

DIVERSIDAD ALÉLICA DE POBLACIONES NATURALES

de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.)

detectada por marcadores microsatelitales.

Implicación en conservación

AUTORES



Claude Bakoumé,

Ratnam Wickneswari

School of Environmental and Natural
Resource Sciences,
Faculty of Science and Technology,
University Kebangsaan Malaysia, 43600
Bangi, Selangor, Malasia

Nookiah Rajanaidu,

Ahmad Kushairi

MPOB (Junta de Palma de Aceite
de Malasia), P.O. Box 10620,
Kuala Lumpur, Malasia

Philippe Amblard,

Norbert Billotte

Cirad (Centre de Coopération
Internationale en Recherche
Agronomique pour le Développement),
UMR 1096, TA 80/03 Avenue
Agropolis, 34398 Montpellier,
Cedex 5, Francia

* Autor correspondiente:

Claude Bakoumé
Instituto de Investigación Agrícola
para el Desarrollo, P.O. Box 2137
Douala, Camerún.

Tel: +237-586 67 47

Fax : +237- 342 77 03

Palabras CLAVE

Diversidad alélica, conservación,
marcadores microsatelitales,
población natural,
palma de aceite.

Allelic diversity, conservation,
microsatellite markers, natural
population, oil palm

Traducido por Fedepalma.
Versión original en inglés
disponible en el Centro de
Documentación de Fedepalma.

ALLELIC DIVERSITY OF NATURAL

Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Populations

Detected by Microsatellite Markers.

Implication in Conservation

RESUMEN



Se determinó la diversidad alélica dentro de 49 poblaciones que representan a 10 países africanos, tres materiales de mejoramiento genético y un material semi-silvestre mediante el uso de 16 locus microsatelitales. Se encontró un total de 209 alelos. El número de alelos de los 16 locus oscilaba entre 8 y 22 (media = 13,1). Se encontraron algunos alelos poco comunes ($p < 0,05$) en poblaciones de áreas con clima seco, sin tener en cuenta el país. Los alelos excepcionales en Deli MPOB, que eran poco comunes en las poblaciones naturales de palma de aceite, presentaban una reducción debido a los muchos años de selección. El número medio de alelos por locus (A) osciló entre 1,1 y 6,7 (media = $5,0 \pm 1,7$). El número efectivo de alelos (A_e) osciló entre $1,1 \pm 0,2$ y $4,7 \pm 1,7$ (media = $3,3 \pm 1,3$). La prueba de rango múltiple de Duncan segregó el grupo de poblaciones de Madagascar del resto para A_e . Los grupos de medias se superponían para el resto de las poblaciones. Cuando se consideraron los valores absolutos, se encontró un alto A_e en las poblaciones de Nigeria (106-143% de la media A_e del estudio) que tendía a disminuir hacia el occidente y el oriente. Se exploran las inferencias de los datos obtenidos en la conservación de los recursos genéticos de la palma de aceite.

SUMMARY

The allelic diversity within 49 populations representing ten African countries, three breeding materials and one semi-wild material was determined using 16 microsatellite loci. A total of 209 alleles was revealed. The number of alleles at the 16 loci ranged from 8 to 22 (mean = 13.1). Same rare alleles were found ($p < 0.05$) across populations from areas with dry weather irrespective to the country. Rare alleles in Deli MPOB, which were common in natural oil palm populations, denoted their reduction due to many years of selection. Mean number of alleles per locus (A) ranged from 1.1 to 6.7 (mean = 5.0 ± 1.7). The effective number of alleles (A_e) ranged from 1.1 ± 0.2 to 4.7

± 1.7 (mean = 3.3 ± 1.3). The Duncan's multiple range test separated the group of populations from Madagascar from the rest for A_e . The groups of means overlapped for the rest of the populations. When absolute values were considered, the high A_e found in populations from Nigeria (106-143% of the mean A_e from this study) tended to diminish westwards and eastwards. Implication of the data obtained in the conservation of oil palm genetic resources is explored.



INTRODUCCIÓN

Desde principios del siglo XX se intentó el mejoramiento de la palma de aceite en el Congo Belga y en el extremo oriente de Asia. Varios ciclos de selección dieron por resultado un incremento en el rendimiento, pero también una restricción en la base genética del conjunto inicial de poblaciones (Cao, 1995; Rajanaidu, 1994). Para que el mejoramiento de la palma de aceite contribuya a la rentabilidad de las plantaciones, se debe encaminar al desarrollo de materiales vegetales con alto rendimiento de aceite, mejor calidad del aceite, tamaño reducido de la palma y tolerancia a las plagas y enfermedades. Además, se ha hecho hincapié en el desarrollo de características novedosas (alta relación almendra a fruto, contenido de caroteno y lipasa, vitamina E, pedúnculo largo y sin abscisión de los frutos) (Rajanaidu *et al.*, 2000a). Infortunadamente, el fitomejoramiento y la selección de las poblaciones han sido limitados por la actual base genética tan estrecha (Kushairi *et al.* 2003). Por esta razón, de 1973 a 1996, La Junta de Palma de Aceite de Malasia (MPOB), conocida anteriormente como el Instituto de Investigación de la Palma de Aceite de Malasia (Porim), realizó diez exploraciones en once países de África occidental y central, el centro de distribución de *E. guineensis*, y en seis países en Latinoamérica, el centro de distribución de *E. oleifera*. El objetivo era ampliar la estrecha base genética de los materiales de fitomejoramiento de la palma de aceite del Porim, como un requisito previo para el mejoramiento adicional de los rendimientos, y para garantizar la conservación de una amplia gama de recursos genéticos de la palma de aceite (Rajanaidu, 1994).

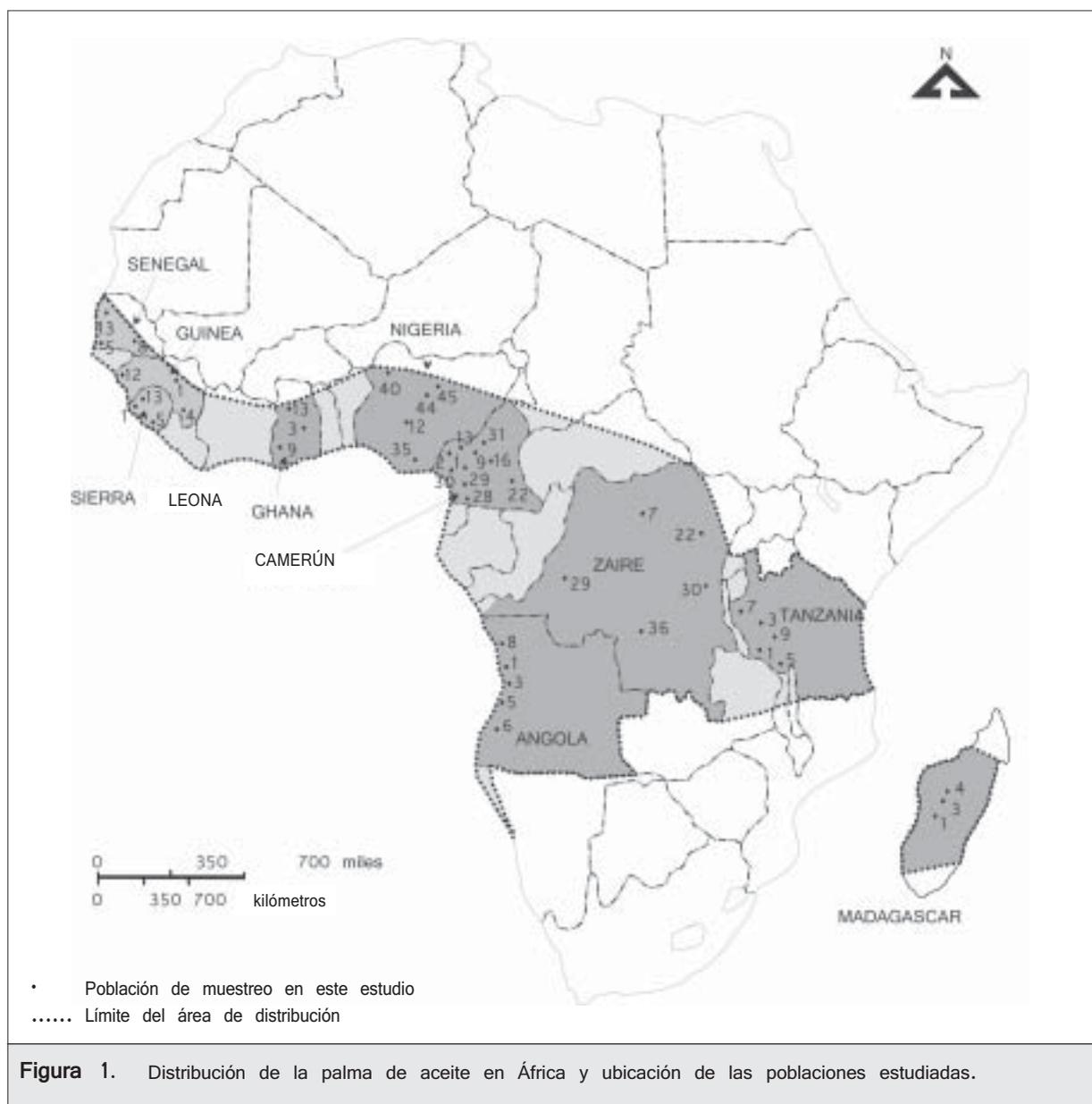
En este estudio, se seleccionó la diversidad genética de las colecciones naturales de palma de aceite que representan casi todas las colecciones de germoplasma del MPOB de África y materiales mejorados Deli del MPOB, Deli Dabou, La Mé (Côte d'Ivoire) y mate-

rial semi-silvestre de Bahia (Brasil), utilizando 16 marcadores microsatelitales. Las repeticiones de secuencia única (SSRs), denominadas también microsátélites, son alineamientos en tándem de motivos nucleótidos únicos que son componentes ubicuos de genomas eucarióticos (Delseny *et al.* 1983). Los marcadores SSR presentan muchas ventajas, que incluyen la herencia codominante, un alto grado de polimorfismo, alta reproducibilidad (Tautz, 1993), y tienen una buena relación costo-efectiva. Además, un gran número de ADN y locus puede amplificarse fácilmente y ensayarse para el polimorfismo SSR, especialmente a través de reacciones PCR múltiplex y/o productos PCR multicarga en geles únicos y, por tanto, se reduce el trabajo en estudios que requieren un gran número de muestras (Saghai Maroof *et al.*, 1994). Los resultados ofrecen información sobre la diversidad alélica g entre las poblaciones de palma de aceite de diferentes países africanos, tres materiales mejorados y un material semi-silvestre. Así mismo, se explora la contribución de la diversidad alélica en la conservación de los recursos genéticos de la palma de aceite.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales vegetales

En este estudio se utilizaron 494 muestras en total. Incluían 475 muestras foliares pertenecientes a colecciones de 10 países africanos y un material mejorado Deli que se conservaba en el banco de genes, en el terreno, de MPOB en Kluang, Johor (Malasia); 9 muestras representaban materiales de Deli Dabou (Côte d'Ivoire) y 6 de La Mé (Côte d'Ivoire), y 4 representaban materiales semi-silvestres de Bahia (Brasil), suministrados por el Cirad (Francia). La Figura 1 presenta las poblaciones de palma de aceite de África que se sometieron a muestreo en el presente estudio. Se realizó el muestreo de 10 palmas por



población. La decisión del número de poblaciones que se sometía a muestreo establecía la necesidad de contar con una buena representación de los huertos naturales. Al estudio se agregaron los materiales mejorados Deli Dura MPOB, Deli Dura Dabou, La Mé y la colección de Bahía, con el fin de comparar la diversidad alélica de las palmas de aceite utilizadas en los programas de fitomejoramiento o de producción de semillas, y que se introdujeron en el siglo XVII a Brasil, con las palmas de aceite de los huertos silvestres o semi-silvestres de África. El ADN genómico de cada palma se extrajo y purificó de acuerdo con el

procedimiento de extracción ADN CTAB para pequeñas cantidades de tejido foliar fresco de Doyle y Doyle (1990), utilizando 3 gramos de tejido foliar fresco de los folíolos de una hoja sin abrir, de la flecha. La concentración de ADN de cada muestra se determinó utilizando electroforesis de gel de agarosa.

Amplificación de microsatélites

Se utilizó un conjunto de 16 locus SSR de *E. guineensis* aislados por Cirad (Francia) y publicados por Billotte *et al.* (2005). Este se encuentra entre los que utiliza actualmente el Cirad para la cartografía de

ligamiento en la palma de aceite, y en el presente estudio la selección tuvo en cuenta (i) su alto polimorfismo dentro de las especies de *E. guineensis*; y (ii) una buena cobertura pangénómica (un locus por par de cromosomas homólogos). La amplificación PCR del ADN genómico por medio de los cebadores SSR se hizo de acuerdo con Billotte *et al.* (2001). Las amplificaciones PCR se realizaron en un termocicler de gradiente Mastercycler® o en un Mastercycler® (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania).

Los productos de PCR se separaron utilizando un gel vertical de poliacrilamida de 20 cm x 16 cm en una celda Protean II xi (BIO-RAD, USA) y se corrió en un gel de poliacrilamida al 7% a 250 V de corriente constante, durante 4 horas. Con el fin de limitar el número de geles de electroforesis que debe correrse, se mezclaron los productos PCR de dos a cuatro locus, se realizaron cargas múltiples y se corrieron en un gel único, para los locus que muestran una diferencia de tamaño de alelo de referencia de 30 pb o más. Los patrones de formación de bandas se observaron con la técnica de tinción de plata descrita por Creste *et al.* (2001). Dos ADN genómicos de las colecciones de palma de aceite de Zaire (ZA21, ZA29) se utilizaron como controles para cada gel, junto con 2 carriles para una escalera de tamaño 10 pb, con el propósito de facilitar el registro de alelos para un gel dado y ligar un gel con otro para un mismo locus. Las bandas amplificadas se registraron de acuerdo con su tamaño. Los alelos registrados se designaron en orden alfabético, de un tamaño de fragmento más grande a uno más pequeño.

Análisis de datos

El análisis de datos se realizó mediante el uso del programa Popgene versión 1.32 (Yeh y Boyle, 1999). Los datos generados sobre genotipo se utilizaron para calcular los parámetros de diversidad alélica que incluían las frecuencias alélicas, el número promedio de alelos por locus (A), y el número efectivo de alelos (A_e) calculados según la fórmula derivada por Crow y Kimura (1970). Los datos faltantes se excluyeron de los cálculos. La constitución genética de una población depende de las frecuencias alélicas en diferentes locus y de su efecto (Yeh, 2000). Para una mejor comparación de la distribución de las clases de frecuencias alélicas comunes y raras para las poblacio-

nes estudiadas, se adoptó el enfoque de Buchert *et al.* (1997) para la clasificación de los alelos en una de las cuatro clases: alta ($p < 0,75$); intermedia ($0,75 < p < 0,25$); baja ($0,25 < p < 0,01$) y rara ($p < 0,01$), y también los alelos comunes ($p < 0,05$) y raros ($p < 0,05$), según Marshall y Brown (1975). El procedimiento del modelo lineal generalizado (MLG) en el software SAS (Instituto SAS, 1996) se utilizó para realizar ANOVA de una sola vía, para obtener el número efectivo de alelos por locus y observar las diferencias entre poblaciones; además, se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan (PRMD) para la comparación de todas las poblaciones naturales de palma de aceite y los materiales de fitomejoramiento, según los valores medios de A_e , como lo describen Glover y Mitchell (2002).

RESULTADOS

Frecuencias alélicas

Todos los 16 marcadores microsatelitales utilizados en este estudio resultaron en productos de amplificación. Se detectaron 209 alelos entre los 494 genotipos de palma de aceite. El número de alelos de los 16 locus varió ampliamente, oscilando entre 8 a 22, con un promedio de 13,1 (Tabla 1). Las muestras de palma de aceite que no resultaron en productos de amplificación después de varias reacciones PCR, se estimaron en 1,2% sobre todos los 16 locus SSR. Estas muestras no fueron las mismas para todos los locus SSR.

En unos pocos casos, los alelos comunes eran compartidos por todas las poblaciones del mismo país. Algunos alelos se presentaban solamente en algunas poblaciones. El locus SSR mEgCIR3543 portaba los alelos A, B, C y D que solamente estaban presentes en las poblaciones del extremo de África occidental (Senegal, Guinea y Sierra Leona). Las frecuencias alélicas por locus para cada población se presentan en Bakoumé (2006). Desde el primer sistema de clasificación (4 clases), la clase de alelos de baja frecuencia ($> 0,25 > p < 0,01$) está altamente representada (63,3 - 85%) en todas las poblaciones -con excepción de Madagascar- y estuvo seguida por la clase de alelos de frecuencias intermedias ($> 0,75 > p < 0,25$): 11,1 - 51,9%. Este sistema de clasificación mostró similitudes entre los materiales mejorados Deli

**Tabla 1.** Tipos de repeticiones de SSR, número de alelos y rangos de tamaños

Locus microsatelital	Motivo	Número de alelos	Tamaño previsto de alelos* (pb)	Rango de tamaños (pb)	Datos faltantes (%)
mEgCIR0173	(GA) ₁₈	11	132	124-158	0,6
mEgCIR0353	(GT) ₁₁ (GA) ₁₅	11	102	102-124	0,4
mEgCIR0802	(GA) ₁₂	12	250	236-272	1,2
mEgCIR0832	(GA) ₁₉	9	240	240-268	0,6
mEgCIR1730	(CT) ₁₇ (GT) ₅	8	269	264-292	1,2
mEgCIR1753	(GA) ₂₁	8	335	300-358	3,9
mEgCIR3282	(GA) ₂₀	12	245	232-272	0,8
mEgCIR3292	(GA) ₂₀	15	173	178-212	0,8
mEgCIR3300	(GA) ₁₉	14	186	178-212	2,0
mEgCIR3362	(GA) ₁₉	22	151	162-206	0,8
mEgCIR3363	(GA) ₁₇	17	195	186-228	1,0
mEgCIR3543	(GA) ₁₇	15	232	224-276	1,4
mEgCIR3546	(GA) ₁₅	12	286	286-336	1,0
mEgCIR3574	(GA) ₁₉	19	207	192-232	2,4
mEgCIR3785	(GA) ₂₁	10	284	278-314	1,2
mEgCIR3886	(GA) ₅ GT(GA) ₂₀	14	187	184-218	0,2
Total		209			
Promedio		13,1			1,2

* Billotte *et al.* (2001); Billotte (comunicación personal)

y entre los materiales mejorados La Mé y el material semi-silvestre Bahia. La clase de frecuencia de alelos raros no estaba representada en el sistema. La mayor proporción de un número limitado de alelos de alta frecuencia ($p < 0,75$) se encontró en los materiales mejorados Deli MPOB (6,2%) y Deli Dabou (7,1%). El segundo sistema de clasificación (dos clases) presentó alelos raros ($p < 0,05$) en todas las poblaciones de *E. guineensis* de Senegal y Sierra Leona; también en las poblaciones 4 y 12 de Guinea, la población 3 de Ghana, las poblaciones 12, 44 y 45 de Nigeria, la población 13 de Camerún, la población 8 de Angola, la población 7 de Tanzania y en el material mejorado Deli MPOB. Algunos alelos raros se encontraron en poblaciones de diferentes orígenes geográficos, pero con las mismas condiciones de clima seco (los datos no se presentan).

Número medio y número efectivo de alelos

El número medio de alelos por locus (A) varió de $1,1 \pm 0,3$ en todas las poblaciones de Madagascar, y de $6,7 \pm 1,8$ en la población 40 de Nigeria, con un promedio de $5,0 \pm 1,7$. El número efectivo de alelos (A_e) varió de $1,1 \pm 0,2$ para las poblaciones de Madagascar, y de $4,7 \pm 1,7$ en la población 40 de Nigeria (media = $3,3 \pm 1,3$) (Tabla 2). En valores absolutos, el alto A_e que se encontró en las poblaciones de Ni-

geria (106-143% de la media A_e de este estudio), tendió a disminuir hacia el oriente y el occidente, con excepción de las poblaciones de Tanzania, donde los valores A_e eran comparables con los registrados para las poblaciones de Nigeria.

El análisis de varianza para el número efectivo de alelos por locus mostró diferencias entre las poblaciones o materiales genéticos y fue significativo ($Pr < 0.0001$) (los datos no se presentan). Se procedió a la separación de la media de los valores A_e para todas las poblaciones y materiales mejorados, mediante el uso de la prueba de rango múltiple de Duncan. Las poblaciones de Madagascar formaban un solo grupo, que difería del resto. La separación no fue clara para el resto de las poblaciones, porque los grupos de la media presentaban traslapeo (los datos no se presentan).

DISCUSIÓN

Diversidad alélica

Frecuencias alélicas

El alto número de alelos por locus, (en promedio 13,1) puede explicarse por el alto número de repeticiones en las secuencias de microsatélites. Saghai Maroof

Tabla 2. Parámetros de diversidad genética en las 45 poblaciones y 4 materiales de mejoramiento

País	Pob.	N	A	A _e
Senegal	5	14	5,6 (2,3)	3,6 (1,7)
	8	11	4,2 (2,0)	2,7 (1,3)
	13	11	3,7 (1,7)	2,4 (1,2)
Guinea-Conakry	1	10	5,9 (2,0)	3,6 (1,6)
	4	12	6,0 (2,2)	3,7 (1,3)
	12	11	5,4 (1,9)	3,5 (1,6)
Sierra Leona	1	11	5,2 (1,9)	3,2 (1,1)
	5	11	5,2 (2,2)	3,3 (1,4)
	13	12	6,0 (1,8)	3,7 (1,2)
Ghana	3	11	5,2 (1,2)	3,3 (1,0)
	9	10	6,3 (1,9)	3,8 (1,5)
	13	10	5,9 (1,8)	3,9 (1,6)
Nigeria	12	11	5,9 (1,6)	3,7 (1,4)
	35	9	5,1 (1,3)	3,5 (1,2)
	40	9	6,7 (1,8)	4,7 (1,7)
	44	12	6,1 (1,7)	3,9 (1,2)
	45	12	6,6 (2,8)	4,2 (2,1)
Camerún	1	10	4,4 (1,4)	2,8 (0,9)
	2	10	5,3 (1,9)	3,7 (1,6)
	9	11	5,9 (1,6)	3,9 (1,4)
	13	11	5,0 (1,8)	3,2 (1,4)
	16	10	4,9 (1,7)	2,9 (1,0)
	22	10	4,3 (1,4)	2,5 (1,1)
	28	10	4,5 (1,0)	2,8 (1,1)
	29	10	5,9 (2,1)	3,9 (1,6)
	30	10	5,1 (1,2)	3,3 (1,2)
	31	10	5,5 (2,0)	3,3 (1,5)
Zaire	7	10	5,6 (1,8)	3,6 (1,5)
	22	10	5,1 (2,0)	3,5 (1,7)
	29	10	5,5 (1,9)	3,5 (1,5)
	30	10	5,4 (1,5)	3,6 (1,3)
	36	10	4,8 (1,5)	3,0 (1,0)
Angola	1	10	5,7 (2,0)	3,7 (2,0)
	3	10	5,5 (2,0)	3,3 (1,8)
	5	10	5,5 (2,0)	3,6 (1,5)
	6	10	4,3 (1,2)	2,9 (0,9)
	8	11	5,6 (1,8)	3,6 (1,2)
Tanzania	1	10	5,7 (1,8)	3,9 (1,4)
	3	10	6,2 (1,8)	4,4 (1,7)
	5	10	5,4 (1,8)	3,8 (1,4)
	7	11	5,6 (1,6)	3,9 (1,4)
	9	10	5,2 (1,8)	3,5 (1,4)
Madagascar	1	11	1,1 (0,3)	1,1 (0,2)
	3	5	1,1 (0,3)	1,1 (0,2)
	4	7	1,1 (0,3)	1,1 (0,2)
Deli MPOB	1	11	4,1 (2,0)	2,7 (1,2)
La Mé	-	6	3,6 (1,3)	2,7 (1,0)
Deli Dabou	-	8	3,5 (1,7)	2,5 (1,0)
Bahía	-	4	3,3 (1,5)	2,8 (1,2)
Media			5,0 (1,7)	3,3 (1,3)

Pob.= población, las desviaciones estándar están entre paréntesis,

N = Número de muestras por población,

A = número medio de alelos por locus,

A_e = número efectivo de alelos por locus.

et al. (1994) observaron que los locus con un gran número de repeticiones en tándem, pueden presentar un mayor número de alelos que los locus con un número menor de repeticiones en tándem. Los genotipos de la palma de aceite que fallaron en la producción de productos de amplificación después de varias reacciones de PCR, podría ser el resultado de los alelos nulos. Rimbawanto e Isoda (2001) en su estudio en *Shorea leprosula* utilizando SSR desarrollado para *S. curtisii*, estimaron que podrían no detectarse los alelos nulos cuando su frecuencia es solamente un pequeño porcentaje (ej. 5%). El porcentaje de muestras que falló en la producción de productos PCR, en este estudio, fue muy bajo (1,2%). Esto se consideró como datos faltantes y se excluyó del análisis estadístico.

Las frecuencias alélicas en cada locus variaron de una población a otra y algunos alelos estaban presentes en una o en algunas poblaciones. En el estudio del polimorfismo enzimático en la palma de aceite (Ghesquière, 1985), se reportó la variación en las frecuencias alélicas. En una planta de cruce natural como la palma de aceite donde se espera un apareamiento aleatorio, la deriva genética y el aislamiento reproductivo son los factores más comunes que afectan las frecuencias alélicas. Casi todas las poblaciones de palmas de Madagascar eran fijas con un alelo en cada locus, que indica probablemente la presencia de una deriva genética y una alta tasa de endogamia en pequeñas poblaciones aisladas en esta isla.

Los alelos y locus mEgCIR3543 solamente están presentes en poblaciones de Senegal, Guinea y Sierra Leona, países considerados marginales para el desarrollo y producción de la palma de aceite, debido a que se presenta una baja precipitación y clima seco, y que puede relacionarse con un proceso de adaptación. Aunque los SSR se consideran selectivamente neutros, Kashi y Soller (1999) sugirieron que muchos SSR están integrados funcionalmente en el genoma. La distribución de la frecuencia alélica en cuatro clases mostró una mayor proporción de alelos de alta frecuencia ($p < 0,75$) en materiales mejorados Deli MPOB y Deli Dabou. Varias generaciones de selección pueden haber favorecido la presencia de estos alelos en estos materiales. Este sistema de clasificación mostró una distribución alélica similar entre los materiales mejorados Deli y también entre los La Mé



y Bahía. El segundo sistema de clasificación, es decir, dos clases, mostró algunos alelos raros ($p < 0,05$) en las poblaciones de las diferentes zonas geográficas con condiciones similares de clima seco; esto indica que su existencia no solamente puede deberse a la deriva genética sino también probablemente a la selección. Los alelos raros en Deli MPOB, que eran comunes en poblaciones naturales de palma de aceite, indican su reducción como resultado de muchos años de selección.

Número promedio y número efectivo de alelos por locus

El número promedio de alelos por locus es una de las medidas de diversidad genética comúnmente utilizadas. El número efectivo de alelos por locus toma en cuenta no solo el número de alelos en cada locus, sino también su frecuencia. Por tanto, es más útil aunque se reporta con menos frecuencia que el número promedio de alelos por locus (Yeh, 2000). El número medio (A) y el número efectivo (A_e) de alelos fue de $5,0 \pm 1,7$ y $3,3 \pm 1,3$, respectivamente. Los valores A y A_e eran similares a los obtenidos en *D. aromatica* en cinco poblaciones en Malasia ($A = 5,14$ y $A_e = 3,63$, Lim *et al.*, 2002). Estudios anteriores en la palma de aceite utilizando isozimas reportaron 2,6 y 2,21 alelos por locus en *E. guineensis* y 3,47 alelos por locus en *E. oleifera* (Ghesquiere, 1985; Ghesquiere *et al.*, 1987). Purba *et al.* (2000) observaron 1,8 alelos por locus. En estudios anteriores en colecciones de palma de aceite del germoplasma de MPOB, Rajanaidu *et al.*, (2000d) reportaron 1,6 alelos por locus, mediante el uso de marcadores RFLP. Hayati *et al.* (2004), utilizando marcadores de isozimas, encontraron que $A = 2,6$ y $A_e = 1,35$. Los resultados de nuestro estudio concuerdan con los de Bruford *et al.* (1996) que concluyeron que el número de alelos revelado por los microsatélites casi siempre es mucho más alto que el detectado utilizando alozimas.

La prueba de rango múltiple de Duncan mostró una clara separación de las poblaciones de Madagascar. La separación era difusa para el resto de las poblaciones, porque los grupos de medias presentaban traslape e indicaban que los valores A_e eran comparables de una población a otra. El alto A_e , en valor absoluto, que se encontró en las poblaciones de Tanzania, que era comparable al presentado por las

poblaciones de Nigeria, puede explicarse por la alta diversidad genética observada en la población periférica de Tanzania, y probablemente se relacionaba con la adaptación a su entorno marginal (Rajanaidu *et al.*, 2000b), y tal vez también a las introducciones de nuevos materiales de otros países.

La diversidad alélica variable basada en valores absolutos de A_e en el cinturón de palma de aceite de África, es probable que resulte de la deriva genética, la selección natural y la intervención humana, que varió de un área a otra. El efecto a largo plazo de la deriva genética consiste en reducir la variación dentro de una población, y ocasiona la pérdida de los alelos de una población (Halliburton, 2004). La supervivencia de los tipos de frutos en un huerto denso de palma de aceite está determinada por la selección natural. El hecho de que la mayoría de las inflorescencias femeninas de *Pisifera* se pudra prematuramente, mientras que unos pocos frutos maduros se pudren antes del desarrollo de las semillas en plántulas, constituye una selección constante contra los genes de *Pisifera*. Otra característica que se observa en la selección natural es que en la mayoría de los huertos casi todas las palmas son del tipo Dura (Purseglove, 1972) y se sugiere que el grueso cuesco de los frutos de Dura brinda una mejor protección contra los animales, el hombre y la deshidratación, pero el grosor del opérculo no depende del grosor del cuesco (Zeven, 1967). La proporción del tipo Ténera con características deseables de cuesco delgado varía ampliamente, y se considera que es una medida de la cantidad de selección que se ha presentado en el área (Hartley, 1988), a través de selección deliberada y no deliberada del ser humano (Zeven, 1967). Esta práctica puede haber cambiado las frecuencias de los diversos tipos que afectan la supervivencia de algunos genes. Algunos genes favorables y desfavorables pueden haberse eliminado de las poblaciones (Zeven, 1967). Además, el comercio árabe de esclavos unió al Congo con la costa y, por tanto, los árabes o sus esclavos han podido distribuir las semillas de la palma de aceite. Una evidencia del movimiento de los materiales entre los huertos de palma de aceite de África occidental y central es que los habitantes de los límites orientales de África recuerdan, con frecuencia, que la palma de aceite proviene de Congo (Zeven, 1967). Hodgkin (1995) mencionó que la diver-

sidad genética dentro de una especie no se distribuye uniformemente a través del rango de entornos donde se presenta. Además, los patrones de distribución geográfica reflejan el efecto de la selección humana en entornos específicos, al igual que la historia del desarrollo del cultivo en diferentes sitios.

Las aparentes bajas cifras de medias y efectivos de alelos por locus en el material mejorado Deli (76% y 79%, respectivamente de la media de A y A_e para este estudio), concuerdan con una diversidad alélica básica estrecha de esta población que descende solamente de cuatro palmas originales introducidas en 1848 en Bogor, Indonesia (Hartley 1988). El número medio bajo y efectivo de alelos por locus en el material mejorado Deli también indica una selección realizada a través de los años y que lleva a la eliminación de algunos alelos. Por otra parte, la deriva genética podría haber actuado en las poblaciones aisladas de Madagascar, que son casi homocigotos con el menor número medio o efectivo de alelos.

Implicación en la conservación

La base genética de las poblaciones mejoradas de palma de aceite era extremadamente limitada. Rajanaidu (1985) indicó que la limitación en el acervo de genes efectivos había sido un obstáculo principal para un rápido avance en la selección. Según Rosenquist (1999), una población mejorada exitosa deberá contener suficiente variabilidad para permitir la selección para los criterios cambiantes. La alta diversidad alélica en las colecciones de germoplasma de palma de aceite de MPOB serían útiles para un incremento adicional en el rendimiento y la selección de genes novedosos para los programas de fitomejoramiento. Además, Rosenquist (1999) observó que una población exitosa de mejoramiento genético debería contener suficiente variabilidad para permitir la selección que tome en cuenta los criterios cambiantes. Así mismo, se llegó a un acuerdo sobre la pérdida catastrófica de la diversidad genética en las plantas: se perdían constantemente especies, combinaciones de genes y alelos. Este proceso, que se conoce como erosión genética, podría ser aún más grave en el futuro. Por tanto, la conservación de la diversidad genética de las plantas es de gran importancia, porque son muy importantes los beneficios para los seres humanos de la explotación de nuevos cultivos agrícolas y hortícolas, el desa-

rollo de nuevos medicamentos y el papel central de las plantas en el funcionamiento de todos los ecosistemas (Maxted *et al.*, 1997). Igualmente, se observó una pérdida de la diversidad alélica en los huertos naturales de palma de aceite en África, debido al rápido crecimiento demográfico, a la urbanización (Rajanaidu *et al.*, 2000a) y al desarrollo de la agricultura.

El germoplasma de la palma de aceite de MPOB habría conservado toda su colección para garantizar la diversidad alélica. Infortunadamente, la principal limitación en relación con la conservación a largo plazo de la palma de aceite en el terreno, es la gran cantidad de espacio que se requiere y los costos de mantenimiento. Por tanto, es necesario reducir el número de poblaciones que se va a conservar a aquellas con alta diversidad alélica (A_e), garantizando una buena representación de la diversidad alélica total que existe en las colecciones de palma de aceite. Aunque la prueba de rango múltiple de Duncan no mostró una clara separación de las poblaciones con grupos traslapados entre sí, las poblaciones que se conservarán deberán limitarse a aquellas con altos valores absolutos de A_e y que posean alelos raros. Existen poblaciones con valores A_e representadas en 109% a 142% de la media de A_e (3,3). Lee *et al.* (2000) recomendaron que la conservación de los recursos genéticos y el mejoramiento de *S. leprosula* se base no solamente en poblaciones con alta diversidad genética sino también en aquellas con alelos raros. Se ha mostrado que los alelos raros están comprometidos en la adaptación de la planta al estrés biótico y abiótico (Rajora *et al.*, 2000).

CONCLUSIONES

El estudio de las poblaciones naturales de palma de aceite (*E. guineensis*) recolectadas en 10 países africanos utilizando marcadores microsatelitales, mostró una alta diversidad alélica que hace del germoplasma de palma de aceite de MPOB un reservorio potencial de genes relacionados con las características novedosas que contribuyen a aumentar la productividad de la palma de aceite. La necesidad de ampliar la base genética de la palma de aceite se justifica mediante exploraciones en África, el centro de origen de la especie. Un objetivo principal de las exploraciones realizadas en los



huertos naturales de las palmas de aceite era garantizar para la posteridad la conservación de una amplia gama de recursos genéticos de la oleaginosa. Para este propósito, se seleccionó un total de 23 poblaciones: la población 5 de Senegal; 1 y 4 de Guinea; 13 de Sierra Leona; las poblaciones 9 y 13 de Ghana; las poblaciones 12, 40, 44 y 45 de Nigeria; las poblaciones 2, 9 y 29 de Camerún; las poblaciones 7 y 30 de Zaire; las poblaciones 1, 5, y 8 de Angola, y las poblaciones 1, 3, 5 y 7 de Tanzania. Al menos deberá conservarse la población 1 de Madagascar representada por 11 palmas, que es la cantidad máxima entre las tres poblaciones de esta

procedencia. Las colecciones de palmas de aceite de Madagascar han mostrado un alto contenido de ácido linoléico (C18:2).

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Genética de la University Kebangsaan Malasia (UKM), con el apoyo conjunto de la Junta de Palma de Aceite de Malasia (MPOB) en Malasia y el Centre de Coopération Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement (Cirad) en Francia, y el Instituto de Investigación Agrícola para el Desarrollo, en Camerún.



BIBLIOGRAFÍA

- Bakoumé, C. 2006. *Genetic diversity of natural oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) populations using microsatellite markers*. PhD thesis, Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Billotte, N. *et al.* 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics* 110: 754-765.
- Billotte, N. *et al.* 2001. Development, characterisation, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) microsatellite markers. *Genome* 44: 413-425.
- Bruford, MW. *et al.* 1996. Microsatellites and their application to conservation genetics. In: Smith TB and Wayne RK (eds.). *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford: Oxford University Press, pp. 278-297.
- Buchert, GP. *et al.* 1997- Effects of harvesting on genetic diversity in old-growth eastern white pine in Ontario, Canada. *Conservation Biology* 11(3): 747-758.
- Cao, TV. 1995. Organisation de la variabilité génétique chez le palmier à huile *Elaeis guineensis* Jacq. Conséquences pour l'amélioration des populations et la création variétale. Thèse de doctorat, Institut National de Recherche Agronomique.
- Creste, S; Tulmann, N; Figueira A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 200-306.
- Crow, JF; Kimura, M. 1970. An introduction to population genetic theory. New York: Harper and Row Publishers Inc.
- Delseny, M; Laroche, M; Penon P. 1983. Detection of sequences with Z-DNA forming potential in high plants. *Biochem Biosphys. Res. Commun.* 116: 113-120.
- Doyle, J; Doyle, L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Ghesquiere, M. 1985. Enzyme polymorphism in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). II. Variability and genetic of seven origins of oil palm. *Oleagineux* 40: 529-540.
- Ghesquiere, M; Barcelos E; Santos MDM; Amblard P. 1987. Enzymatic polymorphism in *Elaeis oleifera* H.B.K. (*E. melanococca*). Analysis of populations in Amazon Basin. *Oleagineux* 42(4): 143-153.
- Glover, T; Mitchell K. 2002. *An introduction to biostatistics*. 1st ed. New-York: The McGraw-Hill Companies.
- Halliburton, R. 2004. Introduction to population genetics. USA: Pearson Prentice Hall.
- Hartley, CWS. 1988. The Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). New York: Longman Scientific and Technical Publication.
- Hayati, A. *et al.* 2004. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germplasm collections from Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 1274-1284.
- Hodgkin, T. 1995. Some current issues in the conservation and use of plant genetic resources. In: Ayad WG, Hodgkin T, Jaradat A and Rao VR (eds). *Molecular Genetic Techniques for Plant Genetic Resources*. Rome: Report on an IPGRI Workshop, pp. 3-10.
- Kashi, Y; Soller M. 1999. Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: Goldstein, D.B. and Schlotterer, C. (eds). *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford: Oxford University Press, pp. 10-23.
- Kushairi, A; Rajanaidu, N; Mohd, Din A. 2003. Mining the germplasm. Paper presented at ISOPB seminar on The Progress of Oil Palm Breeding and Selection. Medan, Sumatra, Indonesia. 6-9 October 2003.

- Lee, CH. *et al.* 1990. Selection progress in the Deli *dura* population. In: *Proceedings of Workshop on Progress of Oil Palm Breeding Populations*. Malaysia: PORIM, pp. 81-89.
- Lim, LS. *et al.* 2002. Genetic diversity of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. in Peninsular Malaysia using microsatellite DNA markers. *Forest Genetics* 9(4): 250-255.
- Marshall, DR; Brown, AHD. 1975. Optimum sampling strategy in genetic conservation. In: Frankel OH and Hawkes JG (eds). *Crop genetic resources for today and tomorrow*. London: Cambridge University Press, pp. 53-80.
- Maxted N; Ford-Lloyd, BV; Hawkes JG. 1997. Plant genetic conservation, the in situ approach. London: Chapman and Hall.
- Purba, AR. *et al.* 2000. A new aspect of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences for breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 956-961.
- Purseglove, JW. 1972. Tropical crops, monocotyledons. London: Longman Group Limited.
- Rajanaidu, N. 1985. *Elaeis oleifera* collection in central and south America, Bangi, Malaysia. In: *Proceedings of International Workshop on Oil Palm Germplasm and Utilisation*. Bangi: PORIM, pp. 84-94.
- Rajanaidu, N. 1994. PORIM oil palm gene bank. Bangi: Palm Oil Research Institute of Malaysia.
- Rajanaidu, N. *et al.* 2000a. Oil palm genetic resources and their utilization: A review. In: *Proceedings of the International Symposium on Oil Palm Genetic Resources and Utilization*. Bangi: MPOB, pp. A1-A55.
- Rajanaidu, N; Maizura, I; Cheah, SC. 2000b. Screening of oil palm natural populations using RAPD and RFLP molecular markers. In: *Proceedings of the International Symposium on Oil Palm Genetic Resources and Utilization*. Bangi: MPOB, pp. AA1-AA28.
- Rajora, OP. *et al.* 2000. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobes*) in Ontario, Canada. *Molecular Ecology* 9: 339-348.
- Rosenquist, EA. 1999. Some ancestral palms and their descendants. In: *Proceedings of the International Symposium on Oil Palm Genetic Resources and Utilization*. Bangi: PORIM, pp. 8-36.
- Saghai Maroof, MA. *et al.* 1994. Extraordinary polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 5466-5470.
- SAS Institute. 1996. SAS procedures guide. Release 6.12 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Tautz, D. 1993 Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. In: Pena SDJ, Chakraborty R, Eppel JT and Jeffreys JA (eds). *DNA Fingerprinting: State of the Science*. Switzerland: Birkhauser Verlag, Basel, pp. 21-28.
- Yeh, FC. 2000 Population genetics. In: Young A, Boshier D and Boyle T (eds.). *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. Australia: CSIRO Publishing, pp. 21-37.
- Yeh, FC; Boyle, T. 1999. POPGENE Version 1.32. The user friendly software for population genetic analysis. University of Alberta and CIFOR.
- Zeven, AC. 1967. The semi-wild oil palm and its industry in Africa. *Agriculture Research Reports*: 698.