

# AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

Por:

Pedro Jesús Rocha Salavarieta<sup>1</sup>, Eileen Rocío Meléndez<sup>2</sup> y Leonardo Rey Bolívar<sup>3</sup>

## RESUMEN

Los cultivos de palma de aceite en el mundo provienen, en su mayoría, de cuatro palmas mantenidas en el jardín botánico de Bogor. Sin embargo, la evidencia experimental sugiere que el centro de origen de la palma de aceite, *Elaeis guineensis* Jacq., está en el continente Africano. Para desarrollar el cultivo de la palma de aceite en Colombia, es necesario ampliar la estrecha base genética de esta especie. Por esta razón, Cenipalma ha llevado a cabo prospecciones y colectas de material en cinco regiones naturales de la República de Angola. Alrededor de 44 accesiones (120 semillas por accesión) fueron colectadas, las semillas germinadas y las palmas establecidas bajo condiciones de campo en el Campo Experimental Palmar de La Vizcaína (Barrancabermeja). En el presente artículo, se reportan los resultados del análisis de caracterización molecular, basados en la amplificación de 16 loci microsatélites, de 72 genotipos, en representación de cinco poblaciones, de la colección de *E. guineensis* de Cenipalma. Si bien los materiales evaluados mostraron una variabilidad genética mayor que la reportada en la literatura para estudios similares de esta especie, se presenta alta similaridad (baja diferenciación genética,  $F_{ST}=0,0484$ ) entre los individuos, lo cual permite concentrar la variabilidad total mediante la selección de unos pocos individuos. Se presentan las medidas de variabilidad y diferenciación genética para estas poblaciones.

Palabras Claves: *Elaeis guineensis* Jacq., microsatélites, variabilidad genética

## ABSTRACT

Oil palm cultivars come from four oil palms located at Bogor's botanical garden. However, experimental evidence suggests that the centre of origin of the oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq., is the African continent.

In order to develop oil palm cultivars in Colombia, it is necessary to increase the narrow genetic base currently available. For this reason, Cenipalma carried out prospections and collections of oil palm material in five natural regions of the Republic of Angola. Around 44 accessions (120 seeds per accession) were collected, seeds were germinated and young palms were grown under field conditions at the Experimental Station Palmar de La Vizcaína (Barrancabermeja). In this paper, we report results of the molecular analysis, based in amplification of 16 microsatellite loci, of 72 genotypes, representing five populations, from Cenipalma's *E. guineensis* germplasm collection. Evaluated plants showed a higher genetic variability when compared to similar studies on this species, although populations displayed high similarity (low genetic differentiation,  $F_{ST}=0,0484$ ). The high similarity between individuals of the different species allows representing the full variation by selecting few individuals. Variability and genetic differentiation measurements are presented.

Keywords: *Elaeis guineensis* Jacq., genetic variation, microsatellites

## INTRODUCCIÓN

La base genética de los materiales comerciales de palma de aceite, *Elaeis guineensis* Jacq., empleados para establecer los cultivos en el mundo está basada en cuatro palmas que estuvieron localizadas en el Jardín Botánico de Bogor (Indonesia) [3, 5]. El cultivo está adaptado, y en consecuencia, consolidado en Asia, específicamente en Malasia e Indonesia, mientras que en América Latina, en particular en Colombia, el cultivo de *E. guineensis* se encuentra en plena expansión. Sin embargo, las diferentes condiciones medioambientales de cada una de las zonas palmeras colombianas y la presencia de enormes problemas asociados con plagas y enfermedades hacen que el desarrollo del cultivo tenga que basarse en la generación de nuevos materiales.

Con el objeto de ampliar la base genética de los materiales presentes en Colombia, el programa de va-

<sup>1</sup> Biólogo, Ph.D., Investigador titular, Director Laboratorio de Caracterización Molecular, Cenipalma. Calle 21 No. 42C-47, Bogotá, Colombia. E-mail: pedro.rocha@cenipalma.org

<sup>2</sup> Ingeniera biotecnológica E-mail: eileenrocio@gmail.com

<sup>3</sup> Ingeniero Agrónomo, M.Sc., Director División de Variedades, Cenipalma. E-mail: leonardo.rey@cenipalma.org

## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

riedades de Cenipalma inició, desde el año 2002, la conformación de colecciones de germoplasma de *E. guineensis* con prospecciones en el continente africano. En la República de Angola, se recolectaron materiales representativos de diferentes ambientes (litoral seco, litoral húmedo y de montaña) en cinco regiones naturales. Se seleccionaron 44 accesiones (120 semillas por accesión), de las cuales 38 fueron tipo Dura y seis tipo Ténera [14]. Las semillas de las accesiones colectadas se sembraron en el C. E. Palmar de La Vizcaína (Barrancabermeja) para garantizar la replicabilidad, conservación y utilización del material genético.

En una primera fase, el Laboratorio de Caracterización Molecular (LCM) realizó la evaluación de 45 de los aproximadamente 2000 genotipos de *E. guineensis* provenientes de Angola. Los resultados obtenidos mostraron que algunos de los materiales colectados presentaban una variabilidad genética mayor [10], cuando se comparaba con los reportes de caracterización previamente presentados en la literatura para materiales africanos [2, 7].

Concientes de la importancia de los materiales africanos presentes en la colección de germoplasma de Cenipalma, se propuso complementar la estimación de la variabilidad genética del banco de germoplasma de *E. guineensis* proveniente de Angola e inferir su estructura genética mediante el empleo de metodologías previamente estandarizadas y utilizadas de manera rutinaria en el LCM [1, 4, 10, 15]. Así, en el presente artículo se presentan resultados de la caracterización de 27 materiales que aumentaron el cubrimiento del análisis a 72 genotipos, disminuyendo de esta manera los posibles efectos de población pequeña en los análisis estadísticos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Muestreo

El muestreo se realizó en el lote de la colección de germoplasma de *E. guineensis* de Angola de Cenipalma, ubicado en el Campo Experimental Palmar de La Vizcaína (Barrancabermeja, Santander). Dos folíolos de hojas de palmas jóvenes fueron empacados en bolsas de papel y transportados vía terrestre hasta el

LCM (Cenipalma, Bogotá). Una vez en el laboratorio, los folíolos fueron mantenidos a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

#### Extracción y cuantificación del ADN

El ADN fue extraído mediante metodología previamente descrita [1]. La cuantificación y verificación de la calidad del ADN se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa 0,7%, teñido con bromuro de etidio (0,5 mg/L).

#### Amplificación de microsatélites

Se emplearon 19 combinaciones diferentes de cebadores, previamente reportados por [4] y empleados de manera rutinaria en el LCM [10] para amplificar los alelos de cada una de las 27 muestras. Como molde, fueron empleadas alícuotas de 50 ng de ADN en una reacción de PCR de 25  $\mu\text{l}$ , que contenía solución tampón de PCR 1X (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4 y KCl 50 mM); MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM; dNTP 200  $\mu\text{M}$ ; 1 U de Taq DNA polimerasa (Invitrogen Life Technologies) y 0,2  $\mu\text{M}$  de cada cebador (forward y reverse). La reacción de amplificación se realizó en un termociclador PTC 100® (MJ Research) bajo las siguientes condiciones: 1 minuto a  $95^{\circ}\text{C}$  (desnaturalización inicial), seguido por 35 ciclos de amplificación, comprendidos entre los siguientes intervalos de temperatura:  $94^{\circ}\text{C}$  durante 30 segundos;  $52^{\circ}\text{C}$  durante 1 minuto y  $72^{\circ}\text{C}$  durante 2 minutos. Un paso de extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 8 minutos.

#### Separación y visualización

La verificación del producto de amplificación se realizó mediante electroforesis en gel desnaturalizante de poliacrilamida 6% y urea 5M, según el protocolo establecido en el LCM [1]. Las muestras se dejaron migrar durante 1 hora 15 minutos a  $50^{\circ}\text{C}$  de temperatura y 100 vatios constantes de potencia, generados por una fuente de poder Power Pac 3000 (Bio-Rad). Como marcadores de peso molecular se usaron marcador ADN de 25 pb y de 10 pb (Cat. 10597-011 y 10821-015, *Invitrogen*). Los geles fueron teñidos con nitrato de plata según la metodología descrita por [9], la cual brevemente se describe a continuación.

Se colocó el gel (con el vidrio) en una cubeta con solución fijadora (5 ml/L de ácido acético y 100 ml/L de etanol al

## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

95%) durante 10 minutos. Luego de la fijación, se introdujo el gel en solución oxidante (ácido nítrico 65%) durante 6 minutos. Posteriormente se hicieron dos lavados con agua destilada desionizada, el primero durante 40 s y el segundo, 20 s. El gel lavado se pasó a una solución de tinción (2 g/L de nitrato de plata) durante 20 minutos. Después, se realizó doble lavado con agua destilada desionizada, 40 y 20 segundos, cada uno. Para el revelado de las bandas, el gel se incubó en solución de revelado (30g/L de carbonato de sodio y 540  $\mu$ L/L de formaldehído 37%) primero durante un minuto y luego en solución de revelado fresca hasta que las bandas se hicieron visibles. Finalmente, se llevó el gel a una solución de parada (ácido acético 5%) durante 5 minutos con posterior lavado en agua destilada desionizada, durante 5 minutos. Los geles se dejaron secar a temperatura ambiente. Las bandas presentes en los geles secos se registraron con un escáner HP ScanJet XPA en formato JPEG y se almacenaron en la base de datos del LCM.

### Análisis de bandas

Los datos considerados para el análisis aquí presentado incluyen los generados para 30 materiales estudiados por [9], que complementan los 42 previamente evaluados por [10]. En total el análisis conjunto incluye 72 palmas provenientes de Angola y mantenidas en el C. E. Palmar de La Vizcaína.

Para cada locus se determinó el número de alelos amplificados, utilizando como referencia los patrones de amplificación previamente reportados [4, 10]. El peso molecular de las bandas fue registrado y se codificaron en una matriz binaria donde "1" indicó presencia y "0" ausencia. Adicionalmente, se generó otra matriz en la que se codificaron (con letras mayúsculas) los alelos presentes en cada locus.

Para evaluar la cantidad de variación genética dentro de las poblaciones, se estimaron los parámetros: porcentaje de loci polimórficos ( $P$ , criterio del 99%); número medio de alelos por locus ( $A$ ), número efectivo de alelos por locus ( $A_e$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad promedio esperada ( $H$ ). Para estimar la estructura poblacional se calcularon los estadísticos  $F$  [10, 20].

Para complementar los análisis se estimaron las re-

laciones genéticas entre las poblaciones, mediante análisis de similitud y análisis de clasificación con el programa NTSys versión 2.11 [16]. Se estimaron las diferencias entre poblaciones en términos de su distancia genética mediante el empleo del índice de Nei [11]. La matriz de distancia para todas las poblaciones permitió agruparlas y construir dendrogramas empleando los métodos UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average*, [18]) y el de vecinos cercanos [17]. La matriz de similaridad fue transformada a un producto escalar con la función Dcenter (double center) de NTSys y se calcularon los valores y vectores Eigen [6]. El ordenamiento de los grupos en gráficas bidimensionales se realizó con la función Eigen de NTSys. De igual manera, se estimaron las relaciones genéticas entre los individuos de las poblaciones, mediante los métodos anteriormente enunciados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis poblacional

En total, 72 palmas, incluidas 30 reportadas por [9] y 42 de las estudiadas por [10], fueron empleadas en los análisis aquí presentados. Dichos materiales fueron evaluados con 18 combinaciones de cebadores específicos [4] que permitieron amplificar 18 loci microsatélites. El locus mEgCIR0134 se comportó como un doble locus (-A y -B), en consecuencia, se consideró como un locus adicional, obteniendo así amplificación para 19 loci. En total, se amplificaron 49 alelos (Tabla 1), con tamaños entre 85 y 350 pares de bases (pb).

Un locus se considera polimórfico cuando presenta más de un alelo. Aquí, 16 (84,2%) de los 19 loci amplificados fueron polimórficos (Tabla 1). Para los tres loci restantes fue posible amplificar solo un alelo por locus, en consecuencia, fueron eliminados para el análisis de la variabilidad genética dentro de las poblaciones (Tabla 1). Aquí, se presentan resultados de las frecuencias alélicas de 49 alelos de 16 loci para las cinco poblaciones.

La media de alelos por locus polimórfico fue de 3,06 (Tabla 1) con rango de dos a cinco alelos. Estos valores son ligeramente menores que los reportados por [10], pero es necesario considerar que tal análisis fue

## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

Tabla 1. Variabilidad genética para los 21 loci microsatélites amplificados en 72 materiales (seis poblaciones) *E. guineensis* provenientes de Angola. Un locus se consideró polimórfico cuando la frecuencia de su alelo más común no excedió 0,95. Los nombres de los loci son los reportados por [4] Las estimaciones, realizadas con el programa Popgene, se llevaron a cabo utilizando solamente los loci polimórficos. Ao= número de alelos observados; Ae= número efectivo de alelos [8]; Ho= heterocigocidad observada; H= heterocigocidad esperada según Nei [12],  $F_{IS}$ = índice de fijación de Wright [21],  $F_{IS} = (H - H_o)/H$ ;  $F_{ST}$ = coeficiente de diferenciación genética.

Locus	Alelo	Tamaño aprox. (pb)	Frecuencia alélica	Tamaño de muestra	Ao	Ae	Ho	H	$F_{IS}$	$F_{ST}$	Nm
<b>A. Loci monomórficos</b>											
mEgCIR0326	A	275	1,0000	82	1	1,000	0,000	0,000			
mEgCIR0377	A	149	1,0000	66	1	1,000	0,000	0,000			
mEgCIR0391	A	297	1,0000	42	1	1,000	0,000	0,000			
<b>B. Loci polimórficos</b>											
mEgCIR0008	A	220	0,1449	138	4	2.8663	0,6522	0,6511	-0,0528	0,0341	7,0788
	B	215	0,1739								
	C	210	0,1594								
	D	200	0,5217								
mEgCIR0009	A	180	0,3561	132	2	1.8469	0,4394	0,4586	-0,0421	0,0254	9.5776
	B	176	0,6439								
mEgCIR0018	A	177	0,4917	120	2	1.9994	0,8167	0,4999	-0,6709	0,0175	14,0282
	B	175	0,5083								
mEgCIR0046	A	230	0,1308	130	4	1.9592	0,3538	0,4896	0,2169	0,0403	5.9507
	B	225	0,6846								
	C	220	0,1538								
	D	210	0,0308								
mEgCIR0067	A	187	0,5571	140	3	2.4457	0,1571	0,5911	0,7462	0,0896	2.5411
	B	175	0,2071								
	C	163	0,2357								
mEgCIR0221	A	213	0,3636	132	3	2.4254	0,4545	0,5877	0,2125	0,0150	16.4143
	B	200	0,1212								
	C	195	0,5152								
mEgCIR0230	A	350	0,2818	110	3	2.8390	0,6545	0,6478	-0,0185	0,0393	6.1098
	B	330	0,2727								
	C	325	0,4455								
mEgCIR0304	A	114	0,7676	142	2	1.5547	0,4366	0,3568	-0,2624	0,0342	7,0637
	B	106	0,2324								
mEgCIR0332	A	147	0,4394	132	3	2.3700	0,7424	0,5781	-0,3084	0,0098	25.2727
	B	145	0,0909								
	C	131	0,4697								
mEgCIR0350	A	281	0,0492	122	2	1.1032	0,0984	0,0935	-0,1153	0,0659	3.5453
	B	269	0,9508								
mEgCIR0353	A	102	0,1226	106	4	3.6175	0,3585	0,7236	0,4221	0,0840	2.7249
	B	90	0,2642								
	C	88	0,3491								
	D	85	0,2642								
mEgCIR1772	A	187	0,1525	118	4	3.6623	0,1695	0,7269	0,7644	0,0490	4.8571
	B	180	0,2288								
	C	178	0,2542								
	D	175	0,3644								
mEgCIR0437	A	198	0,3881	134	2	1.9045	0,0896	0,4749	0,7916	0,0866	2.6353
	B	196	0,6119								
mEgCIR0465	A	137	0,2090	134	4	3.2400	0,5522	0,6914	0,1370	0,0345	6.9891
	B	135	0,3955								
	C	134	0,0746								
	D	125	0,3209								
mEgCIR0134-A	A	180	0,7895	114	2	1.4979	0,3158	0,3324	0,0135	0,0672	3.4676
	B	179	0,2105								
mEgCIR0134-B	A	162	0,1864	118	5	4,0220	0,5763	0,7514	0,1287	0,0822	2.7930
	B	161	0,2034								
	C	160	0,2712								
	D	158	0,0254								

## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

realizado con 45 individuos de las mismas poblaciones, e incluyó un grupo externo de cuatro palmas tipo Dura, el cual ciertamente contribuyó al incremento mencionado. Es de anotar que los valores obtenidos en el presente estudio son mayores que los encontrados en otros experimentos, realizados en el LCM, con poblaciones de *E. guineensis* tipo Dura [19].

La heterocigocidad media observada para los 16 loci polimórficos fue de 0,4292, valor cercano a 0,4549, reportado por [10]. El valor más alto (0,7424) fue para el locus mEgCIR0332 y el más bajo (0,0896) para el locus mEgCIR0437 (Tabla 1).

Los índices de variabilidad para las seis poblaciones fueron calculados empleando el programa Popgene (Tablas 1 y 2). El número medio de individuos por población fue de 15, en contraste con los ocho reportados por [10]. La población con el menor número de individuos fue D (Benguela), con ocho palmas. La población C incluyó el mayor número de individuos con 18. El número medio de alelos diferentes observados en cada población estuvo entre 2,6875 (población D) y 3,0625 (población C). El número medio de alelos efectivos fue de 2,31 (desviación estándar = 0,1).

Dentro de las cinco poblaciones evaluadas, el polimorfismo medio de los loci fue de 93,17% (mayor que 85,71% reportado por [10]). Las frecuencias observadas muestran claramente el efecto de la alogamia. Adicionalmente, se observó mayor variabilidad genética intrapoblacional que interpoblacional. La heterocigocidad media observada ( $\hat{H}_o$ ) fue en promedio de 0,434, con rango entre 0,3997 (población E) y 0,4830 (población D). Estos valores indican, por ejemplo, que para la población D, el 48,3% de las palmas analizadas fueron heterocigotas para cualquiera de los loci analizados. La diversidad genética o heterocigocidad media esperada ( $\hat{H}$ ) para las poblaciones fue de 0,515. Si bien este valor fue mayor que los reportados para la misma especie con otros marcadores (por ejemplo, [7]  $H_e=0,18$  con isoenzimas y [2]  $H_e=0,14$  con RFLP), fue ligeramente mayor al 0,4549 reportado por [10] y más cercano al obtenido por [4] para *E. guineensis* (0,68). Los errores estándar de  $\hat{H}_o$  y  $\hat{H}$  fueron de 3,2% y 2,0%, respectivamente, lo cual implica que se la estimación fue precisa. Además, el hecho de que las cinco poblaciones posean valores cercanos a la media, sugiere que estas no están conformadas por individuos altamente

contrastantes, lo cual se refleja en los dendrogramas obtenidos (Fig. 1 A y B).

Los valores de índice de fijación de Wright [20] o coeficientes de endogamia ( $F_{IS}$  que representa la correlación entre el número de alelos homólogos dentro de los individuos con referencia a la población local) se presentaron en un rango entre 0,0309 (población D) y 0,2170 (población E), con media de 0,156 (Tabla 1). Los valores positivos obtenidos para todas las poblaciones (Tabla 2) indican aún valores intermedios pero con tendencia hacia la homocigocidad ( $F_{IS}$  varía entre  $-1$ , exceso de heterocigotos, hasta  $+1$ , exceso de homocigotos). Esta apreciación difiere a la presentada por [10], pues el valor reportado allí ( $F_{IS}=-0,0604$ ) sugería tendencia a la heterocigocidad.

Por su parte, el grado de diferenciación genética entre poblaciones, que cuantifica la diferenciación entre y dentro de poblaciones y está definido por el índice de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ), tuvo una media para los 16 loci en las cinco poblaciones de 0,0484 (Tabla 1), lo cual indica que el 4,84% de la variación total estaría justificada por la poca diferencia genética entre poblaciones [10, 21]. Este valor promedio incluye un rango que va desde 0,0098 (poca diferenciación genética) hasta 0,0896 (diferenciación genética moderada).

El valor medio de flujo de genes ( $N_m$ ) fue de 4,9125 (Tabla 1), valor muy alto que al ser mayor que 1 indica que todas las poblaciones evolucionaron juntas. La baja diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) se explica por la alta tasa efectiva de migración ( $N_m$ ), lo cual hace que no existan alelos fijos por población y, en consecuencia, no se distingan las poblaciones por origen geográfico por posible intercambio de polen entre individuos [10].

### Relaciones entre poblaciones

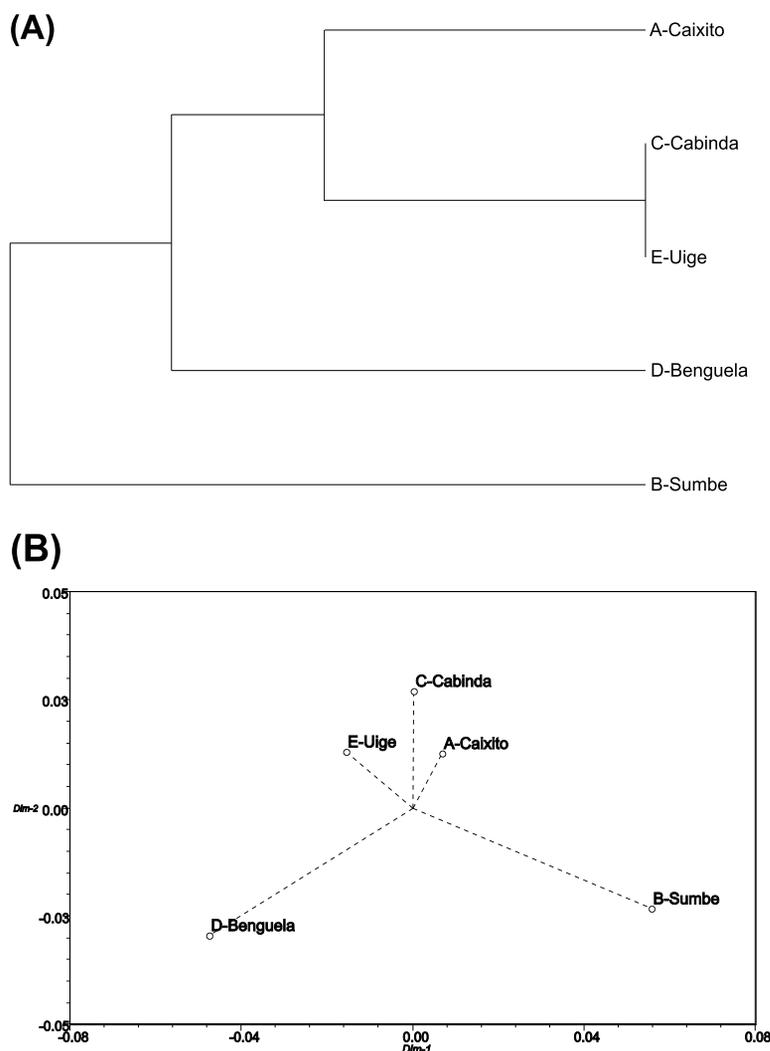
Con base en su similitud genética, las cinco poblaciones evaluadas no conforman grupos estadísticamente diferentes basados en su similitud genética (Fig.1).

AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

Tabla 2. Variabilidad genética estimada para las seis poblaciones de *E. guineensis*, basada en 72 individuos y en el análisis de 16 loci polimórficos.  $\hat{A}_o$ = número medio de alelos observados;  $\hat{A}_e$ = media del número efectivo de alelos [8]; P: porcentaje de loci polimórficos en cada población;  $\hat{H}_o$ = media de la heterocigocidad observada;  $\hat{H}$ = media de la heterocigocidad esperada de Nei [12];  $F_{IS}$ = Coeficiente de endogamia o índice de fijación de Wright [21],  $F_{IS} = (\hat{H} - \hat{H}_o) / \hat{H}$ . Los errores se muestran entre paréntesis.

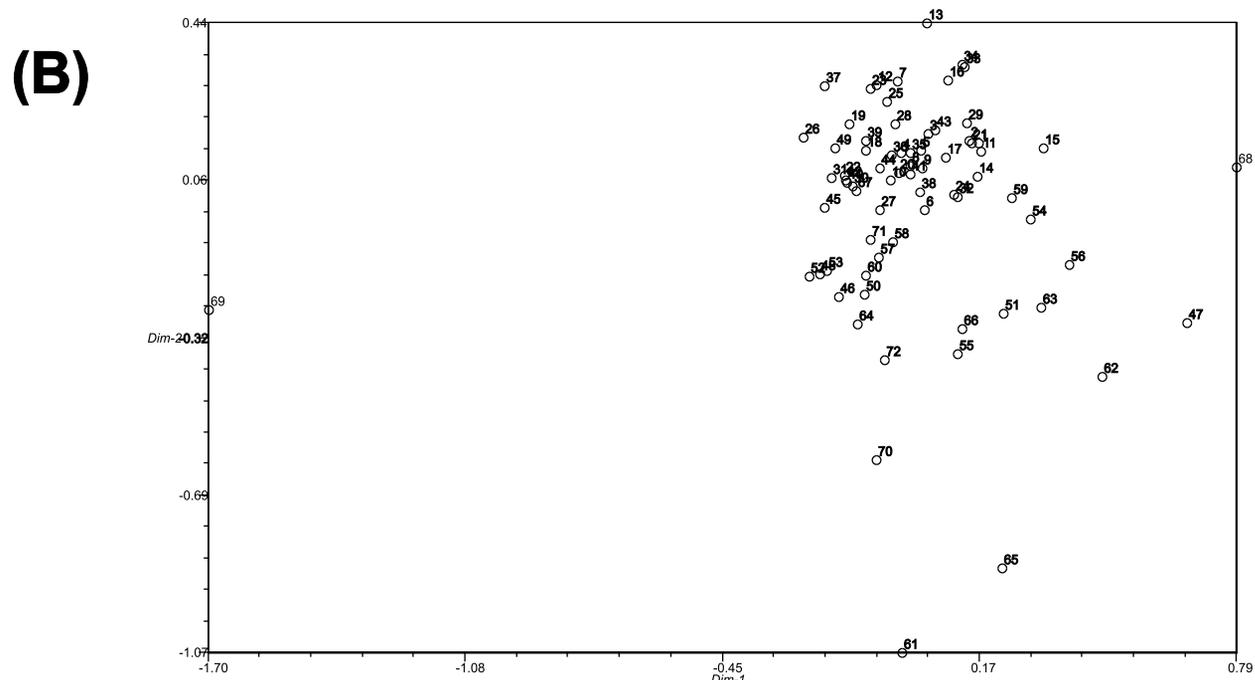
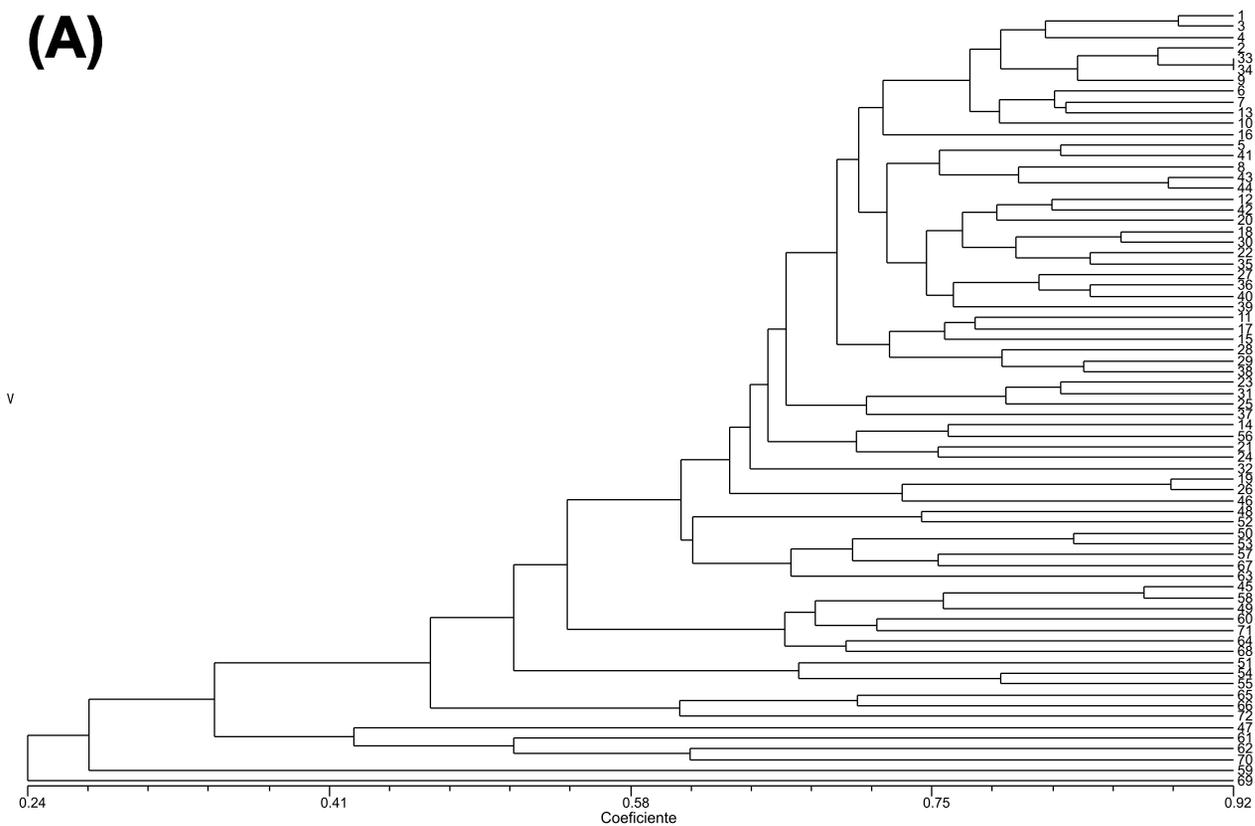
Población	Individuos	$\hat{A}_o$	$\hat{A}_e$	P (%)	$\hat{H}_o$	$\hat{H}$	$F_{IS}$
A - Caixito	17	3,0000 (1,0954)	2,2520 (0,8179)	93,75	0,4102 (0,2786)	0,4935 (0,1989)	0,1688
B - Sumbe	15	2,8750 (1,0247)	2,4591 (0,8923)	93,75	0,4354 (0,2609)	0,5388 (0,1818)	0,1919
C - Cabinda	18	3,0625 (0,9979)	2,3391 (0,6766)	100,00	0,4412 (0,2202)	0,5334 (0,1499)	0,1729
D - Benguela	8	2,6875 (0,8732)	2,1876 (0,6447)	93,75	0,4830 (0,2857)	0,4984 (0,1746)	0,0309
E - Uige	17	3,0000 (0,8944)	2,3129 (0,7862)	84,62	0,3997 (0,2486)	0,5105 (0,1892)	0,2170
Media	15	2,93	2,31	93,17	0,434	0,515	0,156

Figura 1. Relaciones de similitud entre las poblaciones evaluadas. La matriz de distancia genética fue calculada en Popgene según [11]. (A) Agrupamiento con el método UPGMA (B) Ordenamiento con base en vectores Eigen [6].



AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

Figura 2. Relaciones de similitud entre las 72 palmas de las seis poblaciones evaluadas. La matriz de distancia genética fue calculada según [11]. (A) Agrupamientos con el método UPGMA [18], (B) Ordenamiento con base en vectores Eigen [6].



## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

Sin embargo, se pueden apreciar algunas tendencias, por ejemplo, se pueden establecer relaciones de cercanía genética entre las poblaciones de C (Cabinda) y E (Uige). Estas poblaciones se encuentran al norte de Angola [14]. El grupo de C y E se asocia con la población A (Caixito), localizada también al norte. Por su parte las poblaciones D (Benguela) y B (Sumbe) serían las que más se diferencian del grupo anteriormente formado (Fig. 1 A). Sin embargo, las agrupaciones formadas no se correlacionan con las distancias geográficas, además, la "distribución" artificial se confirma cuando se analizan las relaciones entre individuos.

### Análisis entre individuos

Con el objeto de establecer relaciones entre los individuos de las diferentes poblaciones analizadas, se realizaron análisis de similitud, de agrupamiento y de ordenamiento (Fig. 2). Los índices de Nei [11] y Nei y Li [13] fueron elegidos debido a la condición diploide de la palma de aceite y a la naturaleza codominante de los microsatélites.

Al analizar el dendrograma con agrupamiento UPGMA y (Fig. 2A) se aprecia que los individuos son muy similares entre sí. Así, la variabilidad existente está definida desde casi el comienzo de la bifurcación del árbol. Adicionalmente, con el análisis vectorial, no es posible determinar grupos ni asociarlos a las diferentes localidades muestreadas (Fig. 2B). No obstante, los individuos más alejados de esta tendencia son los identificados con los números 61, 62, 65, 68 y 70 que pertenecen a la población E (Uige) y el 47 de la población B (Sumbe) (Fig. 2B). Estos individuos podrían presentarse como consecuencia de la introgresión de material parental exógeno, teniendo en cuenta la naturaleza alógama de la palma y su corriente utilización en las distintas poblaciones del África.

### CONCLUSIONES

En el presente estudio se amplificaron 49 alelos de 16 loci polimórficos en 72 materiales de palma de aceite provenientes de cinco localidades de la República de Angola. Aunque 18 combinaciones de cebadores fueron empleadas y 19 loci detectados, 16 fueron polimórficos y, en consecuencia, empleados para los análisis poblacionales. Aunque los tamaños de las

poblaciones fueron heterogéneos, se pudo mostrar que la variabilidad genética dentro de las poblaciones (intrapoblacional) fue mayor que la hallada entre las poblaciones (interpoblacional).

Los análisis de caracterización molecular muestran que la variabilidad de los materiales de Angola, presentes en la colección de Cenipalma, es mayor que la reportada en la literatura para materiales de origen africano [7]. Sin embargo, como lo mostró el análisis de relaciones entre individuos de las distintas poblaciones, los materiales del banco de germoplasma son lo suficientemente homogéneos para concentrar la variabilidad genética de la colección en pocos individuos.

Aparte de tener consecuencias prácticas, por ejemplo, la disminución del número de individuos para el mantenimiento del banco, la información obtenida en el presente estudio muestra la importancia de la variabilidad de los materiales africanos y sirve como base para nuevas actividades de prospección de poblaciones en otros países de África.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al ingeniero Iván Ayala (Cenipalma) por el suministro del material biológico, a la química Sandra Suárez por la revisión de datos moleculares y al Comité Editorial de Cenipalma por la crítica de este manuscrito. Se agradecen los comentarios de la evaluación externa. Esta investigación fue patrocinada por el fondo especial de la reserva de Fedepalma. La investigación de Cenipalma es auspiciada por el Fondo de Fomento Palmero (FFP), administrado por Fedepalma.

### BIBLIOGRAFÍA

- [1] ARIAS, D.; ROCHA, P.; 2004. Análisis de diversidad genética en materiales tolerantes y susceptibles a la pudrición de cogollo en palma de aceite mediante marcadores moleculares. *Palmas* 25 (3): 11-27.
- [2] BARCELOS, E.; AMBLARD, P.; BERTHAUD, J.; SEGUIN, M. 2002. Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 37 (8): 1105-1114.

## AMPLIACIÓN DEL ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE PALMA DE ACEITE PROVENIENTE DE ANGOLA

- [3] BASTIDAS, S; PEÑA, E; REYES, R. 2003. Genealogía del germoplasma de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) del proyecto de mejoramiento genético de Corpoica. *Palmas* 24 (1): 21-29.
- [4] BILLOTTE, N.; RUSTERUCCI, A.M.; BARCELOS, E.; NOYER, J.L.; AMBLARD, P.; BAURENS, F.C. 2001. Development, characterisation, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) microsatellite markers. *Genome* 44 (3): 413-425.
- [5] CORLEY, R.H.V.; TINKER, P.B. 2003. The oil palm. Fourth edition. Blackwell publishing. Great Britain. 562p.
- [6] GOWER, J.C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53: 325-338.
- [7] HAYATI, A; WICKNESWARI, R; MAIZURA, I; RAJANAIDÚ, N. 2004. *Theoretical Applied Genetics* 108 (7): 1274-1284.
- [8] KIMURA, M; CROW, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
- [9] MELÉNDEZ, E. 2006. Caracterización molecular de palma de aceite, *Elaeis guineensis* Jacq., procedente de Angola mediante microsatélites en Cenipalma. Trabajo de pregrado. Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta.
- [10] MONTOYA C; ARIAS D; REY, L; ROCHA P.J. 2005. Diversidad genética de materiales *Elaeis guineensis* Jacq. procedentes de Angola. *Fitotecnia Colombiana* 5 (2): 1-10
- [11] NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- [12] NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings National Academy Sciences USA* 70: 3321-3323.
- [13] NEI, M.; LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76 (10): 5269-5273.
- [14] REY, L; GÓMEZ PL; AYALA I; DELGADO W; ROCHA, P. 2004. Colecciones genéticas de palma de aceite *Elaeis guineensis* (Jacq.) y *Elaeis oleifera* (H.B.K) de Cenipalma: Características de importancia para el sector palmicultor. *Palmas* 25 (especial): 39-48.
- [15] ROCHA, P.J. 2003. Marcadores moleculares, una herramienta útil para la selección de palma de aceite. *Palmas* 24 (2): 11-25.
- [16] ROHLF, F.J. 2000, NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate system. Version 2.1. Exeter Publishing, Ltd. Setauket, New York. Programa informático.
- [17] SAITOU, N.; NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- [18] SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, CA.
- [19] SUÁREZ, S.R. 2006. Estudio preliminar de la caracterización molecular por microsatélites de progenitores tipo Dura de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). Trabajo de pregrado. Facultad de Química Industrial. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA) y Corporación Tecnológica de Bogotá (CTB). Bogotá. 90p.
- [20] WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- [21] WRIGHT, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- [22] YEH, F.C.; BOYLE, T. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany* 129: 157.