

Notas del Director

Las casas productoras de semilla ofrecen materiales resultados de sus programas de mejoramiento. Sin embargo, no es clara la relación de tales materiales entre sí. Además, el hecho de que los materiales generados en el mundo provienen de una estrecha base genética hace que el salto en la producción de variedades con características agronómicas que superen a los materiales actuales sea lento.

Por estas razones es importante desarrollar metodologías que permitan conocer la variabilidad genética entre materiales de distintos orígenes. De esta manera, se pueden fortalecer los programas de mejoramiento de las empresas y en consecuencia la calidad de los materiales de siembra en el país.

El propósito de desarrollar variedades mejoradas de palma de aceite, es generar palmas de alta productividad, mejor calidad de aceite y resistentes a plagas, enfermedades y condiciones de estrés, adaptadas a las diferentes características de las zonas palmeras colombianas.

En el presente Ceniavances se analizan, mediante técnicas moleculares, materiales comerciales presentes en un ensayo del Programa de Variedades localizado en el C.E. Palmar de La Vizcaína. A futuro, los resultados moleculares, junto con la caracterización morfo agronómica, permitirán establecer el grado de variabilidad genética y funcional de cada material bajo condiciones particulares.

PEDRO LEÓN GÓMEZ CUERVO
Director Ejecutivo

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR PRELIMINAR DE MATERIALES COMERCIALES DE PALMA DE ACEITE PRESENTES EN COLOMBIA*



Cenipalma, 1991-2006, presentación Sala General 2006). En un ejercicio en el cual se incluyó la información de producción de ton de racimo de fruto fresco (RFF) por año, para un período de cinco años en palma adulta, se logró visualizar la diferencia en el comportamiento de los materiales para cinco plantaciones palmeras de Colombia (Tabla 1, M. Mosquera, Cenipalma, comunicación personal). Así, en plantaciones de palma establecidas, que manejan diferentes ma-

teriales comerciales, se evidenciaron diferencias en la producción de fruto por unidad de área.

Introducción

En Colombia, el cultivo de palma de aceite se constituye en una opción de desarrollo social para un buen número de regiones del país (Fedepalma, 2006). Las características genéticas, la distribución heterogénea de las regiones en donde se siembra palma y los manejos agronómicos disímiles hacen que no se pueda esperar un rendimiento homogéneo con un mismo material genético. Por tanto, es necesario generar materiales adaptados a las diversas condiciones de las regiones palmeras.

La oferta de semilla de palma por parte de las casas comerciales es abundante. Sin embargo, no hay claridad sobre la homogeneidad o heterogeneidad de dichos materiales al interior de cada casa comercial y entre casas comerciales (P. L. Gómez Cuervo, *PhD.*, Director Ejecutivo,

Tabla 1. Comportamiento de once materiales comerciales en distintas condiciones ambientales y de manejo. (Ton RFF/ha/año). Se parte del supuesto de que el manejo es homogéneo por pertenecer a la misma plantación.

Material	Plantación				
	1	2	3	4	5
A	21,6	18,6		25,1	24,9
B		16,7			25,5
C	20,9	16,7	15,8	19,2	26,0
D	17,4	17,3	22,2	24,4	27,8
E	17,1	22,1		23,9	
F	20,8	18,2	18,6	23,9	29,1
G	14,8	15,1	15,5	22,8	
H	17,5	19,0	18,8	23,3	27,1
I	14,0	13,8		23,1	
J	19,2	16,9	17,0	23,1	25,2
K	16,2	14,5			

*Pedro Jesús Rocha Salavarieta; biólogo, *Ph.D.*, Investigador Titular, Director Laboratorio de Caracterización Molecular, Cenipalma. Dirección para correspondencia: Calle 21 No. 42C-47, Bogotá. pedro.rocha@cenipalma.org

*Sandra Rubiela Suárez González. Química Industrial, Asistente de Investigación, Laboratorio de Caracterización Molecular, Cenipalma.

Por tal razón y dentro de los objetivos del programa de fitomejoramiento de Cenipalma, se han establecido ensayos para evaluar el comportamiento de algunos de los materiales comerciales disponibles actualmente en Colombia bajo las condiciones del Campo Experimental Palmar de la Vizcaína (Zona Central) y en pruebas regionales en las distintas zonas palmeras. Adicional a la evaluación agronómica se busca determinar la variabilidad genética de dichos materiales mediante el empleo de marcadores moleculares tipo microsatélite (Rocha, 2003). Así, en el presente Ceniavances se exponen algunos detalles relacionados con la caracterización molecular parcial de 35 de los 40 materiales comerciales mantenidos bajo ensayo por Cenipalma. Es de anotar que los resultados aquí presentados no buscan polemizar ni brindar recomendación alguna con respecto a material genético de siembra ni casa comercial. Solo pretende mostrar el avance en la investigación sobre parte de la variabilidad genética disponible en los materiales comerciales.

Materiales y métodos

Muestreo

Se muestrearon 40 palmas localizadas en el banco de germoplasma de Cenipalma, que hacen parte del ensayo de 20 códigos de materiales comerciales provenientes de 13 orígenes (empresas productoras de semillas incluidas Applied Agricultural Research-AAR*, ASD, Corpoica, Dami, Felda*, Gahna, Golden Hope Plantations*, Guthrie Plantations*, IOI Corporation Berhad*, IRHO, OxG, Unilever y United Plantations Berhad-UP*). Se recolectaron dos folíolos de hojas de palmas adultas, los cuales fueron empacados en bolsas de papel y transportados vía terrestre hasta el Laboratorio de Caracterización Molecular (LCM, Cenipalma, Bogotá). Una vez en el laboratorio, los folíolos fueron mantenidos a -70°C hasta su uso.

Extracción del ADN

El ADN fue extraído mediante el uso de la metodología reportada por Arias y Rocha (2004).

Amplificación de microsatélites

Se emplearon alícuotas de 50 ng de ADN como molde en una reacción de PCR de 25 μl , que contenía solución tampón de PCR 1X (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4 y KCl 50 mM); MgCl_2 1,5 mM; dNTP 200 μM ; 1 U de Taq DNA polimerasa (*Invitrogen Life Technologies*) y 0,2 mM de cada cebador (*forward* y *reverse*). En total, se amplificaron 40 muestras de ADN con diez combinaciones de cebadores, previamente reportados por Billotte *et al.* (2001b). Las condiciones de amplificación han sido

reportadas previamente (Arias y Rocha *et al.*, 2004). De las 40 muestras evaluadas, se obtuvo amplificación para 35.

Separación y visualización

La verificación del producto de amplificación se realizó mediante electroforesis en gel desnaturante de poliacrilamida 6% y úrea 5M, a 50°C , durante 1 hora y 30 minutos y 100 vatios constantes de potencia generados por una fuente de poder Power Pac 3000 (*BioRad*). Como marcadores de peso molecular se usaron marcadores de peso de 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 Meléndez (2006) y Suárez (2006).

Análisis de bandas

Las bandas reveladas fueron registradas visualmente con ayuda de un transiluminador de luz blanca. Para cada locus se determinó el número de alelos amplificados, utilizando como referencia los patrones de amplificación reportados por Billotte *et al.* (2001). Las bandas se codificaron en una matriz binaria donde "1" indicó presencia y "0" ausencia. La matriz generada fue empleada para la realización de los análisis estadísticos con el programa NTSys versión 2.11L (Rohlf, 2000). La matriz de similaridad fue calculada empleando el índice de Nei y Li (1979). Con la matriz de similaridad calculada, los individuos estudiados fueron agrupados empleando el método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average*).

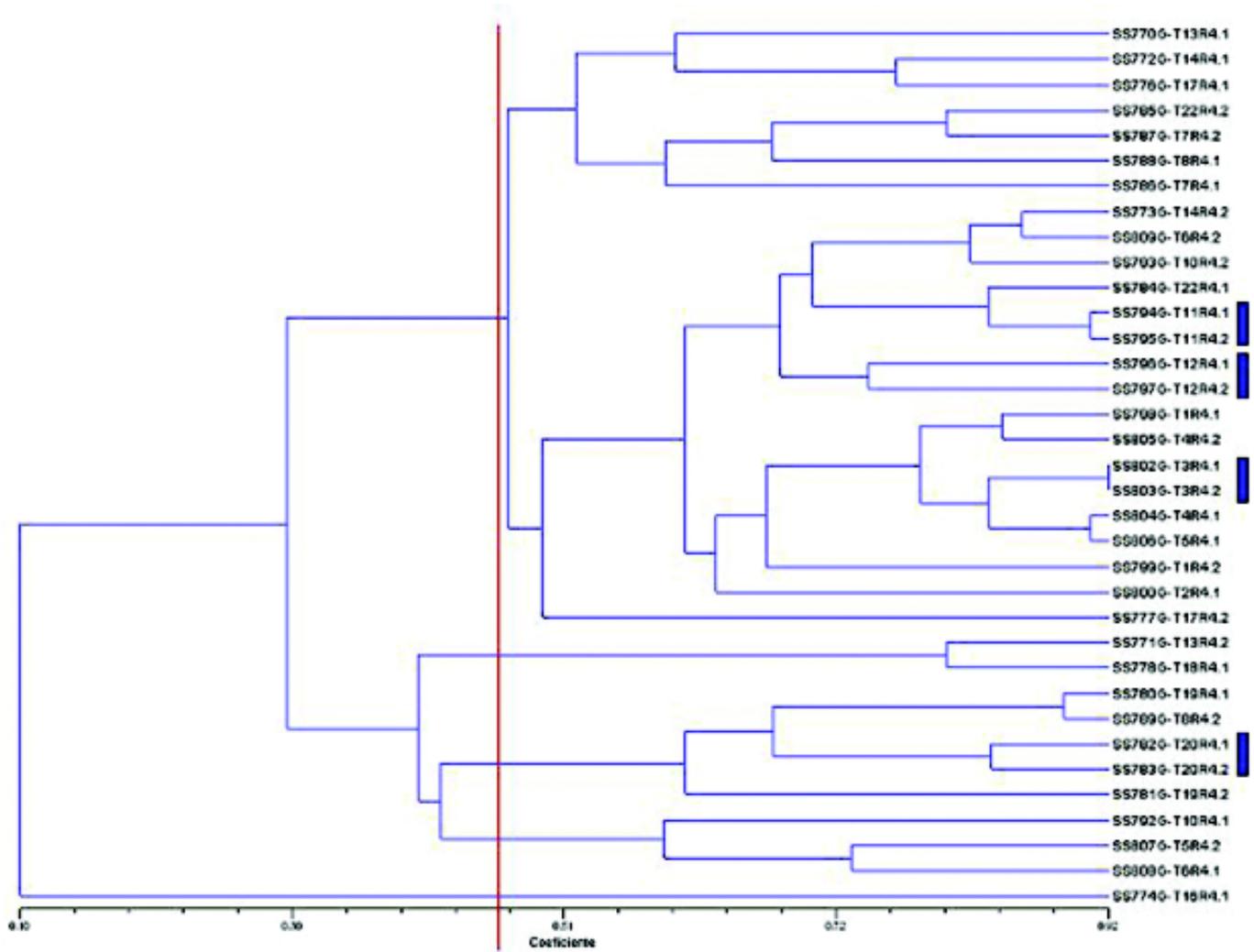
Resultados parciales

Se usaron 40 palmas de 20 cruces diferentes, correspondientes a 13 casas comerciales, para amplificar loci microsatélites. Sin embargo, se ha obtenido información para sólo 35 de los 40 individuos inicialmente programados. Hasta el momento, con diez combinaciones de cebadores reportadas como polimórficas (Billotte *et al.*, 2001; Arias y Rocha, 2004; Montoya *et al.*, 2005); se obtuvieron en total 840 puntos de información.

Los análisis de agrupamiento por similitud (Fig. 1) muestran la formación de grupos compactos para cuatro de los 20 orígenes estudiados. Más aún, la línea de corte permite establecer que el 50% de la variabilidad de estos materiales comerciales puede ser explicada con solo un representante de cada uno de los cuatro grupos señalados (Fig. 1), lo cual puede ser una indicación de la heterogeneidad resultante de los procesos de recombinación que se generan como consecuencia de la aplicación de las diferentes estrategias de selección utilizadas por los programas de mejoramiento de cada empresa.

* Materiales provenientes de Malasia, importados por Fedepalma en el año 2003 (Fedepalma, 2003).

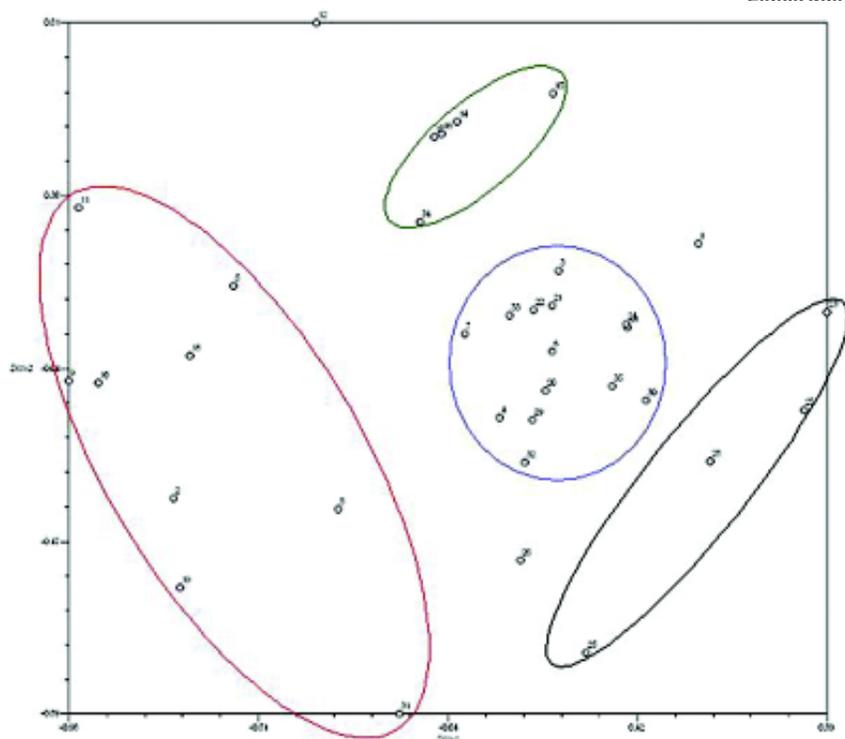
Figura 1. Relaciones de similitud entre las 35 palmas de las 13 poblaciones evaluadas. La matriz de distancia genética fue calculada según Nei (1972). Agrupamientos con el método UPGMA (Rohlf, 2000). Línea de corte separando cuatro grupos. Barras gruesas a la derecha muestran individuos prácticamente idénticos.



De igual manera, al estudiar las relaciones de similitud con base en los ordenamientos resultantes de la aplicación de vectores Eigen, se aprecian materiales que si bien son de distinto origen (compañía) aparentemente son muy similares entre si (Fig. 2). Para corroborar estas afirmaciones, sin embargo, es necesario desarrollar investigación con mayor número de individuos y con mayor número de alelos para discriminar más claramente cada grupo y, junto con el estudio de los componentes de la evaluación agronómica (a cargo de la División de Agronomía de Cenipalma), poder hacer una estimación más precisa de la homogeneidad o heterogeneidad genética y fenotípica y en consecuencia la posible estabilidad del comportamiento de estos materiales en campo bajo condiciones particulares.

Para finalizar, es de mencionar que los resultados parciales aquí descritos, junto con información morfoagronómica no publicada aún, arrojan un mensaje de enorme importancia para los palmicultores en general y las casas productoras de semilla en particular: aunque la base genética de palma de aceite es estrecha, dicha similitud genética no es sinónimo de homogeneidad en cuanto a productividad o comportamiento en campo (Tabla 1). Por esta razón, para un mismo material genético es necesario realizar evaluaciones de campo en las distintas condiciones medioambientales de cada zona. Ciertamente el efecto del ambiente se constituye en el principal modulador de la expresión del potencial genético de los materiales.

Figura 2. Relaciones de similitud y ordenamiento, con base en vectores Eigen (Gower, 1966), entre los 35 individuos evaluados.



Agradecimientos

Los autores agradecen a los ingenieros Leonardo Rey e Iván Ayala (Cenipalma) por el suministro de material biológico y por sus comentarios. Al economista Mauricio Mosquera Montoya (Cenipalma) por compartir información y ceder material aún no publicado. Al Comité Editorial de Cenipalma por la valiosa crítica de este manuscrito. Esta investigación fue patrocinada por el Fondo de Fomento Palmero (FFP), administrado por Fedepalma.

Bibliografía

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.

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.

Fedepalma, 2003. Segunda importación de semillas germinadas de palma de aceite de Malasia. *El Palmicultor (Colombia)* 376: 9.

Fedepalma, 2006. Statistical yearbook 2006. The oil palm agroindustry in Colombia and the World 2001-2005. Fedepalma, Bogotá, 122p.

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.

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. ISSN: 0123-1286.

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.

Rocha, P.J. 2003. Marcadores moleculares, una herramienta útil para la selección de palma de aceite. *Palmas (Colombia)*, 24 (2): 11-25.

Rocha P.J; Rojas Y; Rey, L. 2005. Caracterización molecular preliminar del banco de germoplasma de *Elaeis oleifera* [H.B.K.] Cortéz, mediante microsatélites. *Ceniavances (Colombia)*, 130:1-4. ISSN: 0123-8353.

Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate system. Version 2.1. Exeter Publishing, Ltd.

Setauket, New York. Programa informático.

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.

Yeh, F.C.; Boyle, T. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany* 129: 157.



Director: **Pedro León Gómez Cuervo**

Revisión de textos: **Comité de Publicaciones de Cenipalma**

Coordinación editorial: **Oficina de Prensa**

Diseño y diagramación: **Briceño Gráfico**

Impresión: **Molher Ltda. Impresores**

Esta publicación contó con el apoyo del Fondo de Fomento Palmero