

Polymorphisme enzymatique chez *Elaeis oleifera* H.B.K. (*E. melanococca*)

Analyse des populations du Bassin amazonien

M. GHESQUIÈRE (1), E. BARCELOS (2), M. de M. SANTOS (3), P. AMBLARD (4)

Résumé. — Quarante-six populations de *E. oleifera* prospectées dans le Bassin amazonien ont été examinées pour leur polymorphisme à 14 locus enzymatiques. Bien que la diversité génétique soit peu importante globalement, il est possible de différencier les populations de Caracaraï, au Nord, de toutes les autres dont la structure génétique se relie étroitement au réseau hydrogéographique du fleuve Amazone. Différenciations enzymatique et phénotypique sont comparées chez *E. oleifera* et discutées par rapport à celles mises en évidence chez *E. guineensis* entre les origines Ouest et Centrafricaines.

INTRODUCTION

La culture du palmier à huile dans les régions tropicales du monde exploite presque exclusivement l'espèce *Elaeis guineensis*, originaire d'Afrique de l'Ouest. Il existe cependant une autre espèce dans le genre, *E. oleifera*, répandue à l'état spontané en Amérique équatoriale [Meunier, 1976]. Bien que peu utilisée localement, cette espèce présente suffisamment d'intérêts (faible croissance, résistance aux maladies, qualité de l'huile) pour souhaiter les valoriser en croisement avec *E. guineensis* avec laquelle elle s'hybride relativement aisément [Meunier *et al.*, 1976].

Afin de collecter et d'exploiter cette ressource génétique du Brésil, une prospection des populations spontanées de *E. oleifera* a été réalisée conjointement par l'EMBRAPA et par l'IRHO dans le bassin amazonien [Andrade, 1982 ; Pacheco, 1982 ; Meunier et Amblard, 1982].

Les populations visitées ont fait l'objet de multiples observations (caractères végétatifs, composition des régimes et de l'huile,...) permettant un premier classement phénotypique et mettant en valeur l'intérêt potentiel de ce matériel pour les croisements avec *E. guineensis* [Barcelos *et al.*, 1985]. Il était alors intéressant de déterminer quelle pouvait être aussi la variation des caractères révélés par électrophorèse enzymatique. Leur déterminisme génétique simple, leur indépendance des effets, du moins directs, de la sélection humaine ou environnementale, permettent en effet une description d'une autre nature de la variation génétique des populations prospectées.

MATÉRIEL

Deux cent dix-huit descendances appartenant à 53 populations et classées en 13 grands groupes géographiques ont été collectées lors de la prospection (Fig. 1). Cent vingt-quatre descendances restaient disponibles après germination, assurant cependant, sauf pour le groupe XI, une représentation correcte des populations (46/53) dans les groupes. Compte tenu d'autre part du nombre limité des descendances par population (3 en moyenne), c'est au niveau des groupes géographiques que l'étude du polymorphisme enzymatique s'est placée, en échantillonnant un seul individu par descendance pour la totalité des 124 descendances. Cet échantillonnage permettait aussi d'avoir rapidement un bon aperçu de l'ampleur de la variation allélique des locus enzymatiques parmi le matériel prospecté.

MÉTHODES

Au stade pépinière, la deuxième feuille de chaque individu échantillonné par descendance est lyophilisée puis broyée finement au mortier à 4 °C dans 40 p. 100 (0,7 ml/g de feuille fraîche) de Polyclar (polyvinylpyrrolidone, forme insoluble). Le mélange en poudre est repris ensuite dans un tampon phosphate de potassium 0,1 M à pH 7,0 (3,6 ml/g de feuille fraîche) contenant du DTE (dithioerythritol) 0,01 M et de la cystéine 0,1 M.

Les méthodes de migration à partir d'extraits foliaires ne diffèrent pas de celles utilisées pour le pollen de *E. guineensis* [Ghesquière, 1984]. Elles ont été simplement réexaminées et choisies pour chaque système enzymatique en fonction de l'activité présentée par les extraits foliaires et la qualité des zymogrammes obtenus. Onze systèmes enzymatiques ont été analysés dont les méthodes de migration, sur gels d'amidon et de polyacrylamide, sont rappelées dans le tableau I.

(1) Laboratoire d'électrophorèse, CIRAD, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex (France)

(2) Généticien au CNPSD (*)

(3) Chef Technique au CNPSD (*)

(4) Ingénieur agronome, IRHO-CIRAD détaché au CNPSD (*)

(*) CNPSD-EMBRAPA, Km-30-AM010, C.P. N° 319, 69000 Manaus (Brésil).

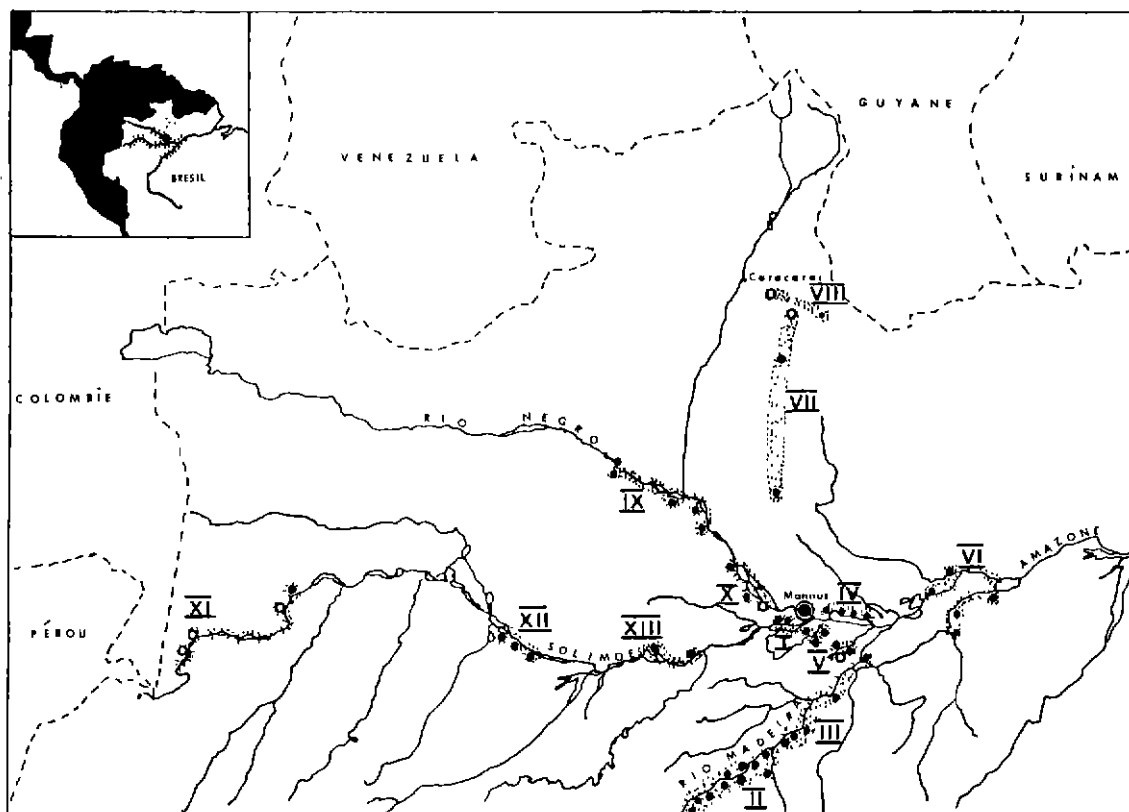


FIG 1 — Prospection 1982 IRHO-EMBRAPA d'*Elaeis melanococca* dans le bassin amazonien (1982 IRHO-EMBRAPA *Elaeis melanococca* prospection in the Amazon Basin) :

- définition des 13 groupes géographiques (definition of the 13 geographic groups).
- = situation des 46 populations analysées par électrophorèse (location of the 46 populations analyzed using electrophoresis).
- = populations non analysées (populations not analyzed).

TABLEAU I. — Méthodes de migration pour l'analyse de la variabilité génétique de *E. melanococca* par électrophorèse de 11 systèmes enzymatiques d'extraits foliaires (Migration methods for the analysis of genetic variability in *E. melanococca* through electrophoresis of 11 leaf extract enzyme systems)

Système enzymatique (Enzymatic system)	Abréviation (Abbreviation)	Nomenclature	Méthode de migration (Method)
Estérases cathodiques (Cathodic esterases)	Est cath.	3.1.1. 1.	
Isocitrate déshydrogénase (Isocitrate dehydrogenase)	Idh	1.1.1.42.	
Malate déshydrogénase (Malate dehydrogenase)	Mdh	1.1.1.37.	Gel d'amidon à 12,5 % - système tampon continu : (Starch gel at 12,5 %, continuous buffer system :) Tris Citrate pH 7,0 [Shaw et Prasad, 1970]
Phosphatases acides cathodiques (Cathodic acid phosphatases)	Acp cath.	3.1.3. 2.	
Phosphoglucose mutase (Phosphoglucose mutase)	Pgm	2.7.5. 1.	
Shikimate déshydrogénase (Shikimate dehydrogenase)	Skdh	1.1.1.25.	
Phosphatases acides anodiques (Anodic acid phosphatases)	Acp an.	3.1.3. 2.	Gel d'amidon à 12,5 % - système tampon discontinu : (Starch gel at 12,5 %, discontinuous buffer system :), gel - Tris Citrate pH 8,7 ; électrodes - NaOH borate pH 8,2 [Poulik, 1957]
Phosphogluconate déshydrogénase (Phosphogluconate dehydrogenase)	Pgd	1.1.1.44.	
Phosphoglucose isomérase (Phosphoglucose isomerase)	Pgi	5.3.1. 9.	
Amylases (Amylases)	Amy	3.2.1. 1.	Gel de polyacrylamide à 11 % (12 % pour Est an.) (Polyacrylamide gel at 11 % - 12 % for Est an.) bis-acrylamide/acrylamide : 1/20
Endopeptidase (Endopeptidase)	Endo	3.4.11.	
Estérases anodiques (Anodic esterases)	Est an.	3.1.1. 1.	système tampon continu (continuous buffer system :) : Tris Borate (0,0089 M) EDTA (0,025 M) pH 8,1
Glutamate oxaloacétate transaminase (Glutamate oxaloacetate transaminase)	Got	2.6.1. 1.	

Par rapport à l'étude du polymorphisme enzymatique de *E. guineensis*, deux systèmes supplémentaires ont été observés dont les révélations enzymatiques sont les suivantes : Estérases — préincubation dans un tampon tris HCl 0,02 M, pH 7,2 — incubation 7 minutes dans ce tampon contenant de l' α -naphthylacétate (1,4 mg/ml) et du β -naphthylacétate (0,2 mg/ml) dilués au préalable dans de l'acétone — rinçage puis coloration au Fast Blue RR (0,7 mg/ml) et Fast Garnett GBC (0,3 mg/ml) ; Amylases — incubation 1 heure dans un tampon acétate de sodium 0,05 M, pH 5,0 additionné d'amidon soluble (12 mg/ml) porté auparavant à ébullition — coloration dans une solution iodo-iodurée (iode : 2,6 g/l ; iodure de potassium : 6 g/l).

Pour décrire les différents niveaux d'organisation des palmiers analysés, quelques paramètres simples ont été utilisés : l'hétérozygote observée Ho (calculée H) est la proportion moyenne observée (calculée) de locus à l'état hétérozygote chez un individu, l'indice de fixation (f) correspond au déficit en hétérozygotes (H-Ho/H).

RÉSULTATS

1. — Déterminisme génétique.

Les 11 systèmes enzymatiques observés chez *E. oleifera* se sont révélés polymorphes à l'exception de la Pgd. Faute de pouvoir le tester à l'aide de croisements ou d'autofécondations, le contrôle génétique des marqueurs enzymatiques a été extrapolé de celui mis en évidence chez *E. guineensis* à partir d'électrophorèses conjointes d'extraits de pollen et de feuille d'individus apparentés. Quatorze locus polymorphes présentant un total de 31 allèles ont été ainsi isolés chez *E. oleifera*. Les locus homéologues à ceux de *E. guineensis* ont été affectés de la même lettre (A, par défaut lorsqu'un seul locus polymorphe a été examiné). L'homologie allélique n'ayant pas été déterminée en revanche entre les deux espèces, les numéros des allèles observés chez *E. oleifera* ont été systématiquement suivis de (') pour les distinguer, *a priori*, des allèles isolés chez *E. guineensis* (Tabl. II).

TABLEAU II. — Fréquences alléliques observées (ou estimées *) à 14 locus enzymatiques chez les 7 principaux groupes de *E. melanococca* prospectés dans le bassin amazonien
(Allelic frequencies observed — or estimated * — at 14 enzymatic loci for 7 major *E. melanococca* groups prospected in the Amazon Basin)

		I-IV-V- VI-XI (Amazone)	II	III	VII-VIII	IX-X	XII	XIII	Moyenne (Mean)
	Effectif (Number)	44	34	13	5	16	4	8	124
Acp An.	B1'	0,648	0,765	0,577	0,9	0,250	0,625	0,562	0,629
	2'	0,352	0,235	0,423	0,1	0,750	0,375	0,438	0,371
Cath.	0'	0,235*	0,968*	0,390*		0,923*	0,823*		0,606*
	1'	0,716	0,032	0,610	1	0,077	0,177	1	0,394
Amy	1'	0,738	0,897	0,577	1	1	1	0,437	0,798
	2'							0,500	0,033
	3'	0,262	0,103	0,423				0,063	0,169
Endo	1'	0,034	0,103	0,154		0,031	0,125	0,313	0,072
	2'	0,835	0,471	0,654	0,6	0,844	0,875	0,687	0,718
	3'	0,131	0,426	0,192	0,4	0,125			0,210
Est An.	A1'	1	0,941	0,962	1	1	0,750	1	0,972
	2'		0,059	0,038			0,250		0,028
An.	B1'	0,932	0,412	0,577	0,8	0,937	0,375	0,875	0,726
	2'	0,068	0,588	0,423	0,2	0,063	0,625	0,125	0,274
Cath.	1'	0,387	0,309	0,269	0,4	0,531	0,375	0,563	0,383
	2'	0,613	0,691	0,731	0,6	0,469	0,625	0,437	0,617
Got	A1'	1	1	1	0,2	1	1	1	0,968
	2'				0,8				0,032
	B1'	0,931	0,676	0,577	1	1	0,500	0,625	0,802
	2'	0,069	0,324	0,423			0,500	0,375	0,198
Idh	1'	0,011	0,176	0,308		0,063			0,093
	2'	0,989	0,824	0,692	1	0,938	1	1	0,907
Mdh	G1'	0,011	0,279	0,115	0,1	0,313	0,125	0,063	0,145
	2'	0,989	0,721	0,885	0,9	0,687	0,875	0,937	0,855
Pgi	1'	0,478	0,765	0,846	0,8	0,469	0,375	0,687	0,613
	2'	0,522	0,235	0,154	0,2	0,531	0,625	0,313	0,387
Pgm	B1'	0,137		0,231	0,7	0,094		0,063	0,117
	2'	0,863	1	0,692	0,3	0,916	0,750	0,937	0,867
	3'			0,077			0,250		0,016
Skdh	1'					0,251*			0,036*
	2'	1	1	1	1	0,749	1	1	0,964

La détection des hétérozygotes n'étant pas possible à certains locus (Skdh, Acp cath.), la fréquence des allèles « récessifs » à ces locus a été estimée en tenant compte du déficit moyen en hétérozygotes (f) calculé à l'aide des 12 autres locus.

2. — Variabilité intraspécifique.

La distribution des fréquences alléliques dans le matériel prospecté (Tabl. II) montre qu'il existe un allèle fréquent ($p > 0,6$) à chacun des 14 locus. Pour 11 d'entre eux, le polymorphisme doit son origine à la présence d'un allèle en fréquence intermédiaire ($0,05 < p < 0,40$), complétée éventuellement par l'apparition d'un troisième allèle, en fréquence intermédiaire (locus Endo) ou rare (locus Amy et Pgm B). Pour les 3 derniers locus (Got A, Skdh et Est A), le polymorphisme n'est dû qu'à l'existence d'un allèle rare unique ($p < 0,05$).

3. — Organisation de la variabilité génétique.

L'analyse factorielle des correspondances (46 populations — présence à 11 locus des 12 allèles en fréquence intermédiaire) met en évidence une organisation opposant nettement sur l'axe horizontal les populations du groupe II (partie supérieure du Rio Madeira) à l'ensemble de celles composant les groupes I, IV, V, VI, VII, VIII, XI et XIII (Fig. 2). Le long de l'axe vertical, ce sont les groupes IX et X (Rio Negro) qui se différencient du groupe III (partie inférieure du Rio Madeira). Le groupe XII reste le seul à

être mal défini avec ses trois populations dispersées autour du centre du repère.

Le groupe III se caractérise par une forte hétérogénéité. Excepté cette situation et le cas de la population 3.7.1. du groupe VI, les groupes géographiques définis lors de la prospection constituent des ensembles de populations remarquablement homogènes compte tenu de leur échantillonnage, encore qu'une part de cette homogénéité doive être attribuée à la technique de l'AFC (confusion des génotypes homozygotes et hétérozygotes pour l'allèle en fréquence intermédiaire).

Parmi les 5 allèles rares exclus de l'AFC, la présence de 4 d'entre eux permet de compléter plus précisément la structure génétique du matériel prospecté. Les allèles Got A2, Amy 2 et Skdh 1 sont localisés et apparaissent spécifiques des groupes VII-VIII, XIII et IX respectivement. Enfin, l'allèle Est A2 semble plus caractéristique du niveau population. Il est principalement rencontré dans la population 2.2.1 du groupe II mais aussi dans la population 2.2.5 du groupe III dont l'AFC montre pourtant la similitude de la composition allélique avec les populations de l'Amazonie.

Ces observations permettent un nouveau découpage des populations en groupes : on distinguera ainsi par la suite l'ensemble Amazone, constitué des groupes I-IV-V-VI (région de Manaus), et les groupes II (Madeira supérieur), III (Madeira inférieur), VII-VIII (route de Caracaraï), IX-X (Rio Negro) XII et XIII. L'unique individu du groupe XI a été joint au groupe Amazone dont il ne se différencie pas. Un dendrogramme établi à partir des distances de Nei

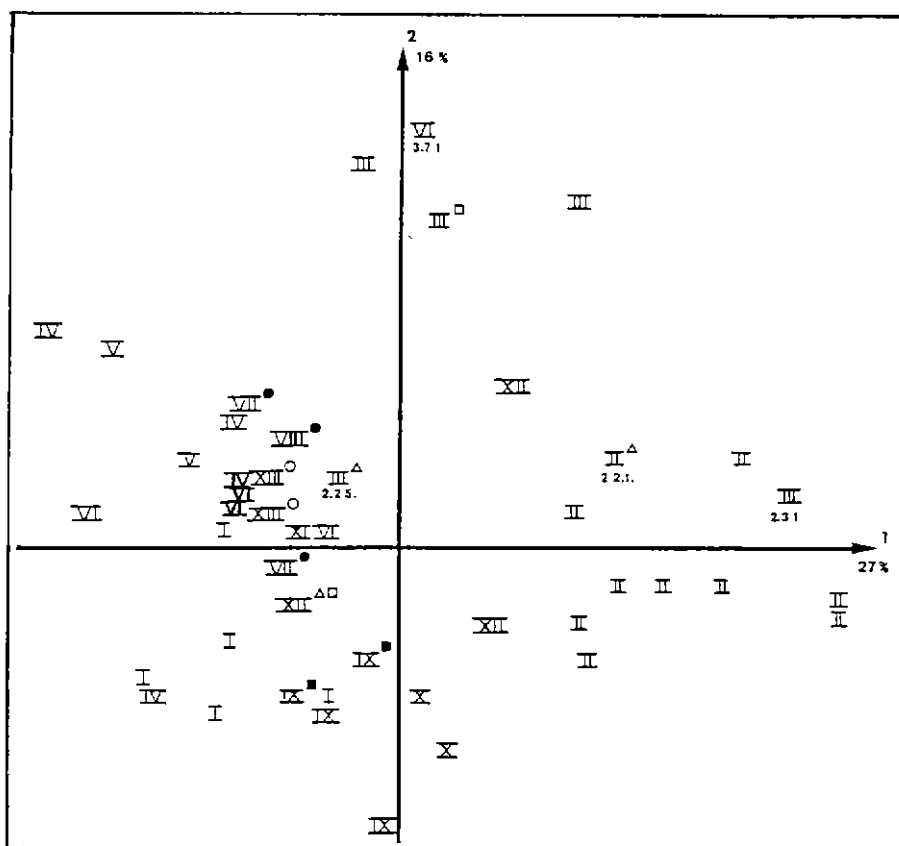


FIG. 2. — Diversité génétique des 46 populations d'*Elaeis melanococca* parmi les 13 groupes géographiques (Genetic diversity of the 46 *E. melanococca* populations from the 13 geographical groups) :

— Analyse factorielle des correspondances sur la présence de 12 allèles en fréquence intermédiaire ($0,05 < p < 0,60$) à 11 locus (Factorial analysis of correspondences on the presence of 12 alleles of intermediate frequency, $0,05 < p < 0,60$, at 11 loci),

— Présence d'allèle rare ($p < 0,05$) dans une population (Presence of a rare allele — $p < 0,05$ — in a population) :

● = Got A2' ; ○ = Amy 2' ; ■ = Skdh 1' ; △ = Est An. A2' ; □ = Pgm B3'.

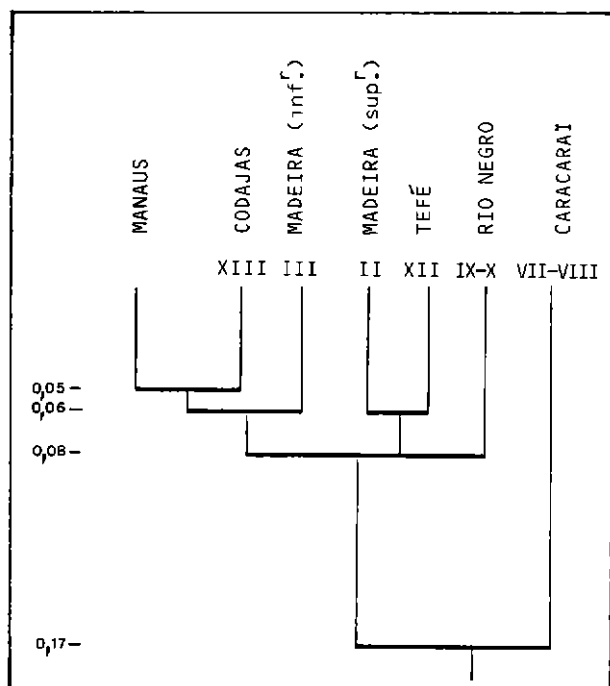


FIG. 3. — Classification des 7 principaux groupes de *E. melanococca* à partir de leur distance génétique standard [Nei, 1975] calculée sur les fréquences alléliques aux 14 locus (Classification of the 7 major *E. melanococca* groups based on standard genetic distance [Nei, 1975] and calculated on allelic frequencies at the 14 loci)

[1975] entre les groupes ainsi définis (Fig. 3) montre la même organisation génétique. On distingue toujours de façon équidistante les groupes Amazone, II et IX-X, les groupes hétérogènes (III) ou mal classés (XII) finissant par rejoindre l'un ou l'autre de ces ensembles (Amazone et II respectivement).

Ce qui est plus remarquable est le rôle joué par la présence d'un allèle spécifique dans un groupe sur sa distance génétique vis-à-vis des autres groupes. Bien que les groupes

XIII et VII-VIII se caractérisent tous deux par la présence d'un allèle spécifique à un locus unique (Amy 2 et Got A2 respectivement), le groupe XIII apparaît très proche de l'ensemble Amazone alors que la réunion des groupes VII-VIII semble constituer une entité propre. C'est en fait la nature du polymorphisme aux locus considérés qui en est responsable ; le locus Amy est déjà polymorphe sans avoir à faire intervenir l'allèle 2 alors qu'au locus Got A, totalement fixé chez tous les autres groupes, la présence d'un allèle spécifique dans le groupe VII-VIII prend une signification évolutive beaucoup plus forte.

Les effectifs réduits de certains groupes ou ensemble de groupes (VII-VIII, XII, XIII) ne permettent pas de conclure réellement sur leur variabilité enzymatique interne (Tabl. III). Pour les autres groupes, excepté IX-X significativement peu polymorphe, la variabilité enzymatique reste semblable : de 9 à 11 locus polymorphes où l'on ne dénombre, sauf pour le locus Endo, jamais plus de 2 allèles. Par rapport aux groupes Amazone et IX-X, les groupes II et particulièrement III, présentent des diversités génétiques élevées mais différemment structurées lorsque l'on s'intéresse à leur hétérozygotie observée. Les déficits en hétérozygotes ($f = 13$ et 33 p. 100 respectivement) soulignent la relative homogénéité du groupe II par rapport au groupe III et sont à rapprocher de leur mode de dispersion sur le plan de l'AFC.

DISCUSSION

La similitude des méthodes d'analyse du polymorphisme enzymatique des 2 espèces de palmier, l'homologie de 10 locus polymorphes parmi les 19 locus observés au total, le biais systématique de l'échantillonnage privilégiant le nombre de populations à celui des individus par population, permettent de discuter plus généralement l'ensemble des résultats obtenus chez *E. oleifera* en relation avec ceux observés précédemment chez *E. guineensis* [Ghesquière, 1985].

TABLEAU III. — Variabilité enzymatique (fréquence allélique intra-groupe significative, $\alpha < 5\%$) des 7 principaux groupes de *E. melanococca*

(Enzymatic variability — significant intra-group allelic frequency, $\alpha < 5\%$ — in the 7 major *E. melanococca* groups)

Effectif (Number)	I-IV-V-VI-XI (Amazone)		II	III	VII-VIII	IX-X	XII	XIII
	44	34	13	5	16	4	8	
Nbre de locus polymorphes (Nbr of polymorphic loci)	9 (11)	10 (11)	11 (12)	3 (8)	7 (10)	5 (10)	6 (9)	
Nbre d'allèles total (Total nbr of alleles)	24 (26)	25 (26)	26 (28)	17 (22)	21 (25)	19 (24)	20 (24)	
Nbre d'allèles par locus polymorphe (Nbr of alleles per polymorphic locus)	2,11 (2,09)	2,10 (2,09)	2,09 (2,17)	2 (2)	2 (2,1)	2 (2)	2 (2,11)	
Nbre d'allèles rares (Nbr of rare alleles)	0 (0)	1 (1) Est Ant. A2	0 (2)	1 (1) Got A2	1 (1) Skdh 1	0 (2)	1 (1) Amy 2	
Hétérozygotie calculée (Calculated heterozygosity)	0,22	0,30	0,36	0,23	0,21	0,30	0,28	
Hétérozygotie observée (Observed heterozygosity)	0,12	0,26	0,24	0,12	0,14	0,15	0,29	
Indice de fixation (Fixing index) (f)	45 %	13 %	33 %	48 %	33 %	50 %	— 4 %	

— Hétérozygoties et indice de fixation déterminés sur 12 locus (Acp cath. et Skdh exclus) (Heterozygosity and fixing index determined at 12 loci — Acp cath. and Skdh excluded).

— Les valeurs des paramètres sans seuil de signification des fréquences alléliques sont entre parenthèses (Parameter values without an allelic frequency significance threshold are given in parentheses).

1. — Activité enzymatique.

D'une façon générale, l'activité enzymatique des feuilles reste nettement inférieure à celle du pollen observée chez *E. guineensis*.

D'autres facteurs (conditionnement, facilité de l'extraction, maintien de l'activité enzymatique des extraits...) constituent encore autant d'éléments pour préférer le pollen pour l'étude du polymorphisme enzymatique. L'intérêt majeur des feuilles réside en fait dans l'évaluation rapide de matériel prospecté dont la récolte de pollen est difficilement envisageable.

2. — Variabilité intraspécifique.

Malgré un effectif observé bien plus important que chez *E. guineensis*, le polymorphisme enzymatique de *E. oleifera* reste faible dans son ensemble (Tabl. IV). Ce manque de diversité génétique s'explique par un nombre réduit d'allèles, seuls 3 locus sur 14 présentent plus de 2 allèles. La distribution de ces allèles en fonction de leur fréquence se caractérise également par une faible proportion d'allèles rares ($p < 0,10$) chez *E. oleifera* (23 p. 100 contre 42 p. 100 chez *E. guineensis*).

L'échantillonnage malheureusement très limité des populations de Caracaraï au nord du bassin amazonien (groupe VII-VIII) pourrait expliquer cette relative pauvreté allélique. En effet, compte tenu de leur différenciation marquée vis-à-vis de l'ensemble des populations situées le long de l'Amazone et de ses affluents, il n'est pas impossible que d'autres allèles spécifiques soient présents mais n'aient pas été détectés. Le défaut d'allèles reste tel cependant (il manquerait en moyenne plus d'un allèle spécifique par locus pour parvenir au niveau atteint chez *E. guineensis* (Tabl. IV)) que cette hypothèse ne peut suffire à elle seule.

L'échelle différente de l'échantillonnage des deux espèces constitue sans doute une meilleure explication. En effet, contrairement à *E. guineensis*, les populations de *E. oleifera* analysées ne couvrent pas la totalité de l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Il est donc vraisemblable que la majeure partie des allèles manquants, s'ils existent, reste à trouver hors du bassin amazonien, dans toutes les régions d'Amérique équatoriale où *E. oleifera* est aussi endémique.

Ce caractère régional de la variabilité du matériel amazonien reste cependant inattendu lorsque l'on considère l'étendue des zones prospectées au Brésil. Il n'est pas sans rappeler le faible polymorphisme chez *E. guineensis* des palmiers du Nigeria vis-à-vis de ceux de l'Angola, et tendrait à confirmer l'origine secondaire de *E. oleifera* dans le bassin amazonien.

3. — Organisation de la variabilité génétique.

Malgré une diversité génétique relativement faible des populations amazoniennes, celle-ci apparaît au moins aussi importante entre groupes qu'intra-groupe ($G_{st} = 21$ et 23 p. 100 respectivement), ce qui n'est pas surprenant *a priori* compte tenu de l'échelle géographique de la prospection et de l'échantillonnage. D'autre part, comparé à *E. guineensis*, le déficit en hétérozygotes est deux fois plus élevé globalement chez *E. oleifera* et se maintient encore à 31 p. 100 dans un groupe de *E. oleifera* alors qu'il s'annule pratiquement dans une origine de *E. guineensis* (Tabl. IV).

La différenciation du matériel prospecté se joue à deux niveaux bien distincts : l'un met en évidence le caractère spécifique des populations de Caracaraï au Nord, l'autre, plus secondaire, organise le reste des populations d'une façon étroitement liée au réseau hydrographique. On dis-

TABLEAU IV. — Comparaison des niveaux de variabilité enzymatique et de leur structure chez *E. guineensis* et *E. melanococca*
(Comparison of enzymatic variability levels and their structure in *E. guineensis* and *E. melanococca*)

	<i>E. guineensis</i>		<i>E. melanococca</i>	
	Total	Origine géographique (Geographic origin)	Total	Groupe (Group)
Effectif (Number)	45	9	124	13
Nombre de locus polymorphes (Nbr of polymorphic loci)	15,00	13,40	14,00	10,10
Nombre d'allèles total (Total nbr of alleles)	52,00	35,00	31,00	25,00
Nombre d'allèles par locus polymorphe (Nbr of alleles per polymorphic locus)	3,47	2,49	2,21	2,08
Hétérozygotie calculée (Calculated heterozygosity)	0,41 (Ht = 0,41)	0,33	0,31 (Ht = 0,34)	0,27
Hétérozygotie observée (Observed heterozygosity)	0,33	0,33	0,18	0,19
Indice de fixation (Fixing index) (f)	20 %	2 %	42 %	31 %
Coefficient de différenciation (Coefficient of differentiation) (G_{st})				
— inter groupe ou origine (Inter group or origin)		20 %		21 %
— inter individu (dans un groupe ou une origine) (Inter individual -in a group or origin)		0 %		23 %

— Les hétérozygoties sont déterminées sur 12 locus pour *E. melanococca* et 13 locus pour *E. guineensis* (Mdh B et G exclus) (*Heterozygosity is determined at 12 loci for E. melanococca and at 13 loci for E. guineensis -Mdh B and G excluded*).

— Ht est la diversité génétique totale calculée sur les moyennes non pondérées des fréquences alléliques des origines ou des groupes (*Ht is total genetic diversity calculated using non weighted means of origin or group allelic frequencies*).

tingue ainsi les populations de l'Amazone (I-IV-V-VI-XI-XIII), du Rio Negro (IX-X) et du Rio Madeira (II). La situation de contact du groupe III au confluent du Rio Madeira et de l'Amazone se reflète également bien au niveau enzymatique. Ce groupe apparaît composé d'un mélange de populations dont le profil des fréquences alléliques peut être soit intermédiaire, soit très semblable à l'une ou l'autre des structures adjacentes (Amazone-Rio Madeira). La présence de l'allèle Est A2 du Rio Madeira, chez une structure génotypique caractéristique du groupe Amazone, met bien en évidence aussi cette nature composite du groupe III.

Excepté pour les populations des groupes VII-VIII, XI et XII, malheureusement très peu représentées, la situation de la plupart des populations analysées, à proximité des fleuves mais en zone non inondable, montre qu'elles ne sont pas d'origine naturelle [Meunier, 1976 ; Santos *et al.*, 1985]. Le caractère secondaire de l'origine des populations de l'Amazonie pourrait s'expliquer ainsi uniquement par les effets d'une introduction récente par l'homme. Mais alors, le polymorphisme enzymatique aurait été sans doute encore plus faible, totalement inorganisé et caractérisé en limite d'extension, comme le long du Rio Madeira, par un niveau pratiquement nul. On ne comprendrait pas non plus, vu l'échelle de la dispersion réalisée par l'homme, pourquoi celle-ci n'aurait quasiment pas dépassé la région de Manaus alors que l'écologie de l'Amazone y est tout aussi favorable à cette espèce et de façon ininterrompue jusqu'à l'embouchure.

La relation entre l'organisation de la variabilité enzymatique et le réseau fluvial, suggère au contraire une introduction locale de *E. oleifera* à partir de petites populations spontanées sans doute très dispersées dans toutes les zones de bas-fonds. Le faible polymorphisme des populations prospectées s'expliquerait alors par le fait que *E. oleifera* atteint sa limite d'extension naturelle dans le bassin amazonien. Le rôle de l'homme dans la dispersion ultérieure n'aurait pas ensuite profondément bouleversé l'organisation de la variabilité enzymatique globale de l'espèce. Tout au plus celui-là pourrait-il être responsable, à petite échelle, des situations de mélange dans les zones de confluent comme le groupe III, ou d'absence d'originalités des populations dans les principaux carrefours de communication comme la région de Manaus et son aval.

4. — Différenciation phénotypique.

Dans toutes les régions d'Amérique où *E. oleifera* a été observé à l'état spontané (Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panama, Colombie, Surinam), on constate une remarquable uniformité phénotypique entre les populations, à l'exception du Surinam où elles se caractérisent par un développement extrêmement réduit des palmiers, de fortes densités et une écologie particulière (sols sableux très pauvres sous couvert forestier important) [Meunier, 1976 ; Rajanaidu, 1983].

Dans le bassin amazonien, les mesures biométriques des populations prospectées montrent que la composante intrapopulation de la variation des caractères est également majoritaire [Barcelos *et al.*, 1985]. Néanmoins, les distances de Mahalanobis entre groupes, établies à partir de 29 caractères (végétatifs, reproductifs, production d'huile), mettent en évidence l'originalité des populations du Nord de l'Amazone (groupe VII-VIII) dont l'aspect général rappelle en effet beaucoup celui des populations du Surinam. Compte tenu de leur proximité géographique, il est donc

vraisemblable que ces populations proviennent d'une seule et même origine ayant profondément divergé de l'ensemble des autres populations d'Amérique Centrale.

D'un point de vue du polymorphisme enzymatique, ce sont aussi les populations du groupe VII-VIII qui se montrent les plus différenciées. Bien qu'un seul locus enzymatique en soit à l'origine, cette relation apparente entre les deux types de différenciation mérite d'être soulignée car elle semble peu fréquente chez les plantes allogames. Falkenhagen [1985] montre en effet que chez la plupart des espèces de conifères, la distance de Nei rend très mal compte de la différenciation phénotypique des provenances ou du temps présumé de leur divergence. C'est d'ailleurs bien ce que l'on observe entre les populations du bassin amazonien (s.s.) où distances de Nei et distances de Mahalanobis apparaissent totalement indépendantes ($r = -0,09$).

Sachant le rôle probable joué par l'homme dans la dispersion de *E. oleifera* dans cette région, l'échelle géographique de la prospection et les limites de notre échantillonnage, il semble préférable de considérer que ces populations partagent toutes une même origine, les distances enzymatiques correspondant alors plus à des phénomènes attendus de structuration secondaire des populations qu'à de la divergence génétique, du moins au sens évolutif du terme. Ceci n'exclut pas évidemment que l'environnement et/ou une certaine sélection massale par l'homme aient pu contribuer aussi à différencier phénotypiquement les populations mais sans orienter dans un sens ou dans un autre leur différenciation enzymatique.

Chez *E. guineensis*, il existe aussi une certaine différenciation phénotypique entre les origines Ouest et Centrafricaines qu'il est possible d'expliquer par des fluctuations climatiques ayant entraîné de fortes variations de l'aire de répartition. C'est également entre ces origines que l'on trouve la distance enzymatique la plus élevée chez cette espèce ($D_{\text{Nei}} = 0,24$). Cette différenciation phénotypique reste néanmoins beaucoup plus limitée que chez *E. oleifera* entre les populations du Nord et du fleuve Amazone. La distance enzymatique est également d'une autre nature chez *E. guineensis*, elle fait plutôt intervenir des variations quantitatives de fréquences alléliques à plusieurs locus simultanément que la présence d'un allèle spécifique à un locus unique.

Chez les deux espèces du genre *Elaeis*, les origines géographiques qui ont vraisemblablement subi une importante divergence dans le passé, apparaissent ainsi les plus différenciées à la fois sur le plan phénotypique et enzymatique. Il est clair cependant que la relation entre variations morphologique et enzymatique associée à cette divergence n'est pas identique d'une espèce à l'autre et qu'elle peut disparaître totalement lorsque l'on se place à un même niveau d'organisation génétique intraspécifique comme le bassin de l'Amazone.

CONCLUSION

L'analyse du polymorphisme enzymatique des populations de *E. oleifera* prospectées au Brésil montre que le bassin amazonien constitue un centre de diversification secondaire de cette espèce, en accord avec une limite d'extension naturelle et une dispersion ultérieure par l'homme. Celle-ci ne paraît pas avoir modifié considérablement la structure génétique de l'ensemble mais semble s'être limitée à un niveau local en structurant assez forte-

ment les populations. L'organisation de la variabilité enzymatique se trouve être ainsi en bon accord avec le réseau fluvial de l'Amazonie et de ses affluents et suggère que celui-ci peut être à la base d'une stratégie de prospection satisfaisante des ressources génétiques de *E. melanococca* dans cette région. Cette différenciation doit être néanmoins considérée comme secondaire en comparaison de celle des populations du Nord de l'Amazonie dont l'origine doit s'apparenter à celle des populations du Surinam.

Cette étude des populations du Brésil fait également ressortir l'intérêt pour les ressources génétiques de *E. oleifera*, de régions plus centrales dans l'aire de répartition, comme la Colombie, où l'on peut espérer sinon une forte différenciation vis-à-vis de l'Amazonie, au moins une diversité enzymatique plus importante, notamment en nombre

d'allèles, correspondant plus à celle d'un véritable centre d'origine.

Enfin, comparée à celle de *E. oleifera*, la variabilité des origines de *E. guineensis* apparaît encore plus nettement disproportionnée compte tenu des effectifs qu'elles représentent. Bien que l'on ne puisse en préciser l'origine, cette caractéristique de la variabilité chez *E. guineensis* impliquerait que la base génétique du matériel de départ pour la sélection du palmier à huile n'est pas aussi réduite que leur simple échantillonnage, ou leur degré d'apparentement, le laisse supposer généralement.

Remerciements. — Nous tenons à remercier M. A. Koutou qui a bien voulu se charger à La Mé de la tyophilisation et de l'envoi du matériel végétal et de Mlle P. Lebrun pour la réalisation des électrophorèses à Montpellier.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANDRADE E. B. (1982). — Relatório da Expedição para Coleta de Germoplasma de Caiuá *Elaeis oleifera* (H. B. K.) Cortés, na Amazônia brasileira. EMBRAPA-CNPDS, Manaus, 31 p.
- [2] BARCELOS E., DE MIRANDA SANTOS M., VASCONCELLOS M. E. C. (1985). — Phenotypic variation in natural populations of Caiuá (*Elaeis oleifera* (H. B. K.) Cortés) in the Brazilian Amazon. *International Workshop on oil palm germplasm and utilization*, Kuala Lumpur, Malaysia, 11 p.
- [3] FALKENHAGEN E. R. (1985). — Isozyme studies in provenance research of forest trees. *Theor. Appl. Genet.*, 69, N° 4, p. 335-347.
- [4] GHESQUIÈRE M. (1984). — Polymorphisme enzymatique chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). I. — Contrôle génétique de neuf systèmes enzymatiques (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 39, n° 12, p. 561-574.
- [5] GHESQUIÈRE M. (1985). — Polymorphisme enzymatique chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). II. — Variabilité et structure génétique de sept origines de palmier (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 40, n° 11, p. 529-540.
- [6] MEUNIER J. (1975). — Le « palmier à huile » américain *Elaeis melanococca* (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 30, n° 2, p. 51-61.
- [7] MEUNIER J., BOUTIN D. (1975). — L'*Elaeis melanococca* et l'hybride *Elaeis melanococca* × *Elaeis guineensis*. Premières données *Oléagineux*, 30, n° 1, p. 5-8.
- [8] MEUNIER J., VALLEJO G., BOUTIN D. (1976). — L'hybride *E. melanococca* × *E. guineensis* et son amélioration (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 31, n° 12, p. 519-528.
- [9] MEUNIER J., AMBLARD P. (1982). — Prospection *E. melanococca* Brésil. Rapport préliminaire. IRHO, Montpellier, France, 17 p.
- [10] NEI M. (1975). — *Molecular population genetics and evolution*. Elsevier, Amsterdam, New York, 288 p.
- [11] PACHECO A. R. (1982). — Expedição internacional para coleta de germoplasma de caiaué (*Elaeis oleifera*) no estado do Amazonas e Território Federal de Roraima-equipe II. EMBRAPA-CNPDS, Manaus, 14 p.
- [12] POULIK M. D. (1957). — Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature*, 180, p. 1477-1478.
- [13] RAJANAIDU N. (1983). — *Elaeis oleifera* collection in South and Central America. *Plant. Genet. Res. Newsl.*, 56, p. 42-51.
- [14] SANTOS M. de M., BARCELOS E. & NASCIMENTO J. C. (1985). — Genetic resources of *Elaeis oleifera* (H. B. K.) Cortés in the Brazilian Amazon. *Int. Workshop on oil palm germplasm and utilization*. Kuala Lumpur, Malaysia, 9 p.
- [15] SHAW C. R., PRASAD R. (1970). — Starch gel electrophoresis of enzymes, a compilation of recipes. *Biochem. Genetics*, 4, p. 297-320.

SUMMARY

Enzymatic polymorphism in *Elaeis oleifera* HBK (*E. melanococca*). Analysis of populations in the Amazon Basin.

M. GHESQUIÈRE, E. BARCELOS, M. de M. SANTOS, P. AMBLARD, *Oléagineux*, 1987, 42, N° 4, p. 143-153.

Forty six *E. oleifera* populations prospected in the Amazon Basin were examined for polymorphism at 14 enzymatic loci. Although overall genetic diversity is low, it is possible to differentiate Caracarái populations, in the North, from all the other populations, whose genetic structure is closely linked with the hydrogeographic network of the Amazon river. Enzymatic and phenotypical differentiations in *E. oleifera* are compared and discussed in connection with those detected in *E. guineensis* between trees of West and Central African origin.

RESUMEN

Polimorfismo enzimático en *Elaeis oleifera* HBK (*E. melanococca*). Análisis de las poblaciones de la cuenca amazónica.

M. GHESQUIÈRE, E. BARCELOS, M. de M. SANTOS, P. AMBLARD, *Oléagineux*, 1987, 42, N° 4, p. 143-153.

Se examinaron cuarenta y seis poblaciones de *E. oleifera* prospectadas en la cuenca amazónica, por su polimorfismo de 14 locus enzimáticos. A pesar de ser poco importante en su conjunto la diversidad genética, se puede diferenciar las poblaciones de Caracarái, al Norte, de todas las demás cuya estructura genética se relaciona estrechamente con la red hidrogeográfica del río Amazonas. Se comparan diferenciaciones enzimáticas y fenotípicas en *E. oleifera*, discutiéndose con relación a la que se evidenció en *E. guineensis* entre los orígenes oeste y centroafricanos.

Enzymatic polymorphism in *Elaeis oleifera* H.B.K. (*E. melanococca*)

Analysis of populations in the Amazon Basin

M. GHESQUIÈRE (1), E. BARCELOS (2), M. de M. SANTOS (3), P. AMBLARD (4)

INTRODUCTION

Oil palm cultivation in tropical regions of the world exploits, almost exclusively, the *Elaeis guineensis* species, originating from West Africa. There is, however, another species in the genus, *E. oleifera*, which grows wild throughout Equatorial America [Meunier, 1976]. Though little used locally, this species is of sufficient interest (slow growth, resistance to disease, quality of oil) to consider its valorization by crossing it with *E. guineensis*, with which it is quite easily hybridised [Meunier *et al.*, 1976].

To collect and exploit this genetic resource, found in Brazil, a prospection of wild *E. oleifera* populations was carried out jointly by EMBRAPA and the IRHO in the Amazon Basin [Andrade, 1982; Pacheco, 1982; Meunier and Amblard, 1982].

Many observations were undertaken on the populations visited (growth characteristics, bunch and oil composition, etc.), which led to an initial phenotypical classification and revealed the potential value of this material in crosses with *E. guineensis* [Barcelos *et al.*, 1985]. It then seemed interesting to determine characters' variability using enzymatic electrophoresis. Their simple genetic determinism and independence from effects, at least direct, due to human or environmental selection, enables genetic variations in the populations prospected to be described differently.

MATERIAL

Two hundred and eighteen progenies belonging to 53 populations and classified into 13 large geographic groups were collected during prospection (Fig. 1). One hundred and twenty four progenies were usable after germination, ensuring, except for group XI, reasonable representation of the populations (46/53) in the groups. Given the limited number of progenies per population (3 on average), the study of enzymatic polymorphism was carried out at geographic group level, by sampling a single individual per progeny for all 124 progenies. This sampling also made it possible to ascertain quite rapidly the degree of allelic variation of the enzymatic loci within the material prospected.

METHODS

At the nursery stage, the second leaf of each individual sampled per progeny was freeze-dried then finely ground in a mortar at 4 °C in 40 p. 100 (0.7 ml/g of fresh leaves) Polyclar (insoluble polyvinylpyrrolidone). The ground mixture was then recovered in a 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 7.0 (3.6 ml/g of fresh leaves) containing 0.01 M DTE (dithioerythritol) and 0.1 M cysteine.

Migration methods using leaf extracts do not differ from those used for *E. guineensis* pollen [Ghesquière, 1984]. They were simply examined again and chosen, for each enzymatic system, according to leaf extract activity and the quality of zymograms obtained. Eleven enzymatic systems were analyzed whose migration methods, on starch and polyacrylamide gels, are shown in Table I.

Compared to the study of enzymatic polymorphism in *E. guineensis*, two additional systems were observed whose enzymatic revelations were: Esterases-precubation in a 0.02 M tris HCl buffer, pH 7.2 — incubation 7 minutes in this buffer containing α -naphthylacetate (1.4 mg/ml) and β -naphthylacetate (0.2 mg/ml) diluted beforehand in acetone — rinsing then staining with Fast Blue RR (0.7 mg/ml) and Fast Garnett GBC (0.3 mg/ml); Amylases-incubation 1 hour in a 0.5 M sodium acetate buffer, pH 5.0, to which soluble starch is added (12 mg/ml), brought to a boil beforehand — staining in an iodo-iodide solution (iodine : 2.6 g/l, potassium iodide : 6 g/l).

To describe the different organization levels of the oil palms analyzed, a few simple parameters were used: the observed heterozygosity, H_o (calculated H), is the mean proportion of loci at the heterozygous state observed (calculated) in an individual, the fixing index (f), corresponding to the heterozygote deficit ($H-H_o/H$).

RESULTS

1. — Genetic determinism.

The 11 enzymatic systems observed in *E. oleifera* proved to be polymorphous, with the exception of Pgd. It was impossible to test the genetic control of enzymatic markers through crosses or selfs, so it was extrapolated from that found in *E. guineensis* through the joint electrophoresis of pollen and leaf extracts from related individuals. Fourteen polymorphous loci with a total of 31 alleles were isolated in *E. oleifera*. Loci homeologous to those of *E. guineensis* were given the same letter (A by default when only a single polymorphous locus was examined). As allelic homology was not determined between the two species, numbers for the alleles observed in *E. oleifera* were systematically followed by an apostrophe (') to distinguish them, *a priori*, from those isolated in *E. guineensis* (Table II).

As heterozygote detection was impossible at certain loci (Skdh, Acp cath.), the frequency of « recessive » alleles at these loci was estimated taking into account the mean heterozygote deficit (f) calculated using the other 12 loci.

2. — Intraspecific variability.

The distribution of allelic frequencies in the material prospected (Table II) shows that there exists a common allele ($p > 0.6$) at each of the 14 loci. For 11 of them, polymorphism is due to the presence of an allele of intermediate frequency ($0.05 < p < 0.40$), possibly completed by the appearance of a third allele, either of intermediate frequency (Endo locus) or rare frequency (Amy and Pgm B loci). For the last 3 loci (Got A, Skdh and Est A), polymorphism is merely due to the existence of a single rare allele ($p < 0.05$).

3. — Organization of genetic variability.

Factorial analysis of the correspondences (46 populations — presence of 12 intermediate frequency alleles at 11 loci) reveals an organization which clearly distinguishes, on the horizontal axis, the populations of group II (upper Rio Madeira) from all of those making up groups I, IV, V, VI, VII, VIII, XI and XIII (Fig. 2). Along the vertical axis, groups IX and X (Rio Negro) differentiate themselves from group III (lower Rio Madeira). Group XII is the only one which remains poorly defined, with 3 populations dispersed around the centre of reference.

Group III is characterized by considerable heterogeneity. Apart from this situation and the case of population 3.7.1 from group VI, the other geographic groups defined during prospection are

(1) Electrophoresis Laboratory, CIRAD, B P. 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).

(2) Geneticist, CNPSD (*).

(3) Head Technician, CNPSD (*)

(4) Agronomist, IRHO-CIRAD, detached to CNPSD (*).

(*) CNPSD-EMBRAPA, KM 30-AM010, C P. N° 319, 69000 Manaus (AM-Brazil).

composed of remarkably homogeneous populations, given their sampling, though part of this homogeneity has to be attributed to the FAC technique (confusion of homozygotic and heterozygotic genotypes for the intermediate frequency allele).

Among the 5 rare alleles excluded from the FAC technique, the presence of 4 of them enables the genetic structure of the material prospected to be completed in greater detail. Alleles Got A2, Amy 2 and Skdh 1 are localized in and appear to be specific to groups VII-VIII, XIII and IX respectively. Finally, allele Est A2 seems to be more characteristic of the population level. It is chiefly found in population 2.2.1 of group II but also in population 2.2.5 of group III, for which, however, the FAC shows an allelic composition similar to that of Amazon populations.

These observations lead to a new grouping of populations; hence distinctions can be made between the Amazon set made up of groups I-IV-V-VI (Manaus region) and groups II (upper Madeira), III (lower Madeira), VII-VIII (Caracará road), IX-X (Rio Negro) XII and XIII. The unique individual of group XI was placed in the Amazon group as no differentiation was observed. A dendrogram drawn up from Nei distances [1975] between the groups defined (Fig. 3) shows the same genetic organization. Equidistant distinction is still possible for Amazon groups, II and IX-X, whilst heterogeneous groups (III) or poorly defined groups (II) end up joined to one or the other of these sets (Amazon and II respectively).

What is more remarkable is the role played by the presence of a specific allele in one group over its genetic distance compared to the other groups. Though groups XIII and VII-VIII are both characterized by the presence of an allele specific to a unique locus (Amy 2 and Got A2 respectively), group XIII appears to be very close to the Amazon set, whilst combining groups VII-VIII seems to give a separate entity. In fact, this is due to the nature of polymorphism at the loci considered. Locus Amy is already polymorphous without bringing into play allele 2, whilst at locus Got A, completely fixed in all other groups, the presence of a specific allele in group VII-VIII takes on a much higher evolutive significance.

The reduced numbers of certain groups or sets of groups (VII-VIII, XII, XIII) do not enable final conclusions to be drawn as to their internal enzymatic variability (Table III). For the other groups except IX-X, where polymorphism is significantly low, enzymatic variability remains similar: from 9 to 11 polymorphous loci where never more than 2 alleles are counted, except for locus Endo. Compared to the Amazon and IX-X groups, groups II, and particularly III, present high genetic diversity though they are differently structured when their heterozygosity is observed. Heterozygote deficits ($f = 13$ and 33 p. 100 respectively) underline the relative homogeneity of group II compared to group III and can be linked to their mode of dispersal from a FAC point of view.

DISCUSSION

The similarity in the methods of analyzing enzymatic polymorphism in the two oil palm species, the homology between 10 polymorphous loci out of the 19 observed and the systematic sampling bias favouring the number of populations over that of individuals per populations make it possible to discuss, more generally, all the results obtained with *E. oleifera* in relation to those observed earlier with *E. guineensis* [Ghesquière, 1985].

1. — Enzymatic activity.

Generally speaking, enzymatic activity in the leaves is much less than that of the pollen observed in *E. guineensis*.

Other factors (packaging, ease of extraction, maintenance of the extract's enzymatic activity, etc.) also contribute to preference being given to pollen for the study of enzymatic polymorphism. The main value of the leaves resides, in effect, in the rapid evaluation of material prospected, whilst harvesting its pollen would be difficult.

2. — Intra-specific variability.

In spite of the greater number of cases observed, compared to *E. guineensis*, enzymatic polymorphism in *E. oleifera* remains low overall (Table IV). This lack of genetic diversity can be explained by a reduced number of alleles, only 3 loci out of 14 have more than 2 alleles. The distribution of these alleles according to frequency is also characterized by a small proportion of rare alleles ($p < 0.10$) in *E. oleifera* (23 p. 100 compared to 42 p. 100 in *E. guineensis*).

Sampling of the Caracará populations in the Northern Amazon Bain (group VII-VIII), which was unfortunately very limited, could account for this relative allelic poverty. In effect, given their marked differentiation compared to all the other populations found along the Amazon river and its tributaries, it is possible that other specific alleles are present but undetected. Nonetheless, the lack of alleles is such that this hypothesis alone cannot be used as a basis (on average, there is one specific allele missing per locus to correspond to the level reached in *E. guineensis*, Table IV).

The different scale of sampling used for the two species undoubtedly gives a better explanation. In effect, unlike *E. guineensis*, the *E. oleifera* populations analyzed do not cover the total area of the species' natural distribution. It is therefore probable that most of the missing alleles, if they do exist, remain to be found outside the Amazon Basin, throughout Equatorial America where *E. oleifera* is also endemic.

However, this regional nature of the variability in Amazonian material remains unexpected if the extent of the zones prospected in Brazil is considered. It is not unlike the low polymorphism in *E. guineensis* in Nigeria compared to those found in Angola, which tends to confirm the secondary origin of *E. oleifera* in the Amazon Basin.

3. — Organization of genetic variability.

In spite of relatively low genetic diversity in Amazonian populations, it seems to be about the same between groups and within groups ($G_{st} = 21$ and 23 p. 100 respectively), which, *a priori*, is not surprising given the geographic scale of prospection and sampling. On the other hand, the overall heterozygote deficit in *E. oleifera* is twice that found in *E. guineensis*, remaining at 31 p. 100 in an *E. oleifera* group, whilst it all but disappears in an *E. guineensis* origin (Table IV).

Differentiation of the material prospected occurs on two very different levels: one reveals the specific character of Northern Caracará populations, the other, more secondary, closely links the other populations to the hydrographic network. Hence there can be distinguished populations of the Amazon (I-IV-V-VI-IX-XIII), of the Rio Negro (IX-X) and of the Rio Madeira (II). The fact that group III is found at the confluence of the Rio Madeira and the Amazon is also seen at enzyme level. This group appears to be composed of a mixture of populations whose allelic frequency profile can be either intermediate, or quite similar to one or the other adjacent structures (Amazon-Rio Madeira). The presence of allele Est A2 of the Rio Madeira in a genotypical structure characteristic of the Amazon group also clearly reveals the composite nature of group III.

Apart from the populations of groups VII-VIII, XI and XII, which are unfortunately very poorly represented, the situation of most of the populations analyzed, near rivers but outside flood zones, shows that they do not occur naturally [Meunier, 1976; Santos *et al.*, 1985]. The secondary nature of the origin of Amazonian populations could therefore be explained simply by the effects of a recent introduction by man. But then, enzymatic polymorphism would have undoubtedly been even lower, completely unorganized and characterized at the limits of extension, as along the Rio Madeira for example, by a level practically nil. Given the scale of the dispersal by man, it is also difficult to understand why this dispersal would not have gone beyond the Manaus region, whilst the Amazon ecology is just as favourable to this species all the way down to its mouth.

The relationship between the organization of enzymatic variability and the river network suggests, on the contrary, a local introduction of *E. oleifera* using small wild populations undoubtedly dispersed throughout low-lying areas. The low polymorphism of the populations prospected could then be explained by the fact that *E. oleifera* reaches its natural extension limit in the Amazon Basin. The role of man in its future dispersal would therefore not have upset the overall organization of enzymatic variability in the species. In addition, man could also be responsible, on a small scale, for mixtures in river confluence zones, such as in the case of group III, or for the absence of original populations at the major crossroads of communication, such as the Manaus region and downstream.

4. — Phenotypical differentiation.

In all the regions of America where *E. oleifera* was observed growing wild (Honduras, Nicaragua, Costa-Rica, Panama, Colombia, Suriname), remarkable uniformity between populations can be noted, except in the case of Suriname, where the oil palms are characterized by extremely slow growth high

densities and a particular ecology (very poor sandy soils under considerable forest cover) [Meunier, 1976 ; Rajanaidu, 1983].

In the Amazon Basin, biometric measurements of the populations prospected show that the intra-population component of character variation is also a major factor [Barcelos *et al.*, 1985]. Nonetheless, Mahalanobis distances between groups established from 29 characters (growth, reproductive, oil production) reveal the originality of Northern Amazon populations (group VII-VIII), whose general appearance sharply resembles that of the Suriname populations. Given their geographic proximity, it is reasonable to think that these populations have the same unique origin which considerably diverged from all the other populations in Central America.

From an enzymatic polymorphism point of view, it is also the populations in group VII-VIII which are the most differentiated. Even though a single enzymatic locus is responsible, the apparent relationship between these two types of differentiation needs to be emphasized as it does not seem to be very frequent in allogamous plants. In effect, Falkenhagen [1985] shows that in most coniferous species, Nei distance hardly takes into account phenotypical differentiation due to origin and presumed time of divergence. Moreover, this is what is observed between populations of the Amazon Basin (*s.s.*) where Nei and Mahalanobis distances appear to be totally independent ($r = -0.09$).

Given the probable role played by man in the spread of *E. oleifera* in this region, along with the geographic scale of prospection and our sampling limits it seems preferable to consider that these populations all share the same origin, whilst enzymatic distances correspond more to expected secondary structuration phenomena of populations than to genetic divergence, at least in the evolutive sense of the term. Of course, this does not exclude the possibility that the environment and/or mass selection by man also contribute to phenotypical differentiation between populations, though without altering one way or another their enzymatic differentiation.

In *E. guineensis*, there also exists some phenotypical differentiation between West and Central African origins which is possible to explain by climatic fluctuations bringing about considerable variations in the area of distribution. It is also between these origins that the highest enzymatic distance in this species can be found (Nei $D = 0.24$). Nonetheless, this phenotypical differentiation remains low compared to *E. oleifera* between Northern populations and those of the Amazon river. Enzymatic distance is also different in *E. guineensis*, calling into play quantitative variations in allelic frequencies simultaneously at

several loci rather the presence of a specific allele at a unique locus.

In both *Elaeis* species, the geographic origins which probably went through considerable divergence in the past thus appear to be the most differentiated, both from a phenotypical and enzymatic point of view. However, it is clear that the relationship between morphological and enzymatic variations associated with this divergence is not the same from one species to the next and that it can completely disappear when only one intra-specific genetic organization level is considered, such as the Amazon Basin.

CONCLUSION

The analysis of enzymatic polymorphism in *E. oleifera* populations prospected in Brazil shows that the Amazon Basin is a centre of secondary diversification of this species, in accordance with natural extension limits and possible dispersal by man. The latter does not seem to drastically modify overall genetic structure but seems to be restricted to a local level, considerably structuring populations. The organization of enzymatic variability therefore falls quite well in accordance with the river network of the Amazon and its tributaries and suggests that this network could form the basis of a satisfactory prospection strategy for *E. melanococca* genetic resources in this region. Nonetheless, this differentiation has to be considered secondary compared to that of Northern Amazon populations whose origin is closely related to that of Suriname populations. This study of Brazilian populations also spurs interest in *E. oleifera* populations in the distribution area's more central regions, such as Colombia, where it can be hoped to find, if not considerable differentiation compared to Amazonia, at least greater enzymatic diversity, notably with respect to the number of alleles, corresponding more to that of a veritable centre of origin.

Finally, compared to the variability of *E. oleifera* origins, that of *E. guineensis* seems to be more clearly disproportionate, given the numbers the latter species represent. Although the origin cannot be precisely determined, this variability characteristic in *E. guineensis* implies that the genetic base of the initial material for oil palm breeding is not as reduced as their simple sampling or degree of relationship generally suggests.

Acknowledgements. — We should like to thank Mr. A. Koutou for taking charge of freezedrying at La Mé and for dispatching planting material, and Miss P. Lebrun for electrophoresis in Montpellier.

Bibliographie

TOURTEAUX ET AUTRES MATIÈRES RICHES EN PROTÉINES

Année 1985 — Campagne 1984-85

SIDO, CHARLES ROBERT S.A., INRA, France, 1986 ; 96 p., Prix : 175 F TTC

Comme chaque année, cette publication, fruit d'un travail d'équipe entre la SIDO (Société Interprofessionnelle des Oléagineux, Protéagineux et Cultures textiles), la Société CHARLES ROBERT, et l'INRA (Laboratoire de Recherches Economiques et Sociales), continue sa revue de l'évolution de la situation française et communautaire du marché des tourteaux et autres matières riches en protéines, la replaçant dans le contexte mondial.

Le 1^{er} chapitre est consacré à la France (environnement économique, marché français, commerce extérieur tourteaux, bilan français), le 2^e à la CEE (environnement éco-

nomique, marché communautaire, tourteaux, bilan communautaire/balance commerciale, farine de viande, protéagineux, farine de luzerne déshydratée, poudre de lait écrémé-lactosérum, bilan communautaire/approvisionnement M.R.P.), le 3^e au monde (environnement économique, soja, colza, tournesol, arachide, lin, farine de poisson, évolution comparée des différents cours).

Parmi les conclusions de l'étude, on note que 1985 montre tous les signes d'une reprise de l'activité sur le marché mondial des tourteaux. Par rapport à 1984, la production de tourteau a progressé de 7 p. 100 et la consommation de