

Caracterización molecular de palma de aceite *Elaeis guineensis* Jacq., procedente de diferentes orígenes (Zaire y Camerún) usando marcadores microsatélites

Molecular characterization of oil palm *Elaeis guineensis* Jacq., from different origins (Zaire and Cameroon) using microsatellite markers

Carlos Felipe González Chavarro ¹, Marlon Eduardo León Lozano ², Ana Cruz Morillo Coronado ³, Erick Iván Ochoa ⁴ y Yacenia Morillo Coronado ^{2*}

¹Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica, C.I. Tibaitatá, Mosquera, Cundinamarca. ²Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia. ³Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá. ⁴Unipalma S.A, Villavicencio, Meta. *Autora para correspondencia: ymorillo@unillanos.edu.co

Rec.: 19.01.2015 Acep.: 30.07.2015

Resumen

Se determinó la variabilidad genética de 96 accesiones de palma de aceite (*E. guineensis* Jacq.) procedentes de Camerún y Zaire con 20 marcadores microsatélites. 59 alelos fueron detectados con un promedio de 2.95, tres *loci* fueron polimórficos con un PIC (Índice de Información Polimórfica) promedio de 0.58. Se encontró una alta diversidad genética, con una heterocigocidad total de 0.46, y un alto porcentaje de *loci* polimórficos del 90%. El valor de F_{ST} encontrado fue de 0.14, lo cual sugiere que en las poblaciones de Camerún y Zaire existe una moderada estructura poblacional. La heterocigocidad observada ($H_o=0.67$) fue mayor que la heterocigocidad esperada ($H_e=0.42$), evidenciando una baja presencia de homocigotos. Los parámetros de diferenciación poblacional como el F_{IS} y el F_{IT} confirmaron un alto número de heterocigotos con respecto a lo esperado bajo las condiciones de equilibrio Hardy-Weinberg. Los microsatélites permitieron discriminar los genotipos según el lugar de procedencia. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las colecciones de Camerún y Zaire pueden ser consideradas como una sola población, con moderada estructuración poblacional a pesar del constante flujo génico existente. Estos resultados podrían ser utilizados en futuros programas de conservación, selección y mejoramiento genético de la especie.

Palabras clave: Diversidad genética, estructura poblacional, conservación, heterocigocidad esperada y observada.

Abstract

The genetic variability of 96 accessions of oil palm (*E. guineensis* Jacq.) from Cameroon and Zaire with 20 microsatellite markers was determined. 59 alleles were detected with an average of 2.95, three *loci* were polymorphic with a PIC (Polymorphic Information Index) average 0.58. High genetic diversity, with a total heterozygosity of 0.46, and a high percentage of polymorphic *loci* of 90% was found. F_{ST} value was of 0.14, suggesting that in the populations of Cameroon and Zaire there is a moderate population structure. The observed heterozygosity ($H_o = 0.67$) was higher than expected heterozygosity ($H_e = 0.42$), demonstrating a low presence of homozygous. The parameters of population differentiation as the F_{IS} and F_{IT} confirmed a high number of heterozygotes with respect to expected under the conditions of Hardy-Weinberg equilibrium. Microsatellite allowed discriminating genotypes according to the origin place. The results obtained show that the collections of Cameroon and Zaire may be considered as a single population, with moderate population structure despite of the constant existent gene flow. These results could be used in future conservation programs, selection and genetic improvement of the species.

Keywords: Genetic diversity, population structure, conservation, the observed and expected heterozygosity.

Introducción

La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), es una planta perenne tropical originaria en las Costas del Golfo de Guinea en el África Occidental y Central (Corley y Tinker, 2003). La palma de aceite es importante por la variedad de productos que genera, los cuales se utilizan en la alimentación y la industria. Tanto el aceite de pulpa como el de almendra se emplean para producir margarina, manteca, aceite de mesa y de cocina y jabones.

La utilidad de los marcadores moleculares en palma radica en la posibilidad de brindar apoyo a los programas de fitomejoramiento, mediante el reconocimiento y posterior selección de materiales élite en estado de pre vivero o vivero, acelerando así el mejoramiento convencional (Rocha, 2004). La variabilidad genética detectada por los marcadores moleculares a través de diferentes técnicas de biología molecular tiene su utilidad práctica al permitir la diferenciación entre un gran número de individuos al proporcionar información sobre las relaciones genéticas entre los diferentes organismos. Han demostrado ser una valiosa herramienta en la caracterización y evaluación de la diversidad genética entre y dentro de especies y poblaciones; poseen alto polimorfismo, frecuencia abundante en el genoma, comportamiento selectivamente neutral, fácil acceso y alta reproducibilidad. No son afectados por el ambiente y no varían con la edad de la planta, además tienen la ventaja que la información genética es igual en todas las células somáticas.

Las secuencias sencillas repetidas ("SSR, *Simple Sequence Repeats*") posteriormente, denominadas microsatélites, constituyen la clase más polimórfica de marcadores moleculares hoy disponible. Son ampliamente utilizados debido a que presentan elevado contenido de información polimórfica, por su alta abundancia en el genoma, alta variabilidad debida a su elevado número de alelos por locus, por su forma de herencia codominante y no son afectados por el ambiente (Kalia *et al.*, 2011).

Representan una herramienta poderosa para la identificación de genotipos élites que puedan ser incluidos en programas de mejoramiento (Hayati *et al.*, 2004). Los microsatélites han sido utilizados ampliamente para la caracterización molecular de colecciones genéticas del género *Elaeis* (Arias *et al.*, 2010; Billotte *et al.*, 2001, 2005; Cochard *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2008).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la diversidad genética de 96 accesiones de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) de las colecciones de Zaire y Camerún de Unipalma S.A., empleando 20 marcadores microsatélites.

Materiales y Métodos

Material Vegetal

Se evaluaron 96 accesiones de Palma, de las cuales 48 fueron de la Colección Zaire (actualmente conocido como Congo) y 48 de la Colección Camerún del Banco de Germoplasma de Unipalma S.A, localizado en la vereda Veracruz, Municipio de Cumaral (Departamento del Meta), situado a 4°13'33" N; 73°14'50" O, con una altitud de 452 m.s.n.m.

Análisis Molecular

De cada planta se obtuvo de tres a cuatro foliolos, en buen estado fitosanitario, se almacenaron en sílica gel y fueron transportadas al Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de los Llanos. Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo de Dellaporta modificado previamente. El ADN genómico total se visualizó en geles de agarosa al 0.8% teñidos con Bromuro de etidio y visualizados con luz UV. La concentración de ADN de cada muestra se determinó por espectrofotómetro NanoDrop ND-1000. El ADN cuantificado se diluyó en agua destilada estéril en un volumen de 100 µl a 10 ng/µl y se almacenó a -20°C.

Se utilizaron 20 marcadores microsatélites los cuales han sido evaluados en estudios realizados por Billotte *et al.* (2001; 2005) y por Singh *et al.* (2008) y han sido útiles en la determinación de la diversidad genética en palma (Tabla 1).

La reacción de amplificación se preparó en un volumen final de 25 µl. La mezcla de reacción incluyó Buffer 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTPs 0.2 mM, Taq Polimerasa 1U, cebador 2 µM y ADN genómico 10ng.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (PxE 0,5 Thermal Cycler de Thermo Electron Corporation). La desnaturalización inicial fue de 94°C durante 2 minutos, seguidos por 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, hibridación de 45 - 55 °C por un minuto (dependiendo del primer), una extensión a 72 °C por 2 minutos y la extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

El producto amplificado se visualizó mediante electroforesis en gel de agarosa Metaphor al 4%, a 100 voltios durante una hora, y posteriormente se fotografió.

Análisis estadístico

La información de los patrones de bandas obtenidos se registró en una matriz numérica en donde se asignó un consecutivo para cada uno de los alelos encontrados por locus y a cada individuo se le asignó un máximo de dos valores por locus,

Tabla 1. Microsatélites utilizados en la caracterización molecular de las colecciones de palma de Zaire y Camerún.

Locus SSR	Motivo	5'-3' Forward primer	5'-3' Reverse primer
mEgCIR0008*	(GA)18	CGGAAAGAGGGGAAGATG	ACCTTGATGATTGATGTGA
mEgCIR0009*	(GA)20	CAGCTTTAAGTACGGCTATGAT	GAATTTTTAGTTCAACCAGGTAGA
mEgCIR0018*	(GA)18	CCTTATTTTCTTTGCTTACC	TTCTATTTTATTTTCTTCT
mEgCIR0046*	(GA)19	AGCCTTAGTATTTTGTGAT	CCTCTGATTGTCTTTTGG
mEgCIR0067*	(GA)17	TACACAACCCATGCACAT	AAAAACATCCAGAAATAAAA
mEgCIR0219*	(GA)17	TTTGCTCGGCGGATACAT	CTCACTGGCCTTTTCTT
mEgCIR0230*	(TA)6GAG(GA)19	CCCTGGCCCCGTTTTTC	AGCGCTATATGTGATTCTAA
mEgCIR0254*	(GA)18	CCTTTTGTGCTTTCTTC	GCTGTGCACTAGGTTTTTC
mEgCIR0465*	(CCG)6	TCCCCCAGACCCATTTC	GGCAGGAGAGGCAGCATTTC
sEg00066***	(AT)8	TTGTCCAAGTACTGATGC	ACATTCAGATCCCAGCAAG
sEg00067***	(TGTA)6	GTCAGCCCGTAGAAGATTGC	CTTTCCGATAGCCAAAACGA
sEg00125***	(GCG)6	TACCCCTTTTCCCTCCCTCCATA	CATCATCTCCGTTGCCAGTATT
sEg00126***	(CGC)7	CCGTCTCAAAGCCCTAAAC	TTGTTGTCCCACTCCCTCTT
sEg00127***	(TTC)9	CTAAAATTCCTCATCGTCTC	CTCGAAGCTCATCGTCTCTC
sEg00140***	(GA)10	AAGTGAGACGGTGGATTTGG	GTTCCAGTTGTCTCGCATT
mEgCIR0802**	(GA)12	CTCCTTTGGCGTATCCTTTA	TACGTGCAGTGGGTTCTTTTC
mEgCIR1730**	(CT)17(GT)5	AATTTCAAATACAGCATAGC	CATAGTAAGTTTTGTGATGATTATTA
mEgCIR3282**	(GA)20	GTAACAGCATCCACACTAAC	GCAGGACAGAGTAATGAGT
mEgCIR3363**	(GA)17	CTTGACAATACCCTGAGTAGTAG	GCTGTGCCTATCGGACTT
mEgCIR3546**	(GA)15	GCCTATCCCCTGAACTATCT	TGCACATACCAGCAACAGAG

* Billotte et al. (2001). ** Billotte et al. (2005). ***Singh et al. (2008).

dependiendo de su genotipo (homocigoto – heterocigoto). Para la selección de bandas polimórficas se consideró como locus polimórfico aquel en el cual la frecuencia del alelo más común fue menor al 95%. A partir de esta matriz y usando los programas NTSYS- PC (*Numerical Taxonomy System for Personal Computer*), TFPGA (*Tools for Population Genetic Analysis*) y Arlequin versión 3.11 se realizaron los análisis estadísticos.

El dendrograma fue construido a partir de la matriz de similaridad agrupando los datos con el método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average*), con el programa TREE de NTSYS-PC (versión 2.02[®]). Se calculó el coeficiente de correlación cofenética, que es una medida entre los valores de similitud del dendrograma y los de la matriz original de similaridad, mediante el programa COPH y MXCOMP del paquete NTSYS-PC. Se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) para asociar columnas y filas de la matriz binaria determinando el nivel de asociación o determinar proximidad.

Para estimar la diversidad genética se utilizaron los parámetros de heterocigocidad promedio esperada (He) y el porcentaje de loci polimórficos (P), los cuales se estimarán sobre todos los loci y el promedio de los mismos de acuerdo con la fórmula no sesgada de Nei:

$$H = 1 - \sum f(i)^2$$

Donde H: Probabilidad de que dos individuos tomados al azar tengan diferente alelo. H es el

valor con que se representa la diversidad de la población.

$f(i)$: Frecuencia del alelo i en la población.

$\sum f(i)^2$: Probabilidad de que dos individuos tomados al azar tengan el alelo i.

Finalmente, se calculó el contenido de información del polimorfismo (PIC) para los 20 loci analizados y se determinó posteriormente, la correspondiente estructura poblacional.

Resultados y Discusión

Caracterización molecular

Se obtuvo un total de 54 alelos, que fluctuaron entre 2 a 4 por locus y un promedio de 2.70 alelos/locus. Resultados similares fueron obtenidos por Singh *et al.* (2008) con microsatélites en el género *Elaeis* con un promedio de alelos de 2.56; Zaki *et al.* (2010), con 14 marcadores microsatélites en cuatro poblaciones de *E. oleifera* de diferentes países obtuvieron un valor de 2.66.

El porcentaje de loci polimórficos para Camerún fue del 100% frente a un 95% de Zaire. Con relación a las frecuencias alélicas, en un total de 59 alelos se obtuvieron valores de 0.05 (mEgCIR0018 y mEgCIR0465) a 0.98 (mEgCIR009 y mEgCIR0018) (Tabla 2). Para el alelo más frecuente Fr (A2) de cada marcador fue observada una variación de 0.010 (mEgCIR0018) a 0.875 (mEgCIR0254) y menos frecuente Fr (A5) de cada marcador tuvo una variación de 0.2343 (mEgCIR0067) a 0.6615 (sEg00127).

Tabla 2. Número de alelos (A), Frecuencias Alélicas (Fr) para las colecciones de Zaire y Camerún.

Locus SSR	Camerún						Zaire					
	A	Fr (A1)	Fr (A2)	Fr (A3)	Fr (A4)	Fr (A5)	A	Fr (A1)	Fr (A2)	Fr (A3)	Fr (A4)	Fr (A5)
mEgCIR0008	2	-	0.50	0.50	-	-	3	0.02	0.50	0.50	-	-
mEgCIR0009	2	0.99	0.01	-	-	-	2	0.98	0	-	-	-
mEgCIR0018	2	0.01	-	0.99	-	-	3	-	0	0.50	0.48	-
mEgCIR0046	2	0.50	0.50	-	-	-	2	0.50	0.50	-	-	-
mEgCIR0067	3	0.03	-	-	0.50	0.47	2	-	0.30	0.69	-	-
mEgCIR0219	4	0.50	0.39	0.06	0.05	-	2	0.50	0.50	-	-	-
mEgCIR0230	2	0.45	0.55	-	-	-	2	0.75	0.30	-	-	-
mEgCIR0254	2	0.03	0.97	-	-	-	2	0.22	0.80	-	-	-
mEgCIR0465	3	0.01	0.50	0.49	-	-	2	-	0.50	0.50	-	-
sEg00066	2	0.50	0.50	-	-	-	2	0.56	0.40	-	-	-
sEg00067	2	0.50	0.50	-	-	-	2	0.50	0.50	-	-	-
sEg00125	2	0.98	0.02	-	-	-	2	0.97	0	-	-	-
sEg00126	4	0.08	0.01	0.41	0.50	-	4	0.01	0.10	0.43	0.50	-
sEg00127	4	0.21	-	0.27	0.02	0.50	4	0.05	0.10	0.02	-	0.82
sEg00140	3	0.16	0.34	0.50	-	-	3	0.16	0.70	0.16	-	-
mEgCIR0802	2	0.73	0.27	-	-	-	2	0.58	0.40	-	-	-
mEgCIR1730	2	0.63	0.38	-	-	-	2	0.45	0.60	-	-	-
mEgCIR3282	4	0.01	0.39	0.21	0.40	-	3	0.01	0.50	-	0.51	-
mEgCIR3363	3	0.03	0.55	0.42	-	-	1	-	1	-	-	-
mEgCIR3546	4	0.05	0.10	0.61	0.23	-	3	0.13	0.10	0.77	-	-
Total	54	6.40	6.48	4.46	1.70	0.97	48	6.39	7.80	3.56	1.49	0.82
Promedio	2.7	0.32	0.32	0.22	0.08	0.05	2.4	0.32	0.40	0.18	0.07	0.04

Cuando un alelo alcanza la frecuencia 1, se dice que se fija a la población y cuando alcanza la frecuencia 0 se ha perdido. Las frecuencias alélicas no varían más allá de los límites de 0 y 1, tarde o temprano, todas las familias deberán llegar a esos límites. Dado que la frecuencia alélica llega a 0 o 1 no puede cambiar su linaje, a no ser de sufrir mutación o migración.

Diversidad genética

La heterocigocidad observada (H_o) de las poblaciones evaluadas presentó valores entre 0.0 (mEgCIR0009) y 1.0 (mEgCIR0008, mEgCIR0018, mEgCIR0046, mEgCIR0219, mEgCIR0465, sEg00067 y sEg000126) tanto para Zaire como para Camerún, con un promedio de 0,67 (Tabla 3). La heterocigocidad esperada (H_e), que es la probabilidad de que un individuo sea heterocigoto para un *loci*, fue menor que la observada. Por tanto, se evidenció la baja presencia de homocigotos. En general, los valores de H_o fueron mayores que los de H_e en los *loci* evaluados donde los marcadores mEgCIR0008, mEgCIR0018, mEgCIR0046, mEgCIR0219, mEgCIR0465, sEg00067 y sEg000126, fueron los que presentaron elevada cantidad de heterocigotos.

La heterocigocidad puede ser considerada como un indicativo de la existencia de variabilidad genética para especies alógamas como la palma. Los altos porcentajes de *loci* polimórficos, con una media de 90%, pueden ser atribuidos a

la baja homocigocidad encontrada en diferentes genotipos.

La diversidad genética total (H_t) alcanzó una media de 0,46, lo que indica una alta diversidad genética del material evaluado similar a lo observado por (Allou *et al.*, 2008), con cuatro *loci* microsatélites.

Contenido de Información Polimórfica (PIC)

El contenido de información polimórfica (PIC) se refiere a una medida del grado de información que brinda un determinado marcador genético, la cual depende del número de alelos para ese locus y de sus frecuencias relativas. Según Ott (1992), un *locus* es polimórfico cuando H_o fue superior a 0.1 y altamente polimórfico si H_o fue superior a 0.7.

De los 20 marcadores evaluados, los marcadores mEgCIR0009 y sEg00125 no fueron considerados polimórficos, 17 fueron considerados polimórficos y el marcador mEgCIR0067 resultó altamente polimórfico, presentando cinco alelos (Tabla 4).

Singh *et al.* (2008), utilizando diez marcadores microsatélites en palma de aceite, obtuvo valores de PIC entre 0,19 y 0,84. Así, el número de *loci* polimórficos es directamente proporcional al grado de heterocigocidad.

Tabla 3. Heterocigocidad observada (Ho), heterocigocidad esperada (He) y heterocigocidad total (Ht) para las colecciones evaluadas.

Locus SSR	Camerún		Zaire		Tot. Het
	Ho	He	Ho	He	
mEgCIR0008	1.00	0.51	1.00	0.53	0.51
mEgCIR0009	0.00	0.02	0.00	0.04	0.03
mEgCIR0018	1.00	0.02	1.00	0.53	0.39
mEgCIR0046	1.00	0.51	1.00	0.51	0.50
mEgCIR0067	0.63	0.54	0.63	0.43	0.74
mEgCIR0219	1.00	0.60	1.00	0.51	0.56
mEgCIR0230	0.50	0.50	0.50	0.38	0.48
mEgCIR0254	0.44	0.06	0.44	0.35	0.22
mEgCIR0465	1.00	0.52	1.00	0.51	0.51
sEg00066	0.88	0.51	0.88	0.50	0.50
sEg00067	1.00	0.51	1.00	0.51	0.50
sEg00125	0.06	0.04	0.06	0.06	0.05
sEg00126	1.00	0.58	1.00	0.57	0.58
sEg00127	0.31	0.64	0.31	0.31	0.52
sEg00140	0.31	0.61	0.31	0.48	0.61
mEgCIR0802	0.79	0.40	0.79	0.49	0.45
mEgCIR1730	0.85	0.47	0.85	0.50	0.50
mEgCIR3282	0.79	0.66	0.85	0.50	0.60
mEgCIR3363	0.69	0.53	0.00	0.00	0.36
mEgCIR3546	0.46	0.56	0.46	0.38	0.49
Promedio	0.69	0.44	0.65	0.40	0.46

Tabla 4. Contenido de Información Polimórfica (PIC) estimado para los 20 marcadores microsatélites.

Locus SSR	PIC
mEgCIR0008	0.39
mEgCIR0009	0.03
mEgCIR0018	0.32
mEgCIR0046	0.38
mEgCIR0067	0.69
mEgCIR0219	0.45
mEgCIR0230	0.37
mEgCIR0254	0.19
mEgCIR0465	0.38
sEg00066	0.37
sEg00067	0.38
sEg00125	0.05
sEg00126	0.48
sEg00127	0.48
sEg00140	0.53
mEgCIR0802	0.35
mEgCIR1730	0.37
mEgCIR3282	0.51
mEgCIR3363	0.30
mEgCIR3546	0.46
Promedio	0.37

Tabla 5. Valores de F_{IS} , F_{ST} y F_{IT} obtenidos para cada uno de los veinte marcadores microsatélites y el valor de probabilidad obtenido en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg (P-value).

Locus SSR	F_{IS}	P-value	F_{ST}	F_{IT}
mEgCIR0008	-0,9600	1,000	0,0004	-0,959
mEgCIR0009	0,6667	0,008	-0,0141	0,662
mEgCIR0018	-0,8862	1,000	0,4644	-0,010
mEgCIR0046	-1,0000	1,000	0,0000	-1,000
mEgCIR0067	-0,6890	1,000	0,5190	0,188
mEgCIR0219	-0,8234	1,000	0,0159	-0,794
mEgCIR0230	-0,5985	1,000	0,1700	-0,327
mEgCIR0254	-0,1288	0,946	0,1410	0,030
mEgCIR0465	-0,9794	1,000	0,0000	-0,979
sEg00066	-0,8876	1,000	0,0067	-0,875
sEg00067	-1,0000	1,000	0,0000	-1,000
sEg00125	-0,0173	1,000	-0,0082	-0,026
sEg00126	-0,7475	1,000	0,0047	-0,739
sEg00127	-0,3404	1,000	0,1713	-0,111
sEg00140	-0,1985	0,998	0,1718	0,007
mEgCIR0802	-0,5055	1,000	0,0411	-0,444
mEgCIR1730	-0,6593	1,000	0,0578	-0,563
mEgCIR3282	-0,5176	1,000	0,0485	-0,444
mEgCIR3363	-0,3131	0,993	0,4147	0,233
mEgCIR3546	0,0307	0,362	0,0708	0,099
Promedio	-0,5300	0,920	0,1100	-0,350

Diferenciación de poblaciones

El valor de F_{ST} detectado fue de 0,11 (Tabla 5), lo cual indica que existe una moderada diferenciación genética de las colecciones. El grado de diferenciación indica que el 11% de la variación se debe a diferencias entre poblaciones.

Montoya *et al.* (2005), reportaron un F_{ST} de 0,084 entre genotipos procedentes de Angola. Hayati *et al.* (2004) reportaron un F_{ST} de 0,301 entre las poblaciones de la Costa Oeste y Centro de África. En tanto que para la zona que abarcaba los países de República Democrática del Congo, Tanzania y Angola reportaron un F_{ST} = 0,073 (di-

ferenciación genética moderada). Maizura *et al.* (2001), reportaron un $F_{ST} = 0,175$ en amplio rango de poblaciones africanas.

Las poblaciones naturales de organismos muestran casi siempre diferencias de frecuencias génicas y genotípicas en el espacio geográfico. Si esas diferencias llegan al extremo de ser significativas y las subpoblaciones no intercambian genes (en forma de migrantes o granos de polen que fecunden a individuos de otras subpoblaciones), entonces cada una de ellas puede evolucionar independientemente y con el tiempo dar lugar a nuevas especies. Evaluar la existencia de estructura genética poblacional es importante debido a que las poblaciones que presenten estructuración, pueden diversificar y diferenciarse genéticamente.

En el caso de las colecciones en la zona geográfica de procedencia, se encontró una moderada diferenciación genética, lo cual indica que posiblemente existe un grado de flujo génico entre las colecciones y por lo tanto, no existirían barreras ni marcada diferencia entre las colecciones. Lo anterior posiblemente se deba al transporte de materiales asociados con actividades humanas, polinización cruzada natural, o por eventos de migración de cepas o semillas por corrientes de agua, aves y otros animales.

El valor promedio del índice F_{IS} obtenido fue de $-0,53$; comprendido en un rango de $-0,01732$ (sEg00125) y $-1,0$ (mEgCIR0046 y sEg00067), donde 18 marcadores de los 20 evaluados fueron negativos (Tabla 5). Este valor negativo confirmó un alto número de heterocigotos con respecto a lo esperado bajo las condiciones de equilibrio Hardy-Weinberg. Los 20 marcadores microsatélites se encontraron en equilibrio HW, a excepción del microsatélite mEgCIR0009, esto significa que la composición genética de una población natural permanece en equilibrio mientras no actúen la selección natural, la mutación o la deriva genética.

El exceso de heterocigotos encontrado en las dos colecciones puede ser explicado por una inmigración importante conducente a la heterogamia, selección a favor de individuos heterocigotos (selección sobredominante), la naturaleza alógama de la especie, el estado silvestre de los genotipos analizados, entre otros factores. Lo anterior se ve reflejado en el elevado valor de heterocigocidad encontrado en la población total (0.5), así como el grado de *loci* polimórficos (90%), lo cual es de suma importancia para explotar el potencial genético de la especie, mejorar la base genética del cultivo, diseñar germoplasma y la identificación de genotipos élitos, los cuales podrían ser utilizados como parentales en el mejoramiento genético de la palma.

El valor de F_{IT} fue de $-0,35$, lo cual refuerza el valor de F_{IS} , por lo tanto, se detectó un marcado aumento del número de heterocigotos respecto a lo esperado en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Dendrograma

A un nivel de similaridad del 80%, las colecciones de Camerún y Zaire, se diferenciaron en base a su procedencia geográfica (Figura 1). Se detectó una correlación cofenética elevada ($r = 1.00$), lo cual indica que el dendrograma representa fielmente los valores de la matriz de similitud. A un índice de similitud entre 92 y 98%, existe una alta concentración de genotipos, sugiriendo una alta similitud entre ellos, esto posiblemente se deba al constante flujo génico entre las colecciones en estudio.

El genotipo 5404 de Camerún presentó el menor valor de similaridad (86,5%) con respecto a los demás genotipos evaluados, posiblemente por características propias de esta especie tales como: tipo de material, origen de la progenie y tal vez características morfológicas.

Cochard *et al.* (2009), en un estudio de diversidad genética con 17 marcadores SSR, observaron una clara separación del grupo con origen Deli de aquellos procedentes de Costa de Marfil, como lo es el material La Mé y el de materiales provenientes de África Central.

Análisis de correspondencia múltiple (ACM)

Los resultados confirman que existe una alta relación entre las zonas geográficas de procedencia de los materiales, además, muestra una alta variación de los materiales en las colecciones evaluadas y con identidad genética por lo cual forman grupos homogéneos (Figura 2). Se observa una clara distribución de las plantas entre las colecciones, agrupándose de acuerdo a su procedencia.

Conclusión

La elevada variabilidad genética obtenida en los materiales de palma silvestres evaluados, puede ser utilizada en procesos de selección de parentales y recombinación genética con fines de obtener genotipos élitos con características agronómicas deseadas, adaptación a diferentes zonas agroecológicas, incrementos en la producción de aceite, alto rendimiento y resistencia a enfermedades y plagas limitantes del cultivo.

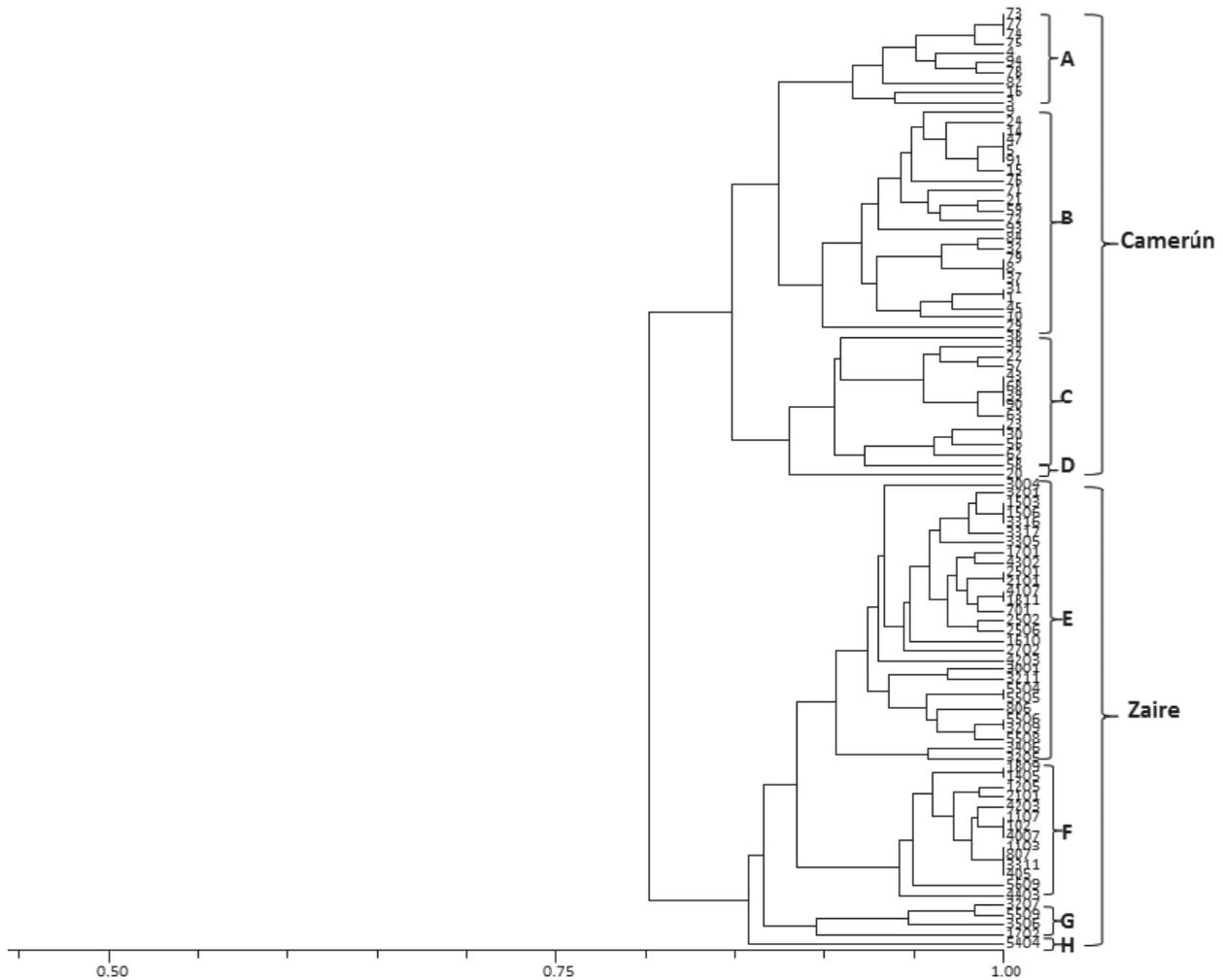


Figura 1. Dendrograma realizado con el método de clasificación UPGMA, utilizando los datos de 20 marcadores microsátelites en 96 materiales de *Elaeis guineensis*.

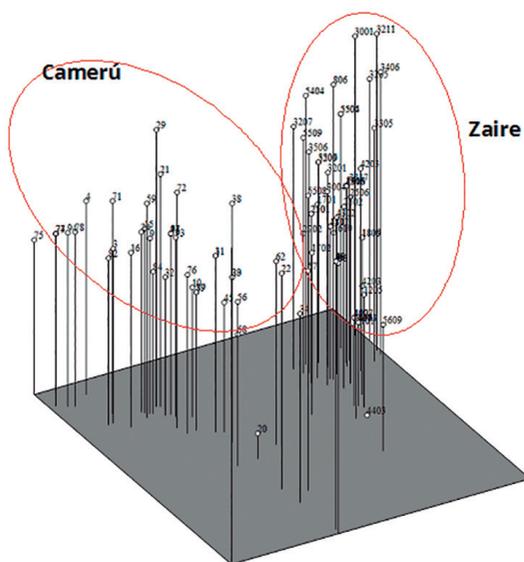


Figura 2. Análisis de correspondencia múltiple (ACM) para las muestras evaluadas y construidas utilizando los datos obtenidos mediante los veinte marcadores moleculares microsátelites.

Agradecimientos

A la Empresa Unipalma S.A., al Doctor Salvador Rojas González, el Laboratorio de Biología Molecular de Medicina Veterinaria y Zootecnia (MVZ) de la Universidad de los Llanos. Este trabajo de investigación fue seleccionado en la “Convocatoria para apoyar financieramente la ejecución de Proyectos de Investigación de grado año 2012”, por la Dirección General de Investigaciones de la Universidad de los Llanos.

Referencias

- Allou. D. Adon. B. & Sangare. A. (2008). Molecular Variability from two selection of BRT10 population in an inbreeding program of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) in Cote d'Ivoire. *Afr J Biotechnol*, 7(20), 3550-3553. doi: 10.5897/AJB08.080.
- Arias. D. M. Montoya. C. Romero. H. M. (2010). Preliminary results on the molecular characterization of oil palm using microsatellites markers. *Palmas*, 31(3), 35-45.

- Billotte, N. Rusterucci, A. Barcelós, Noyer, J. Amblard, P. & Baurens, F. (2001). Development, characterization and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) microsatellite markers. *Genome*, 44(3), 413-425. doi: 10.1139/g01-017.
- Billotte, N. N. Marseillac, A. M. Risterucci, B. Adon, P. Brottier, F. C. Baurens, R. Charrier, A. (2005). Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*E. guineensis* Jacq). *Theor Appl Genet*, 110(4), 754-765. doi:10.1007/s00122-004-1901-8.
- Cochard, B. Adon, B. Rekima, S. Billotte, N. Desmier, de Chenon, R. Koutou, A. Nouy, B. Omoré, A. Purba, A. R. Glazsmann, J. C. Noyer, J. L. (2009). Geographic and genetic structure of African oil palm diversity suggest new approaches to breeding. *Tree Genet Genomes*, 5(3), 493-504. doi: 10.1007/s11295-009-0203-3.
- Cole, D. White, T. Nair, P. K. R. (2007). Maintaining genetic resources of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth): The role of seed migration and swidden-fallow management in northeastern Peru. *Genet Resour Crop Ev*, 54(1), 189-204. doi: 10.1007/s10722-005-3134-3.
- Corley, R. & Tinker, P. (2003). La palma de aceite. 4th edición. (Fedepalma, Traducción.) Blackwell Science, Oxford, UK.
- Kalia, R. K. Rai, M. K. Kalia, S. Singh, R. & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309-334. doi: 10.1007/s10681-010-0286-9.
- Mayes, S. Jack, P. L. Marshall, D. F. & Corley, R. H. V. (1997). Construction of a RFLP genetic linkage map for oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Genome*, 40(1), 116-122. doi: 10.1139/g97-016.
- Mohammadi, S. & Prasanna, B. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Sci*, 43(4), 1235-1248. doi: 10.2135/cropsci2003.1235.
- Montoya, C. Arias, D. Rey, L. & Rocha, P. (2005). Diversidad genética de materiales *Elaeis guineensis* Jacq., procedentes de Angola. *Fitot Col*, 5(2):1-10.
- Ochoa, E.I. Villegas, V.E. & Beebe, S.E. (1997). Identificación de marcadores moleculares RAPD asociados con la resistencia al Complejo Pudrición de Cogollo en palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Palmas*, 8(2), 33-38.
- Ott, J. (1992). Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. *Am J Hum Genet*, 51(2), 283-290.
- Peakall, R. & Smouse, P. (2012). GenAlex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460.
- Piñero, D. Barahona, A. Eguiarte, L. Rocha-Olivares, A. & Salas-Linaza, R. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. Capital natural de México, I: Conocimiento actual de la biodiversidad (CONABIO). 415-435 p.
- Purba, A. R. Noyer, J. L. Baudouin, L. Perrier, X. Hamon, S. Lagoda, P. J. L. (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. *Theor Appl Genet*, 101(5-6), 956-961. doi: 10.1007/s001220051567.
- Rocha, P.J. (2004). Conceptos básicos en biotecnología de la palma de aceite. *Palmas*, 25(sup.esp), 11-17.
- Shah, F. H. Rashid, O. Simons, A. J. Dundson, A. (1994). The utility of RAPD markers for determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Theor Appl Genet*, 89(6), 713-718. doi: 10.1007/BF00223710.
- Singh, R. Noorhariza, M. Z. Ting, N. C. Rozana, R. Tan, S. G. & Low, E. T. L. (2008). Exploiting an oil palm EST database for the development of gene-derived SSR markers and their exploitation for assessment of genetic diversity. *Biologia*, 63(2), 227-235. doi: 10.2478/s11756-008-0041-z.
- Zaki, N. M. Ismail, I. Rosli, R. Chin, T. N. & Singh, R. (2010). Development and characterization of *Elaeis oleifera* microsatellite markers. *Sains Malays*, 39(6), 909-912.