa* con la prueba de Bray-Curtis obtenido con el programa PAST. Porcentaje de variación en el primer eje: 94,03%; porcentaje de variación en el segundo eje: 4,99%. P1-P5: Pantanos estudiados. 48
- FIGURA 5.** PCoA realizado con la matriz M-P+A de los valores F_{ST} entre los cinco pantanos, adultos en color rojo y plántulas en color azul, de *M. flexuosa* obtenido con el programa GenAlex. Porcentaje de variación en el primer eje: 29,81%; porcentaje de variación en el segundo eje: 27,95%. 49
- FIGURA 6.** PCoA realizado con la matriz M-P+A de los valores D_{est} (Jost, 2008) entre los cinco pantanos, adultos en color rojo y plántulas en color azul, de *M. flexuosa* obtenidos con el programa GenAlex. Porcentaje de variación en el primer eje: 29,82%; porcentaje de variación en el segundo eje: 27,02%. 50

FIGURA 7. Gráfico del análisis con el método de varianza mínima (WARD) con 1000 bootstraps de los cinco pantanos de *M. flexuosa*. Pantano 1: color rojo, pantano 2: color azul, pantano 3: color verde, pantano 4: color morado y pantano 5: color celeste.

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Resultado del análisis de suelo para cada pantano de <i>M. flexuosa</i> . Cationes: Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ , Na ⁺ , K ⁺ . Aniones: CO ₃ ⁻² , HCO ₃ ⁻ , SO ₄ ⁻² , Cl ⁻ .	52
TABLA 2. Densidad de individuos por estadio y sexo en cada pantano de <i>M. flexuosa</i> en un transecto de 250 m x 5 m en cada pantano. M: machos; H: hembras. P1-P5: Pantanos estudiados.	52
TABLA 3. Resumen de los valores <i>p</i> del análisis de desequilibrio ligado por cada par de locus para cada pantano (método de Fisher) de <i>M. flexuosa</i> .	53
TABLA 4. Valores <i>p</i> del análisis Hardy-Weinberg para cada locus en todas las poblaciones de <i>M. flexuosa</i> con el programa GenePop.	54
TABLA 5. Resumen de los resultados de diversidad genética de la matriz M-POP de <i>M. flexuosa</i> obtenidos con el programa Arlequin.	54
TABLA 6. Resumen de los resultados de diversidad genética de la matriz M-P+A de <i>M. flexuosa</i> .	54
TABLA 7. Valores <i>F_{ST}</i> de la matriz M-POP entre los pantanos de <i>M. flexuosa</i> .	55
TABLA 8. Valores <i>D_{est}</i> de la matriz M-POP entre los pantanos de <i>M. flexuosa</i> obtenidos en el programa GenAlex.	55
TABLA 9. Valores <i>F_{ST}</i> de la matriz M-P+A para cada pantano de <i>M. flexuosa</i> obtenidos en el programa GenAlex. P1-P5: Pantanos estudiados.	56
TABLA 10. Valores <i>D_{est}</i> de la matriz M-P+A para cada pantano de <i>M. flexuosa</i> .	57
TABLA 11. AMOVA de las poblaciones de <i>M. flexuosa</i> calculado en el programa Arlequin en base a la matriz M-POP.	58

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo de extracción de ADN Doyle & Doyle 1987 – modificado.	59
ANEXO 2. Primers de <i>Mauritia flexuosa</i> usados en las PCR.	61

1. RESUMEN

Mauritia flexuosa es una palmera dioica, diploide, con un tallo solitario que puede medir más de 25 m de altura, y se encuentra ampliamente distribuida en el Ecuador y en los trópicos de América del Sur. Esta palmera forma amplias asociaciones vegetales y habita en suelos mal drenados permanentemente (pantanos), estos pantanos se encuentran dispersos a lo largo de la Amazonía. De acuerdo a la distribución espacial de las poblaciones de esta palmera, en parches dentro de la Amazonía, se sugiere que las poblaciones de *M. flexuosa* se encuentran conformando un sistema de metapoblaciones en el Parque Nacional Yasuní (PNY). Por tal motivo se planteó analizar la diversidad genética, el flujo génico entre las poblaciones, y la influencia de las características poblacionales de la palmera y las características abióticas de los pantanos en la genética poblacional de *M. flexuosa* por medio del uso de ocho SSRs específicos para *M. flexuosa* como marcadores moleculares. El censo poblacional realizado en cinco pantanos reportó que todas las poblaciones tienen una estructura poblacional en forma de “J” invertida con un mayor número de plántulas y adultos que de juveniles y sub-adultos. Además existe un mayor número de individuos adultos hembras que de machos en todos los pantanos censados. Los valores de los análisis estadísticos del coeficiente de endogamia (F_{IS}) fueron altamente significativos, indicando que los pantanos de *M. flexuosa* se encuentran entrando en un proceso de endogamia. Los valores del índice de fijación de alelos (F_{ST}) y el índice D_{est} fueron altamente significativos y reportaron que los cinco pantanos de *M. flexuosa* estudiados en el PNY poseen un bajo flujo génico entre ellos. Por lo tanto los pantanos se encuentran en un proceso de diferenciación génica entre estos.

Palabras claves: *Mauritia flexuosa*, pantanos, metapoblaciones, diversidad génica, flujo génico.

2. ABSTRACT

Mauritia flexuosa is a dioecious and diploid palm tree, with a solitary stem that can measure more than 25 m in height, which is widely distributed in Ecuador and in the tropics of South America. It is a palm tree which lives in poorly drained soils permanently (swamps), which are scattered and locally dense along the Amazon region. According to the spatial distribution of the populations of this palm tree, in patches within the Amazon, it is suggested that the populations of *M. flexuosa* are forming a system of metapopulations in the Yasuní National Park (PNY). The aim of this study was to analyze the genetic diversity, to know if there is gene flow between populations, and to know the influence of population and abiotics characteristics of the swamps over population genetics of *M. flexuosa* using microsatellites as molecular markers. The population census carried out in five swamps reported that all of the communities have an inverse “J” shape population structure, with a higher number of seedlings and adults than juveniles and sub-adults. It was also noted a higher number of adult female individuals than male individuals in the entire swamps census. The values of the statistical analyzes of the coefficient of inbreeding (F_{IS}) were highly significant, indicating that the swamps of *M. flexuosa* are entering into a process of inbreeding. The index values of fixing alleles (F_{ST}) and the index D_{est} were highly significant and they reported that the five swamps of *M. flexuosa* studied at the PNY possess a low gene flow between them. Therefore the swamps are found in a process of gene differentiation between the them.

Key Words: *Mauritia flexuosa*, swamps, metapopulations, genic diversity, gene flow.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 *Mauritia flexuosa* COMO MODELO BIOLÓGICO

3.1.1 TAXONOMÍA Y DISTRIBUCIÓN

La subfamilia Calamoideae se caracteriza por sus frutos escamosos y comprende cuatro géneros, (*Lepidocaryum*, *Mauritia*, *Mauritiella* y *Raphia*). *Mauritia* incluye dos especies (*M. flexuosa* y *M. carana*), ambas solitarias, gregarias, dioicas, con hojas costa-palmadas y estípite masivo, alcanzando 30 m. de altura y 30 a 60 cm. de diámetro (Kahn *et al.*, 1993).

M. flexuosa es una palmera ampliamente distribuida en las regiones tropicales de América del Sur, y principalmente en la región amazónica (Colombia, Venezuela, Ecuador, Brasil, Perú, Bolivia); por debajo de los 500 msnm, pero a veces puede llegar a 900 msnm en las laderas de los Andes (Henderson *et al.*, 1995).

Las poblaciones de *M. flexuosa* se encuentran en suelos mal drenados de forma permanente (pantanos), formando amplias asociaciones vegetales oligárquicas en los pantanos de la región Amazónica (Henderson *et al.*, 1995). Estos pantanos, con un tamaño de 1 a 10 hectáreas, se encuentran aislados unos de otros con una distancia mínima de 250 m hasta más de 1 ó 2 km, a lo largo de los bosques de la Amazonía de América del Sur (Federman *et al.*, 2011). *M. flexuosa* por lo general se encuentra en poblaciones mono-específicas o en conjunto con otras especies de palmas como *Oenocarpus bataua* y *Euterpe precatoria* (Borgtoft-Pedersen & Balslev, 1993).

3.1.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ECOLÓGICAS

Mauritia flexuosa es una palmera dioica, diploide, con un tallo solitario que puede medir más de 25 m de altura y un diámetro de 40 a 60 cm. Consta con 8 a 12 hojas costapalmadas, la lámina tiene un radio de 2,5 m y la hoja completa tiene más de 6 m de longitud. Con frecuencia están colgadas de 5 a 8 hojas marchitas hacia los costados de los tallos, por debajo

de las hojas vivas (Henderson *et al.*, 1995). Tiene en promedio 8 inflorescencias interfoliarias que llegan a medir hasta de 2 m de longitud. Sus frutos son numerosos, esféricos, de color vino con una cobertura coriácea en forma de escamas con un mesocarpio carnoso de color amarillo (Borgtoft-Pedersen & Balslev, 1993).

La capacidad de generar una gran cantidad de frutos en la mayoría de las palmeras del Neotrópico como por ejemplo en los géneros *Mauritia*, *Astrocaryum*, *Euterpe*, *Ceroxylon*, *Oenocarpus*, es un recurso clave para que animales frugívoros dispersen sus semillas de un lugar a otro (Montúfar *et al.*, 2011). Esto favorece a la migración de genes entre poblaciones que se encuentren separadas por grandes distancias (Galetti *et al.*, 2006). La contribución de genes entre poblaciones de una misma especie de palmera que se encuentren cercanas entre sí, no solo contribuye con la generación de nuevos individuos y el aumento de la abundancia local, sino también con el flujo génico y a la variabilidad genética de las poblaciones (Charles-Dominique *et al.*, 2003; Choo, *et al.*, 2012).

El principal dispersor de semillas de *M. flexuosa* en la región Amazónica es el tapir (*Tapirus terrestris*) el cual se alimenta del fruto, y la semilla dura pasa intacta por su intestino, aportando así al transporte de semillas en esta palmera (Gragson, 1995). El tapir tiene la capacidad de transportar las semillas de esta palmera entre 3,5 a 4,5 (Fragoso & Huffman, 2000). En menor proporción también se menciona a saínos, roedores, guacamayas y monos como agentes dispersores de semillas de *M. flexuosa* (Manzi & Coomes, 2009; Prada & Araújo, 2012).

Dentro de la polinización de las palmeras podemos ver que existen tres síndromes entomófilos: 1) la polinización por abejas, 2) la polinización por escarabajos, y 3) la polinización por moscas (Listabarth, 2001). Adicionalmente se puede incluir la polinización generado por el viento, en donde se generan nubes de polen (Listabarth, 1992). La

polinización en *M. flexuosa* es realizada principalmente por abejas, avispas y escarabajos (Gragson, 1995; Knudsen *et al.*, 2001)

M. flexuosa ocupa suelos mal drenados caracterizados por condiciones anaerobias, por esta razón esta palmera desarrolla dos tipos de raíces: a) unas raíces finas subterráneas para la absorción de nutrientes, y b) raíces aéreas que tienen estructuras especializadas (neumatóforos) para la captación de oxígeno (Gragson, 1995).

3.1.3 IMPORTANCIA NATURAL Y ECONÓMICA

Mauritia flexuosa es importante en los ecosistemas amazónicos por su densidad poblacional en los pantanos. Igualmente es importante para los bosques tropicales porque aporta en la captura y fijación de carbono del medio ambiente, y además aporta también con materia orgánica (Borgtoft-Pedersen & Balslev, 1993). Debido a la capacidad para generar una gran cantidad de frutos, es una fuente de alimento para mamíferos como tapires, pecaríes, venados y monos, así como peces y aves, en especial guacamayos (Borgtoft-Pedersen & Balslev, 1993; Manzi & Coomes, 2009). De igual manera estos animales contribuyen con la dispersión de los frutos y semillas de la palma puesto que consumen el mesocarpio carnoso y la semilla dura es dispersada. El ser humano también interviene en la dispersión de la semilla de esta palmera, en especial los integrantes de las tribus amazónicas que se alimentan del fruto y dispersan la semilla de la palmera (Pincaço-Gomes *et al.*, 2011).

Mauritia flexuosa es importante desde la parte socio-económica por los usos que tiene en comunidades indígenas de la región Amazónica que utilizan esta palmera para extraer almidón de su tallo, sus frutos para alimento y las fibras de las hojas para confeccionar canastos, esteras, techos de las chozas (Borgtoft-Pedersen & Balslev, 1993).

En la zona de Iquitos (Amazonía peruana) existen procesos extractivistas a gran escala principalmente para la elaboración de helados y chupetes (Rojas *et al.*, 2001). Así como la

comercialización en grandes cantidades (148,8 t/mes) para la venta del fruto procesado y la venta del fruto verde sin procesar como alimento entre las comunidades (Rojas *et al.*, 2001).

En el Brasil también se ha reportado procesos extractivistas en las poblaciones de *M. flexuosa* principalmente para la elaboración de artesanías a partir de las hojas de plántulas (Martins *et al.*, 2012), el uso de los peciolo de las hojas de individuos juveniles para la elaboración de pequeños puentes para el paso de personas, y las hojas de los individuos adultos para la confección de canastos y para el techo de las casas (Gragson, 1995).

3.2 PANTANOS EN EL PNY, UN ECOSISTEMA IDÓNEO PARA *Mauritia flexuosa*

Dentro del Parque Nacional Yasuní (PNY) podemos describir tres tipos de hábitats principales determinados por la inundación de los ríos: Tierra firme, planicie inundable y pantanos (Montúfar, 1999).

En el PNY la tierra firme ocupa el 75% del área del parque, son áreas heterogéneas con colinas y valles. En tierra firme se desarrolla un tipo de vegetación denominado como “bosque de tierra firme” (Montúfar, 1999).

La planicie inundable en el PNY abarca alrededor del 9,2% del territorio. Son áreas relativamente planas cercanas a los ríos. La vegetación que se desarrolla sobre la planicie inundable se conoce como “bosque temporalmente inundado” (Montúfar, 1999). En ocasiones también se puede observar algunos individuos de *M. flexuosa* asociados a las planicies aluviales (pantanos inundados estacionalmente), pero alcanza su mayor densidad en pantanos inundados de forma permanente (Gragson, 1995)

En el PNY los pantanos pueden ser pequeñas o extensas áreas donde el suelo está inundado de forma permanente. La vegetación de los pantanos está dominada por *M. flexuosa*, formando amplias asociaciones vegetales (Montúfar, 1999). Los suelos de estas zonas tienden a ser hidromórficos, ácidos (pH 3,5), y puede tener varios metros de acumulación de materia

orgánica ligeramente descompuesta (Gragson, 1995). Adicionalmente un clima tropical cálido y húmedo, con más de 2500 mm de precipitación promedio anual, y los suelos permanentemente inundados con aguas no salinas son esenciales para el desarrollo de *M. flexuosa* (Rull, 1998).

3.3 METAPOBLACIONES Y FLUJO GÉNICO

3.3.1 METAPOBLACIONES

Muchas de las poblaciones de especies naturales se subdividen en unidades de reproducción local, una condición que puede conducir a la diferenciación genética de las demás poblaciones, o la existencia de flujo de genes entre poblaciones, formando de esta manera un sistema de metapoblaciones (Damasceno *et al.*, 2011).

Las metapoblaciones son entidades separadas en el espacio. Las poblaciones locales interactúan a través de la migración y el flujo de genes. La dinámica clásica de metapoblación fue dada por primera vez por Levins en 1970, basada en los procesos de extinción local y recolonizaciones, de la misma manera como la dinámica de la población tienen que ver con los nacimientos y las muertes de los individuos (Hanski & Gaggiotti, 2004).

El paisaje influye sobre las metapoblaciones debido a que proporciona un contexto espacial para poder comprender los procesos que contribuyen a la dinámica de metapoblaciones y la persistencia de flujo génico inclusive en poblaciones con paisajes fragmentados (Tero *et al.*, 2003; Hanski & Gaggiotti, 2004).

El flujo génico es el elemento que mantiene a las metapoblaciones juntas, y por lo tanto el éxito del mismo es considerado crucial para la persistencia de un modelo de metapoblación. Es evidente que existe alguna relación entre la conectividad del paisaje y el éxito de dispersión y el flujo génico, ya que se espera que exista una mayor tasa de dispersión y de flujo de genes en paisajes con un alto grado de conectividad (Hanski & Gaggiotti, 2004).

Bajo un modelo de metapoblaciones, las poblaciones de plantas consisten en un conjunto de subpoblaciones espacialmente discretas conectadas por mecanismos que favorecen intercambio de semillas y el intercambio de polen entre ellas (Hanski & Gaggiotti, 2004). La dispersión de semillas a largas distancias y el flujo de polen a distancias medias y cortas son esenciales para que las metapoblaciones de plantas persistan por el intercambio de genes entre las poblaciones (Tero *et al.*, 2003; Bossuyt, 2007).

Las subpoblaciones de plantas son definidas como metapoblaciones si cumplen con cuatro criterios: (i) los hábitats adecuados de subpoblaciones se encuentran en parches separados espacialmente, (ii) todas las subpoblaciones pueden extinguirse; (iii) la recolonización de cada parche después de la extinción local es posible, y (iv) no todas las subpoblaciones se extinguirán al mismo tiempo (Hanski & Gaggiotti, 2004; Honnay *et al.*, 2009).

La idea principal detrás de la teoría de metapoblaciones es que si las tasas de flujo génico son suficientes para compensar la extinción local, el modelo de metapoblación se espera que persista durante un período mucho más largo que si las subpoblaciones no tienen un intercambio de genes (Honnay *et al.*, 2009).

3.3.2 FLUJO GÉNICO EN LAS METAPOBLACIONES

Los marcadores moleculares, las medidas de diversidad y la estructura genética pueden ofrecer información adicional sobre la importancia relativa y la influencia de la dispersión de semillas y el flujo de polen a larga y a corta distancia en la estructuración de metapoblaciones de plantas (Tero *et al.*, 2003; Jacquemyn *et al.*, 2006).

La información genética permite hacer inferencias acerca de cómo fuerzas microevolutivas han interactuado a lo largo de la historia de las subpoblaciones y la cantidad de flujo de genes que se ha producido entre ellos (Lenormand, 2002). La detección directa del flujo de genes en las poblaciones proporciona estimaciones de las tasas de inmigración que se pueden utilizar

para analizar la influencia del paisaje sobre el flujo de genes en las metapoblaciones (Sork *et al.*, 1999).

En metapoblaciones, dependiendo del flujo génico, la estructura poblacional y su distribución espacial podemos definir los dos modelos más utilizados: 1) cuando las subpoblaciones forman una metapoblación “fuente - sumidero”, en la que, una de las subpoblaciones es la fuente de toda la diversidad génica, y 2) El otro modelo considerado “clásico” de una metapoblación cuando el flujo de genes proviene y se da entre todas las subpoblaciones adyacentes (Sork *et al.*, 1999; Fenster *et al.*, 2003).

3.4 MARCADORES MOLECULARES

Un marcador molecular es una herramienta, que a partir de un templado de ADN, genera datos, estos datos permiten el seguimiento de una secuencia específica de ADN que se desea conocer (Freeland, 2005). Debido a la existencia de una gran cantidad de marcadores moleculares es importante saber qué es lo que se busca responder y la naturaleza del marcador molecular antes de elegir uno (Freeland, 2005).

Existen dos categorías en las que se pueden agrupar a los marcadores moleculares: 1) marcadores dominantes y 2) marcadores codominantes (Freeland, 2005). Los marcadores dominantes permiten identificar un solo alelo (dominante). Los marcadores dominantes más conocidos y usados son los RAPDs (random amplified polymorphic DNA), AFLPs (amplified fragment length polymorphism) (Ouborg *et al.*, 1999). Los marcadores codominantes permiten identificar todos los alelos presentes en un locus en particular, por lo que se les considera de más precisión. Algunos marcadores codominantes son los RFLPs (restriction fragment length polymorphism), microsatélites o SSR (simple sequence repeats), entre otros (Ouborg *et al.*, 1999).

3.4.1 ESTUDIOS MOLECULARES PREVIOS EN *Mauritia flexuosa*

Si bien *Mauritia flexuosa* es una palmera ampliamente distribuida en América del Sur (Henderson *et al.*, 1995) y con importancia económica en países como Perú y Brasil principalmente (Rojas *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2012), la mayoría de estudios realizados en esta palmera tratan sobre aspectos etnobotánicos o de la producción y explotación de frutos de *M. flexuosa* como los estudios de Rojas *et al.* (2001), Bonesso *et al.* (2008) o Manzi & Coomes (2009).

Al realizar una revisión bibliográfica sobre estudios moleculares en *M. flexuosa* se observó que existen solo dos estudios, uno realizado por Pincaço-Gomez *et al.* (2011) sobre la diversidad genética de las poblaciones de *M. flexuosa* en Brasil y el trabajo de Federman *et al.* (2011) sobre la elaboración de los primer específicos para *M. flexuosa*.

3.4.2 MICROSATÉLITES COMO MARCADORES MOLECULARES

Los microsatélites o SSR, son secuencias muy cortas (2 a 6 pares de bases), de naturaleza polimórfica con una alta tasa de mutación ($\sim 10^{-3}$) y que se repiten en tándem y generalmente tienen un tamaño entre 100 a 300 pares de bases (Semagn *et al.*, 2006) y son abundantes y bien distribuidas a lo largo del genoma de los seres vivos (McCouch *et al.*, 1997). Al ser marcadores codominantes permiten diferenciar entre individuos homocigotos o heterocigotos (Freeland, 2005). Los datos que se obtienen con estos marcadores moleculares son las longitudes, en pares de bases, de los fragmentos amplificados a través de una PCR. Los fragmentos utilizados pueden observarse al realizar una electroforesis sobre geles de alta definición (McCouch *et al.*, 1997).

Para el estudio del flujo de genes es importante conocer la variabilidad del marcador. Para realizar análisis genéticos a una escala espacial dentro o entre poblaciones, se recomienda el

uso de marcadores altamente variables, tales como los microsatélites, para tener una idea de la cantidad de flujo de genes en una determinada población (Ouborg *et al.*, 1999).

3.5 OBJETIVOS

3.5.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el flujo génico de las poblaciones de *Mauritia flexuosa* en sistemas de pantano en el Parque Nacional Yasuní.

3.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudiar la estructura espacial de las poblaciones de *M. flexuosa* en el Parque Nacional Yasuní.

Explorar si existen variaciones temporales en el flujo de genes de las poblaciones de *M. flexuosa* en el Parque Nacional Yasuní.

Estudiar si la estructura poblacional de *M. flexuosa* responde a un modelo de metapoblación.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

4.1.1 ÁREA DE ESTUDIO

La elección de los pantanos, así como la toma de muestras de *Mauritia flexuosa* se llevó a cabo dentro del Parque Nacional Yasuní (PNY), ubicado al Noroeste de la Amazonía Ecuatoriana (0° 39' 03" S; 76° 22' 42" O), en la provincia de Orellana. El PNY es un bosque húmedo de tierras bajas, en donde existen tres tipos de hábitats: tierra firme, planicie inundable y pantanos, que están determinados principalmente por la inundación de los ríos y su efecto en las características de los suelos (Montúfar, 1999). La precipitación media mensual es de 235 mm, y la temperatura ambiental varía de 22 °C (mínima) a 32 °C (máxima) y la humedad ambiental varía del 56% al 96% (Bass et al., 2010).

4.1.2 SELECCIÓN DE LOS PANTANOS

Se seleccionó cinco pantanos de un tamaño mínimo de 1 ha y máximo 10 ha, dentro del bosque, distribuidos espacialmente entre el km 32 y km 40 de la carretera Maxus. Cada uno de los pantanos fue considerado como una población. La distancia entre pantanos varió entre 300 m a 8000 m.

Para determinar el tamaño y forma de cada uno de los pantanos seleccionados, así como la distancia que existe entre cada pantano, se tomó varias coordenadas alrededor del borde del pantano y también una coordenada del centro del mismo.

4.1.3 IDENTIFICACIÓN Y COLECCIÓN DE MUESTRAS

Las plántulas y adultos de *M. flexuosa* son de fácil identificación en el campo. Su tamaño, su forma palmada de las hojas, en adultos como en plántulas, el color rojizo de sus frutos y su predominancia dentro de los de pantanos son características que permiten su identificación en el bosque.

La estructura poblacional fue estudiada por transectos de 250 m x 5 m en cada pantano, para estimar la densidad poblacional de los individuos de *M. flexuosa*. Se utilizó cuatro clasificaciones de estadios para este censo de acuerdo a su altura: plántulas con semilla (≤ 1 m), juveniles (de 1 a 8 m), sub-adultos (de 8 a 16 m) y adultos con tronco y que midan más de 16 m. Adicionalmente se tomó datos morfológicos de los individuos adultos como: altura, DAP del tronco, el sexo, presencia de flores, de frutos, entre otros. En el caso de las plántulas se tomó solo su altura y si presenta o no la semilla.

Para los análisis moleculares se colectó 30 muestras de tejido vegetal (hojas) de individuos adultos y 30 muestras de tejido vegetal (hojas) de plántulas en cada uno de los cinco pantanos. La toma de muestras fue realizada al azar y los individuos colectados se encontraban separados entre 5 a 10 m para evitar relaciones de parentesco entre individuos. El tejido vegetal colectado fue secado con sílica gel.

4.1.4 MUESTRAS DE SUELOS

Para conocer la composición físico-química de los suelos de los pantanos se tomó varias muestras, aproximadamente 500 gr en cada pantano para conocer su textura, cantidad de materia orgánica, cationes, aniones y conductividad eléctrica.

4.2 EXTRACCIÓN DE ADN

Una vez que las muestras estuvieron completamente secas, se ingresó los datos de colección a la base de datos del Laboratorio de Genética Molecular de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE (Laboratorio 113).

Para la extracción de ADN del tejido vegetal seco de los individuos adultos y de las plántulas de *M. flexuosa* se utilizó una pequeña muestra de hoja de los 300 individuos colectados y se la trituró de forma manual con Polivinilpirrolidón (PVPP) en polvo (0.02 gr), un agente quelante usado para reducir la cantidad de polifenoles (Lizarzaburu, 2002) durante este proceso. El

tejido triturado (aproximadamente 0.1 gr) fue guardado en tubos eppendorf para la posterior extracción de ADN siguiendo el protocolo de extracción manual para palmeras de Doyle & Doyle – modificado de 1987 (Anexo 1).

Para la cuantificación del ADN obtenido se realizó las mediciones en un Thermo Scientific NanoDrop™ 1000 Spectrophotometer, colocando 1 µl de ADN de cada muestra para determinar la concentración de cada muestra a un espectro de absorbancia de 260 nm. Después de cada medición se limpió y enceró el NanoDrop con agua ultrapura. Los datos de las mediciones fueron reportados por el software *ND-1000* y guardados como nota de texto.

4.3 MICROSATÉLITES COMO MARCADORES MOLECULARES

4.3.1 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA – PCR

Se realizaron diferentes reacciones PCR con todas las muestras de ADN para comprobar amplificación de ocho primers polimórficos específicos para *M. flexuosa* reportados por Federman *et al.* (2011) se siguió el protocolo PCR determinado para cada primer realizados por Federman *et al.* (2011) (Anexo 2).

4.3.2 VISUALIZACIÓN DE POLIMORFISMOS

Para la visualización de los polimorfismos se corrió los productos resultantes de la amplificación en geles denaturantes de poliacrilamida al 6% y úrea 5M con una escalera 10bp en cámaras verticales. Para visualizar los fragmentos (polimorfismos) se realizó una tinción de nitrato de plata (Benbouza, *et al.* 2006).

4.3.3 MEDICIÓN Y TABULACIÓN DE DATOS

Una vez teñidos los geles de poliacrilamida se procedió a marcar y a medir con una regla desde el frente del gel el desplazamiento de cada una de las bandas marcadas. Así también se marcó las bandas de las escaleras de 10 bp y se midió la distancia que habían recorrido con una regla.

Para conocer el peso molecular en pares de bases (pb) de cada alelo marcado, se realizó una regresión lineal ($a = mx + b$) con los pesos conocidos de las bandas de la escalera de 10 *bp* por la distancia recorrida de cada una de las bandas en el programa Microsoft Excel.

Una vez obtenidos los pesos de los alelos se realizó una matriz alélica con los pesos en pb de cada uno de los alelos obtenidos en cada uno de los locus en el programa GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para la ejecución de los análisis estadísticos se elaboró una matriz génica con los datos de los cinco pantanos (en adelante se le nombrará: M-POP; $n = 300$). Adicionalmente se desarrolló una matriz génica diferenciando a las poblaciones por plántulas y adultos (en adelante se le nombrará: M-P+A; $n = 150$ en cada estadio).

4.4.1 ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES (PCoA)

Con la finalidad de analizar la estructura poblacional de *M. flexuosa* y conocer las variaciones en las condiciones edáficas de los pantanos se realizaron análisis de coordenadas principales (PCoA).

El PCoA realiza un gráfico de pocas dimensiones, que abarque la mayor cantidad posible de la variación total de una matriz de datos, en donde las distancias entre los puntos dentro del plot sean lo más cercanas a la matriz original (Jolliffe, 2002). Se realizaron dos PCoA, un PCoA con la matriz edáfica de cada pantano, y otro PCoA con la matriz de la estructura poblacional de cada pantano.

Para el PCoA de la matriz edáfica se realizó un análisis de Distancias Euclidianas y se utilizó el programa PAST 2.17 (Hammer *et al.*, 2001). Las Distancias Euclidianas miden la distancia entre un punto $X (X_1, X_2, X_n)$ y un punto $Y (Y_1, Y_2, Y_n)$ en base al cálculo de la derivación de la

raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las diferencias de los valores correspondientes (Gower, 1982), y se calcula de la siguiente manera:

$$d = \sqrt{\frac{\sum (X_i - Y_i)^2}{n}}$$

Donde X_i es la distancia entre un punto y Y_i es la distancia del otro punto.

Para el PCoA de la matriz de la composición florística se realizó un análisis de disimilitud Bray-Curtis y se utilizó el programa PAST 2.17 (Hammer *et al.*, 2001). La disimilitud Bray-Curtis es un estadístico que se usa para cuantificar la composición de disimilitud entre dos sitios diferentes, basados en conteos en cada sitio (Bray & Curtis, 1957), y se calcula de la siguiente manera:

$$BC_{ij} = 2C_{ij} / (S_i + S_j)$$

Donde C_{ij} es la suma del valor menor para aquellas especies en común entre los dos sitios. S_i y S_j son el número total de especímenes contados en ambos sitios.

4.4.2 DESEQUILIBRIO LIGADO

Se realizó un análisis de desequilibrio ligado para comprobar si los loci utilizados se encuentran asociados o se encuentran de forma independiente entre sí o no. La prueba consiste en una asociación entre pares de loci diploides, descrito como una prueba de desequilibrio ligado compuesto (Weir, 1996). Para la realización de este análisis se utilizó el programa GenePop 4.0.10 (Rousset, 2008).

4.4.3 EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG

El equilibrio Hardy-Weinberg permite predecir la proporción de genotipos diploides en la siguiente generación bajo panmixia (apareamiento al azar), una vez dadas las frecuencias alélicas iniciales en una población (Lowe *et al.*, 2004). Las condiciones que debe seguir una población para mantener este equilibrio son: 1) que exista panmixia, 2) que no exista ningún

tipo de selección, 3) migración o mutación, 4) que el tamaño de la población sea efectivamente infinito y 5) que los alelos se segreguen siguiendo leyes de herencia mendelianas (Lowe *et al.*, 2004). Se utilizó el programa GenePop 4.0.10 (Rousset, 2008) para calcular el equilibrio Hardy-Weinberg mediante una prueba de probabilidad conocida como “la prueba exacta Hardy-Weinberg” (Haldane, 1954). En esta prueba, la probabilidad de las muestras observadas es utilizada para definir la zona de rechazo, y los valores p corresponden a la suma de las probabilidades de todas las tablas con la misma probabilidad. El programa, al identificar más de seis alelos, automáticamente utilizó el algoritmo de cadena de Markov para estimar el valor exacto de los valores p sin ningún tipo de sesgo (Guo & Thompson, 1992).

4.4.4 DIVERSIDAD GÉNICA

Para evaluar la diversidad y diferenciación genética entre poblaciones, se utilizó los *F-statistics* (F_{ST} , F_{IS} , F_{CT} , F_{IT}) desarrollados por Wright (1951) y los *G-statistics* (incluyendo el índice D_{est}) desarrollados por Jost (2008) para evaluar la diversidad y diferenciación génica entre las poblaciones de *M. flexuosa*.

Con el programa GenePop 4.0.10 (Rousset, 2008) se calculó el coeficiente de endogamia (F_{IS}). Este coeficiente es parte de los *F-statistics* y describe la divergencia de la heterocigosidad observada dentro de las poblaciones con la población total asumiendo panmixia (Lowe, *et al.* 2004). Esto refleja la probabilidad de que dos alelos dentro de un mismo individuo sean idénticos por descendencia, y se calcula de la siguiente manera:

$$F_{IS} = (H_S - H_I) / H_S$$

Donde H_I es la heterocigosidad observada de una población en el momento de la investigación, y H_S es la heterocigosidad que podría esperarse si la población estuviera en equilibrio Hardy-Weinberg (Freeland, 2005). El programa calculó un análisis global de F_{IS}

basado en Weir & Cockerham (1984). El número de alelos únicos por población fue calculado con el programa GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

4.4.5 DIFERENCIACIÓN GÉNICA

La diferenciación génica entre las poblaciones fue calculada con el estadístico F_{ST} . Este es un índice de fijación de alelos. El F_{ST} describe la reducción de heterocigosidad dentro de una población, con respecto a la población total, debido a efectos de la selección natural o deriva génica (Lowe, *et al.* 2004), y se calcula de la siguiente manera:

$$F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

Donde H_T es la heterocigosidad esperada del total de las poblaciones, y H_S es la heterocigosidad que se podría esperar si la población está en equilibrio Hardy-Weinberg (Freeland, 2005). Para el cálculo del F_{ST} entre poblaciones se utilizó el programa Arlequin 3.5 (Excoffier, *et al.* 2005), con 1000 permutaciones y los valores p fueron calculados con una significación de 0.05.

Adicionalmente se utilizó el programa GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) para el cálculo de los índices de diferenciación G'_{ST} (Hedrick, 2005) y D_{est} (Jost, 2008). Jost (2008) propone el índice D_{est} , el cual permite evaluar la diferenciación entre poblaciones que reportan G_{ST} , F_{ST} , R_{ST} cercanos a cero y se encuentran totalmente aisladas entre ellas. Los índices G_{ST} y sus relativos (F_{ST} , R_{ST}) pueden dar valores cercanos a cero cuando la diversidad genética es alta, aunque las poblaciones se encuentren completamente diferenciadas.

El índice D puede ser calculado de la siguiente manera:

$$D = [(H_T - H_S) / (1 - H_S)] [n / (n - 1)]$$

Donde H_T es la heterocigosidad total, H_S es la heterocigosidad media de cada población, y n es el número de poblaciones (Jost, 2008).

Mientras que el G'_{ST} puede ser calculado de la siguiente forma:

$$G'_{ST} = [G_{ST} (1 + H_S)] / (1 - H_S)$$

Donde G_{ST} es la variación entre poblaciones, en relación con la variación de la población total y H_S es la heterocigosidad media de cada población que se encuentran en equilibrio Hardy - Weinberg (Hedrick, 2005).

También se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) con las matrices de D y de F_{ST} en el programa GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

4.4.6 ANÁLISIS DE VARIANCIA MOLECULAR (AMOVA)

Se realizó un AMOVA en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010), con la finalidad de calcular la variación molecular a varios niveles dentro de las poblaciones de una especie. Para la ejecución del AMOVA se realizó una matriz en GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) con la matriz M-POP. El AMOVA y los niveles de significación se calcularon con 1000 permutaciones. Adicionalmente se calculó un AMOVA solo de la matriz M-P+A con la finalidad de conocer si existe variación entre plántulas y adultos dentro de las poblaciones.

4.4.7 ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO JERÁRQUICO POR EL MÉTODO DE VARIANZA MÍNIMA (WARD)

El método de la varianza mínima (WARD) es un procedimiento general de agrupación jerárquica. Este método minimiza el total de la varianza dentro de cada agrupamiento (clúster), y en cada paso, el par de clústers con una mínima distancia se fusiona. Al aplicar este método de agrupamiento, se produce el aumento del mínimo de la varianza total, dentro de un clúster tras la fusión. Este aumento es la distancia al cuadrado ponderado entre centros del clúster (Ward, 1963). Para la ejecución de este análisis se utilizó la matriz M-P+A en el programa

GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) y luego se trabajó con el programa DARwin 5 (Perrier, *et al.* 2003) con niveles de significación de 1000 permutaciones para conocer si las cinco poblaciones poseen una relación jerárquica entre sí.

5 RESULTADOS

5.1 OBTENCIÓN DE DATOS ECOLÓGICOS

5.1.1 ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN EDÁFICA

El análisis de la composición del suelo de cada pantano indicó que el pH de todos los pantanos es ácido, con valores de acides que van desde 4,5 hasta 4,77. De igual manera el porcentaje de arcilla en los pantanos uno y dos son del 53% y 55% respectivamente; mientras este mismo porcentaje en los pantanos tres, cuatro y cinco es menor con valores de 25%, 37% y 33% respectivamente. Así también el porcentaje de materia orgánica en cada uno de los pantanos con valores que oscilan entre los 12,7% a 17,5% es considerado un valor alto para estos suelos y la suma de cationes tiene valores que varían entre 1,26 cmol/kg a 2,42 cmol/kg (Tabla 1). Las relaciones edáficas entre los cinco pantanos fue representado con un análisis PCoA (Figura 3). La primera coordenada explica el 53,23%; y la segunda coordenada explica el 28,14%.

5.1.2 ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL

En el campo se observó que en cada pantano existe un mayor número de plántulas y de individuos adultos que de juveniles y sub-adultos; con valores desde 73 a 202 plántulas y de 58 a 85 individuos adultos en cada uno de los pantanos, mientras que los valores de juveniles de 32 a 39 individuos y los valores de individuos sub-adultos de 27 hasta 39 por pantano son relativamente menores. La estructura poblacional en los cinco pantanos presenta una distribución en forma de “J” invertida, con una mayor abundancia de plántulas y adultos con respecto a la menor abundancia de juveniles y sub-adultos.

Se registró que hay un mayor número de hembras, 207 individuos en total, que de machos con 145 individuos (Figura 2; Tabla 2). La proporción de sexos en todos los pantanos favorecen a las hembras sobre los machos, se observó que el (P5) posee la mayor proporción de

hembras/machos (1,83:1), y el (P3) reportó la menor diferencia en la proporción de hembras/machos (1,09:1) (Tabla 2). Adicionalmente se realizó una prueba *Chi* cuadrado (χ^2) en donde el valor $P \chi^2 > 7,58$ que corrobora que las diferencias entre la proporción de sexos de hembras sobre machos es altamente significativa ($p < 0,05$). Los patrones florísticos fueron representados con un análisis PCoA (Figura 4).

5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

5.2.1 DESEQUILIBRIO LIGADO Y HARDY-WEINBERG

En el análisis de desequilibrio ligado realizado con la matriz M-POP se observó que, en el primer pantano (P1) existen cuatro pares de locus ligados, los pares *Mf13-Mf19*, *Mf30-Mf34* y *Mf22-Mf24* presentaron valores p significativos al 0,05, mientras que el par *Mf13-Mf34* presentó un valor p altamente significativo al 0,001. En el segundo pantano (P2) presentó tres pares de locus en desequilibrio ligado, *Mf13-Mf30*, *Mf22-Mf17*, *Mf34-Mf24*, con valores p significativos al 0,05. El pantano número tres (P3) presentó también tres pares de locus ligados al 0,05, *Mf13-Mf30*, *Mf30-Mf14* y *Mf34-Mf17*. En el pantano cuatro (P4) se observó que existen 6 pares de locus en desequilibrio ligado, los locus *Mf19-Mf34*, *Mf13-Mf14*, *Mf34-Mf17* y *Mf13-Mf24* con una significación al 0,05 y los pares de locus *Mf22-Mf14* y *Mf14-Mf17* con una significación al 0,01. Finalmente en el quinto pantano (P5) se observó cinco pares de locus en desequilibrio ligado, cuatro pares: *Mf19-Mf22*, *Mf22-Mf14*, *Mf14-Mf17* y *Mf19-Mf24* ligados con un valor p al 0,05 y el par de locus *Mf13-Mf14* ligado con un valor p altamente significativo al 0,01 (Tabla 3).

Con los resultados obtenidos de la prueba de Fisher con el programa GenePop se observó que ninguno de los locus se encuentra bajo equilibrio Hardy-Weinberg, ya que todos los locus poseen un valor p altamente significativo al 99%, excepto el locus *Mf13* que aunque tampoco

se encuentra en equilibrio Hardy-Wienberg, presentó un valor p de significación al 95% (Tabla 4).

5.2.2 DIVERSIDAD GÉNICA

La diversidad génica, realizada con la matriz M-POP, entre las poblaciones se observó que la diversidad alélica (A) por pantano varió desde 7,13 en el (P4) hasta 8,5 en el (P2). La heterocigosidad observada (H_o) es menor a la heterocigosidad esperada (H_e) a nivel general en cada uno de los pantanos. También se reportó que el número de alelos únicos en el (P5) fue el menor con seis alelos únicos, mientras que el (P4) fue el que mayor número de alelos únicos tuvo con un total de 15 (Tabla 5).

La diversidad génica, realizada a partir de la matriz M-P+A reportó que la diversidad alélica fue mayor en plántulas (17,38) que la diversidad alélica en los adultos (16,75). La heterocigosidad observada (H_o) tanto para plántulas y adultos (H_o : 0,52) es menor a la heterocigosidad esperada (H_e) (plántulas H_e : 0,88; adultos H_e : 0,89). También se observó que el número de alelos únicos fue mayor en plántulas (12) que en adultos (7) (Tabla 6).

5.2.3 DIFERENCIACIÓN Y VARIACIÓN GÉNICA

Los análisis realizados con la matriz M-POP mostraron valores moderados de endogamia (F_{IS}) con valores que oscilan entre 0,22 en el (P1) hasta valores de 0,34 en el (P3), y todos con valores p altamente significativos para todos los pantanos (Tabla 5). Los valores F_{IS} , obtenidos a partir de la matriz M-P+A indicaron que las plántulas tienen un valor de endogamia de 0,40 y los adultos un valor de 0,39, siendo ambos valores F_{IS} estadísticamente significativos ($p < 0,001$) (Tabla 6).

Los valores F_{ST} para cada pantano, con la matriz M-POP, se observó que varían entre 0,09 a 0,13 y fueron estadísticamente significativos ($p < 0,001$) para todos los pantanos (Tabla 7).

Adicionalmente se realizó un análisis de la matriz M-P+A, en donde los valores de F_{ST} se mantuvieron altamente significativos para todas las comparaciones realizadas (Tabla 9).

También se realizó un PCoA con la matriz M-P+A de los F_{ST} donde se observó un porcentaje de variación en el primer eje de 29,81%; y en el segundo eje con un 27,95% de variación donde el segundo eje del PCoA discrimina a los pantanos en función de sus relaciones geográficas, los pantanos del km 32: (P1, P2 y P3) separados de los pantanos del km 40 (P4 y P5). Los (P4) y (P5) muestran también una fuerte separación génica (Figura 5).

Los valores D_{est} (Jost, 2008) de la matriz M-POP reportaron valores de 0,65 hasta 0,80 y fueron altamente significativos ($p < 0,001$) para cada pantano (Tabla 8). De igual manera el análisis de la matriz M-P+A para los valores D_{est} (Jost, 2008), en donde se observó que todos los valores son cercanos a uno y son altamente significativos para esta prueba ($p < 0,001$) (Tabla 10).

El PCoA realizado con los valores de la matriz M-P+A de D_{est} (Jost, 2008) indicó que el porcentaje de variación en el primer eje es de 29,82%; y el porcentaje de variación en el segundo eje es de 27,02% y su agrupación es diferente a la distribución geográfica de cada pantano (Figura 6).

El resultado del AMOVA realizado con la matriz M-POP indicó que el porcentaje de variación entre las poblaciones (cinco pantanos) fue de 20,56%, y el porcentaje de variación dentro de las poblaciones fue de 79,45%, siendo todos estos porcentajes altamente significativos ($p < 0.001$) (Tabla 11).

El resultado obtenido a partir del análisis del método de la varianza mínima (WARD) de la matriz M-P+A, con 1000 bootstraps, reportó que cada uno de los pantanos de *M. flexuosa* formó un grupo genéticamente diferenciado de los otros pantanos (Figura 7).

6 DISCUSIÓN

6.1 ESTRUCTURA ECOLÓGICA Y POBLACIONAL DE *Mauritia flexuosa*

En base a los resultados del análisis de suelos la composición edáfica no muestra diferencias entre los pantanos del PNY. La composición de los suelos de los pantanos del Yasuní son similares a otros pantanos de la cuenca Amazónica. En particular se observa que los pantanos tienen un alto porcentaje de materia orgánica (12,40% a 17,50%). Esta acumulación de materia orgánica es favorecida por la incorporación de tejidos vegetales (hojas, inflorescencias e infrutescencias) al sistema de pantanos (Khan, 1991).

Todos los pantanos estudiados tienen pH ácidos, esto concuerda con estudios realizados por Khan (1991) en pantanos de *M. flexuosa* en Perú y Brasil. Este estudio de Khan (1991) reportó suelos con pH ácidos con un valor promedio de 3,5. De igual forma San-José *et al.* (2010) describe pantanos del Orinoco con valores de pH de 3,7 a 5,0. La suma de cationes (Ca, Mg, Na y K) presentó valores que oscilan entre 1,26 cmol/kg a 2,42 cmol/kg; estos valores son similares a los reportados por Duivenvoorden *et al.* (2001; 2,19 cmol/kg) en pantanos de la región de Caquetá, Colombia. Poulsen *et al.* (2006) documentan también valores similares a la suma total de cationes (entre 0,76 cmol/kg a 2,06 cmol/kg) en una hectárea en la Reserva Faunística Cuyabeno. Los pantanos estudiados tienen condiciones edáficas similares entre sí, y sus características edáficas son similares a otros pantanos en la región Amazónica.

La estructura poblacional de *M. flexuosa* en los transectos realizados (250 m x 5 m) en los cinco pantanos mostró un mayor número de plántulas en todos los pantanos con un total de 721 individuos/0,6 ha. Estos patrones poblacionales son similares a los reportados para *M. flexuosa* en la Reserva Faunística Cuyabeno, en donde se reportó un valor de 260 plántulas/0,5 ha en transectos de 100 m x 10 m en cinco pantanos (Holm *et al.*, 2008). Bonesso *et al.* (2008)

reportaron una alta densidad de plántulas de *M. flexuosa* en seis regiones en el centro del Brasil con 157 a 347 individuos/1,5 ha.

La alta densidad de plántulas observada en este trabajo es similar a los valores reportados por Rodríguez-Paredes *et al.* (2012) donde se reportaron un alto número de plántulas de la palmera *Ceroxylon echinulatum* en 30 cuadrantes en bosques intervenidos (10250 plántulas/1,2 ha) y en 27 cuadrantes en bosques no intervenidos (259 plántulas/1,08 ha). Adicionalmente Rodríguez-Paredes *et al.* (2012) reportaron un número alto de plántulas para la palma *Prestoea acuminata* 30 cuadrantes (20 m x 20 m) en bosques intervenidos (3667 plántulas/1,2 ha) y 27 cuadrantes (20 m x 20 m) en bosques no intervenidos (4796 plántulas/1,08 ha).

La densidad total de individuos adultos en este estudio en los transectos realizados en los cinco pantanos es de 371 individuos/0,6 ha. Bonesso *et al.* (2008) reportaron entre 300 a 667 adultos/1,5 ha en las seis regiones del centro del Brasil en transectos más grandes (500 m x 5 m); lo que sugiere una densidad en promedio similar a la obtenida en este estudio. Valores diferentes fueron reportados por Holm *et al.* (2008) donde se censaron un total de 121 adultos/0,5 ha.

La estructura poblacional de *M. flexuosa* en cada pantano muestra una forma de “J” invertida, con una mayor cantidad de plántulas y adultos que de juveniles y sub-adultos. Silva-Matos *et al.* (1999) y Freckleton *et al.* (2003) reportaron valores similares en la estructura poblacional de la palmera *Euterpe edulis*, en bosques del Atlántico del Brasil, donde observaron el mismo patrón de “J” invertida con una proporción mayor de plántulas y adultos que de juveniles.

La densidad total de adultos observada en este estudio (354 individuos/0,6 ha) es mucho mayor a la densidad de individuos reportada en otros estudios. Como por ejemplo, Rodríguez-Paredes *et al.* (2012) reportó con la palmera *C. echinulatum* un total de 8 individuos adultos/1,2 ha en 30 cuadrantes de 20 m x 20 m en bosques intervenidos y en bosques no

intervenidos no reportaron individuos adultos. Para la palma *P. acuminata* reportaron 29 individuos/1,2 ha en bosques intervenidos y 9 individuos/1,08 ha en bosques no intervenidos.

La alta abundancia de individuos de *M. flexuosa* sugiere el éxito adaptativo de esta especie a los pantanos Amazónicos. En particular en los pantanos de Yasuní, *M. flexuosa* es la especie mono-dominante y con una serie de adaptaciones fisiológicas a este medio (neumatóforos). Esta adaptación favorece a la dominancia en este recurso en el pantano (Gragson, 1995).

El número total de hembras (207 individuos/0,6 ha) en los cinco pantanos es mayor que el número total de machos (145 individuos/0,6 ha), la mayor abundancia de hembras que de machos es común en las poblaciones silvestres de palmeras (Freckleton *et al.*, 2003). Estos valores contrastan con los resultados reportados por Holm *et al.* (2008) en la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, donde se reportó un número mayor de machos (45 individuos/0,5 ha) que de hembras (35 individuos/0,5 ha). Esta variación en la proporción de sexos puede ser explicado por el tipo de extractivismo intenso de cosecha a nivel local. En Cuyabeno eventualmente se tala las palmeras de *M. flexuosa* para la cosecha de frutos; estas talas eventuales a largo plazo generan desbalances en la proporción de sexos en las poblaciones. En cambio en la región de Yasuní no existe una actividad de cosecha intensa, ni la actividad de tala de hembras de *M. flexuosa* por sus frutos.

La tala de hembras por obtener sus frutos es un complejo problema para las poblaciones de especies dioicas (Bonesso, *et al.*, 2008). Por ejemplo en bosques de la región de Iquitos en Perú y en bosques de la Amazonía del Brasil, en donde se han reportado casos de tala de hasta más de 1000 individuos hembras en un mes con fines de la comercialización de sus frutos y hojas (Rojas *et al.*, 2001; Bonesso *et al.*, 2008; Manzi & Coomes, 2009), y en un menor porcentaje también se reporta la explotación de esta palmera en regiones de Venezuela (Gragson, 1995). Esta tala selectiva por sexo tiene consecuencias negativas sobre la viabilidad

biológica de esta especie a largo plazo ya que afecta a su ecología y a la dinámica génica de las poblaciones (Husband & Barrett, 1996; Bonesso, *et al.*, 2008).

6.2 VARIACIÓN GÉNICA DE *Mauritia flexuosa*

Los resultados obtenidos del desequilibrio ligado, indican que en todos los pantanos de *M. flexuosa* existen locus ligados, esto se debe a diferentes procesos biológicos sobre las poblaciones como la selección natural, la deriva génica o la ausencia de diferenciación génica entre las poblaciones por un contacto reciente (Agapow & Burt, 2001).

Las poblaciones de *M. flexuosa* no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg debido a la existencia de locus ligados en los pantanos por lo que no existe una segregación independiente. Este desequilibrio se puede explicar en base a que las fuerzas evolutivas como la selección natural, mutación o migración se encuentran actuando sobre las poblaciones, y por lo tanto las frecuencias de los alelos no son constantes de generación en generación (Guo & Thompson, 1992). De igual manera los procesos de endogamia podrían influir en este desequilibrio sobre las poblaciones de *M. flexuosa* ya que no hay un libre flujo de genes por apareamiento no aleatorio (Guo & Thompson, 1992).

Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) son positivos y altamente significativos ($p < 0,001$), y sugieren que el flujo génico entre las poblaciones de *M. flexuosa* ocurren entre individuos emparentados. El coeficiente de endogamia (F_{IS}) a nivel de plántulas y adultos son positivos y estadísticamente significativos ($p < 0,001$), y se los puede considerar relativamente altos al ser comparados con otros estudios. Por ejemplo, Gaiotto *et al.* (2003) reportaron valores bajos de endogamia (F_{IS} : 0,01, plántulas; F_{IS} : 0,11, adultos) entre poblaciones de la palmera *Euterpe edulis* que se encontraban a 22 km de distancia. Al comparar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, se observa valores F_{IS} mayores a 0,2 entre pantanos distanciados por apenas ocho km. El alto valor de endogamia dentro de un área espacial

relativamente pequeña sugiere un interesante modelo de estructuración génica, en donde los individuos de *M. flexuosa* dentro de cada pantano mantiene una propia identidad genética sin evidencia de una intensa actividad de intercambio génico entre pantanos de *M. flexuosa* en el PNY.

Sin embargo, a pesar de las altas tasas de endogamia, la diversidad alélica (A) es alta. Esto genera una contradicción en relación al balance entre diversidad y endogamia. Una pregunta que surge con esta contradicción es ¿de dónde proviene ésta alta diversidad si las poblaciones tienen significativos valores de endogamia? Una hipótesis sugiere que la diversidad en los pantanos es una diversidad relictual. Esto supone que los pantanos del PNY son ambientes residuales de áreas pantanosas de mayor tamaño que han ido perdiendo su tamaño debido a la orogénesis tardía de los Andes (Gentry, 1982).

Las poblaciones de *M. flexuosa* presentan adicionalmente presentan un alto número de alelos únicos. Valores similares de alelos únicos (12 a 17) fueron reportados por Couvreur *et al.* (2006) en poblaciones silvestres de la palmera *Bactris gasipaes* en la región occidental del Ecuador, en donde se reportó la existencia de una alta variabilidad genética dentro de cada región (costa norte vs costa sur del Ecuador) que formó parte del estudio. En este trabajo se reportó que las plántulas tienen un mayor número de alelos únicos que los adultos. Este alto número de alelos únicos en plántulas en las poblaciones de *M. flexuosa* es un elemento que aumenta la diversidad génica en las poblaciones (Gaiotto *et al.*, 2003).

La heterocigosidad observada (H_o) en los cinco pantanos es menor que en la heterocigosidad esperada (H_e), existiendo así un déficit de heterocigotos en las poblaciones analizadas, resultados similares fueron reportados por Couvreur *et al.* (2006) o Cole *et al.* (2007) donde las frecuencias de la heterocigosidad observada (H_o) fueron menores a la heterocigosidad esperada (H_e) en poblaciones de palmeras cultivadas y silvestres de *B. gasipaes*. Un motivo

para este déficit de heterocigotos en las poblaciones de *M. flexuosa* en el PNY puede deberse a que existen procesos de polinización entre individuos cercanos o emparentados entre sí dentro de los pantanos y por efecto de tasas bajas en la dispersión de semillas (Keller & Waller, 2002).

6.3 *Mauritia flexuosa* COMO UN MODELO DE METAPOBLACIÓN

Los valores de diferenciación génica (D_{est}) de la población de *M. flexuosa* son positivos y altamente significativos ($p < 0,001$) y sugieren que los pantanos de *M. flexuosa* tienen una huella genética propia. Esta huella está en particular favorecida por un elevado número de alelos únicos en cada pantano (Jost, 2008; Gerlach, *et al.*, 2010). Asumiendo que el concepto de metapoblaciones menciona un alto flujo génico entre unidades discretas, este concepto no se ajusta a la estructura génica de las poblaciones de *M. flexuosa*. En este estudio las poblaciones de esta palmera mantienen valores altos de F_{IS} , F_{ST} y D_{est} sugiriendo así una tendencia a una divergencia entre pantanos, y no a una homogenización de la estructura génica.

Los valores de F_{ST} de la matriz M-P+A y de la matriz M-POP también fueron altamente significativos ($p < 0,001$) para cada una de las comparaciones en cada pantano, estos datos también corroboran que los pantanos de *M. flexuosa* tiene una marcada diferenciación génica y que el flujo génico entre los pantanos es bajo. Namoff *et al.* (2011) reportaron valores F_{ST} similares (0.069 a 0.266) a los observados en este estudio con poblaciones de la palmera *Pseudophoenix ekmanii* en bosques de República Dominicana, en donde los autores reportaron cantidades moderadas de flujo génico entre las poblaciones de esta palmera que se encuentran separadas entre 2,5 km a 4,5 km.

En comparación a los valores F_{ST} , los valores del índice D_{est} fueron aún más elevados. Sin embargo, estos valores altos del índice D_{est} podrían ser generados por la influencia de un

artefacto estadístico como sugiere Jost (2008) donde reportó la influencia de la heterocigosidad y la cantidad de alelos únicos sobre los valores de D_{est} . En donde si hay un frecuencias bajas de heterocigotos y un número de alelos únicos medios, los valores de D_{est} serán altos (Jost, 2008; Heller & Siegismund, 2009). De acuerdo con los datos obtenidos en este trabajo la alta frecuencia de alelos y el déficit de heterocigotos podrían influir estadísticamente a los valores de D_{est} de la matriz M-POP y M-P+A.

Si bien se reporta que existe un grado de diferenciación en la población de *M. flexuosa*, estos valores moderados de F_{ST} pueden indicar que los pantanos aún están compartiendo algunos genotipos y que existe un flujo bajo de genes entre las poblaciones de *M. flexuosa* en el PNY.

Los resultados obtenidos del AMOVA reportó que el porcentaje de variación entre las poblaciones es de 20,56%, este porcentaje se considera alto, ya que en otros estudios realizados con palmeras como Couvreur *et al.* (2006) reportaron porcentajes menores (9,4%) en poblaciones silvestres de la palma *Bactris gasipaes* dentro de una amplia escala espacial (Provincias del Oro y Pichincha). Gaiero *et al.* (2011) que también reportaron porcentajes bajos en el AMOVA intrapoblacional (6%) de palmeras del género *Buttia* en Uruguay. En ambos estudios las distancias que existían entre las poblaciones analizadas fueron mayores a las distancias entre poblaciones de este trabajo.

Contrario a los porcentajes bajos reportados por Couvreur *et al.* (2006) y Gaiero *et al.* (2011), Cardoso *et al.* (2000) reportaron porcentajes intrapoblacionales altos (42,6%) en poblaciones cultivadas de la palmera *Euterpe edulis*. Si bien el valor obtenido en este estudio es moderado, esto puede deberse a que las poblaciones de *M. flexuosa* dentro del PNY no se encuentran afectadas por disturbios antropogénicos (Gaiero, *et al.* 2011).

La partición de la variabilidad génica en este estudio es explicado por la variabilidad dentro de los individuos dentro de una pantano. Sin embargo el porcentaje de variación en los pantanos

(intrapoblacional) es significativamente alta. Cardoso *et al.* (2000) reportaron valores de 57,4% entre poblaciones que se encontraban entre 40 a 170 km de distancia. Namoff *et al.* (2011) reportaron porcentaje de diferenciación intrapoblacional de 83,96% entre poblaciones que se encontraban entre 4,5 km a 12,5 km. Diferencia de los estudios mencionados este trabajo reporta valores mayores en un área relativamente pequeña, entre 0,3 km a 8 km.

6.3.1 ¿HOMOGENIZACIÓN O DIVERGENCIACIÓN GÉNICA EN LAS POBLACIONES DE *Mauritia flexuosa* EN EL PNY?

En base a los resultados reportados de F_{IS} , F_{ST} y D_{est} se observa que las poblaciones de *M. flexuosa* mantienen una huella génica entre pantanos. Esto sugiere que los mecanismos de flujo génico entre los pantanos de *M. flexuosa* podrían ser deficientes para generar un activo flujo, y por lo tanto favorecen la divergencia entre las poblaciones de esta palmera. Esta diferenciación entre las poblaciones de esta palmera puede estar explicada por los siguientes factores:

- a) La estructura espacial de las poblaciones de *M. flexuosa* dentro del PNY es un factor histórico. Las poblaciones de esta palmera en la Amazonía ecuatoriana son pequeñas y se encuentran aisladas por extensiones de bosques de tierra firme. La posibilidad de interconexión, flujo génico y dispersión de semillas entre estas unidades discretas podría ser bajas.
- b) Limitantes en la dispersión de semillas entre las poblaciones. Si bien *M. flexuosa* produce una gran cantidad de frutos (~ 2000 frutos por infrutescencia) (Henderson *et al.*, 1995). La dispersión en esta palmera depende de animales. Los principales dispersores reportados para las semillas de *M. flexuosa* es el tapir (*Tapirus terrestris*), seguido por saínos, monos, roedores y aves en menor proporción de dispersión (Gragson, 1995). Los dispersores de esta palmera pueden estar siendo afectados por efectos de la defaunación dentro del PNY.

La cacería de animales, incluyendo animales frugívoros principales dispersores de semillas, por parte de las tribus indígenas asentadas en la región Amazónica está afectando la dispersión de semillas dentro de las poblaciones de plantas (Galetti et al., 2006; Klinger & Rejmánek, 2010). Suárez *et al.* (2012) reportó el efecto que tiene la construcción de vías por parte de empresas petroleras y la influencia de la caza sobre la fauna del PNY por parte de la comunidad Waorani. Los autores reportaron una evidente reducción de fauna en los transectos realizados en las proximidades de las dos principales vías (Maxus y Auca) dentro de la región de estudio. Esta reducción de animales por construcción de vías y por efecto de la defaunación en la zona también tiene un impacto en la disminución en el flujo génico entre comunidades de plantas por falta de dispersores de semillas (Wright *et al.*, 2000).

c) Limitaciones en la polinización dentro y entre poblaciones. Si un polinizador transporta un grano de polen, el éxito de que este grano de polen fertilice otros individuos de otras poblaciones muy distantes dependerá exclusivamente de la capacidad del insecto de trasladarse entre distintas poblaciones (Listabarth, 1996; Listabarth, 2001). De acuerdo con estas capacidades, en el caso de *M. flexuosa* se sugiere que los polinizadores de esta palmera (abejas y escarabajos) tienen rangos de dispersión a distancias cortas (Knudsen *et al.*, 2001), por lo que el flujo de polen en los pantanos del PNY está limitado dentro de las poblaciones mas no entre poblaciones.

d) La fragmentación de su hábitat ocasionado por la actividad humana en los bosques tropicales, reduciendo su número de individuos y el tamaño efectivo de la población (Pinçaço-Gomes et al., 2011). Una de las principales actividades humanas que afectan a las poblaciones de *M. flexuosa* en los bosques de la Amazonía es la agricultura de subsistencia (chacras) (Coomes *et al.*, 2004). Otra de las perturbaciones ocasionadas por las actividades humanas, y que afectan a las palmas en general en América tropical es la deforestación. La deforestación

también tiene efectos indirectos sobre las poblaciones de palmeras, a través de la fragmentación del hábitat, incluyendo los efectos de borde por construcción de carreteras o caminos en la Amazonía (Suárez *et al.*, 2012), generando una mayor mortalidad de semillas y la alteración en la dispersión de semillas por la reducción de dispersores (Montúfar *et al.*, 2011).

7. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se observa que la viabilidad de las poblaciones de *Mauritia flexuosa* en el PNY puede verse afectadas porque se reporta que los pantanos se encuentran en procesos de endogamia.

El leve flujo génico reportado entre las poblaciones de *M. flexuosa* analizadas dentro del PNY puede deberse a la reducción en las tasas de dispersión de las semillas dentro de los pantanos, debido a procesos de defaunación por efecto de las actividades de caza por las comunidades indígenas del parque.

El número mayor de individuos adultos hembras que de individuos machos en los pantanos estudiados refleja la poca o el inexistente proceso extractivista destructivo en las poblaciones de *M. flexuosa* en el PNY

8. LITERATURA CITADA

- Agapow, P. & Burt, A. 2001. Indices of multilocus linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Notes* 1: 101-102.
- Bass, M., Finer, M., Jenkins, C., Kreft, H., Cisneros-Heredia, D., McCracken, S., Pitman, N. 2010. Global conservation significance of Ecuador's Yasuní National Park. *PLoS One* 5: 1-22.
- Benbouza, H., Jacquemin, J., Baudoin, P. & Mergeai, G. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnologie, Agronomie Société et Environnement* 10: 77-81.
- Bonesso, M., Schmidt, I. & Figueiredo, I. 2008. Harvesting Effects and Population Ecology of the Buriti Palm (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) in the Jalapão Region, Central Brazil. *Economic Botany* 62: 171-181.
- Borgtoft-Pedersen, H. & Balslev, H. 1993. Palmas útiles: especies ecuatorianas para agroforestería y extractivismo, Editorial Abya Yala, Quito, Ecuador.
- Bossuyt, B. 2007. Genetic Rescue in an Isolated Metapopulation of a Naturally Fragmented Plant Species, *Parnassia palustris*. *Conservation Biology* 21: 832-841.
- Bray, J., & Curtis, J. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27: 325-349.
- Cardoso, S., Eloy, N., Provan, J., Cardoso, M., & Ferreira, P. 2000. Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. Populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology* 9: 1753-1760.

- Charles-Dominique, P., Chave, J., Dubois, M., De Granville, J., Riera, B., & Vezzoli, C. 2003. Colonization front of the understorey palm *Astrocaryum sciophilum* in a pristine rain forest of French Guiana. *Global Ecology and Biogeography* 12: 237-248.
- Choo, J., Juenger, T., & Simpson, B. 2012. Consequences of frugivore-mediated seed dispersal for the spatial and genetic structures of a neotropical palm. *Molecular Ecology* 21: 1019-1031.
- 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.
- Coomes, O., Barham, B., & Takasaki, Y. 2004. Targeting conservation–development initiatives in tropical forests: insights from analyses of rain forest use and economic reliance among Amazonian peasants. *Ecological Economics* 51: 47-64.
- Couvreur, T., Billote, N., Risterucci, M., Lara, C., Vigouroux, Y., Ludueña, B., Pham, J., & Pintaud, J. 2006. Close Genetic Proximity Between Cultivated and Wild *Bactris gasipaes* Kunth Revealed by Microsatellite Markers in Western Ecuador. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1361-1373.
- Damasceno, V., Ruas, E., Rodrigues, L., Ruas, C., Bianchini, E., Pimenta, J., & Ruas, P. 2011. Genetic differentiation in *Aspidosperma polyneuron* as assessed by AFLP markers. *Genetics and Molecular Research* 10: 1180-1187.
- Duivenvoorden, J., Balslev, H., Cavelier, J., Grandez, C., Tuomisto, H. & Valencia, R. 2001. Evaluación de recursos vegetales no maderables en la Amazonía noroccidental, IBED, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam.

- Excoffier, L., & Lischer, H. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Federman, S., Hyseni, C., Clement, W., & Caccone, A. 2011. Isolation of 13 novel highly polymorphic microsatellite loci for the Amazonian Palm *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae). *Conservation Genetics Resources* 11-13.
- Fenster, C., Vekemans, X., & Hardy, O. 2003. Quantifying gene flow from spatial genetic structure data in a metapopulation of *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *Evolution* 57: 995-1007.
- Fragoso, J. & Huffman, J. 2000. Seed-dispersal and seedling recruitment patterns by the last Neotropical megafaunal element in Amazonia, the tapir. *Journal of Tropical Ecology* 16: 369-385.
- Freckleton, R., Silva-Matos, D., Bovi, M., & Watkinson, A. 2003. Predicting the impacts of harvesting using structured population models: the importance of density-dependence and timing of harvest for a tropical palm tree. *Journal of Applied Ecology* 40: 846-858.
- Freeland, J. 2005. *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Gaiero, P., Mazzella, C., Agostini, G., Bertolazzi, S., & Rossato, M. 2011. Genetic diversity among endangered Uruguayan populations of *Butia* Becc. species based on ISSR. *Plant Systematics and Evolution* 292: 105-116.
- Gaiotto, A., Grattapaglia, D., & Vencovsky, R., 2003. Genetic Structure, Mating System, and Long-Distance Gene Flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity* 94: 399-406.

- Galetti, M., Donatti, C., Pires, A., Guimaraes, P., & Jordano, P. 2006. Seed survival and dispersal of an endemic Atlantic forest palm: the combined effects of defaunation and forest fragmentation. *Botanical Journal of the Linnean Society* 151: 141-149.
- Gentry, A. 1982. Neotropical Floristic Diversity: Phytogeographical Connections Between Central and South America, Pleistocene Climatic Fluctuations, or an Accident of the Andean Orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69: 557-593.
- Gerlach, G., Jueterbock, A., Kraemer, P., Deppermann, J. & Harmand, P. 2010. Calculations of population differentiation based on G_{ST} and D: forget G_{ST} but not all of statistics. *Molecular Ecology* 19: 3845-3852.
- Gower, J. 1982. Euclidean Distance Geometry. *Mathematics Scientist* 7: 1-14.
- Gragson, T. 1995. Pumé exploitation of *Mauritia flexuosa* (Palmae) in the Llanos of Venezuela. *Journal of Ethnobiology* 15: 177-188.
- Guo, S. & Thompson, E. 1992. Performing the exact test of Hardy_Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Haldane, J. 1954. An exact test for randomness of mating. *Journal of Genetics* 52: 631-635.
- Hammer, Ø., Harper, D & Ryan, P. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9.
- Hanski, I., & Gaggiotti, O. E. 2004. *Ecology, Genetics, and Evolution of Metapopulations*, Elsevier Academic Press, United Kingdom, London.
- Hedrick, P. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59: 1633-1638.
- Heller, R. & Siegismund, H. 2009. Relationship between three measures of genetic differentiation G_{ST} , D_{EST} and G_{ST} : how wrong have we been? *Molecular Ecology* 18: 2080-2083.

- Henderson, A., Galeano, G., & Bernal, R. 1995. Field Guide to the Palms of the Americas, Princeton University Press, United States, New Jersey.
- Holm, J., Miller, C. & Cropper, W. 2008. Population Dynamics of the Dioecious Amazonian Palm *Mauritia flexuosa*: Simulation Analysis of Sustainable Harvesting. *Biotropica* 40: 550-558.
- Honnay, O., Jacquemyn, H., Van Looy, K., & Breyne, P. 2009. Temporal and spatial genetic variation in a metapopulation of the annual *Erysimum cheiranthoides* on stony river banks. *Journal of Ecology* 97: 131-141.
- Husband, B. & Barrett, S. 1996. A Metapopulation Perspective in Plant Population Biology. *Journal of Ecology* 84: 461-469.
- Jolliffe, I. 2002. Principal Component Analysis. Springer-Verlag, New York, USA.
- Jacquemyn, H., Honnay, O., Van Looy, K., & Breyne, P. 2006. Spatiotemporal structure of genetic variation of a spreading plant metapopulation on dynamic riverbanks along the Meuse River. *Heredity* 96: 471-478.
- Jost, L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* 17: 4015-4026.
- Kahn, F. 1991. Palms as key swamp forest resources in Amazonia. *Forest Ecology and Management* 38:133-142.
- Kahn, F., Mejia, K., Moussa, F., & Gómez, D. 1993. *Mauritia flexuosa* (Palmae), la más acuática de las palmeras, Institut Français d' Études Andines IFEA, Lima, Perú.
- Keller, T. & Waller, D. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 230-241.
- Knudsen, T., Tollsten, L., & Ervik, F. 2001. Flower Scent and Pollination in Selected Neotropical Palms. *Plant Biology* 3: 642-653.

- Klinger, R., & Rejmánek, M. 2010. A strong conditional mutualism limits and enhances seed dispersal and germination of a tropical palm. *Oecologia* 192: 951-963.
- Lenormand, T. 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 183-189.
- Listabarth, C. 1992. Insect-induced wind pollination of the palm *Chamaedorea pinnatifrons* and pollination in the related *Wendlandiella* sp. *Biodiversity and Conservation* 1: 39-50.
- Listabarth, C. 1996. Pollination of *Bactris* by *Phyllotrox* and *Epurea*. Implications of the Palm Breeding Beetles on Pollination at the Community Level. *Biotropica* 28: 69-81.
- Listabarth, C. 2001. Palm pollination by bees, beetles and flies: Why pollinator taxonomy does not matter. The case of *Hyospathe elegans* (Arecaceae, Arecoideae, Areceae, Euterpeinae). *Plant Species Biology* 16: 165-181.
- Lizarzaburu, J.A. 2002. Filogenia de *Polylepis* (Rosaceae: Sanguisorbeae) en el Ecuador mediante PCR-RFLP y posición de Sanguisorbeae en Rosaceae. Tesis de Licenciatura, PUCE. Quito, Ecuador.
- Lowe, A., Harris, S. and Ashton, P. 2004. *Ecological Genetics: Design, Analysis, and Application*, Blackwell Publishing, Oxford.
- Manzi, M. & Coomes, O. 2009. Managing Amazonian palms for community use: A case of aguaje palm (*Mauritia flexuosa*) in Peru. *Forest Ecology and Management* 257: 510-517.
- Martins, R., Filgueiras, T., & Albuquerque, U. 2012. Ethnobotany of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a Maroon Community in Central Brazil. *Economic Botany* 66: 91-98.

- McCouch, S., Chen, X., Panaud, O., Temnykh, S., Xu, Y., Gu Cho, Y., Huang, N., Ishii, T., & Blair, M. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology* 35: 89-99.
- Montúfar, R. 1999. Influencia de factores edáficos en la distribución y abundancia de diez especies de palmas en el Parque Nacional Yasuní, Amazonía Ecuatoriana. Tesis de Licenciatura, PUCE. Quito, Ecuador.
- Montúfar, R., Anthelme, F., Pintaud, J., & Balslev, H. 2011. Disturbance and Resilience in Tropical American Palm Populations and Communities. *Botanical Review* 77: 426-461.
- Namoff, S., Veloz, A., Jimenez, F., Rodriguez-Peña, R., Pequero, B., Lewis, C., Moynihan, J., Abdo, M., Maunder, M., Von Wettberg, E., Meerow, A., Griffith, M., Francisco-Ortega, J. 2011. Sweet drinks are made of this: conservation genetics of an endemic palm species from the Dominican Republic. *Journal of Heredity* 102: 1-10.
- Nei, M. 1972. Genetic Distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Ouborg, N., Piquot, Y., & Van Groenendael, M. 1999. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology* 87: 551-568.
- Prada, M. & Araújo, M. 2012. Avian frugivores feeding on *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) fruits in Central Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia* 20: 26-29.
- Peakall, R. & Smouse P. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Perrier, X. & Jacquemoud-Collet, J. 2006. DARwin software. Disponible en: <http://darwin.cirad.fr/>.
- Perrier, X., Flori, A. & Bonnot, F. 2003. Genetic diversity of cultivated tropical plants. Enfield, Science Publishers. Montpellier 43-76.

- Picanço Gomes, L., Gomes, L., da Silva, L., Silva, W., Costa, P., & Serrao, L. 2011. Genetic diversity in natural populations of Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 216-223.
- Poulsen, A., Tuomisto, H. & Balslev, H. 2006. Edaphic and Floristic Variation within a 1-ha Plot of Lowland Amazonian Rain Forest. *Biotropica* 38: 468-478.
- Rodríguez-Paredes, D., Montúfar, R., & Meilby, H. 2012. Effects of micro-environmental conditions and forest disturbance on the establishment of two Andean palms in Ecuador. *Open Journal of Ecology* 2: 233-243.
- Rojas, R., Salazar, F., Llerena, C., Rengifo, C., Ojanama, J., Muñoz, V., Luque, H., Solignac, J., Torres, D. & Panduro, F. 2001. Industrialización primaria del aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f.) en Iquitos (Perú). *Folia Amazónica* 12: 107-122.
- Rousset, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.
- Rull, V. 1998. Biogeographical and evolutionary considerations of *Mauritia* (Arecaceae), based on palynological evidence. *Review of Palaeobotany and Palynology* 100: 109-122.
- San-José, J., Montes, R., Mazorra, M. & Matute, N. 2010. Heterogeneity of the inland water-land palm ecotones (morichals) in the Orinoco lowlands, South America. *Plant Ecology* 208: 259-269.
- Semagn, K., Bjornstand, A., & Ndjiondjop, M. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 2540-2568.
- Silva-Matos, D., Freckleton, R., & Watkinson, A. 1999. The Role of Density Dependence in the Population Dynamics of a Tropical Palm. *Ecology* 80: 2635-2650.

- Sork, V., Nason, J., Campbell, D., & Fernandez, J. 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 219-223.
- 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.
- Tero, N., Aspi, J., Siikamäki, P., Jäkäläniemi, A., & Tuomi, J. 2003. Genetic structure and gene flow in a metapopulation of an endangered plant species, *Silene tatarica*. *Molecular Ecology* 12: 2073-285.
- Ward, J. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *Journal of the American Statistical Association* 58: 236-244.
- Weir, B. 1996. *Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Weir, B. & Cockerham, C. 1984. Estimating *F-Statistics* for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15:323-354.
- 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.

9. FIGURAS

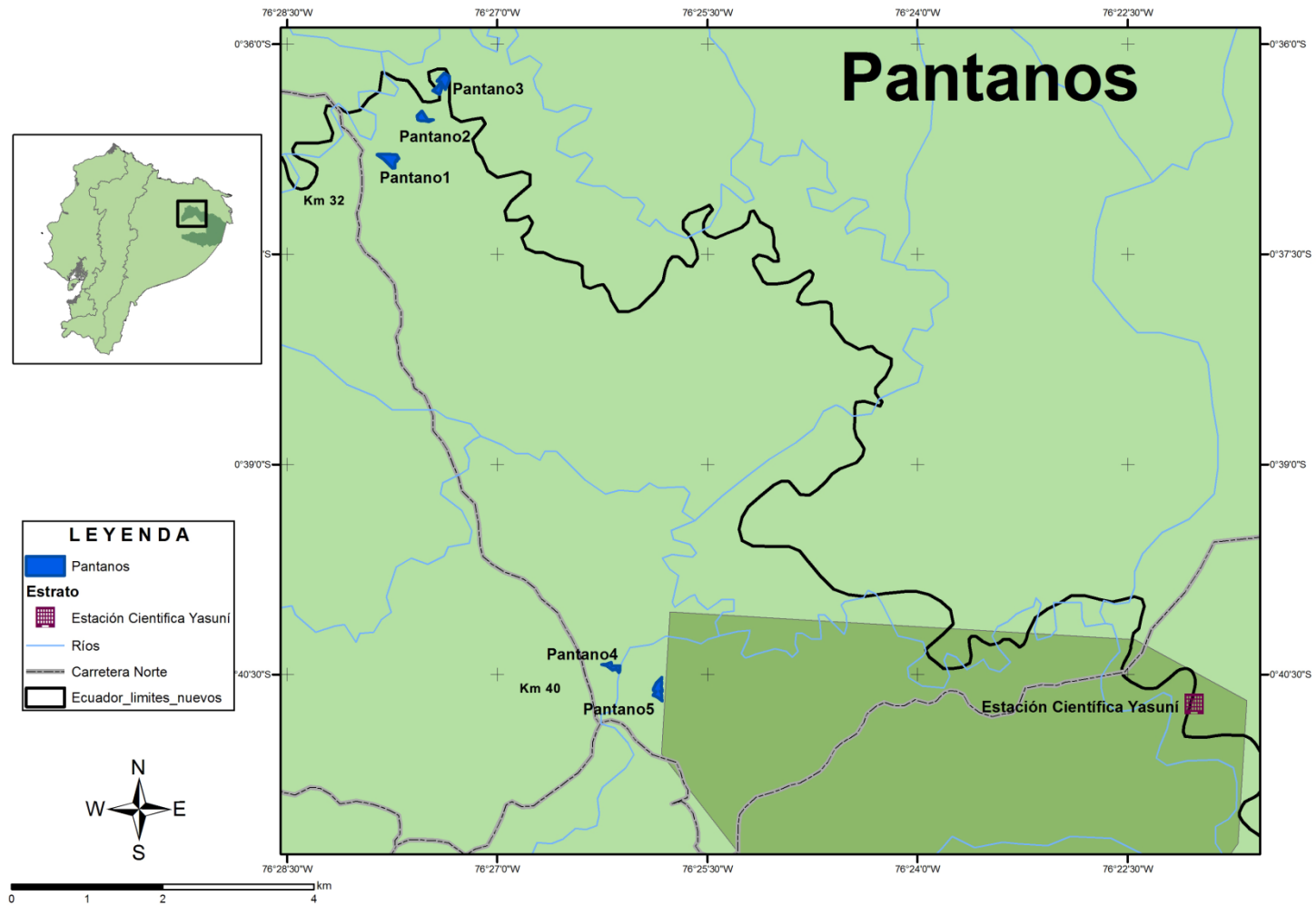


FIGURA 1. Mapa de la ubicación de los cinco pantanos (en azul) muestreados para la toma de muestras de *M. flexuosa*

Estructura poblacional de *M. flexuosa* por pantano

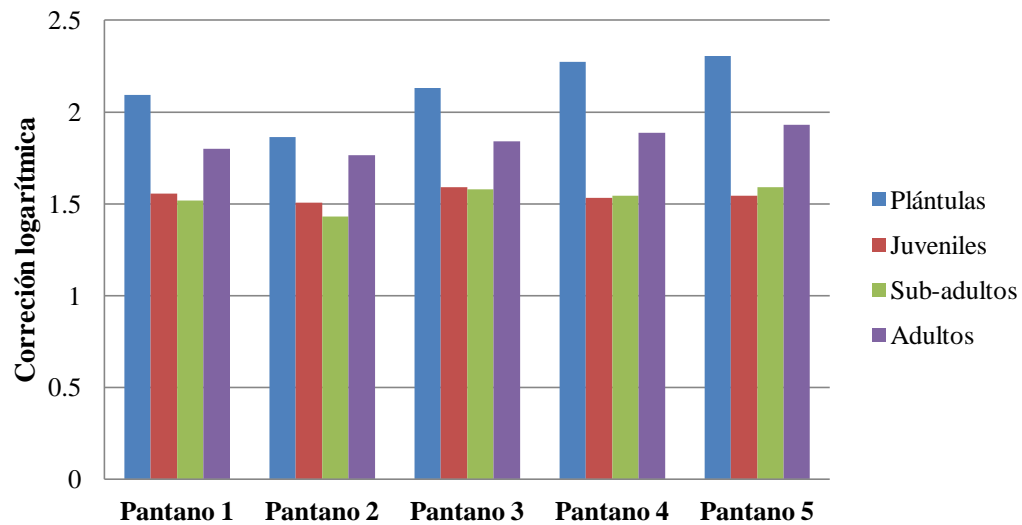


FIGURA 2. Gráfico de barras con corrección logarítmica de la estructura poblacional por estadios (plántulas, juveniles, sub-adultos y adultos) de *M. flexuosa* realizado por pantano en cuadrantes de 250 m x 5 m.

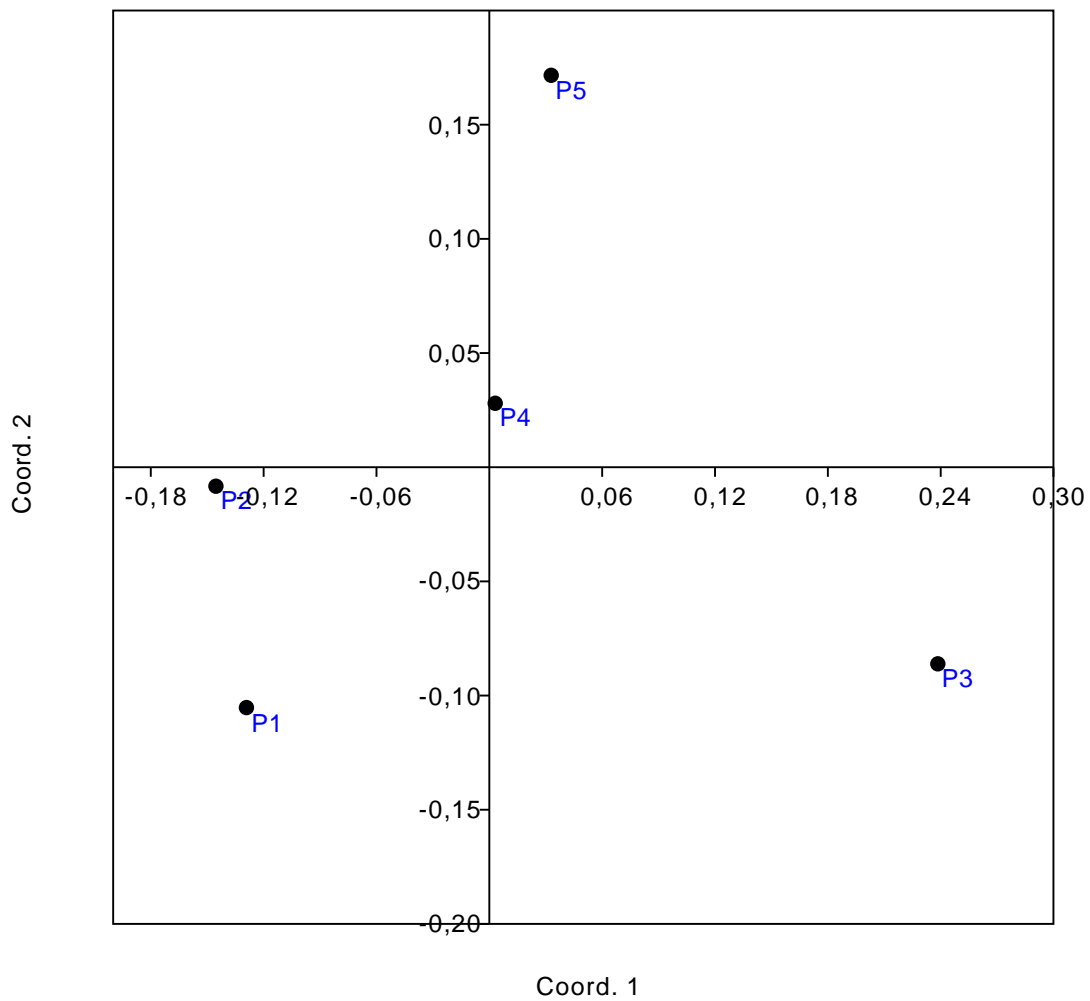


FIGURA 3. PCoA realizado con los datos del análisis de la matriz edáfica de cada pantano de *M. flexuosa* con la prueba de distancias Euclidianas obtenido con el programa PAST. Porcentaje de variación en el primer eje: 53,23%; porcentaje de variación en el segundo eje: 28,14%. P1-P5: Pantanos estudiados.

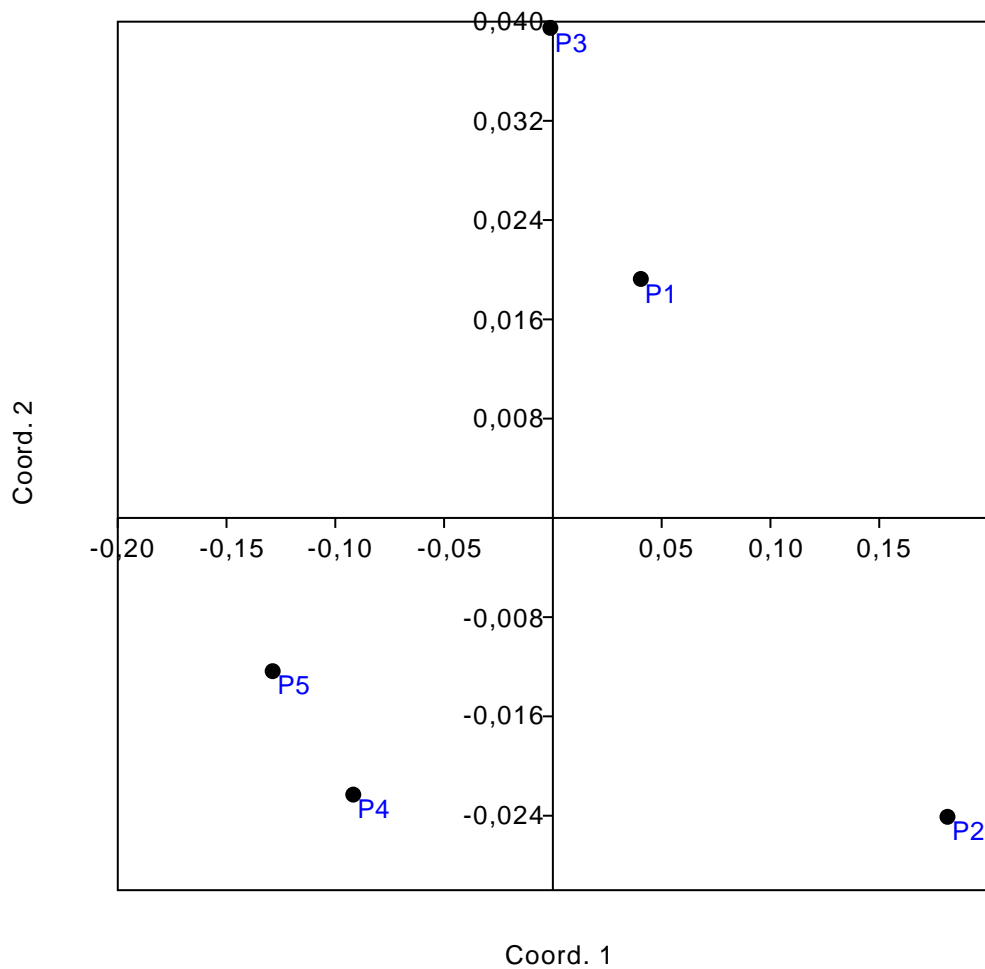


FIGURA 4. PCoA realizado con la matriz de la estructura poblacional en cada pantano de *M. flexuosa* con la prueba de Bray-Curtis obtenido con el programa PAST. Porcentaje de variación en el primer eje: 94,03%; porcentaje de variación en el segundo eje: 4.99%. P1-P5: Pantanos estudiados.

PCoA realizado con la matriz de F_{ST}

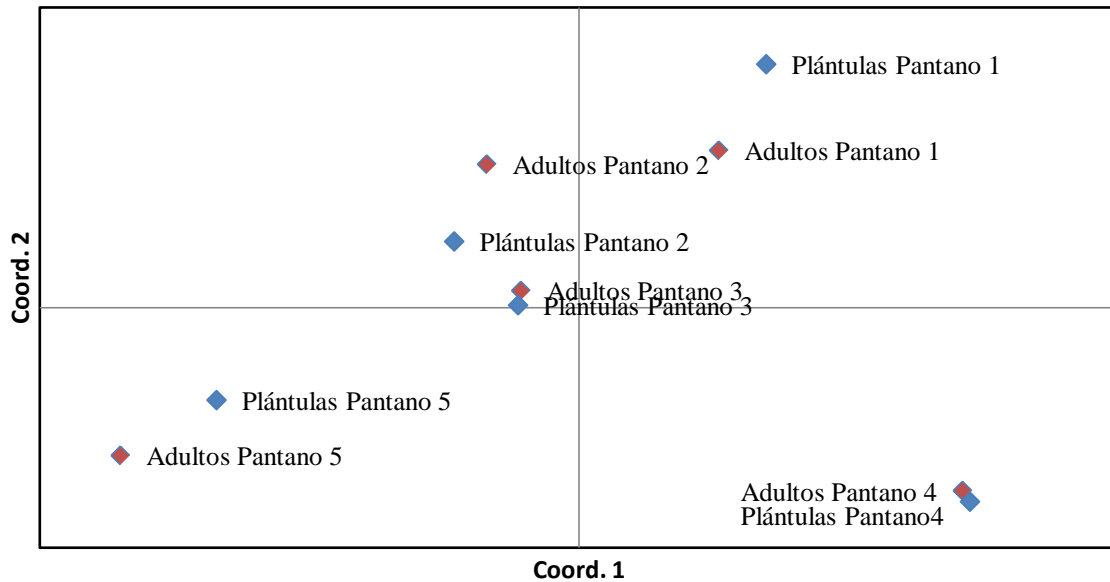


FIGURA 5. PCoA realizado con la matriz M-P+A de los valores F_{ST} entre los cinco pantanos, adultos en color rojo y plántulas en color azul, de *M. flexuosa* obtenido con el programa GenAlex. Porcentaje de variación en el primer eje: 29,81%; porcentaje de variación en el segundo eje: 27,95%.

PCoA realizado con la matriz de D

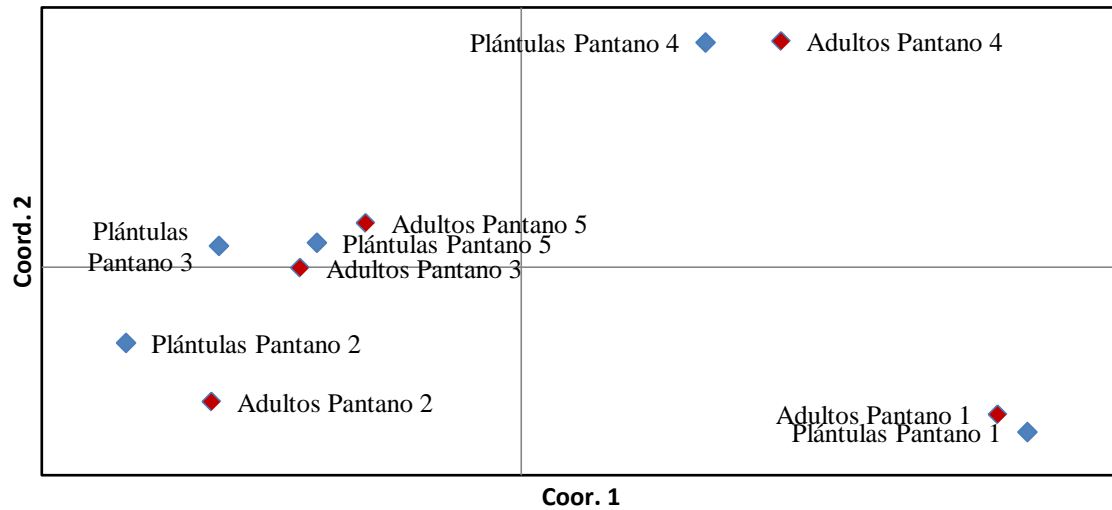


FIGURA 6. PCoA realizado con la matriz M-P+A de los valores D_{est} (Jost, 2008) entre los cinco pantanos, adultos en color rojo y plántulas en color azul, de *M. flexuosa* obtenidos con el programa GenAlex. Porcentaje de variación en el primer eje: 29,82%; porcentaje de variación en el segundo eje: 27,02%.

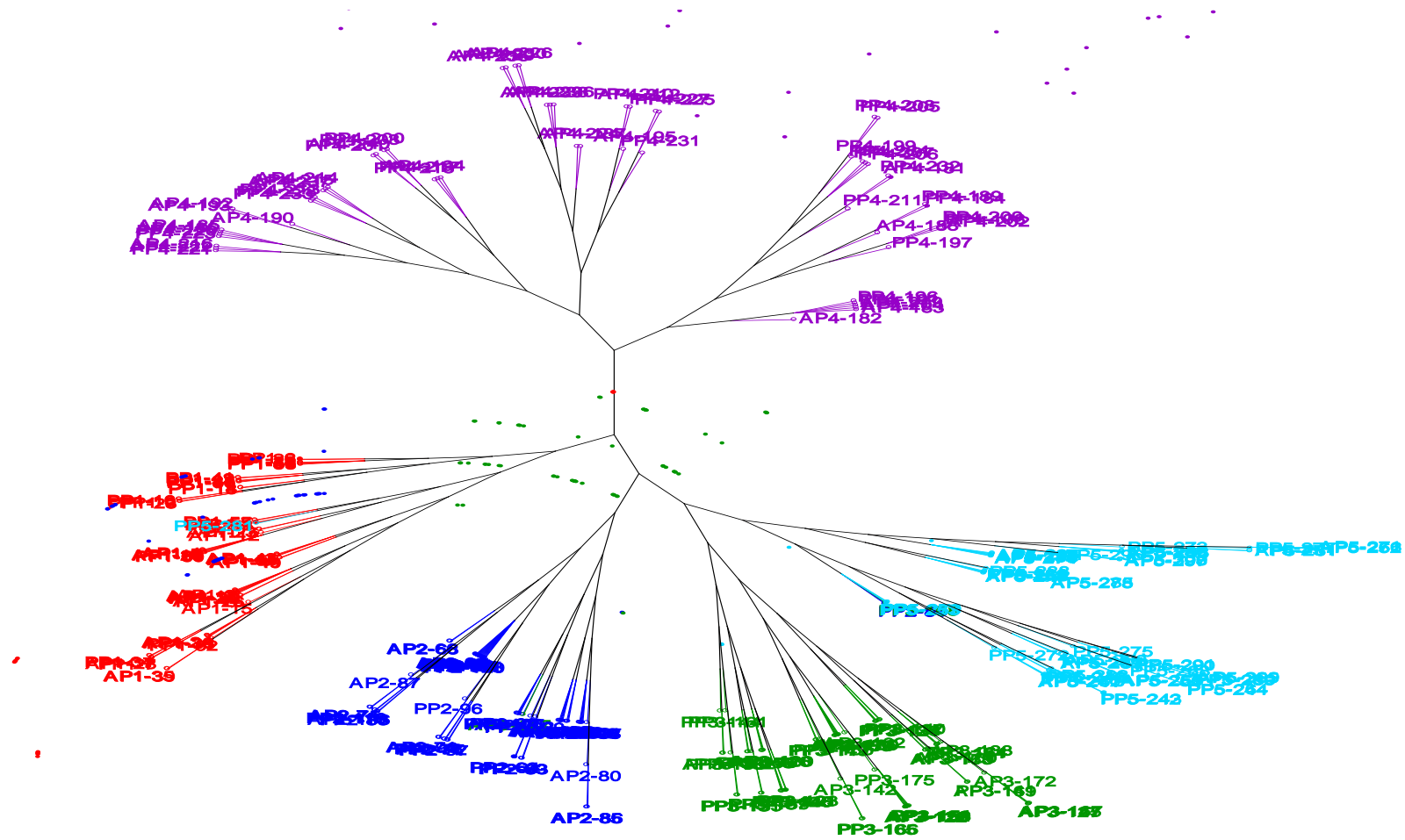


FIGURA 7. Gráfico del análisis con el método de varianza mínima (WARD) de los cinco pantanos de *M. flexuosa*. Pantano 1: color rojo, pantano 2: color azul, pantano 3: color verde, pantano 4: color morado y pantano 5: color celeste.

10. TABLAS

TABLA 1. Resultado del análisis de suelo para cada pantano de *M. flexuosa*. Cationes: Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Na⁺, K⁺. Aniones: CO₃⁻², HCO₃⁻, SO₄⁻², Cl⁻.

Pantanos	pH	% Arcilla	% Materia Orgánica	Conductividad eléctrica	Suma cationes	Suma aniones
1	4,77 (Ácido)	53	17,50 (Alta)	0,18	2,00	3,55
2	4,63 (Ácido)	55	13,10 (Alta)	0,15	1,77	4,71
3	4,67 (Ácido)	25	14,40 (Alta)	0,21	2,42	4,93
4	4,7 (Ácido)	37	12,70 (Alta)	0,18	1,60	3,77
5	4,55 (Ácido)	33	16,30 (Alta)	0,16	1,26	4,87
Promedio	4,66	40,60	14,80	0,17	1,81	4.36

TABLA 2. Estructura poblacional y proporción de sexos en cada pantano de *M. flexuosa* en un transecto de 250 m x 5 m en cada pantano. M: machos; H: hembras. P1-P5: Pantanos estudiados.

Estadios	Altura de estadio (m)	P1	P2	P3	P4	P5	TOTAL
Plántulas	1	124	73	135	187	202	721
Juveniles	1 a 8	36	32	39	34	35	176
Sub-adultos	8 a 16	33	27	38	35	39	172
Adultos	16 a 25	63	58	69	77	85	354
Total Machos	---	24	27	33	31	30	145
Total Hembras	---	39	31	36	46	55	207
Proporción sexos (M/H)	---	1:1,62	1:1,14	1:1,09	1:1,48	1:1,83	---

TABLA 3. Resumen de los valores p del análisis de desequilibrio ligado por cada par de locus para cada pantano (método de Fisher) de *M. flexuosa* obtenidos con el programa GenePop. * Valores significativos $p < 0.05$; ** Valores altamente significativos $p < 0.01$; *** Valores altamente significativos $p < 0.001$, no mostrados por GenePop.

	Locus1- Locus2	*	**	***
Pantano 1	<i>Mf13-Mf19</i>	0,033		
	<i>Mf13-Mf34</i>			***
	<i>Mf30-Mf34</i>	0,018		
	<i>Mf22-Mf24</i>	0,017		
Pantano 2	<i>Mf13-Mf30</i>	0,025		
	<i>Mf22-Mf17</i>	0,026		
	<i>Mf34-Mf24</i>	0,019		
Pantano 3	<i>Mf13-Mf30</i>	0,029		
	<i>Mf30-Mf14</i>	0,014		
	<i>Mf34-Mf17</i>	0,029		
Pantano 4	<i>Mf19-Mf34</i>	0,027		
	<i>Mf13-Mf14</i>	0,043		
	<i>Mf22-Mf14</i>		0,008	
	<i>Mf34-Mf17</i>	0,037		
	<i>Mf14-Mf17</i>		0,003	
	<i>Mf13-Mf24</i>	0,046		
Pantano 5	<i>Mf19-Mf22</i>	0,040		
	<i>Mf13-Mf14</i>		0,004	
	<i>Mf22-Mf14</i>	0,030		
	<i>Mf14-Mf17</i>	0,046		
	<i>Mf19-Mf24</i>	0,046		

TABLA 4. Valores p del análisis Hardy-Weinberg para cada locus, con su respectiva significación al 95% (*) y 99% (**) en todas las poblaciones de *M. flexuosa* con el programa GenePop.

Locus	P-val	Significación
<i>Mf13</i>	0,0102	*
<i>Mf30</i>	0,0000	**
<i>Mf19</i>	0,0000	**
<i>Mf22</i>	0,0000	**
<i>Mf34</i>	0,0000	**
<i>Mf14</i>	0,0000	**
<i>Mf17</i>	0,0000	**
<i>Mf24</i>	0,0000	**

TABLA 5. Resumen de los resultados de diversidad genética de la matriz M-POP de *M. flexuosa* obtenidos con el programa Arlequin.

Pantano	n	Diversidad alélica (A)	Het observada (Ho)	Het esperada (He)	Alelos únicos	F_{IS}
1	60	7,63	0,58	0,76	11	0,22445**
2	60	8,50	0,50	0,75	13	0,33143**
3	60	7,75	0,49	0,78	13	0,34260**
4	60	7,13	0,54	0,71	15	0,24202**
5	60	7,25	0,51	0,69	6	0,25242**

TABLA 6. Resumen de los resultados de diversidad genética de la matriz M-P+A de *M. flexuosa* obtenidos con el programa Arlequin.

Estadio	n	Diversidad alélica (A)	Het observada (Ho)	Het esperada (He)	Alelos únicos	F_{IS}
Plántulas	150	17,38	0,52	0,88	12	0,40060**
Adultos	150	16,75	0,52	0,89	7	0,39929**

TABLA 7. Valores F_{ST} de la matriz M-POP mostrados en la parte inferior y con su respectiva significación estadística al 99% en la parte superior, entre los pantanos de *M. flexuosa* obtenidos en el programa GenAlex.

Pantano 1	Pantano 2	Pantano 3	Pantano 4	Pantano 5	
0	**	**	**	**	Pantano 1
0,118	0	**	**	**	Pantano 2
0,107	0,099	0	**	**	Pantano 3
0,128	0,133	0,117	0	**	Pantano 4
0,131	0,124	0,110	0,139	0	Pantano 5

TABLA 8. Valores D_{est} (Jost, 2008) de la matriz M-POP mostrados en la parte inferior y con su respectiva significación estadística al 99% en la parte superior, entre los pantanos de *M. flexuosa* obtenidos en el programa GenAlex.

Pantano 1	Pantano 2	Pantano 3	Pantano 4	Pantano 5	
0	**	**	**	**	Pantano 1
0,801	0	**	**	**	Pantano 2
0,781	0,691	0	**	**	Pantano 3
0,794	0,808	0,753	0	**	Pantano 4
0,764	0,693	0,652	0,725	0	Pantano 5

TABLA 9. Valores F_{ST} de la matriz M-P+A mostrados en la parte inferior y con su respectiva significación estadística al 99 % en la parte superior, para cada pantano de *M. flexuosa* obtenidos en el programa GenAlex. P1-P5: Pantanos estudiados.

Adultos P1	Adultos P2	Adultos P3	Adultos P4	Adultos P5	Plántulas P1	Plántulas P2	Plántulas P3	Plántula s P4	Plántulas P5	
0	**	**	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P1
0,130	0	**	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P2
0,108	0,129	0	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P3
0,129	0,162	0,135	0	**	**	**	**	**	**	Adultos P4
0,153	0,173	0,139	0,166	0	**	**	**	**	**	Adultos P5
0,057	0,165	0,145	0,167	0,180	0	**	**	**	**	Plántulas P1
0,122	0,036	0,108	0,139	0,139	0,146	0	**	**	**	Plántulas P2
0,117	0,130	0,033	0,136	0,140	0,149	0,099	0	**	**	Plántulas P3
0,140	0,165	0,135	0,036	0,168	0,169	0,136	0,130	0	**	Plántulas P4
0,129	0,145	0,116	0,144	0,036	0,157	0,109	0,115	0,150	0	Plántulas P5

TABLA 10. Valores D_{est} (Jost, 2008) de la matriz M-P+A mostrados en la parte inferior y con su respectiva significación estadística al 99 % en la parte superior, para cada pantano de *M. flexuosa* obtenidos en el programa GenAlex. P1-P5: Pantanos estudiados.

Adultos P1	Adultos P2	Adultos P3	Adultos P4	Adultos P5	Plántulas P1	Plántulas P2	Plántulas P3	Plántulas P4	Plántula s P5	
0	**	**	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P1
0,787	0	**	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P2
0,719	0,750	0	**	**	**	**	**	**	**	Adultos P3
0,769	0,862	0,786	0	**	**	**	**	**	**	Adultos P4
0,792	0,793	0,683	0,744	0	**	**	**	**	**	Adultos P5
0,262	0,839	0,818	0,843	0,789	0	**	**	**	**	Plántulas P1
0,837	0,140	0,690	0,811	0,678	0,819	0	**	**	**	Plántulas P2
0,811	0,771	0,141	0,803	0,698	0,854	0,627	0	**	**	Plántulas P3
0,815	0,847	0,749	0,119	0,727	0,821	0,755	0,727	0	**	Plántulas P4
0,773	0,756	0,651	0,742	0,106	0,786	0,602	0,660	0,750	0	Plántulas P5

TABLA 11. AMOVA de las poblaciones de *M. flexuosa* calculado en el programa Arlequin en base a la matriz M-POP.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	4	368,333	0,73699	20,56**
Dentro de poblaciones	595	1690,708	2,84822	79,45**
Total	599	2059,042	3,58521	

11. ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo de extracción manual de ADN para palmas Doyle & Doyle 1987 – Modificado.

1. Se maceró 0,1 gr de tejido totalmente seco y se adicionó 0.02 gr de Polivinilpirrolidon (PVPP) en polvo hasta obtener un polvo fino.
2. Se colocó el polvo fino en tubos eppendorf de 1,5 ml y se agregó 750 μ l de CTAB 2x, previamente calentado a 65 °C. Se adjuntó en cada tubo 3 μ l de β -mercaptoetanol (0,1%).
3. Se incubó todos los tubos por una hora en baño maría a 65 °C.
4. Se dejó enfriar y se adicionó 750 μ l de cloroformo-isoamil (24:1).
5. Se centrifugó los tubos por diez minutos a 14000 rpm.
6. Se separó el sobrenadante en eppendorf de 1,5 ml y se contabilizó la cantidad recuperada (aproximadamente 500 μ l).
7. Se añadió la misma cantidad que se recuperó de sobrenadante de cloroformo-isoamil (24:4).
8. Se mezcló por cinco minutos a mano y se centrifugó por diez minutos a 14000 rpm.
9. Se separó el sobrenadante en eppendorf de 1.5 ml y se contabilizó la cantidad recuperada (aproximadamente 250 μ l).
10. Se colocó 2/3 de isopropanol frío del volumen recuperado y se dejó precipitar por toda la noche a -20 °C.
11. Al día siguiente se centrifugó a los tubos por diez minutos a 14000 rpm (Se observó un pellet de color blanco).

12. Se retiró el isopropanol de los tubos y se lavó el pellet con 1 ml de etanol al 75% por diez minutos.
13. Se retiró el etanol y se dejó secar el pellet a temperatura ambiente hasta que estuvo totalmente seco.
14. Se resuspendió al ADN con 150 μ l de buffer de elución (E1) y se incubó a 37 °C por 45 minutos.
15. Se cuantificó la cantidad de ADN obtenido.

ANEXO 2. Tabla de primers específicos para *Mauritia flexuosa* (Federman *et al.*, 2011)usados en este trabajo. T_A: Temperatura de Annealing, pb: pares de bases.

LOCUS	SECUENCIA (5' - 3')	MOTIVO DE REPETICIÓN	T _A (°C)	Tamaño (pb)
<i>Mf13</i>	F: TTACAAGCGACCCCTCGTC R: CGTCGAATAGGGTTTCAGTGG	(CT)14	57	230-264
<i>Mf14</i>	F: TAGGTCCTGCTTCTGTGCC R: TGGATCCGGTCCGTTGATAG	(TC)22	54	233-275
<i>Mf17</i>	F: GACAGCTTGTCATCCTCGC R: TTCCATCCCAGTTCTCCCC	(GA)18	54	210-232
<i>Mf19</i>	F: AGCCACGTGACACTCTACC R: CTATAGGACCGGCCACCTG	(CT)10	57	239-261
<i>Mf22</i>	F: GCATGGTGTAGCTCGTATCTG R: CGCACCATACTTGGCTTGC	(CT)15(GT)17	57	226-276
<i>Mf34</i>	F: GGACAGTTGCCTGTCTTGC R: CAAAGCTAGCACAAACCTGGG	(TC)14	57	180-220
<i>Mf24</i>	F: TCACATTAGTAGTCAAGGGTAGC R: GGGTGTTAAGCATTCGGGC	(TC)20	54	189-215
<i>Mf30</i>	F: GAGGGGAGCTTCCTTGCTG R: ATTGGCGAAGGTCCAGGG	(CT)14	57	231-245

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Esteban Andrés Recalde Redrován, C.I 171875695-8 autor del trabajo de graduación intitulado: “Estructura genética de *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) en el Parque Nacional Yasuní (PNY)”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en la Facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 26 de Abril de 2013

Sr. Esteban Andrés Recalde Redrován

C.I. 171875695-8