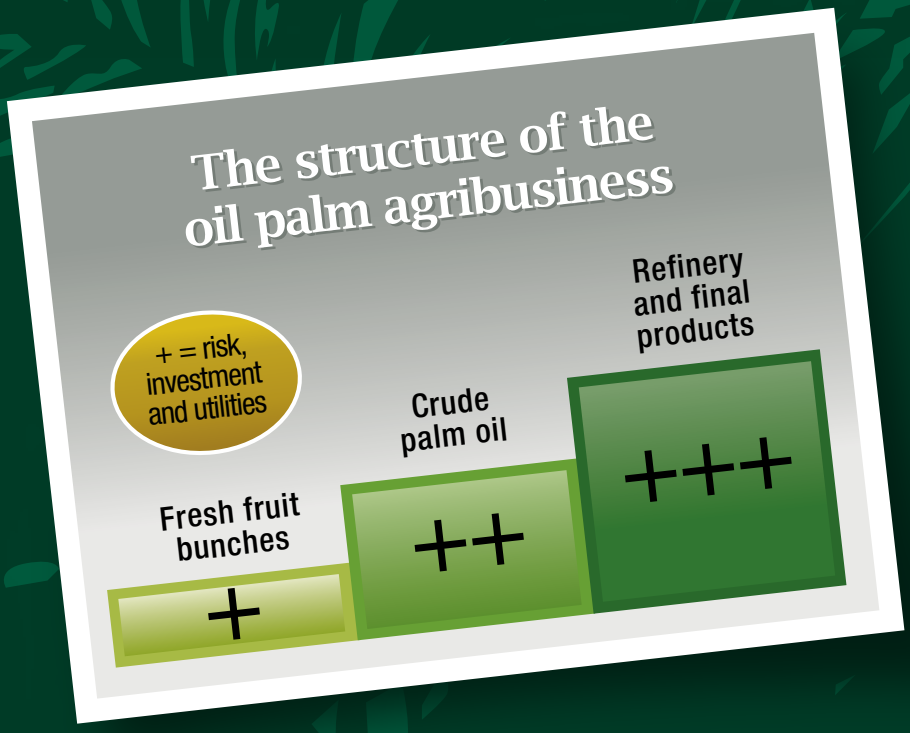
ISSN 1019-1100 NUMBER 39, 2012

ASD OIL PALM PAPERS



HIGH YIELDING ASD Costa Rica OIL PALM SEEDS AND CLONES

"ASD OIL PALM PAPERS"
IS A BIANNUAL PUBLICATION OF
ASD COSTA RICA
(Agricultural Services and Development)

Number 39 **2012**

EDITOR: Carlos Chinchilla
EDITORIAL BOARD: Amancio Alvarado, Emmanuel Araya,
Francisco Peralta, Ricardo Escobar.

MAILING ADDRESS

ASD OIL PALM PAPERS
ASD Costa Rica
P.O. Box 30-1000, San José, Costa Rica
Ph.(506) 2284-1120, Fax (506) 2257-2667
E-mail: sales@asd-cr.com
Web site: http//www.asd-cr.com

CONTENT

1. *Why do we grow the oil palm?*
13. ¿Por qué cultivar la palma aceitera?
Ricardo Escobar.
27. *ASD's compact clones fingerprinting: identification using microsatellite markers*
35. Huella genética de clones compactos de palma aceitera (*Elaeis guineensis*): identificación con marcadores microsatélite
Emmanuel Araya, Amancio Alvarado.

Cover page

The structure of the oil palm agribusiness

To all our readers: ASD Oil Palm Papers is open to contributions (papers) related to the oil palm agribusiness.
A todos nuestros lectores: la publicación ASD Oil Palm Papers, está abierta a contribuciones (artículos) relacionados con el cultivo e industria de la palma aceitera

Why do we grow the oil palm?

Ricardo Escobar [1]

Summary

High prices for palm oil in the international market increased the interest of business men and small growers to start new projects or expand those already in progress. Nevertheless, there is always concern on a potential reduction in prices under a situation of excessive supply of oil. The author argues that this event in not probable and bases his analysis on a detailed study of the behavior of the industry and oil prices in the past and new opportunities of palm oil in human nutrition for a constantly growing world population, the oleochemical industry and for biodiesel production. Just for biodiesel production, the area that needs to be planted is certainly huge and probably not achievable considering limitations in world cropland.

Oil palm has a tremendous yield potential, far superior to any other oil crop (except algae), which makes this species the most appropriate for vegetable oil production. The opportunity is particularly attractive for growers in tropical America, where these is still plenty of land available, contrasting with the situation in some countries in South East Asia, where cropland is becoming a scarce resource.

Organizations concerned with environmental issues that oppose to oil palm cultivation should consider that this crop has unique advantages over most other crops in terms of productivity, creation of job opportunities for marginal communities, $C0_2$ fixation, soil erosion protection and shelter for many wild species of animals, among other benefits.

Finally, the author discusses investment projects, emphasizing the advantages and disadvantages of the so-called three levels of the agroindustry: bunch producing, mills and refineries.

Introduction

The oil palm products reached a leading position in the oils-and-fats world market in the year 2007, overtaking soybeans for the first time. The expansion in area cultivated with oil palm has been a reaction to the increase in world human population itself (79 million per year according to the CIA World Fact Book, USA, 2009) – and also, an increase in 'per capita' consumption. On top of this, there has been a significant increment in vegetable oil prices during the last few years, reaching US$ 1,400 per metric ton for the crude palm oil (CPO). The severe price crisis toward the end of the 90's has been forgotten, and even small holders (the most sensitive segment to a price drop) have restarted to plant, forcing the crop to grow even in marginal areas. However, it has to be remembered that historically oil palm price variation has been cyclical, and hence, CPO prices are expected to fluctuate between US$ 800-1,000 per ton in the coming year.

Despite the huge area planted in Southeast Asia (particularly Indonesia and Malaysia) during the last decade, it is very likely that the crop will continue its expansion in tropical America as well. It is also expected that the industry in Asia (particularly in Malaysia and Indonesia) will face in the near future important challenges in terms of land availability for planting, which will give an advantage to many regions in tropical America, where there is still plenty of suitable land available. An additional advantage for the oil palm is the ever expanding oleo chemical industry that constantly finds new uses for the products of this marvelous plant.

---

[1] General Manager and Research Director, ASD Costa Rica, r.escobar@asd-cr.com This review to be kept updated

[2] https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/index.html

Economical importance of palm oil

The evaluation of the future perspectives for any business implies taking some compromise, between a highly optimistic approach and a conservative one. The first approach would give the impulse to growers to expand the area planted and to investors to risk their capitals. On the contrary, a conservative approach means that the phantom of lower prices in the future would put a halt to more aggressive investments. The position we are taking in this document is the optimistic one, since the facts clearly show that the future is bright for the oil palm industry, despite any future price fluctuation, and the competition from other oil producing crops.

An easy to get and very useful index to estimate the growth rate of an industry is the area planted, since this indirectly gives an idea of the annual amount of investments put in the industry in the different countries. Such information is summarized in the following sections.

In the mind of any grower is always present the uncertainty of the future of the industry, particularly when he considers the huge areas been constantly planted in Southeast Asia, which could push the oil prices down due to a large offer. The fact is that the industry has been growing steadily with no sign of market saturation and part of this is due to an increase of the world human population and also to the fact that oil palm products have shown to be excellent substitutes (in term of price and chemical properties) for other oils and fats traditionally used in many applications. This aspect will be analyzed later.

World production of oils and fats in 2011 was more than 175 million tons, and 95.8% were of vegetable origin (159 millions). Animal fats, such as butter, lard, tallow and fish oil have lost importance in the world market, but palm oil keeps taken a larger chunk of it, surpassing soybeans as the most important source of vegetable oil in more than six million tons (Table 1)

Table 1. World production of oils and fats (000's of metric tons)

Oil palm	48,040	Kernel (oil palm)	5,493
Soybeans	41,880	Coconut	3,275
Rapeseed	23,448	Olive	3,150
Sunflower	12,107	Corn	2,390
Tallow and lard	8,540	Fish	1,017
Hog lard	8,187	Sesame	885
Butter (lard)	7,300	Linseed	620
Cotton seed	4,817	Castor oil	641
Ground nut	4,109		
Vegetable sources:	**150,855**		
Animal sources:	**25,044**		
All sources:	**175,899**		

Source: Oil World Statistics, 2011

A little bit of history

The oil palm was taken from its original lands in West Africa to Southeast Asia early in the XIX century, and the first commercial plantation was established in Tnah Itam Ulu, Indonesia in 1911. In 1915, the area planted was 2,760 ha (Taniputra, et. al., 1988). From here, other countries started planting in large extensions, mainly in Indonesia, which is the new world leader in area planted. It is not easy to understand all the factors that contributed to oil palm expansion in Southeast Asia, but good agro-climatic conditions for the crop and cheap labor were two important elements.

In tropical America, the cultivation of the oil palm started in 1926, when the Panamanian Division of the former United Fruit Company (UFCo.) brought the first seeds from Malaysia and Africa. Later, in 1927, the Lancetilla Experimental Station of the UFCo. in Honduras, also imported some seeds from Asia and Africa, and in 1929, the Guatemalan Division of the UFCo., imported 1,000 seeds from Sierra Leone (Richardson, 1995). Lancetilla later distributed open pollinated seeds to several countries in Central America and the Caribbean (Cuba, Guatemala, and Costa Rica) and South America (Colombia, Ecuador, Peru). Despite these efforts, the industry in America did not expand much in those early years, and still today it lags behind the industry in Asia: 1,235,000 ha planted versus 12, 263,000 ha.

Oil productivity in West Africa has been traditionally low when compared with Asia and America. Some factors that limit productivity in Africa are poor soil quality, extended dry periods and some phytosanitary problems. Besides this, oil extraction methods used are inefficient and many 'plantations' are simply natural groves of old dura palms (the new improved tenera varieties are far more productive). In some regions in Africa, palm oil is still consumed directly without further refining.

Area planted

Tables 2 and 3 give a clear idea of where the oil palm industry has been growing more aggressively. Total area planted in the world is about 16,086,000 ha (Table 1), mostly in Asia (close to 14 million hectares).

Table 2. Oil palm areas planted in three continents (000's of ha)

Asia	13,812
America	1,235
Africa	1,039
Total:	**16,086**

The countries with the fastest increase in area planted between 2007 and 2011 in Asia were Papua New Guinea (55% increase during the last five years) and Thailand (46 %). In Africa, both Cameroon and Ivory Coast showed an increment of 31 % in that same period and in tropical America, Brazil more than doubled the area, followed by Guatemala (81%). The less aggressive development of the oil palm in some countries such as Colombia, Ecuador and Costa Rica was due to less land available for expansion (Costa Rica) or a combination of this factor and growers being conservative due to the assumed risk of phytosanitary problems. Worldwide, the increment in area planted in the period 2007-2011 was 28% (Table 3).

Table 3. Area planted with oil palm in the main producing countries (000's of ha)

Country	2007	2008	2009	2010	2011	Growth
Brazil	80	84	98	125	165	106%
Cameroon	74	89	89	91	94	27%
Colombia	268	299	329	344	352	31%
Ivory Coast	187	224	229	234	245	31%
Costa Rica	51	54	57	58	61	20%
Ecuador	207	210	218	244	251	21%
Guatemala	53	65	82	88	96	81%
Honduras	93	97	103	105	112	20%
Indonesia	5,888	6,381	6,817	7,221	7,659	30%
Malaysia	3,900	4,143	4,396	4,674	4,950	27%
Nigeria	414	429	442	454	462	12%
P.-New Guinea	114	154	156	168	177	55%
Thailand	534	594	669	714	778	46%

Source: Oil World, ASD, countries

Why the fast expansion of the oil palm?

The big question is: If there are good agro-climatic conditions for growing oil palms, why not to plant other oil crops (or any other crops) instead? To answer this question we have to analyze the advantages of the oil palm industry in function of the economic factors that make it highly competitive when compared with other vegetable oils. We also have to keep in mind that oils and fats form an integral part of the daily diet in all human populations and the demand will continually grow as world population increases.

World population and consumption

Despite the fact the world population growth rate has been declining, it is expected it will grow near 50% in the period from 2000 to 2050. This alone will mean a huge increase in demand of oils and fats. However, a better idea of future demand is given by the actual consumption, which grew at an annual rate of 12.2% in the year 2008 (well above the previous years (2005-2007 averaged 8%), indicating possibly a combination of better income, economical progress and change in customer preferences. Howard (1993) has shown that oil and fat demand was positively correlated with the 'gross national product' of each particular country, but still, other factors influenced the demand such as changing customer preferences and the competition between oil sources. China and India are two interesting cases, where demand increased as a result of economic progress and growth in total population.

Table 4. Productivity of several oleaginous crops

Crop	Oil kg/ha/year
Oil palm	2,500 - 4,500
Coconut	600 - 2,500
Rapeseed	600 - 1,000
Olive	500 - 1,000
Sunflower	280 - 700
Groundnut	340 - 440
Soybean	300 - 450

Source: Jalani, et al, 1993

Productivity and production (total yields)

The oil palm is the most productive species among oleaginous plants. According to Jalani et al. (1993), under favorable conditions, an adult plantation produces 4.5 t of red palm oil, 0.5 t of kernel oil and 0.6 t of kernel cake per hectare per year. This is about three times the coconut yield and more than ten times that of soybeans. New varieties have shown that Jalani's number can be easily improved, as some commercial lots have produced up to 8 t/ha of crude palm oil in some years. Table 4 gives an idea of the clear superiority of the oil palm in terms of productivity, and why it stands alone as a unique economical option for many regions in the humid tropics.

In the year 2011, world crude palm oil production increased in 3,852,000 metric tons with respect to the previous year, and most of this oil came, as expected, from Indonesia and Malaysia, which together accounted for 87 % of world production (Table 5). Indonesia (leader in area planted and oil production) produced 9% more oil in the period 2009/2010, followed by Malaysia with 3.3%. The difference in production is due in part to a larger area in Indonesia with palms in full production. The situation in Malaysia is different with many mature plantations, an active replanting program, and not many new areas incorporated to the crop. Thailand also showed an important increment (8%) in CPO production, and in tropical America, Colombia had the largest volume produced (850,000 t), which represented an increment of 13% during the last year. In Africa, the increments in production were rather low.

The aspects already covered are a necessary introduction to better visualize the future of the oil palm industry. However, there are still many opportunities for growers not only by planting new areas, but by increasing productivity. There exists a rich source of research and applied technology that clearly indicate that there is still an ample range for an improvement in productivity of most plantations in the world.

Table 5. Mean annual production of crude palm oil in several counties (000's of tons)

	2010	2011	Change (%)
Indonesia	22,200	23,900	9
Malaysia	16,993	18,000	6
Thailand	1,340	1,450	8
Nigeria	885	900	2
Colombia	753	850	13
Papua N. Guinea	500	525	5
Ecuador	360	400	11
Cameroon	345	350	2
Ivory Coast	300	320	6
Honduras	275	288	5
Brazil	250	270	8
Costa Rica	235	245	4
The world	**44,188**	**48,040**	**8.7**

Source: Oil World and ASD 2011

An example is the data on productivity attained by small holders in the South Pacific coast of Costa Rica (Table 6), where it is clear that the potential productivity that can be reached in the region is well above the mean normally obtained. Some growers reached more than 30 t FFB/ha/year by the third year of production (60 months after field planting), and there are examples of even more impressive precocity during the first two years of production, that starts as early as 20 months after planting. For other growers, the situation is quite different as they only get one fifth of this or even less. For the best growers the future looks bright, and there is reason for uncertainty for the others, considering the raising costs of some inputs like fertilizers.

Table 6. Mean productivity in 3,500 ha planted by smallholders (plot size varies) in the Coto valley, South of Costa Rica (t/ha/year)

Months after field planting	Year of production	Average	Range
24-36	1	6.7	0.5 - 18.1
36-48	2	13.1	1.6 - 23.7
48-60	3	18.4	4.1 - 32.5
60-72	4	21.2	9.7 - 31.5

Source: Coopeagropal, ASD (1994)

According to the Oil World publication (2010/2011) Malaysia led in terms of productivity (4.2 t of CPO/ha/year), and Costa Rica followed very closely (4.1 t). Other countries like Indonesia, Colombia, Cameroon and Papua New Guinea had productivities above 3 t/ha/year (Table 7). However, what is worrying is that in most countries, productivity has not increased significantly during the last 10 years, and hence there is an important gap with respect to the yield potential obtained through breeding. Part of the answer for this gap is that many plantations are located in sites with important limitations for obtaining higher yields, but it is undeniable that agronomic management is commonly suboptimal. Roughly, we could say that half the productivity depends on the genetic material and the other half depends on other factors, being the soil quality and the agronomic management key elements.

Table 7. Mean oil productivity (t/ha/year) in different countries. (Source: Oil World 2011)

Malaysia	4.2	Honduras	2.7
Costa Rica	4.1	Thailand	2.3
Indonesia	3.9	Nigeria	2.0
Papua N. Guinea	3.7	Other countries	1.9
Cameroon	3.3	Ecuador	1.7
Colombia	3.2	Ivory Coast	1.3
The world	**3.6**		

Source: Oil World 2011

Management and competitiveness

Davidson (1993) presented an objective historical analysis about the versatility of the oil palm industry when facing different challenges to its leadership in the world market of oils and fats. Davidson analyzed the situation of the Pamol company (Unilever: about fifteen thousand hectares) through the period between 1951 and 1991. Some of his findings are the following:

1. Oil price fluctuations. Figure one shows oil price fluctuations along time and a general important drop (69%) corresponding to an annual reduction of 2.9% during the period of study (1951-91). These changes came as a consequence of normal forces acting on all markets, but also show the effect of subsidies on vegetable oils of the European Community. It is important to note that in 2008, oil prices came back to numbers similar to those observed in 1951, and later we will see why this happened.

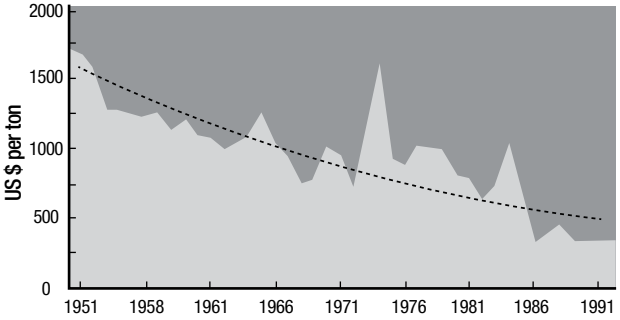


Fig. 1. Crude palm oil price fluctuations during the period 1951-91 (CIF Rotterdam at exchange rates in 1991). Source: Davidson, L. (1993)

2. Increasing wages. In 1950/5, a worker at Pamol had a salary of M$ 3.52 (Malaysian ringgits, excluding benefits such as housing, tap water, electricity and social benefits). This amount was equivalent to M$10.98 in 1991, but during that year the mean salary was much higher than that (M$ 19.22), which indicates that in 40 years salaries increased 75%. Although not all this was bad, since the initial wages were relatively low, the impact on the industry has to be analyzed in terms of the fall of oil prices (69%).

3. Higher costs. Although the industry also had to bear an increase of 457% in the price of imported machinery, which added up to the 75% increase in labor and the 69% drop in oil prices, still not only survived, but even expanded. Figure 2 shows how the Pamol Company managed to reduce 65% its production costs during these obscure years to maintain competitiveness.

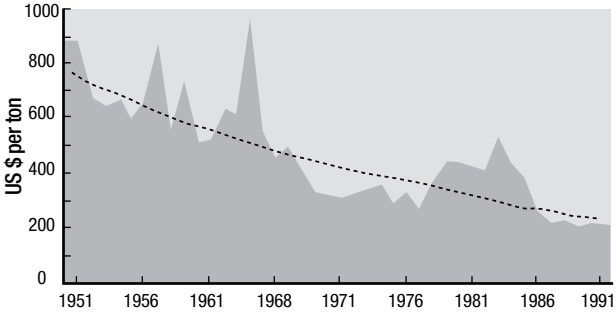


Fig. 2. Production costs at Pamol at the exchange rate of 1991
Source: Davidson, L. (1993)

Table 8 shows the different elements that contributed to an important cost reduction at Pamol, particularly a reduction of fixed costs, an increase of labor efficiency and higher productivity.

Table 8. Summary of cost reductions at Pamol plantation to face the challenges during the period 1951-91

	Year	US$
Cost per ton	1951	746
Man power productivity		(139)
Yield		(144)
Mill efficiency		(20)
Higher bunch oil content		(12)
Fixed costs		(171)
Cost per ton	**1991**	**260**

Source: Davidson (1993)

The increments in oil productivity are further analyzed in table 9, where the efficient use of fertilizers (initially only potassium was used), and breeding progress were particularly important.

Table 9. Productivity increments of oil during the period 1951-91(Kluang plantation, Unilever, Malaysia)

	t/ha	
Oil palm yield in 1951	**1.30**	
1. Adequate use of fertilizers	2.50	93%
2. Breeding progress		
- Dura selection, 1930-80	3.50	40%
- Use of *teneras* (higher oil bunch content)	4.64	32%
3. Other agronomic improvements		
- Polyethylene bags in nurseries	4.78	3%
- Drainage and water conservation	5.02	5%
- Introduction of the pollinator *E. kamerunicus*	5.08	1%
- Harvest losses control	5.03	1%
4. Mill efficiency	5.43	8%
Actual mean yield	**4.00**	

Source: Davidson (1993)

Diversification of palm oil uses

The future of the oil palm industry also looks promising due the many new uses that have been found (and, no doubt, will be found in the future) for palm oil. According to Jalani et al. (1993) palm oil is highly versatile and can be used in the food industry and non-food uses in 80% - 20% proportion. Palm oil is a good source of energy and vitamins A and E, and it (and its products) has good resistance to oxidation and heat at prolonged elevated temperatures; hence making palm oil an ideal ingredient in frying oil blends. As frying oil, it gives longer shelf life to the fried products. Palm oil's natural semi-solid consistency means need for no or little hydrogenation. Palm oil and palm kernel oil can be used directly to make soap, resins, paints, etc.

Palm based biodiesel is made through a chemical process called trans-esterification whereby glycerin is separated from the fat or vegetable oil. Trans-esterification chemically break the molecule into two products which is methyl ester (the chemical name for biodiesel) and glycerin (a valuable byproduct usually sold to be used in soaps and other products). Oleochemicals are chemicals derived from oils and fats and so, they are analogous to petrochemicals. The hydrolysis or alcoholysis of oils and fats form the basis of the oleochemicals industry. The five basic oleochemicals are fatty acids, fatty methyl esters, fatty alcohols, fatty nitrogen compounds and glycerin.

Oil palm and biofuel

The interest for biofuel was a direct effect of increasing prices of petroleum derivatives. There are several prime materials that could be used to produce biofuel, but only a few crops can produce enough organic matter, and oil palm is one of them. World demand for fuel is huge and figures 3 and 4 offer an example of the demand for diesel and kerosene for the aviation industry in 2004 in those countries with the largest consumption (USA: 645 million liters of diesel daily, and the European countries: 991millions), followed by China and India. USA has the highest demand for kerosene (259 million liters per day) for use in aviation.

When we transform these numbers to the area that needs to be planted with different crops to satisfy that demand for biofuel we get some rather staggering figures. To produce 100% of the diesel needed, it would be necessary to plant 1,620 million hectares of Jatropha curcas, or 814 million hectares of oil palm, or 61 million hectares of algae (Fig. 5). On the other hand, to satisfy 100% of the world demand for kerosene for aviation purposes, we need also quite large areas of cropland (Figs. 6 and 7).

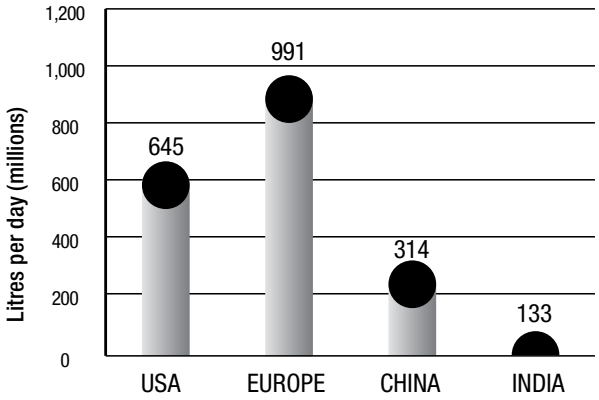


Fig. 3. World demand for diesel in 2004
(Source: Capital Technologies Inc.)

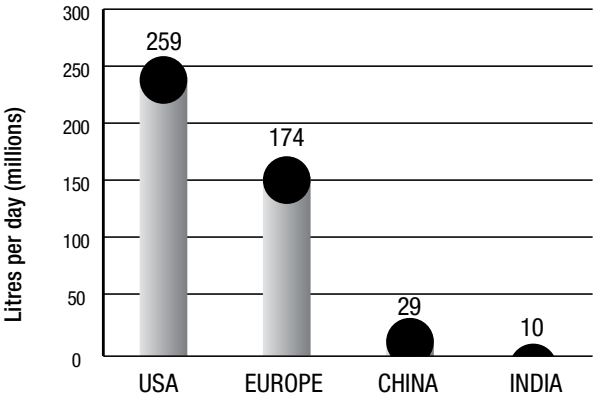


Fig. 4. World demand for aviation fuel in 2004
(Source: Capital Technologies Inc.)

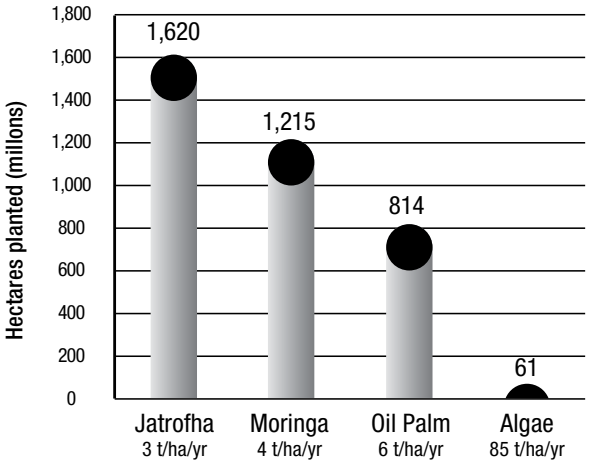


Fig 5. Cropland needed to be planted to satisfy 100% of the world demand for diesel
(Source: Capital Technologies Inc.)

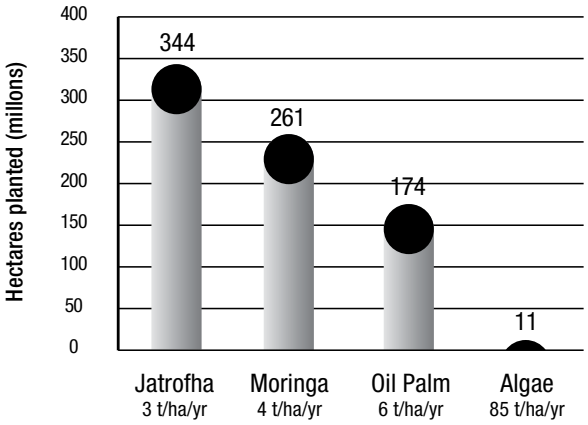


Fig. 6. Cropland needed to be planted to satisfy 100% of the world demand for plane fuel
(Source: Capital Technologies Inc.)

Oil palm is the crop with the highest oil production potential for producing biofuel, and is only second to algae, though technology for this second alternative is still under development.

Now, if we consider that there is only an estimated 16,086,000 ha of crop land in the world, it is impossible to fill with biofuel the world demand for diesel and plane fuel.

The oil palm and the environment

No crop will produce as much biomass as an undisturbed natural tropical forest, and there is always a price to pay when a forest is removed to convert it to cropland in terms of reduced biodiversity, changes in climate, soil erosion and loss of nutrients.

From all tropical perennials, the oil palm is probably the crop with the least negative impact on the environment.

There has been much criticism to the oil palm industry from environmentalists, and it is undeniable that oil palm cultivation has had an impact on the environment and habitat of many plant and animal species. However, world human population continues to increase and has pushed deforestation to use extra land to produce food and other materials for the increasing demand. But still, any oil palm grower has

the moral obligation to respect all hydrographic basins and land too hilly to be used for agricultural purposes.

An oil palm crop can produce per hectare energy equivalent to the work of 10,865 days/man (Table 10), which is a good indication that this crop is a good sustainable option for tropical lands as we will see below.

Table 10. Oil palm energy balance: harvest index

Requirements Gj /ha/year		Production Gj/ha/year	
Fertilizers	11.22	Palm oil	154.41
Other agro-chemicals	0.80	Kernel oil	17.33
Workers	0.67	Kernel cake	10.40
Transport and machinery	5.14	Recycling	22.96
Processing	24.29		
Total :	42.12	Total :	205.10
Balance: 163.0 Gj/ha/year			
Equivalent: 10,865 days/man			

(Source: Henson, I. E. 1994)

Impact on biodiversity

Biodiversity is drastically reduced when a natural forest is removed and even when timber is extracted. For example, mammal species are reduced from 80 to 30 after extracting all timber. The alluvial forests of Sarawak, Malaysia, had at least 225 tree species before they were turned into oil palm plantations, which no doubt is a great loss. But, the worst scenario against biodiversity is when a forest is substituted by grasslands. For example, an oil palm plantation still gives shelter to a varied fauna, and in some instances can have more mammal species than a secondary forest (Fig. 7).

There is increasing consciousness that something has to be done to conserve biodiversity and some countries have taken some steps in that direction. For example in Brazil, only 20% of the land purchased can be used as a cropland and the rest must be left intact as a natural forest.

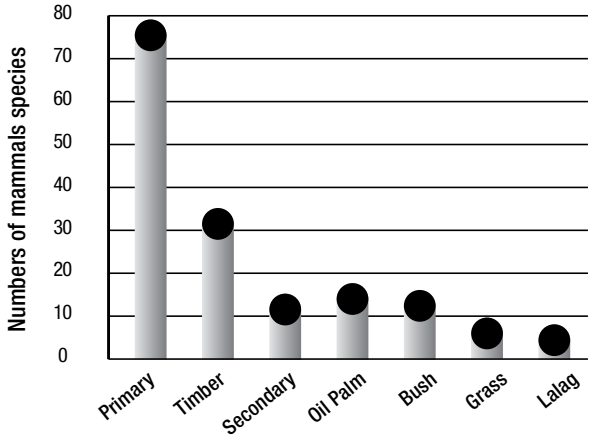


Fig 7. Number of mammal species in different land conditions compared with the primary forest (Source: Henson, I. E. 1994)

Impact on climate

Despite many claims about severe weather changes associated to deforestation in Malaysia, it has not been possible to demonstrate any important climatic changes after 39 years of intensive deforestation. However, there is plenty of information that indicates that greenhouse effect is increased by burning the biomass of forests (or oil palm), so this practice has to be avoided. Despite this knowledge, it is estimated that 400-2,500 million tons of CO_2/year are released from tropical areas around the world.

Impact on nutrient losses

Table 11 shows normal losses during and after fertilization application. A large proportion of nitrogen and potassium could be lost if special precautions are not taken.

Table 11. Normal fertilizer losses

	kg/ha/year				
Cause	N	P	K	Ca	Mg
Run-off	9.93	1.43	10.40	4.04	1.82
Sediments	5.57	3.63	8.79	7.40	2.10
Total	15.50	5.06	19.19	11.44	3.92
Fertilizer applied	120.00	50.00	300.00	NA	54.00

(Source: Henson, I. E. 1994)

[3] A giga joule (Gj) is energy unit, equivalent to 277.8 Kw of electricity; 26.9 m^3 of natural gas; the burning of a million matches, or a 60 watt bulb on for six months

Impact on soil erosion

No crop will produce as much organic matter as a natural tropical forest, estimated to be around 450 t/ha. A mature oil palm plantation (25 years old) accumulates a biomass estimated in 100 t/ha (Fig. 8), which will be removed at replanting. Despite that, a lot of organic material is recycled in commercial oil palm plantations (pruned leaves, male flowers, etc.), turnover is not even close to a natural forest. Nevertheless, the oil palm is a far better producer of organic matter than most crops, in particular annual ones.

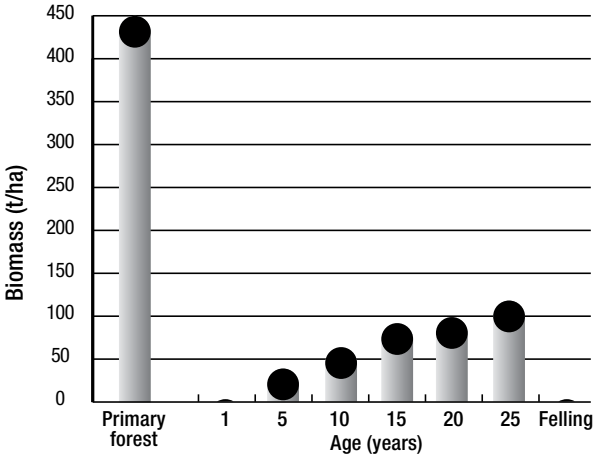


Fig. 8. Changes in biomass during oil palm growth compared with a natural forest (Source: Henson, I. E. 1994)

With respect to sediment load, oil palm is as efficient as a natural forest, which means that lost sediments after removing the forest are as high as 400 t/km^2/year, but they decrease as the cover crop establishes, and reaches less than 50 t/year (Fig. 9).

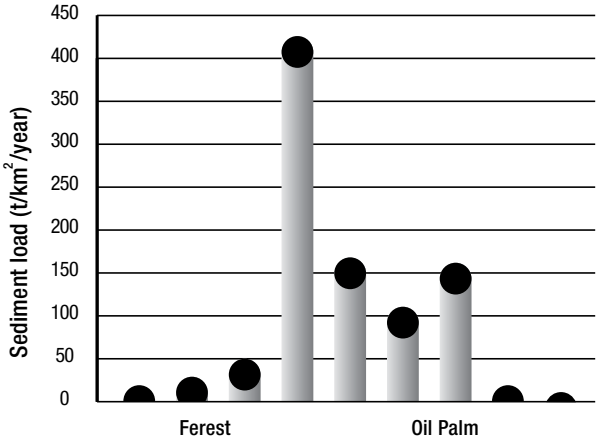


Fig. 9. Sediments load according to soil cover crop
(Source: Henson, I. E. 1994)

Finally, soil erosion rate in oil palm plantations is usually lower than in secondary forests: 14.9 t/ha/year vs. 18.8-54.2 t/ha/year, and is considerably lower than that caused when the forest is removed to plant annual crops (Table 12)

Table 12. Soil erosion under different situations

Condition	Erosion rate (t/ha/year)
Natural forest	0.03 - 6.2
Secondary forest	18.8 - 54.2
Man made forests	5.9 - 53.4
Partial deforestation	10.2
Oil palm, 11 years old	14.9
Total deforestation	93.8

(Source: Henson, I. E. 1994)

Investment projects

When considering developing an oil palm plantation, it must be kept in mind that this is a long term project with an important initial capital investment, where the first income starts about three years after the oil palm is planted in the field (plus one year in the nursery), and positive returns are seen only after the fourth year. This means that total investment is recovered in 4-5 years, considering a price of US$700/t/CPO. The magnitude of the positive flows depends on the amount of area planted each year.

Key information necessary to determine the future success of an investment project is a reasonable estimate of yields in terms of fresh fruit bunches per hectare. An example of the expected yields for oil palm in regions with different water deficit is presented in Table 13.

Table 13. Estimated yield curves for oil palm plantations in areas varying in water deficit (tons of FFB/ha/year)

Year of harvest	Low	Medium low	Medium	Medium high	High
1	---	---	5.0	8.0	12.5
2	3.0	7.0	12.0	18.0	22.0
3	6.5	12.0	18.5	22.5	28.0
4	10.0	15.0	22.0	25.0	28.0
5	13.5	18.0	22.0	25.0	28.0
6-9	15.0	18.0	22.0	25.0	28.0
Water Deficit (mm/yr)	>500	350-500	250-350	150-250	0-150

FFB = fresh fruit bunches

Oil palm yields are not only affected by water deficit, but many other factors that may have more importance in specific areas, such as soil aeration. These factors must be considered in order to have as clear a picture of future yields as possible for every specific site, and use this information to have a realistic idea of the viability of the project. An unrealistic estimate of future yields may cause frustrations or even worse, the failure of an adventure. Table 14 shows that the oil palm can be a profitable business under different agro-climatic conditions, as long as production costs are so managed to obtain the economical margin expected. This means that even under rather adverse conditions, an oil palm project can still be profitable, if something can be done to reduce the impact of such adverse elements; for example, irrigation if water deficit is important or drainage when water excess is the problem, etc.

The uncertainty on CPO price variation

Besides productivity, the other important risk factor in an oil palm project is oil price fluctuation. Productivity can be somehow managed even in presence of climatic variations, but the variations in oil price place a lot of uncertainty in any project.

Fig. 10 is an example of monthly price variations of CPO from 1985. At first glance, we note several important drops in price (down to US$ 197/t in Aug. 86). On the other side of the coin, the industry went through a period of bonanza between Aug. 94 and Dec. 98 (US$ 575-664, to a maximum of US$ 705/t). During the year 2008, a record high price of US$1,249 was reached in March. During 2011 and the early part of 2012, oil prices continued to be very attractive and sometimes even above the previous record reached in 2008. The bad part is that some costs are also on the rise, such as labor, machinery, agrochemicals and particularly fertilizers.

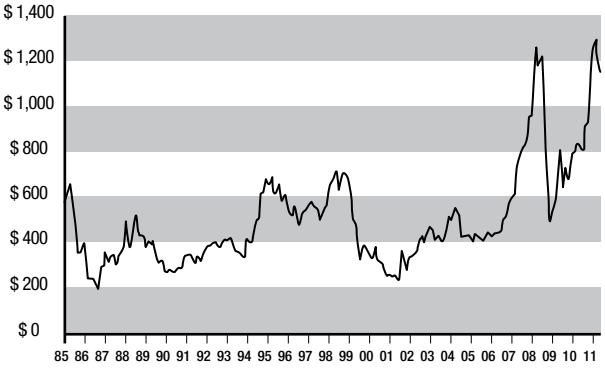


Fig. 10. Monthly variation of CPO. CIF Rotterdam (Oil World, 2009)

Business profit margin

When prices go down, not all the industrial chain is equally affected from an economical point of view; the agricultural phase is more severely affected, followed by milling (oil extraction). On the other hand, refining and production of terminated products are benefited from lower prices of raw materials. This idea is illustrated in figure 11, where the industry is pictured as having three levels, each one with a particular risk premium, amount of investment necessary and profitability.

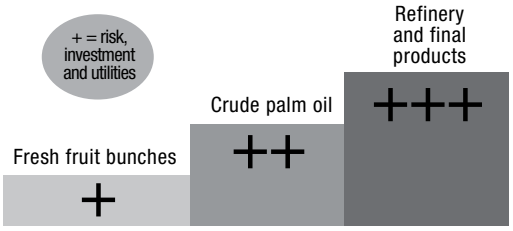


Fig. 11. The structure of the oil palm agribusiness

Many fresh fruit bunch producers are normally associated to large companies or cooperatives, and may have between five and 200 hectares planted. At this level, investment and profitability is the lowest (+ in the figure above). For these growers, particularly small holders, investment is relatively low (seedlings, land preparation, planting, agronomical care, etc.). If business goes bad, they turn to other activity. For them,

profitability is subjected to CPO fluctuations, and they may get between 12 and 18% of the international price for CPO. Net margin was normally situated between 60 and 150 US$/t of FFB in 2011.

Those who invest in a mill and buy FFB are placed in the second level of figure 11: higher investment and risks, but also, higher profit expectations. Risk is higher since oil palm mills are exclusively designed to process oil palm bunches. In terms of investment, a medium size mill (15 t/hour) costs about four and six million US dollars. With no oil palm plantations of its own, would have a profit margin of about 33%. (FFB producers will keep the difference). If the mill owner also has some plantations, his profit margin increases considerably.

The relationship between producers of FFB and owners of mills is illustrated with the example in Annex 1, where we consider the following assumptions: i) a CPO price of $ 1,205/t; ii) Crude kernel oil price of $ 780; iii) Purchase price for ton of FFB of $ 210 (other assumptions are summarized in Annex 1).

Accepting that productivity is a key element in any agricultural business (increases profits and reduces production costs), we proceed to analyze several scenarios: i) producing only 12 t FFB/ha/year, the profit margin per hectare per year would be just $1,680 for the grower and $830 for the owner of the mill. ii) if productivity is increased to 25 t/ha/year, the margin for the grower would be $3,500/ha/year, and $1,728 for the mill. It could be argued that 33% margin for just processing the bunches is too high, but it is justified based on level of risk and investment.

Finally, refining and production of terminated products make the last step taken by the industry, where risks and investment are the highest (+++), since complex facilities have to be established and marketing cost is high. Here, the investor expects the highest returns also.

The best of all domains is obtained when a company is vertically integrated and invests in all the three elements discussed above. However, low prices will first impact the FFB producer, and then the extraction mill (first two levels of the industry), and all activities related to these two levels, such as commercial seed production, suppliers etc. The whole industry eventually slows down as a reaction to low prices.

Conclusions

1. We still do not reach the limits for oil palm expansion in the world. Besides replanting, there is potential to incorporate new areas, particularly when considering that breeding is producing new varieties that could adapt well to regions previously considered marginal for commercial oil palm plantations.

2. It is expected that most expansion will occur in Indonesia and other countries in Southeast Asia, but such expansion may find a halt within the next ten years, due to less cropland available and sustainability considerations.

3. The industry, however, will continue its expansion in tropical America and Africa, even at a higher rate, but it has to cope with some constraints to maintain productivity: proper use of agronomic technology to increase productivity, and reduce costs and the impact of phytosanitary problems.

4. It is possible that a price crisis, similar to that of 1994-98 and 2001 will not occur again. The present tendency is that CPO prices per ton will fluctuate around $1000, which will maintain the interest in the crop.

5. Palm oil is a very important source of energy and vitamin A and E, essentials in human diet, and this will impulse the expansion of the crop as human population increases and economic progress reaches more marginal sectors. Besides this, palm oil is a viable alternative to produce biofuel and more than 50 other alternative uses as row material for the oleochemical industry.

6. Oil palm cultivation is ecologically and sustainably viable due to its capacity to fix CO_2 (biomass production), protect soil from erosion and reduce nutrient losses when compared with other crops, particularly those planted annually.

References

Davidson L. 1993. Management for efficient cost - effective and productive oil palm plantations. In. Proc. 1991 Porim Intern. Palm Oil Conf. Progress, Prospects & Challenges Towards the 21st Century, Kuala Lumpur, 9-14 September. Module I. Agriculture, 579 p.153 - 167 pp .

Escobar R., Peralta F. Alpizar G. 1994. Perspectivas para el desarrollo de la industria de la palma de aceite a nivel mundial. Palmas Vol. 15 No.1 :51-59

Henson I. E. 1994. Environmental impacts of oil palm plantations in Malaysia. Porim Ocassional Papers, No. 33. Dec. 1994.

Howard B. 1993. Oil & oil seeds to 1996. The new patterns of supply and demand. The Economist Intelligence Unit. Special Report. No. M703. 151 p.

Jalani B.S., Rajanaidu N., Ariffin D. 1993. Perspectives for the XXI century: The ideal oil palm and palm oil quality for the future. X Conf. Intern. de Palma Aceitera. Sta. Marta, Colombia, 24 - 29 de mayo, 1993, Fedepalma, Cenipalma y Burotrop. 15p.

Oil word (2009). Oil world annual 2009.

Richardson D.L. 1995. The history of oil palm breeding in the United Fruit Company. ASD Oil Palm Papers, 11:1-22

Taniputra B., Lubis A.U., Pamin K., Syukur S. 1988. Progress of oil palm industry in Indonesia in the last fifteen years (1971-1985). In. Proc. 1987 Porim Intern. Palm Oil Conf. Progress & Prospects, Kuala Lumpur, 23 - 26 June 1987. Module I. Agric. 737 p. 27 - 35 pp.

ANNEX 1: Operating margins for FFB and CPO according to FFB yields/ha

Agricultural phase				Extraction mills										
				Production/ha			Sales/ha			Costs/ha				
FFB t/ha/year	Sales US$/ha	Cost/ha US$	Margin/ha (74%)	ACP	ACA	Harina	ACP	ACA	H	FFB Purchase	Processing RFF	Processing ACA+H	Margin/ha (26%)	Total Margin/ha
12 t	$2,640	$840	$1,800	2.8 t	0.21 t	0.27 t	$3,105	$290	$46	$2,640	$144	$27	$630	$2,430
13 t	$2,860	$910	$1,950	3.0 t	0.23 t	0.29 t	$3,364	$314	$49	$2,860	$156	$29	$682	$2,632
14 t	$3,080	$980	$2,100	3.2 t	0.25 t	0.31 t	$3,623	$338	$53	$3,080	$168	$31	$735	$2,835
15 t	$3,300	$1,050	$2,250	3.5 t	0.26 t	0.34 t	$3,881	$362	$57	$3,300	$180	$34	$787	$3,037
16 T	$3,520	$1,120	$2,400	3.7 t	0.28 t	0.36 t	$4,140	$386	$61	$3,520	$192	$36	$839	$3,239
17 t	$3,740	$1,190	$2,550	3.7 t	0.30 t	0.38 t	$4,399	$411	$65	$3,740	$204	$38	$892	$3,442
18 t	$3,960	$1,260	$2,700	4.1 t	0.32 t	0.40 t	$4,658	$435	$68	$3,960	$216	$40	$944	$3,644
19 t	$4,180	$1,330	$2,850	404 t	0.33 t	0.42 t	$4,916	$459	$72	$4,180	$228	$42	$997	$3,847
20 t	$4,400	$1,400	$3,000	4.6 t	0.35 t	0.45 t	$5,175	$483	$76	$4,400	$240	$45	$1,049	$4,049
21 t	$4,620	$1,470	$3,150	4.8 t	0.37 t	0.47 t	$5,434	$507	$80	$4,620	$252	$47	$1,102	$4,252
22 t	$4,840	$1,540	$3,300	501 t	0.39 t	0.49 t	$5,693	$531	$84	$4,840	$264	$49	$1,154	$4,454
23 t	$5,060	$1,610	$3,450	5.3 t	0.41 t	0.51 t	$5,951	$556	$87	$5,060	$276	$51	$1,207	#4,657
24 t	$5,280	$1,680	$3,600	5.5 t	0.42 t	0.54 t	46,210	$580	$91	$5,280	$288	$54	$1,259	$4,859
25 t	$5,500	$1,750	$3,750	508 t	0.44 t	0.56 t	$6,469	$604	$95	$5,500	$300	$56	$1,312	$5,062
26 t	$5,720	$1,820	$3,900	6.0 t	0.46 t	0.58 t	$6,728	$628	$99	$5,720	$312	$58	$1,364	$5,264
27 t	$5,940	$1,890	$4,050	6.2 t	0.48 t	0.60 t	$6,986	$652	$103	$5,940	$324	$60	$1,417	$5,467
28 t	$6,160	$19,60	$4,200	6.4 t	0.49 t	0.63 t	$7,245	$676	$106	$6,160	$336	$63	$1,469	$5,669
29 t	$6,380	$2,030	$4,350	6.7 t	0.51 t	0.65 t	$7,504	$700	$110	$6,380	$348	$65	$1,522	$5,872
30 t	$6,600	$2,100	$4,500	6.9 t	0.53 t	0.67 t	$7,763	$725	$114	$6,600	$360	$67	$1,574	$6.074
31 t	$6,820	$2,170	$4,650	7.1 t	0.55 t	0.69 t	$8,021	$749	$118	$6,820	$372	$69	$1,627	$6,277
32 t	$7,040	$2,240	$4,800	7.4 t	0.56 t	0.72 t	$8,280	$773	$122	$7,040	$384	$72	$1,679	$6,479
33 t	$7,260	$2,310	$4,950	7.6 t	0.58 t	0.74 t	$8,539	$797	$123	$7,260	$396	$74	$1,731	$6,681
34 t	$7,480	$2,380	$5,100	7.80 t	0.60 t	0.76 t	$8,798	$821	$129	$7,480	$408	$76	$1.784	$6,884
35 t	$7,700	$2,450	$5,250	8.1 t	0.62 t	0.78 t	$9,056	$845	$133	$7,700	$420	$78	$1,836	$7,086

Parameters Mar/2012

Crude palm oil extraction (CPO)	23.0%	FFB processing cost	$12	Crude palm oil (CPO) price	$1,125
Kernel extraction (K)	4.3%	Palm kernel cake extraction cost	$100	Crude palm kernel oil price ACA/t	$1,370
Kernel oil extraction	41.0%	Palm kernel cake price	$170	FFB purchasing price/t	$220 20%
Palm Kernel extraction	52.0%			Agricultural cost+harvest+fixed costs/t of FFB	$70

¿Por qué cultivar la palma aceitera?

Ricardo Escobar[1]

Resumen

El alto precio internacional del aceite de palma ha despertado el interés de empresarios y pequeños productores por iniciar nuevas áreas de cultivo o agrandar las ya existentes. No obstante, siempre está latente en la mente del productor la incertidumbre sobre la variación de los precios a futuro, si ocurriera sobre oferta del producto. El autor argumenta que tal eventualidad es poco probable, y basa su hipótesis en un análisis cuidadoso y documentado sobre el comportamiento de la industria en el pasado y las múltiples nuevas oportunidades para el aceite de palma, tanto para el consumo para fines alimentarios de una población mundial creciente, como en nuevos usos en la oleoquímica. La cifra del área que necesitaría ser sembrada para satisfacer únicamente las necesidades de biodiesel es enorme y prácticamente inalcanzable, dadas las limitaciones de tierra disponible para la agricultura.

El potencial productivo de la palma de aceite es incomparable con cualquier otro cultivo oleaginoso (con la posible excepción de las algas), lo cual la hace la especie a ser escogida para la producción de aceite en el mundo.

La oportunidad luce particularmente brillante para los productores en América tropical, en donde aún existe abundante tierra disponible, en contraste con los países asiáticos en donde la tierra agrícola es cada vez más escasa. La oposición al desarrollo de plantaciones de palma aceitera por parte de organizaciones preocupadas por el ambiente, debe considerar que este cultivo tiene ventajas únicas sobre otros en términos de productividad, generación de mano de obra para solucionar problemas sociales en áreas alejadas, fijación de $C0_2$ y protección del suelo y de muchas especies silvestres, entre otros.

Finalmente, se discuten detalles sobre los proyectos de inversión, destacando las ventajas y desventajas de los tres niveles de la agroindustria: productores de fruta, dueños de extractoras del aceite y refinadoras del producto final.

Introducción

La industria de la palma aceitera ocupa una posición clave dentro del mercado mundial de aceites y grasas, en el cual alcanzó el liderazgo en el año 2007, cuando superó a la industria de la soya. El aumento del área plantada tuvo origen en la creciente necesidad de incrementar la producción para satisfacer una demanda en aumento por la acción combinada del crecimiento de la población –79 millones por año según la CIA World Factbook de EU (2009) – y el aumento del consumo. Sin embargo, la subida espectacular de los precios en los dos últimos años (hasta US$ 1,400 por tonelada de aceite crudo) ha provocado la expansión del área plantada en muchos países, inclusive en áreas marginales. La zozobra por la caída dramática de los precios experimentada a mediados de 1999 quedó atrás; lo cual había provocado un atraso substancial de los planes de crecimiento de muchas empresas y particularmente de los pequeños productores, quienes son muy sensibles a la caída de los precios. Históricamente, la variación de los precios ha sido cíclica y se espera que los precios se sitúen entre US$ 800-1,000 por tonelada de aceite crudo en los próximos años.

[1] General Manager and Research Director, ASD Costa Rica, r.escobar@asd-cr.com Esta revisión se mantendrá actualizada

[2] https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/index.html

A pesar del incremento impresionante del área plantada en Asia, principalmente en Indonesia durante la última década, ello no impide pensar que en América tropical no se deba seguir expandiendo las plantaciones a un ritmo, incluso mayor, que el actual. Se estima también que Asia enfrentará limitaciones futuras en la disponibilidad de tierras aptas para la palma aceitera, especialmente en Malasia e Indonesia; lo cual convierte a América tropical, donde la industria de la palma ha tenido comparativamente un desarrollo incipiente, en el continente con las mejores condiciones para el crecimiento futuro de esta actividad. Por otra parte, la diversificación del uso del aceite de palma, especialmente en el campo de la oleoquímica, hace también que las perspectivas del cultivo continúen siendo prometedoras.

Importancia económica del aceite de palma

Abordar la problemática sobre las perspectivas de cualquier industria conlleva cierto compromiso, ya que se puede tomar una posición optimista alentando a los productores a seguir expandiendo sus cultivos y a los empresarios a aumentar sus inversiones, o bien tomar una actitud cautelosa frente a los imprevistos del desarrollo futuro, principalmente por una eventual caída de los precios. Nuestra posición al respecto es optimista, ya que los hechos demuestran que la industria de la palma aceitera prosigue en franca expansión, a pesar de la variación de los precios y la competencia de otras oleaginosas.

Un índice útil para caracterizar el crecimiento de la industria es el área plantada en cada país, porque refleja en forma indirecta el volumen anual de inversiones en la industria. En la mente de todo productor existe la preocupación sobre el futuro de la industria, principalmente por la expansión del área plantada en varios países asiáticos; lo cual crea la inquietud de que aumentos desmedidos de la oferta harán bajar los precios. Sin embargo, históricamente la industria de la palma aceitera ha crecido progresivamente sin que se vislumbre todavía la saturación del mercado. Aparte del crecimiento normal de la demanda por aceites vegetales en función del crecimiento demográfico mundial, estos han venido sustituyendo gradualmente a otras fuentes de aceites y grasas.

La producción mundial de aceites y grasas en el año 2011 fue superior a 175 millones de toneladas métricas; de las cuales 95.8% fueron de origen vegetal (159 millones). Las grasas de origen animal, tales como la mantequilla, manteca, cebo y aceite de pescado son cada vez menos importantes, mientras que la palma aceitera continua consolidándose como la mayor fuente de aceite vegetal, superando a la soya en más de 6 millones de toneladas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción mundial de aceites y grasas en 000's de toneladas métricas

Palma aceitera	48,040	Almendra de palma	5,493
Soya	41,880	Coco	3,275
Colza	23,448	Oliva	3,150
Girasol	12,107	Maíz	2,390
Cebo y grasas	8,540	Pescado	1,017
Manteca de cerdo	8,187	Sésamo	885
Mantequilla (grasa)	7,300	Linaza	620
Algodón	4,817	Castor	641
Maní	4,109		
Fuente vegetal:	**150,855**		
Fuente animal:	**25,044**		
Todas las fuentes:	**175,899**		

Fuente: Oil World Statistics, 2011

Un poco de historia

La palma aceitera fue llevada de África a Asia a principios del siglo XIX, en donde se estableció la primera plantación comercial en Tnah Itam Ulu, Indonesia en 1911. En 1915 el área plantada era de 2,760 ha (Taniputra et al. 1988). Posteriormente otros países iniciaron grandes siembras, principalmente Indonesia que es el líder mundial actual. Es difícil definir todos los factores que contribuyeron a la bonanza de la palma aceitera en Asia, pero es claro que las condiciones agro-climáticas y la abundancia de mano de obra barata fueron puntos importantes.

La historia de la palma aceitera en América se remonta a 1926, cuando la división de Panamá de la entonces United Fruit Company (UFCo.) introdujo semillas de Malasia. Posteriormente, en 1927 la Estación Experimental de Lancetilla en Honduras importó semillas del Asia y África y en 1929 la división de Guatemala de la UFCo. introdujo mil semillas de esta planta de Sierra Leona (Richardson 1995). Posteriormente, de Lancetilla se distribuyó semilla de polinización abierta a varios países en Centro América y el Caribe (Cuba, Guatemala, Costa Rica) y Sur América (Colombia, Ecuador, Perú). A pesar de este temprano avance en América, el desarrollo de la industria fue significativamente menor que en Asia: 1,235,000 ha vs. 12, 263,000 ha en el 2011.

Si bien la palma aceitera es originaria del África Occidental, la productividad de aceite ha sido en este continente bastante más baja que en Asia y América. Muchas plantaciones en África, están establecidas en áreas marginales, algunas con un fuerte déficit hídrico y su manejo agronómico no ha sido bueno. Por otro lado, existen muchas plantaciones que son simplemente bosques naturales de palmas de la variedad 'dura' cuya productividad es muy baja. En varios países africanos el aceite de palma es consumido en forma directa (sin refinar), y los métodos de extracción del aceite son ineficientes.

Área sembrada

En el mundo existen aproximadamente 16 millones de hectáreas plantadas con palma aceitera (Cuadro 2); la mayoría de las cuales están en el sureste asiático con más de trece millones de hectáreas, seguido por America tropical con más de un millón doscientas mil hectáreas. En todo el mundo, el área plantada aumentó 28% en los últimos cinco años (Cuadro 3).

Cuadro 2. Área plantada con palma aceitera en todo el mundo (000's de ha)

Asia	13,812
América	1,235
África	1,039
Total:	**16,086**

Los países que mostraron una mayor tasa de crecimiento en el área plantada en Asia fueron Papúa Nueva Guinea (55% de aumento en los últimos cinco años), seguida por Tailandia (46%). En África, Camerún y Costa de Marfil también aumentaron significativamente sus áreas plantadas (31%). En América tropical, el país que más plantó palma aceitera durante los últimos cinco años fue Brasil, que casi duplicó el área; seguido por Guatemala (81% de incremento, cuadro 3).

Cuadro 3. Área plantada con palma aceitera en los principales países productores (000's de ha)

País	2007	2008	2009	2010	2011	Crecnto.
Brasil	80	84	98	125	165	106%
Camerún	74	89	89	91	94	27%
Colombia	268	299	329	344	352	31%
Costa de Marfil	187	224	229	234	245	31%
Costa Rica	51	54	57	58	61	20%
Ecuador	207	210	218	244	251	21%
Guatemala	53	65	82	88	96	81%
Honduras	93	97	103	105	112	20%
Indonesia	5,888	6,381	6,817	7,221	7,659	30%
Malasia	3,900	4,143	4,396	4,674	4,950	27%
Nigeria	414	429	442	454	462	12%
Papúa-N. Guinea	114	154	156	168	177	55%
Tailandia	534	594	669	714	778	46%

Fuente: Oil World, ASD, países

Estímulos para la expansión de la industria

¿Por qué plantar palma aceitera y no otro cultivo cuando se tienen las condiciones agro-climáticas favorables? Trataremos de responder esto analizando las fortalezas de la industria en función de los factores económicos que la hacen altamente productiva y rentable, enfatizando en aquellos aspectos que hacen que los palmicultores se mantengan competitivos en un mercado de aceites y grasas agresivo, sin perder de vista que los aceites vegetales constituyen un alimento básico y necesario en la dieta del ser humano, y que su demanda continuará a través del tiempo.

Población y consumo

La demanda de aceites vegetales está lógicamente en función del crecimiento de la población mundial. Aunque la tasa de crecimiento de la población mundial está declinando, se espera que ésta crezca 49.6% entre los años 2000 y 2050. Si bien el crecimiento de la población es un parámetro importante que ayuda a imaginar la demanda futura de aceites vegetales, el análisis del consumo da una mejor idea de las perspectivas futuras.

El consumo de aceite de palma creció en 2008 a una tasa anual de 12.2%, muy por encima de la tasa anual promedio de 8% del periodo 2005-2007. En este contexto, el incremento del ingreso, el desarrollo económico y los gustos del consumidor juegan un papel importante en el mercado de aceites y grasas. Howard (1993), señala que la demanda de aceites vegetales está positivamente relacionada con el crecimiento de producto interno bruto (PIB) de los países, pero que otros factores, incluyendo cambios en los gustos y la competencia con otras fuentes de aceites y grasas, también juegan un papel importante. Los casos de la China y la India son excepcionales, ya que elevaron su demanda de aceites en función de su éxito económico y aumento en la población.

Cuadro 4. productividad de diferentes oleginosas

Cultivo	Aceite kg/ha/año
Palma aceitera	2,500 - 4,500
Coco	600 - 2,500
Colza	600 - 1,000
Olivo	500 - 1,000
Girasol	280 - 700
Maní	340 - 440
Soya	300 - 450

Source: Jalani, et al, 1993

Productividad y producción

La palma aceitera es la especie más productiva entre las oleaginosas. Según los datos clásicos de Jalani et al. (1993), una plantación adulta en condiciones favorables produce en promedio 4.5 t/ha/año de aceite rojo, 0.5 t/ha/año de aceite de almendra y 0.6 t/ha/año de harina de almendra. Esto es aproximadamente tres veces el rendimiento del coco y más de 10 veces el de la soya (Cuadro 4).

Es por esta razón que la palma aceitera constituye una opción económica relevante para la economía agrícola en las regiones tropicales húmedas.

En 2011 la producción mundial de aceite crudo de palma (ACP) aumentó en 3,852,000 t respecto al año anterior. Los países con los niveles más altos de producción total de aceite de palma fueron Indonesia y Malasia; ambos países fueron responsables de 87 % de la producción mundial, según datos promedio del periodo 2010/2011.

Indonesia, el país líder en producción de aceite y área plantada, aumentó su producción en 9% en el periodo 2009/2010; mientras que Malasia mostró un aumento menor que 3.3% en el mismo periodo. Esta diferencia entre los dos países líderes, se explica porque Indonesia tiene una mayor área sembrada con palma joven, en pleno proceso de incremento de la producción, mientras que Malasia posee una industria madura donde la expansión de áreas nuevas es menor. Otro país asiático que aumentó substancialmente su producción anual de ACP fue Tailandia con 8% de incremento. En América tropical, el país con el mayor volumen de producción fue Colombia con 850,000 t de ACP por año; con un aumento de su producción de 13% en el último año. Costa Rica tuvo un incremento moderado de 4% (Cuadro 5).

Cuadro 5. Producción promedio anual de aceite crudo de palma en los principales países productores (000's de toneladas métricas)

	2010	2011	Cambio (%)
Indonesia	22,200	23,900	9
Malasia	16,993	18,000	6
Tailandia	1,340	1,450	8
Nigeria	885	900	2
Colombia	753	850	13
Papua N. Guinea	500	525	5
Ecuador	360	400	11
Camerún	345	350	2
Costa de Marfil	300	320	6
Honduras	275	288	5
Brasil	250	270	8
Costa Rica	235	245	4
The world	**44,188**	**48,040**	**8.7**

Fuente: Oil World y ASD 2011

La información de las secciones anteriores permite visualizar las perspectivas futuras de la industria. Sin embargo, existe todavía un amplio margen para aumentar la esperanza económica del cultivo sin necesidad de incrementar el área plantada, si se logra

explotar al máximo el potencial productivo de la palma aceitera en las diversas zonas ecológicas donde se la cultiva. En otras palabras, aplicando tecnología adecuada es posible mejorar considerablemente la productividad.

Se cita como ejemplo la productividad alcanzada por pequeños productores en Coto Sur, Costa Rica, la cual se muestra en el Cuadro 6. Estos datos indican que el potencial de la región está por encima de lo que se logra en la práctica, ya que hay agricultores que produjeron más de 30 toneladas de racimos de fruta fresca (RFF) por hectárea en el tercer año de producción (48-60 meses después de la siembra); mientras que otros obtuvieron cinco toneladas o menos. Es lógico pensar que para los primeros las perspectivas del cultivo son muy alentadoras, mientras que para los segundos el futuro es incierto por su baja productividad, menores ingresos y costos altos.

Cuadro 6. Productividad de 3,500 ha de palma aceitera de pequeños productores en el valle de Coto Sur, Costa Rica (t/ha/año)

Meses después de la siembra	Año de producción	Promedio	Ámbito
24-36	1	6.7	0.5 - 18.1
36-48	2	13.1	1.6 - 23.7
48-60	3	18.4	4.1 - 32.5
60-72	4	21.2	9.7 - 31.5

Fuente: Coopeagropal, ASD (1994)

Según el Oil World (2010/2011) el país con la productividad más alta de aceite por hectárea es Malasia (4.2 t), seguida muy de cerca por Costa Rica (4.1 t). Por otra parte, Indonesia, Papúa Nueva Guinea y Colombia tienen productividades apenas por encima de 3.0 t/ha/año (Cuadro 7). De una manera general, la productividad comercial de la palma aceitera en los diferentes países no ha aumentado substancialmente en los últimos 10 años, comparada con los logros del aumento de la productividad por mejoramiento genético. Este desfase entre la productividad potencial y la productividad realizable, se debe a factores del sitio donde se cultiva la palma, tecnología agronómica y el manejo eficiente de las plantaciones. Se piensa que 50% de la productividad se debe a los genes en las semillas y el resto está en manos de los cultivadores.

Si bien la palma aceitera es originaria del África Occidental, la productividad de aceite ha sido en este continente bastante más baja que en Asia y América. Muchas plantaciones en África, se encuentran en áreas marginales, algunas con un fuerte déficit hídrico y su manejo agronómico no ha sido bueno. Por otro lado, existen muchas plantaciones que son simplemente bosques naturales de palmas de la variedad 'dura' cuya productividad es muy baja. En varios países africanos el aceite de palma es consumido en forma directa (sin refinar), y los métodos de extracción del aceite son ineficientes.

Cuadro 7. Productividad promedio de aceite de palma por país (t/ha/año)

Malasia	4.2	Honduras	2.7
Costa Rica	4.1	Tailandia	2.3
Indonesia	3.9	Nigeria	2.0
Papua N. Guinea	3.7	Otros países	1.9
Camerún	3.3	Ecuador	1.7
Colombia	3.2	Costa de marfil	1.3
Todo el mundo	**3.6**		

Fuente: Oil World 2011

Competitividad por manejo eficiente

Davidson (1993) nos da un ejemplo histórico sobre la versatilidad de la industria de palma para enfrentar los desafíos del mercado y mantenerse como el cultivo líder en la producción de aceites y grasas. Este autor analiza la trayectoria de 15 mil hectáreas de la compañía Pamol (Unilever) en Malasia en el período entre 1951 y 1991. A continuación se mencionan algunas secciones de este trabajo, en donde se destaca el éxito de la industria durante la segunda mitad del siglo a pesar de los problemas que anota el autor:

1. Disminución de los precios del aceite de palma en el ámbito mundial. La figura uno muestra las fluctuaciones del precio promedio de venta del ACP, CIF Rotterdam entre 1951y 1991. La ecuación exponencial muestra una caída del precio del aceite en el período de 69%, lo cual corresponde a una reducción anual de 2.9%. Es imposible calcular cuánto de esta caída se debió a las fuerzas normales del mercado y cuánto a los subsidios de la Comunidad Europea a la producción de aceites vegetales. Cabe destacar que en

2008 los precios volvieron casi al nivel de los observados en 1951 en el presente ejemplo; más adelante explicaremos las razones para esta alza excepcional del precio del ACP.

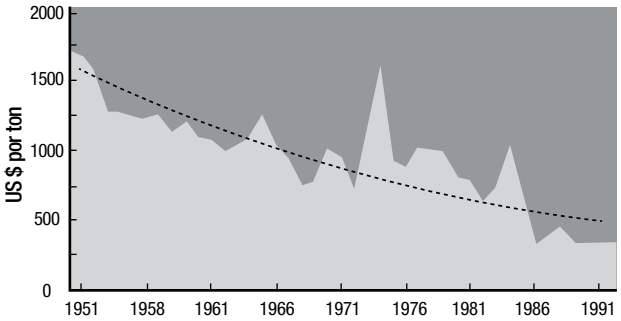


Fig. 1. Variación del precio del aceite crudo de palma CIF Rotterdam al cambio de 1991. Fuente: Davidson, L. (1993)

2. Aumento de los salarios. En 1950/51 el salario de un trabajador en Pamol (excluyendo beneficios tales como casa, agua, electricidad, seguros sociales, etc.) era M$ 3.52 (ringgit malayo), lo que equivale a M$10.98 en M$ de 1991. En ese año, el jornal promedio fue de M$ 19.22; o sea, que en 40 años ocurrió en términos reales un aumento en los salarios de 75%. Por supuesto que es deseable que los trabajadores mejoren sus salarios más rápidamente que los costos de vida, ya que empezaron a partir de una base baja. Sin embargo, este aumento debe ser visualizado contra 69% de la caída de los precios del aceite.

3. Costos. Según el análisis de Davidson (1993), la industria de la palma aceitera soportó un aumento de 457% en los precios de las importaciones de maquinaria, 75% en el costo de la mano de obra y una caída de 69% en los precios del aceite. ¿Cómo pudo entonces sobrevivir la industria en estas condiciones y todavía haberse expandido vigorosamente? La clave estuvo en la reducción de los costos de producción. La figura 2 ilustra cómo la compañía Pamol redujo en 65% sus costos de producción a través de 40 años para poder mantenerse competitiva.

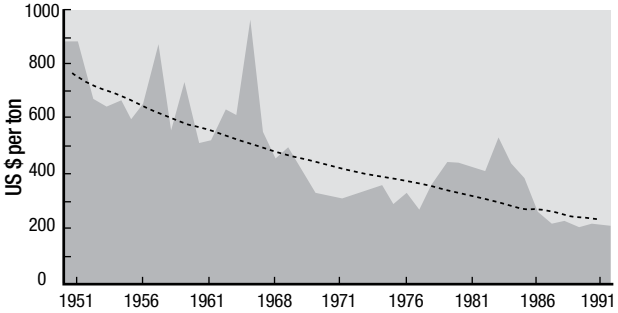


Fig. 2. Costos de producción de la compañía Pamol al cambio de 1991. Fuente: Davidson, L. (1993)

En el cuadro 8 se muestran los principales rubros que contribuyeron a reducir los costos de producción de la compañía Pamol. Se bajaron notablemente los costos fijos y se experimentó un aumento de la productividad de la mano de obra y mayores rendimientos agrícolas.

Cuadro 8. Análisis de la reducción de costos de la compañía Pamol (Unilever) 1951-91

	Año	US$
Costo por tonelada	1951	746
Productividad de la mano de obra		(139)
Rendimientos agrícolas		(144)
Eficiencia de la planta extractora		(20)
Mayor contenido de aceite en los racimos		(12)
Costos fijos		(171)
Costo por tonelada	1991	260

Fuente: Davidson (1993)

El progreso logrado en los rendimientos agrícolas tuvo origen en otros factores que se detallan en el cuadro 10; que aunque representan una muestra pequeña (una plantación), ilustran los avances logrados en tecnología agrícola. Se destacan el uso eficiente de los fertilizantes que permitió aumentar la productividad en 93% desde los tiempos en que se fertilizaba solo con potasio, y los logros atribuidos al mejoramiento genético, que se estima incrementaron la productividad en 72% a partir del nivel alcanzado con el uso adecuado de fertilizantes.

Cuadro 9. Aumento de la productividad de aceite de palma por hectárea (Plantación de Kluang, Unilever, Malasia)

	t/ha	
Rendimiento de aceite en 1951	**1.30**	
1. Efecto del uso adecuado de fertilizantes	2.50	93%
2. Progreso por mejoramiento genético		
- Selección de Deli Duras, 1930-80	3.50	40%
- Uso de teneras (más aceite por racimo)	4.64	32%
3. Otros mejoramientos agronómicos		
- Viveros con bolsas de polietileno	4.78	3%
- Drenaje y conservación de agua	5.02	5%
- Introducción del polinizador *E. kamerunicus*	5.08	1%
- Control de las pérdidas de cosecha	5.03	1%
4. Mayor eficiencia en planta extractora	5.43	8%
Rendimiento promedio actual	**4.00**	

Fuente: Davidson (1993)

Diversificación de los usos del aceite de palma

Otro aspecto que hace que el futuro de la industria de la palma aceitera sea alentador, es la posibilidad de diversificar sus usos. Según Jalani et al. (1993), el aceite de palma es muy versátil y se usa en la industria alimentaria y otras industrias en una proporción de 80% y 20% respectivamente. En forma directa, el aceite de palma y el aceite de almendra de palma se utilizan para la fabricación de jabones, resinas, pinturas de imprenta, etc., y en la oleoquímica. En esta última, su futuro es prometedor, ya que los ácidos grasos, ésteres grasos, alcoholes grasos, grasas nitrogenadas, aminas y amidas grasas, y glicerol, derivados del aceite de palma, constituyen excelentes sustitutos de aquellos obtenidos tradicionalmente de otros aceites vegetales y del petróleo. Los oleoquímicos referidos tienen la ventaja de poder ser usados en la producción industrial de bienes con alto valor agregado, sin olvidar la posibilidad de producir biodiesel.

La palma y los biocombustibles

El interés por los biocombustibles nació por el alza desmesurada de los precios del petróleo y se vislumbró la posibilidad de usar materia orgánica para producir combustibles a un costo competitivo. Existen varias fuentes de materias primas que podrían servir para este propósito; sin embargo, pocos cultivos tienen la capacidad de producir suficiente materia orgánica por unidad de área y la palma aceitera es uno de ellos.

Para tener una idea de la magnitud de la demanda mundial de biocombustibles, básicamente diesel y kerosene para avión, las figuras 3 y 4 muestran la demanda mundial de estos combustibles en el año 2004 de los países que más consumen estos productos. Varios países de Europa y Los Estados Unidos son los mayores consumidores: 991 y 645 millones de litros de diesel por día respectivamente; seguidos por China y la India que consumen 314 y 133 millones de litros de diesel. En cuanto a la demanda de kerosene para aviación, el país que más consume es Estados Unidos: 259 millones de litros/día.

Estos datos de consumo no serían relevantes sino están asociados con los cultivos potenciales para la producción de biocombustibles. Para tener una idea del área plantada necesaria para satisfacer el 100% de la demanda mundial de diesel, seria necesario plantar 1,620 millones de hectáreas de Jatropha curcas; o bien 814 millones de hectáreas de palma aceitera (Fig. 5). Por otra parte, para satisfacer el 100% de la demanda de kerosene para aviación el área plantada es cuantitativamente menor, pero siempre enorme (Figs. 6 y 7).

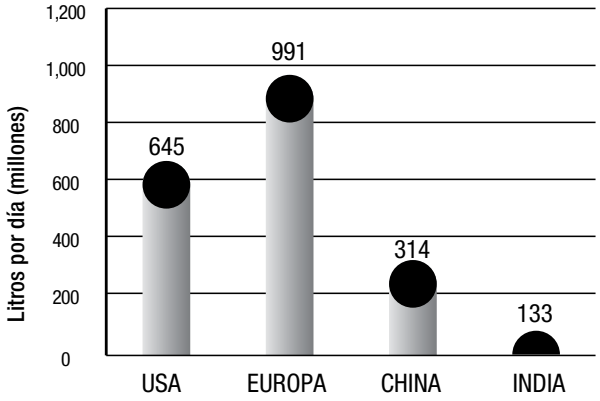


Fig. 3. Demanda mundial de combustible diesel en 2004
(Fuente: Capital Technologies Inc.)

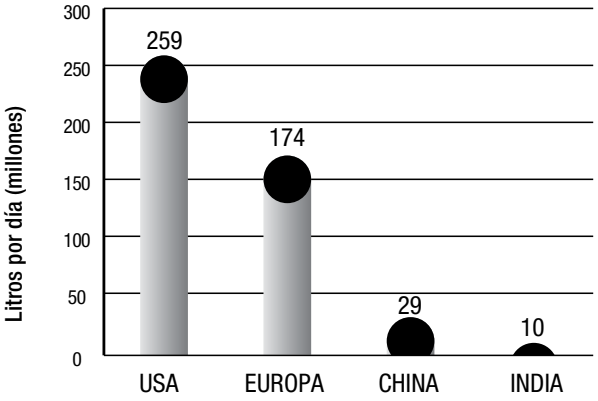


Fig. 4. Demanda mundial de combustible para avión (2004)
(Fuente: Capital Technologies Inc.)

La palma aceitera es sin duda el cultivo con el mayor potencial productivo de materia prima para biocombustibles; solo las algas son más productivas que la palma. Como solo existen actualmente unas 16 millones de hectáreas plantadas con palma aceitera en todo el mundo, resulta imposible plantar toda el aérea necesaria para satisfacer el 100% de la demanda mundial de diesel y combustible para aviación (Figs. 5 y 6).

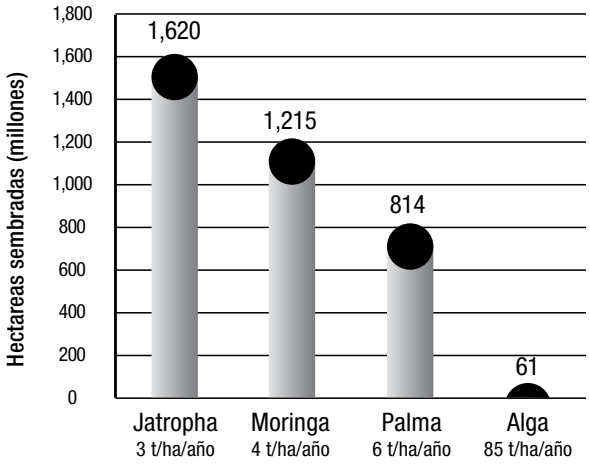


Fig. 5. Área plantada para satisfacer 100% de la demanda mundial de diesel (Fuente: Capital Technologies Inc.)

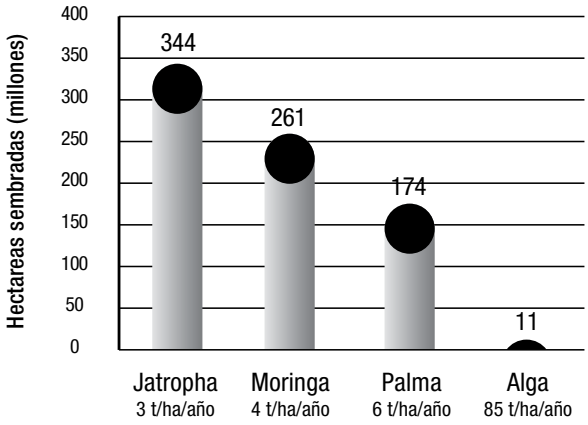


Fig. 6. Área plantada necesaria para satisfacer 100% de la demanda mundial de diesel para avión
(Fuente: Capital Technologies Inc.)

La palma y el medio ambiente

No existe un cultivo tropical que se asemeje en producción de biomasa a un bosque tropical no perturbado. Existe un precio que cualquier monocultivo debe pagar en términos de biodiversidad, clima, erosión del suelo y la pérdida de nutrientes. Sin embargo, se puede argumentar que de todos los cultivos perennes tropicales, la palma aceitera es el cultivo más sostenible porque impacta menos al ambiente luego de que sustituye un bosque natural. La palma es altamente criticada por los ambientalistas por ser un cultivo extensivo dominante en la agricultura tropical mundial, y no podemos negar que ha afectado el hábitat de muchas especies como el orangután en Indonesia. A pesar de todo, los suelos tropicales con vocación agrícola deben ser utilizados para mejorar las economías de los países y satisfacer el hambre mundial, tomando en cuenta que se debe conservar intocables las cuencas hidrográficas y las tierras marginales para la agricultura.

La palma es un cultivo que produce en una hectárea energía equivalente al trabajo de 10,865 días/hombre (Cuadro 10); comparativamente es la mejor opción para una agricultura tropical sostenible y con el menos daño comparativo. En las secciones siguientes se resume el impacto de la actividad sobre varios elementos del medio ambiente.

Cuadro 10. Balance de energía en la palma aceitera: índice de cosecha

Requerimientos Gj /ha/año		Producción Gj/ha/año	
Fertilizantes	11.22	Aceite de palma	154.41
Otros químicos	0.80	Aceite de coquito	17.33
Trabajadores	0.67	Torta de coquito	10.40
Transporte y maquinaria	5.14	Reciclaje	22.96
Procesamiento	24.29		
Total :	42.12	Total :	205.10

Balance: 163.0 Gj/ha/año
Equivalente: 10,865 días/hombre

Fuente: Henson, I. E. 1994

Impacto sobre la biodiversidad

La biodiversidad se reduce dramáticamente cuando se destruye el bosque por completo o bien cuando se extrae selectivamente ciertos árboles de mayor valor comercial.

[3] Un giga joule (Gj) es una unidad métrica usa para medir energía, equivale a 277.8 Kw de electricidad; a 26.9 m^3 de gas natural; a quemar un millón de cerillas de fosforo, a un bombillo de 60 wat encendido continuamente por seis meses.

Los bosques aluviales de Sarawak, Malasia, contenían al menos 225 especies de árboles antes de ser utilizados en el cultivo de la palma. Tal como se mencionó anteriormente, no hay manera de conservar la diversidad de especies vegetales y animales intacta cuando se reemplaza el bosque natural con monocultivos, solo resta conservar tierras de reserva, como se hace en Brasil, donde se requiere conservar el 80% del bosque natural, es decir, de cada 100 ha solo se puede cultivar 20 ha.

Una plantación de palma aceitera alberga más especies de mamíferos que un bosque secundario, pero bastante menos que el bosque primario. Las peores condiciones para la biodiversidad son los pastizales para ganado y potreros abandonados con hierba alta, como el 'lalang' en Malasia. La sola extracción de madera afecta la biodiversidad de mamíferos disminuyéndola a 30 especies comparada con el bosque primario que tiene alrededor de 80 especies distintas (Fig. 7).

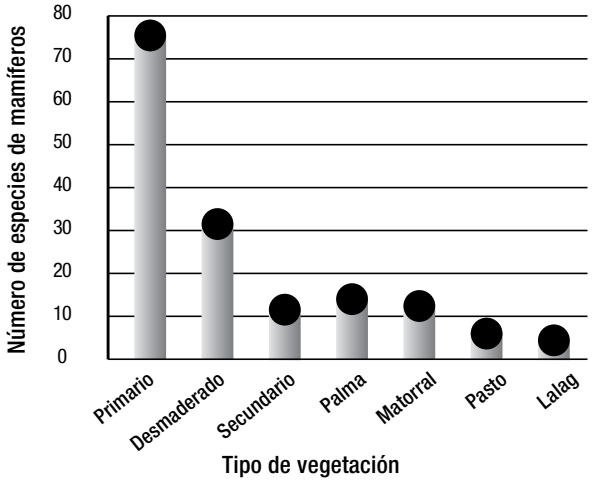


Fig. 7. Número de especies de mamíferos en diferentes condiciones comparado con el bosque primario
(Fuente: Henson, I. E. 1994)

Efecto sobre el clima

¿Qué importancia tienen los bosques tropicales húmedos en el clima global? ¿Es la palma aceitera eficiente tanto como el clímax del bosque tropical húmedo? En Malasia no se han detectado cambios significativos del clima en 39 años a pesar del deforestamiento intensivo. Sin embargo, el desbosque causa 15% del efecto invernadero por la quema de la materia orgánica (CO_2); por lo cual se debe preferir la opción de cero quemas. A pesar de todo, 400-2,500 millones de CO_2 /año son liberados por las zonas tropicales del mundo.

Pérdida de nutrientes

La pérdida promedio de nutrientes por escorrentía y remoción de sedimentos en una plantación de palma se presenta en el cuadro 11. Los nutrientes que más se pierden son el N y el K: 15.50 y 19.19 kg/ha/año respectivamente; lo que significa 13% de pérdidas de N y K aplicado en forma de fertilizantes, que no son utilizados por la palma.

Cuadro 11. Promedio de pérdida de nutrientes

	kg/ha/año				
Causa	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**
Escorrentía	9.93	1.43	10.40	4.04	1.82
Sedimentos	5.57	3.63	8.79	7.40	2.10
Total	15.50	5.06	19.19	11.44	3.92
Fertilizante aplicado	120.00	50.00	300.00	NA	54.00

(Fuente: Henson, I. E. 1994)

Erosión del suelo

Ningún cultivo produce la biomasa de un bosque natural estimada en alrededor de 450 t/ha. La palma aceitera cuando alcanza 25 años de edad contiene una biomasa estimada en 100 t/ha (Fig. 8); la cual es removida cuando se renueva el cultivo. A pesar de que mucha materia orgánica es repuesta al suelo por las hojas que se cortan durante la cosecha, la reposición de biomasa no se puede comparar con la de un bosque primario. Sin embargo, la palma aceitera es el cultivo que más biomasa produce durante su ciclo de producción, comparada principalmente con los cultivos de ciclo corto.

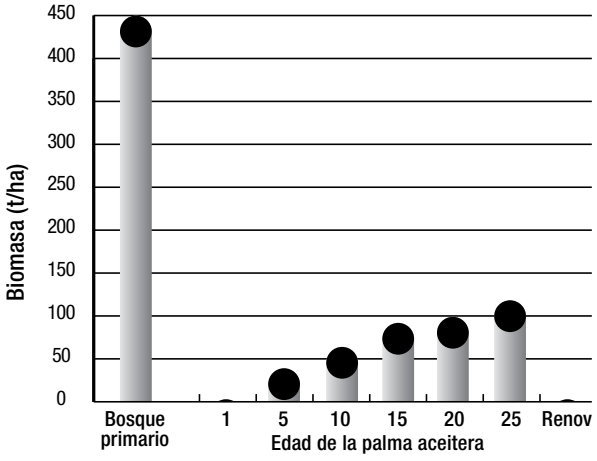


Fig. 8. Cambios en la biomasa durante el crecimiento de la palma aceitera con relación al bosque primario
(Fuente: Henson, I. E. 1994)

En cuanto a la carga de sedimentos (t/km^2/año), la palma aceitera logra ser tan eficiente como el bosque natural. Es decir, los sedimentos perdidos después de tumbar el bosque superan las 400 t/km^2/año, y van disminuyendo después de la implantación de la cobertura hasta un nivel de menos de 50 t de sedimentos/km^2 perdidos en un año (Fig. 9).

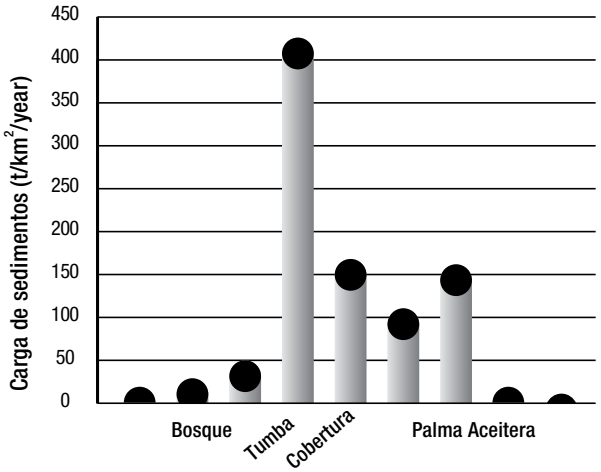


Fig. 9. Carga de sedimentos de diferentes condiciones de cobertura vegetal (Fuente: Henson, I. E. 1994)

Finalmente, la tasa de erosión de los suelos usados para el cultivo de la palma aceitera es menor que en el bosque secundario: 14.9 t/ha/año vs. 18.8-54.2 t/ha/año, sin embargo, es considerable menor que el desbosque total usado para cultivos de ciclo corto (Cuadro 12).

Table 12. Erosión de los suelos en diferentes condiciones

Condición	Tasa de eroción (t/ha/año)
Bosque Natural	0.03 - 6.2
Bosque Secundario	18.8 - 54.2
Plantaciones Forestales	5.9 - 53.4
Desbosque Parcial	10.2
Palma Aceitera 11 años	14.9
Desbosque Total	93.8

(Fuente: Henson, I. E. 1994)

Proyectos de inversión

Los proyectos de inversión en palma aceitera se caracterizan por ser a largo plazo, con una elevada inversión de capital en sus fases iníciales. Típicamente, los proyectos de palma comienzan a tener ingresos en el tercer año después de la siembra y comienzan a generar flujos positivos después del cuarto año (sin contar el año de vivero); es decir toda la inversión es recuperada entre el cuarto y quinto año a un precio de US$700/t/ACP. La magnitud de los flujos de caja positivos depende de la agresividad del programa anual de siembra.

La información más importante necesaria para determinar el éxito de un proyecto de inversión en palma es la estimación de la producción futura de racimos frescos por unidad de área. El potencial productivo de las diferentes regiones palmeras del mundo puede ser dividido en cinco curvas de producción (Cuadro 13).

Cuadro 13. Curvas de producción de RFF potencial de acuerdo con las condiciones agro-climáticas de cada zona en particular (t RFF/ha/año)

Año de cosecha	Bajo	Medio bajo	Medio	Medio alto	Alto
1	---	---	5.0	8.0	12.5
2	3.0	7.0	12.0	18.0	22.0
3	6.5	12.0	18.5	22.5	28.0
4	10.0	15.0	22.0	25.0	28.0
5	13.5	18.0	22.0	25.0	28.0
6-9	15.0	18.0	22.0	25.0	28.0
Déficit hídrico (mm/año)	>500	350-500	250-350	150-250	0-150

RFF = racimos de fruta fresca

La determinación del potencial productivo de una zona particular es la piedra fundamental para el análisis financiero y la viabilidad de cada proyecto; es un trabajo técnico complejo, al cual se le debe dar una importancia básica, ya que puede garantizar la rentabilidad a un alto grado de confianza antes de sembrar las palmas.

[4] Las curvas de producción se refieren a una clasificación realizada por Francisco Peralta y Ricardo Escobar con base a la experiencia de consultoría a varios proyectos de inversión en Latinoamérica y África.

Por el contrario, jugar con los datos de producción crea falsas expectativas, las cuales resultan en frustraciones cuando no se logran los rendimientos estimados. La información presentada en el cuadro 14 indica que el negocio de la palma aceitera puede ser rentable bajo una gama de condiciones agroclimáticas, siempre y cuando los costos de producción permitan lograr los márgenes que se persiguen. En otras palabras, aun en regiones con potencial de producción bajo, los proyectos de palma pueden ser rentables, particularmente si el costo de la mano de obra es bajo y/o se proveen las medidas agronómicas necesarias para reducir el impacto de factores adversos como el déficit hídrico.

La problemática de la variación de los precios del aceite crudo (ACP)

Los dos factores básicos de riesgo en un proyecto de palma son la productividad y el precio del aceite crudo. El primer factor, aunque sujeto a la variación imprevista del clima, puede ser controlado, es decir, al aplicar buena tecnología agronómica se puede lograr optimizar el potencial productivo de las palmas. En cambio, el factor precio es el más sensible, ya que está sujeto a las variaciones incontrolables del mercado y puede afectar seriamente a un proyecto.

La figura 10 muestra la variación mensual de precios del aceite crudo de palma (ACP) desde 1985. Caídas dramáticas del precio de alrededor de US$ 300 por tonelada de ACP se han sucedido en forma alternativa entre 1986 y 1990. El precio más bajo de US$ 197 por tonelada se alcanzó en agosto de 1986. En el periodo de agosto 1994 a diciembre 1998 la industria gozó de precios excelentes con máximos entre US$ 679 y 705. Posteriormente los precios cayeron (mínimo de US$234 en 2001), para luego repuntar a partir de octubre 2003, habiéndose alcanzado el precio record de US$ 1,249 en marzo 2008; actualmente (2011) los precios están fluctuando entre US$1,180 y 1,281, este último superior al record del 2008. Sin duda estamos gozando de una época de precios altos, sin embargo, los costos también suben, principalmente los fertilizantes y la mano de obra.

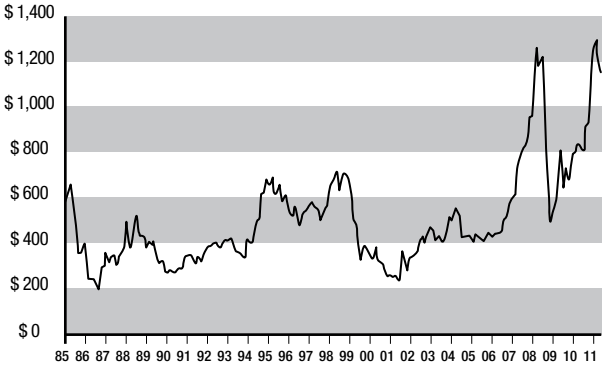


Fig. 10. Variación mensual del precio del aceite crudo de palma CIF Rotterdam (Oil World, 2009)

Margen del negocio

Cuándo los precios bajan ¿Qué parte de la cadena industrial se afecta en mayor grado desde el punto de vista económico? Ciertamente no toda la industria; la fase agrícola es la que más sufre, seguida de la fase de extracción de aceite, ya que los refinadores y fabricantes de productos terminados gozarían más bien de precios bajos de la materia prima. Para explicar mejor esta idea, haremos uso de un modelo señalando que el negocio de la palma aceitera tiene tres niveles o peldaños, cada uno con su nivel de riesgo, nivel de inversión y utilidades (+), tal como se muestra en la figura 11.

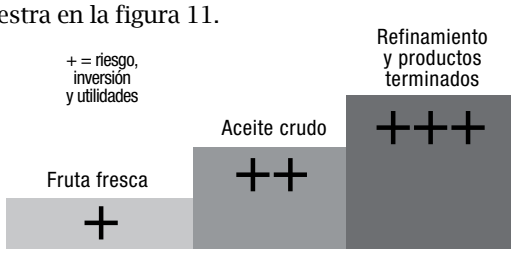


Fig. 11. Estructura de la industria de la palma aceitera

Quienes producen solo fruta fresca de palma aceitera son en su mayoría agricultores con tierra que se asocian a empresas grandes o cooperativas; y son considerados medianos productores (50 o más hectáreas), o bien pequeños (5- 10 ha). En ambos casos, los niveles de inversión y utilidades son los más bajos de la industria (+). Es decir, se invierte únicamente en la siembra, infraestructura de la plantación y mantenimiento de las palmas. En caso de quiebra, la tierra puede ser vendida o utilizada con relativa facilidad para otras actividades agrícolas.

Sus utilidades están generalmente sujetas a las variaciones del precio del ACP, ya que la industria paga entre 12 y 18% del precio de una tonelada de ACP por tonelada de fruta fresca. El margen neto puede estar entre 60 y 150 US$ por tonelada de fruta fresca.

Quienes invierten en plantas extractoras y compran racimos de fruta fresca (RFF) , se sitúan en el segundo nivel de la industria, donde el riesgo, la inversión y las utilidades son mayores que el nivel puramente agrícola (++). Se dice que el riesgo es mayor, porque las plantas extractoras son exclusivamente diseñadas para procesar racimos de palma y sería muy difícil, sino imposible, usarlas en otras actividades. Sin duda, la inversión es también mayor; por ejemplo una extractora mediana con capacidad de procesar 15 toneladas de fruta fresca por hora tiene un costo aproximado entre 4 y 6 millones de dólares. Se estima que una planta extractora sin plantaciones propias tendría un margen de 33% solo por procesar la fruta y los productores de RFF se quedarían con el 67% del margen total del negocio (Anexo 1); ciertamente es raro tener un negocio solo para la extracción de aceite, si se añade a los márgenes de la plantación a este nivel las utilidades son mayores comparado a solo tener plantación.

La relación entre los productores de RFF y las extractoras se ilustra mediante el ejemplo del anexo 1; con base a los siguientes supuestos: i) precio del aceite crudo de palma $1,205; ii) precio del aceite crudo de almendra ACA $780; iii) precio de compra de racimos de fruta fresca RFF $210 (otros supuestos de precios ver ejemplo del anexo 1).

Sin duda la base de cualquier negocio agrícola es la productividad, porque no solo aumenta la rentabilidad, sino que baja los costos de producción. Teniendo este concepto en cuenta y considerando los parámetros de precios y costos del ejemplo, el margen por hectárea, si se producen solo 12 t de RFF/ha, sería de $1,680/ha para el productor de RFF y de $830/ha/año, para la planta extractora.

No obstante, si la productividad aumenta a 25t de RFF/ha/año, el margen del productor de RFF sube a $3,500/ha/año; mientras que el margen de la extractora se sitúa en $1,728/ha/año. Tal como se mencionó anteriormente, aproximadamente 67% del negocio del aceite crudo de palma está en el campo, mientras que 33% está en la planta extractora. Se habla mucho de que es injusto que la planta extractora se lleve el 33% del negocio por solo procesar la fruta, sin embargo, y tal como fue mencionado, las inversiones y los riesgos son mayores en el negocio de la planta extractora; por tanto, el nivel de su participación en el negocio es relativamente justa.

Finalmente, la refinación y la elaboración de productos terminados, constituyen el último peldaño de la industria, donde el riesgo y la inversión son aún mayores (+++), porque se tiene que establecer complejos industriales y salir a competir en el mercado posicionando marcas y productos. Sin duda, la oportunidad de mejores utilidades es ciertamente mayor que en los otros niveles descritos, pero al nivel de riesgo es el más alto de la industria.

No se quiere dar la impresión de que la industria es fraccionada, ya que existen muchas empresas que están verticalmente integradas donde se dan los tres niveles del negocio. Pero lo que es importante enfatizar es que los precios bajos afectan dramáticamente a los productores de RFF y a las extractoras de aceite, que son los dos primeros niveles de la industria. Por supuesto, otras actividades relacionadas con estos dos niveles también se ven afectadas, como son los productores de semilla, los proveedores, etc., ya que los precios bajos prácticamente paralizan el crecimiento o renovación de las plantaciones, bajando su demanda ostensiblemente.

[5] Hay varias situaciones para este nivel, es decir, quienes invierten únicamente en plantas extractoras o en plantaciones y plantas extractoras, de todas maneras en ambos casos son compradores de RFF

Conclusiones

1. No se ha llegado todavía al límite en la expansión del cultivo de la palma aceitera en las diferentes regiones del mundo: además de la renovación de plantaciones viejas, se siguen incorporando nuevas áreas de cultivo

2. Se espera que la mayor expansión de la industria de la palma aceitera continuará en Indonesia y otros países asiáticos; sin embargo, esta expansión tiene un límite, que estaría dado por el uso casi total de la tierra apta para palma en Asia durante los próximos 10 años.

3. La expansión en Asia no impide que la industria crezca en América y África a un ritmo mayor al actual; con la salvedad de utilizar apropiadamente tecnología de avanzada en el manejo de las plantaciones, procurar crecer en áreas con condiciones adecuadas para el cultivo, maximizar la producción y controlar y reducir los costos de producción.

4. Se espera que la crisis de bajos precios ocurrida entre 1994-98 y el 2001 no vuelva a repetirse. La tendencia es que el precio fluctuará alrededor de los $1,000 por tonelada de ACP, incentivando con ello el crecimiento continuo del área plantada.

5. El aceite de palma es un alimento básico en la dieta del ser humano, consecuentemente, la industria de la palma aceitera irá creciendo conforme aumente la población y la economía mundial. Por otra parte, es una alternativa viable como biocombustible, además de los más de 50 usos diversos que tiene esta valiosa materia prima.

6. El cultivo de la palma es ecológicamente viable por el considerable aporte de biomasa durante su cultivo y por reducir la tasa de erosión de los suelos y las pérdidas de nutrientes.

Referencias

Davidson L. 1993. Management for efficient cost - effective and productive oil palm plantations. In. Proc. 1991 Porim Intern. Palm Oil Conf. Progress, Prospects & Challenges Towards the 21st Century, Kuala Lumpur, 9-14 September. Module I. Agriculture, 579 p.153 - 167 pp .

Escobar R., Peralta F. Alpizar G. 1994. Perspectivas para el desarrollo de la industria de la palma de aceite a nivel mundial. Palmas Vol. 15 No.1 :51-59

Henson I. E. 1994. Environmental impacts of oil palm plantations in Malaysia. Porim Ocassional Papers, No. 33. Dec. 1994.

Howard B. 1993. Oil & oil seeds to 1996. The new patterns of supply and demand. The Economist Intelligence Unit. Special Report. No. M703. 151 p.

Jalani B.S., Rajanaidu N., Ariffin D. 1993. Perspectives for the XXI century: The ideal oil palm and palm oil quality for the future. X Conf. Intern. de Palma Aceitera. Sta. Marta, Colombia, 24 - 29 de mayo, 1993, Fedepalma, Cenipalma y Burotrop. 15p.

Oil word (2009). Oil world annual 2009.

Richardson D.L. 1995. The history of oil palm breeding in the United Fruit Company. ASD Oil Palm Papers, 11:1-22

Taniputra B., Lubis A.U., Pamin K., Syukur S. 1988. Progress of oil palm industry in Indonesia in the last fifteen years (1971-1985). In. Proc. 1987 Porim Intern. Palm Oil Conf. Progress & Prospects, Kuala Lumpur, 23 - 26 June 1987. Module I. Agric. 737 p. 27 - 35 pp.

ANEXO 1: Ejemplo márgenes de la venta de RFF y ACP según la producción de RFF/ha

Fase agrícola				Planta extractora										
				Producción/ha			Ventas/ha			Costos/ha				
RFF t/ha/año	Venta US$/ha	Costo/ha US$	Margen/ha (74%)	ACP	ACA	Harina	ACP	ACA	H	Compra RFF	Proceso RFF	Proceso ACA+H	Margen/ha (26%)	Margen total del negocio/ha
12 t	$2,640	$840	$1,800	2.8 t	0.21 t	0.27 t	$3,105	$290	$46	$2,640	$144	$27	$630	$2,430
13 t	$2,860	$910	$1,950	3.0 t	0.23 t	0.29 t	$3,364	$314	$49	$2,860	$156	$29	$682	$2,632
14 t	$3,080	$980	$2,100	3.2 t	0.25 t	0.31 t	$3,623	$338	$53	$3,080	$168	$31	$735	$2,835
15 t	$3,300	$1,050	$2,250	3.5 t	0.26 t	0.34 t	$3,881	$362	$57	$3,300	$180	$34	$787	$3,037
16 T	$3,520	$1,120	$2,400	3.7 t	0.28 t	0.36 t	$4,140	$386	$61	$3,520	$192	$36	$839	$3,239
17 t	$3,740	$1,190	$2,550	3.7 t	0.30 t	0.38 t	$4,399	$411	$65	$3,740	$204	$38	$892	$3,442
18 t	$3,960	$1,260	$2,700	4.1 t	0.32 t	0.40 t	$4,658	$435	$68	$3,960	$216	$40	$944	$3,644
19 t	$4,180	$1,330	$2,850	404 t	0.33 t	0.42 t	$4,916	$459	$72	$4,180	$228	$42	$997	$3,847
20 t	$4,400	$1,400	$3,000	4.6 t	0.35 t	0.45 t	$5,175	$483	$76	$4,400	$240	$45	$1,049	$4,049
21 t	$4,620	$1,470	$3,150	4.8 t	0.37 t	0.47 t	$5,434	$507	$80	$4,620	$252	$47	$1,102	$4,252
22 t	$4,840	$1,540	$3,300	501 t	0.39 t	0.49 t	$5,693	$531	$84	$4,840	$264	$49	$1,154	$4,454
23 t	$5,060	$1,610	$3,450	5.3 t	0.41 t	0.51 t	$5,951	$556	$87	$5,060	$276	$51	$1,207	#4,657
24 t	$5,280	$1,680	$3,600	5.5 t	0.42 t	0.54 t	46,210	$580	$91	$5,280	$288	$54	$1,259	$4,859
25 t	$5,500	$1,750	$3,750	508 t	0.44 t	0.56 t	$6,469	$604	$95	$5,500	$300	$56	$1,312	$5,062
26 t	$5,720	$1,820	$3,900	6.0 t	0.46 t	0.58 t	$6,728	$628	$99	$5,720	$312	$58	$1,364	$5,264
27 t	$5,940	$1,890	$4,050	6.2 t	0.48 t	0.60 t	$6,986	$652	$103	$5,940	$324	$60	$1,417	$5,467
28 t	$6,160	$19,60	$4,200	6.4 t	0.49 t	0.63 t	$7,245	$676	$106	$6,160	$336	$63	$1,469	$5,669
29 t	$6,380	$2,030	$4,350	6.7 t	0.51 t	0.65 t	$7,504	$700	$110	$6,380	$348	$65	$1,522	$5,872
30 t	$6,600	$2,100	$4,500	6.9 t	0.53 t	0.67 t	$7,763	$725	$114	$6,600	$360	$67	$1,574	$6.074
31 t	$6,820	$2,170	$4,650	7.1 t	0.55 t	0.69 t	$8,021	$749	$118	$6,820	$372	$69	$1,627	$6,277
32 t	$7,040	$2,240	$4,800	7.4 t	0.56 t	0.72 t	$8,280	$773	$122	$7,040	$384	$72	$1,679	$6,479
33 t	$7,260	$2,310	$4,950	7.6 t	0.58 t	0.74 t	$8,539	$797	$123	$7,260	$396	$74	$1,731	$6,681
34 t	$7,480	$2,380	$5,100	7.80 t	0.60 t	0.76 t	$8,798	$821	$129	$7,480	$408	$76	$1.784	$6,884
35 t	$7,700	$2,450	$5,250	8.1 t	0.62 t	0.78 t	$9,056	$845	$133	$7,700	$420	$78	$1,836	$7,086

Parámetros Mar/2012

Extracción de aceite crudo (ACP)	23.0%	Costo procesamiento/t RFF	$12	Precio ACP/t	$1,125
Extracción de almendra	4.3%	Costo extracción almendra y harina (A+H)	$100	Precio ACA/t	$1,370
Extracción aceite de almendra	41.0%	Precio harina/t	$170	Precio compra RFF/t	$220 20%
Extracción arina de almendra	52.0%			Costo agricola+cosecha+fijos/t RFF	$70

ASD's compact clones fingerprinting: identification using microsatellite markers

Emmanuel Araya[1], *Amancio Alvarado*[2]

Abstract

A reliable and reproducible fingerprinting was developed by amplifying the DNA of 20 clones in two different laboratories with the same 17 genomic microsatellites previously described to detect SSRs in *E. guineensis* and *E. oleifera*. Microsatellite fragment analysis by capillary electrophoresis was performed in two different ABI 3130 devices belonging to the Molecular and Cellular Biology Research Center of the University of Costa Rica and to ASD. The use of identical methodologies in this side by side experiment yielded the same genetic profile of clones with a multiloci probability of identity of $3{,}47 \times 10^{-13}$ and a probability of exclusion >0,99999. We obtained 4,05 ± 1,39 alleles per locus with an average expected heterozygosity (H_e) of 0,55, plus three microsatellites amplified double loci which were not previously reported. Principal Coordinates Analysis (PCoA) on the first two axes accounted for 46,3% of the variation observed and the genetic relationship were clearly showed in the grouping of clones according to their pedigree. These results revealed that genomic microsatellites are suitable for evaluating the legitimacy of clones; future applications include the quality control of clone production to guarantee genetic uniformity and the use of fingerprinting for germplasm registration and genetic relatedness between different germplasm origins.

Introduction

DNA fingerprinting of elite oil palms with molecular markers makes possible to determine genetic fidelity of *ramets* derived from tissue culture. Besides this, DNA fingerprinting is also used to identify clone mixtures, and to confirm the genetic profile of *ramets* from *recloning*. These applications will increase the reliability of commercial clones obtained in the market.

Oil palm vegetative propagation by tissue culture was described more than 30 years ago (Jones 1974). Since then, clonal propagation of oil palm is an alternative for increasing productivity. Theoretically, planting the best *tenera* palms will improve yield by 30% (Soh et al. 2001). Clone production in ASD Costa Rica has been focused on the compact genotypes, characterized by short stems and leaves, which makes possible to increase plant density while maintaining canopy overlapping similar to the conventional density of 143 palms/hectare used with conventional long-leaf varieties (Alvarado et al. 2007). Fresh bunch production per year of some compact clones reached 30+ tons/ha at 28-40 months of age. This yield compared favorably with the control variety, Deli x AVROS that recorded 7-14 tons/ha/year under the same conditions. Additionally, some compact clones have a 28-40% potential oil extraction as compared to Deli x AVROS with 26% (Alvarado 2007).

Because of the strong effect of environment on yield and vegetative growth it is important to use molecular marker tools for clone identification, since

[1] Molecular Biology Laboratory, ASD COSTA RICA, e.araya@asd-cr.com
[2] Plant Breeding, ASD COSTA RICA, a.alvarado@asd-cr.com

these markers are not affected by the environment or by the developmental stage (Rocha 2002).

The analysis of differences in the DNA between individuals from the same species can be conducted with microsatellites markers (SSRs). Some advantages from SSRs are: high discrimination power, detect large number of fragments compared to other marker systems, transferability between subgenera and it is easy to work with them. Microsatellites are highly reproducible and the establishment of validation assays for fingerprinting is relatively easy. The sequence of primers used to detect microsatellite regions are invariable and can be easily applied in different laboratories (Glaubitz and Moran 2000, Kirst et al. 2005).

DNA markers have been used in oil palm in fingerprinting analyses to confirm the genetic legitimacy of clones by using RFLP markers (Jack et al. 1998).

SSRs also have been developed by Singh et al. (2007) for clone identification, monitoring line uniformity, detection of mixtures and *ramet* identification for *recloning*. In addition, a large number of microsatellites have been developed in *Elaeis guineensis* (Billote et al. 2001, Billote et al. 2005).

The methodology for fingerprinting ASD compact clones with microsatellite markers is discussed in this paper. The main intention is to provide an additional element for testing genetic fidelity of clones developed by ASD Costa Rica. Besides, this document might be used as a reference for molecular identification of clone material and as complement to phenotypical characterization.

Finally, the authors declare that this work is merely for DNA fingerprinting of clones. The methodology described is not suitable for identification of normal and abnormal plants derived from tissue culture.

Methodologies

Plant material and DNA extraction

Twenty *ortets* (tissue donor plants) with compact growth and high yield potential were selected from ASD germplasm located in the Southern Pacific of Costa Rica (Table 1). Leaflets of frond nine were collected and gently washed with detergent and further cleaned with distilled water. Cleaned leaflets were finely cut and ground with liquid nitrogen. DNA was extracted with CTAB using a methodology that has shown to be effective for obtaining high quality DNA in several species including *E. guineensis* and it has been widely used by ASD (Araya et al. 2005, Aguero 2007, Fernández 2008).

The quality of DNA was determined by agarose gel electrophoresis and the quantification was performed by spectrophotomerical measurements at 260 nm. DNA concentration of samples was adjusted to 50 ng/µl for amplification with microsatellite markers.

Microsatellites analyses

Amplification of DNA fragments were performed with 17 microsatellites previously described (Table 2). These microsatellites were selected by criteria such as: (1) ease of interpretation of amplified alleles in the ABI 3130 (Applied Biosystems) genetic analyzer, (2) polymorphism levels previously evaluated with several genotypes in ASD germplasm and (3) reproducibility of amplified alleles in the validation process in a side by side experiment which generated two identical fingerprints.

PCR amplifications were performed in 25 µl and the mixture contained final concentrations as follows: 1X PCR buffer (Fermentas), 2.0 mM $MgCl_2$, 160 µM of dNTPs, 0.2 µM for each forward and reverse primer and one unit of Taq DNA polymerase (Fermentas). Thermal cycling

conditions in a DNA Engine (BioRad) were: 95°C one minute, 32 cycles of 94°C 30 seconds, annealing temperature one minute (Table 2), 72°C two minutes and final extension at 72°C during eight minutes.

Amplified fragments were separated by capillary electrophoresis in the genetic analyzer ABI 3130 (Applied Biosystems) by using 36 cm capillary and polymer matrix POP7. The sizing of alleles was calculated based on the migration of internal size standard GeneScan™-500 LIZ™. When a single allele was detected, genotypes were considered homozygous and heterozygous when two alleles were amplified. The sizing of alleles in base pairs was performed with GeneMapper™ 4.0 software (Applied Biosystems).

Table 1. Origin of oil palm compact ortets for fingerprinting analyses

Clone	Line	Planting	Origin
Heracles	93C351	1996	BC2F1
Starlight	95C098	1997	BC2F1
Sergio	C333	1978	BC1
Discovery	C9235	1986	BC2
Salmon	C9235	1986	BC2
Titan	C9235	1985	BC2
Endurance	C9236	1985	BC2
Epsilon	C9236	1985	BC2
Odin	C9236	1985	BC2
Opal	C9236	1986	BC2
Prince	C9236	1985	BC2
Sabre	C9236	1986	BC2
Sunrise	C9236	1985	BC2
Thor	C9236	1985	BC2
Petit	C9259	1986	BC2
Eagle	C9268	1986	BC2
Ares	C9269	1986	BC2
Alpha	C9274	1986	BC2
Tornado	C9274	1986	BC2
Fran	C9278	1986	BC2

BC1: compact palms from the first backcross
BC2: compact palms originated from the second backcross
BC2F1: compact palms from F1 in the second backcross

Table 2. Microsatellites names, sequence of primers and annealing temperature used to amplify alleles in the compact ortets of ASD

Micro satellite	EMBL Accession	Forward primer 5' to 3'	Reverse primer 5' to 3'	Annealing temperature (°C)*
mEgCIR0008[1]	AJ271625	CGGAAAGAGGGAAGATG	ACCTTGATGATTGATGTGA	52
mEgCIR0009[1]	AJ271633	CAGTCTTTAAGTACGGCTATGAT	GAATTTTTAGTTCAACCAGGTAGA	52
mEgCIR0046[1]	AJ271635	AGCCTTAGTATTTTGTTGAT	CCTCTGATTTGTCCTTTTGG	52
mEgCIR0067[1]	AJ271636	TACACAACCCATGCACAT	AAAAACATCCAGAAATAAAA	52
mEgCIR0219[1]	AJ271637	TTTGCTCGGCGGATACAT	CTCACTGGCCTCTTTCTT	52
mEgCIR0221[1]	AJ271638	TGCCATGTTCCAGAGAGC	TTCAGATTTTTCCGACTTC	52
mEgCIR0254[1]	AJ271640	CCTTTTGTGCTTTCTTC	GCTGTGCACTAGGTTTC	52
mEgCIR0332[1]	AJ271933	ATTTCGTAAGGTGGGTGT	CCTCCAAACTCCTCTGT	52
mEgCIR0350[1]	AJ271934	AAATCCTAAATCCTAAACTC	TCTACCTGTACTGGTGACAA	55
mEgCIR0353[1]	AJ271935	AGAGAGAGAGAGTGCGTATG	GTCCCTGTGGCTGCTGTTTC	61
mEgCIR0391[1]	AJ271938	TTCATCGCCTTCCCCTCTG	CCCGACCTAATCCAACATC	55
mEgCIR0465[1]	AJ271940	TCCCCCACGACCCATTC	GGCAGGAGAGGCAGCATTC	59
mEgCIR1772[1]	AJ271937	ACCTTGTATTAGTTTGTCCA	CTTCCATTGTCTCATTATTCTCTTA	55
mEgCIR3275[2]	AJ578630	GAAGCCTGAGACCGCATAGA	TTCGGTGATGAAGATTGAAG	58
mEgCIR3286[2]	AJ578633	GTTTATCATTTTGGGGTCAG	CGGTGTCCCTCAGGATGTA	58
mEgCIR3413[2]	AJ578665	AAAGCTATGGGGTGAAAGAT	TGGATAAGGGCGAGAAGAGA	58
mEgCIR3716[2]	AJ578711	GCAGACATGGCAGCAAAAAG	GGGGATGTTCCTGGATATCA	61

[1] Described by Billote et al. 2001 [2] Described by Billote et al. 2005 *Optimized temperatures in ASD Costa Rica laboratory
EMBL: European Molecular Biology Laboratory

Data analysis

Parameters estimation

Allele frequencies were the base to calculate genetic information parameters that characterized microsatellites and the ability for clonal identification. Several parameters were calculated by using GenAlex software (Peakall and Smouse 2006) such as: (1) allele number observed in each microsatellite, (2) expected heterozygosity ($He = 1 - \Sigma pi^2$) where pi is the frequency of the allele i-th into the analized microsatellite, (3) probability of identity ($PI = (\Sigma pi^2)^2 - \Sigma pi^4$) in each

microsatellite. PI provides an estimate of the probability that two unrelated individuals, from the same randomly mating population, will by chance have the same multiloci genotype. PI is widely used as an indication of the statistical power of a specific set of microsatellites. The probability of exclusion (PE) was also calculated.

Relationship analysis between clones

Genetic distance calculation between *ortets* were performed with GenAlex software (Peakall and Smouse 2006) under the option "genetic distance for *codominant genotypic data*" and considering each *ortet* as a single individual. This procedure generated a *pairwise* comparison matrix between clones and it was used to generate a 'principal coordinate analysis (PCA) in GenAlex as well. The PCA is a multivariate technique that allows one to find and plot the major patterns within a data set, in this case the distances (or similarities) between *ortets* by using the genetic distance matrix.

Validation of fingerprintings

The validation process involved the generation of two fingerprintings in each *ortet* analized. Additionally, samples of clones derived from the 20 *ortets* were also collected and processed as described above. During the first stage of validation, DNA extraction and amplification of microsatellites by PCR were performed in the Biotechnology Research Center laboratories at the Technological Institute of Costa Rica. The amplified fragments were sent to the Cell and Molecular Biology Research Center, University of Costa Rica, where fragments were detected in the ABI 3130 genetic analyzer (Applied Biosystems). The second step was implemented in ASD's molecular biology laboratory in Coto 49, Southern Costa Rica, where the same methodologies were applied, following the same protocol for DNA extraction and using the same PCR conditions for fragment amplification of microsatellites. Instead, capillary electrophoresis was conducted in ASD's ABI 3130.

The genotyping of clones with data generated by both genetic analyzers was performed with GeneMapper® 4.0 software and in all cases GS-500-LIZ® was used as the internal size standard for the allele calling and allele sizing generated by microsatellites.

Results and discussion

The results revealed that seventeen primers amplified a total of 81 alleles with an average of 4,05 ± 1,39 alleles per microsatellite and an expected heterozygosity (He) ranging from 0,05 to 0,80 (Table 3). The expected heterozygosity is a parameter to measure the information provided by microsatellites. In this sense, mEgCIR0219_B recorded the lowest He (0,05) which has not been previously described for this locus. This microsatellite exhibited a putative double amplification, i.e. there is a duplication of these loci in the genome of the individuals studied. Two more microsatellites (mEgCIR0350_B and mEgCIR0221_B) also showed double putative amplification and this condition had not been reported previously. On the other hand, microsatellites mEgCIR0067, mEgCIR0254, mEgCIR1772 exhibited the highest heterozygosity (>0,70), which is similar to the results described by Billotte et al. (2001). These results indicate that the microsatellites tested were suitable to measure the genetic variability in oil palm.

Allele frequencies were used to calculate the probability of identity (PI). Considering that each locus segregates independently, the probability of finding identical genotypes is the product of the probabilities of the 17 loci, which were in a range between 0,07 and 0,91 (Table 3). The combined PI was 3,47 x 10-13 which means that finding two individuals by chance with the same genotype is an almost null event.

Besides PI, the probability of exclusion indicates the probability that a male or female parent is excluded in a paternity test. The values obtained for this parameter ranged from 0,188 to 0,707 (Table 3).

The combined power of exclusion for the 17 microsatellites was larger than 0,99999, indicating that the set of loci evaluated was suitable for parentage analysis of clones, verification of contamination and assessing its legitimacy. As a reference of the results obtained in this work, assessments in *Eucalyptus grandis* revealed a combined probability of identity of 2×10^{-9} into a set of 192 samples and only six microsatellites (Kirst et al. 2005).

Table 3. Parameters of the genetic information provided by 17 microsatellites, estimated on 20 compact ortets

Microsatellite	Na	He	PI	PE
mEgCIR0046	3	0,54	0,274	0,37
mEgCIR0067	5	0,72	0,126	0,595
mEgCIR3286	5	0,78	0,086	0,595
mEgCIR0254	7	0,75	0,106	0,707
mEgCIR0350_A	4	0,34	0,452	0,504
mEgCIR0350_B	3	0,49	0,313	0,37
mEgCIR3413	5	0,56	0,254	0,595
mEgCIR3716	5	0,69	0,151	0,595
mEgCIR0008	3	0,41	0,388	0,37
mEgCIR0332	2	0,42	0,425	0,188
mEgCIR1772	6	0,74	0,112	0,66
mEgCIR0009	3	0,65	0,199	0,37
mEgCIR0219_A	4	0,66	0,178	0,504
mEgCIR0219_B	2	0,05	0,906	0,188
mEgCIR0353	6	0,80	0,073	0,66
mEgCIR0465	3	0,37	0,442	0,37
mEgCIR0221_A	4	0,34	0,458	0,504
mEgCIR0221_B	5	0,67	0,172	0,595
mEgCIR0391	3	0,43	0,395	0,37
mEgCIR3275	3	0,52	0,344	0,37
Total	81		3,47x10-13	0,99999
Average	4,05	0,54		
Std. Dev.	1,39	0,19		

Total PI and PE is the product of single probabilities in each microsatellite
Na: number of amplified alleles, **He:** expected heterozygosity, **PI:** probability of identity, **PE:** probability of exclusion

Relationship analysis between clones

For the parentage analysis, *pairwise* genetic distances were calculated *ortet* by *ortet*, generating a distance matrix of N x N individuals with a total of 200 comparisons. The average genetic distance between clones was 16,64 with a range of 4,73 to 24,02. The frequencies distribution of genetic distances resulted in 168 comparisons above the average distance, meaning that 84% of genetic distances are medium to high and are suitable for the relationships analysis. For example, the lowest scored genetic distance (4,73) was between the *ortets* Eagle and Salmon, which are half-sibs, suggesting that a high proportion of their genetic elements came from their common parent. The *pairwise* comparisons of some full-sib *ortets* scored low values, suggesting a high degree of parentage. Principal coordinates analysis (Fig.1) accounted for 46,3% of the observed variation and showed the grouping of clones from the same line members (C9236, table 3). The similarities between Odin, Opal, Sabre, Endurance and Prince are highlighted; also similarities between Thor, Sunrise and Epsilon were observed. Although Starlight, Heracles and Ares belong to different lines, they share 50% of the genetic background with C9236 line, which explains their relatedness in the PCoA.

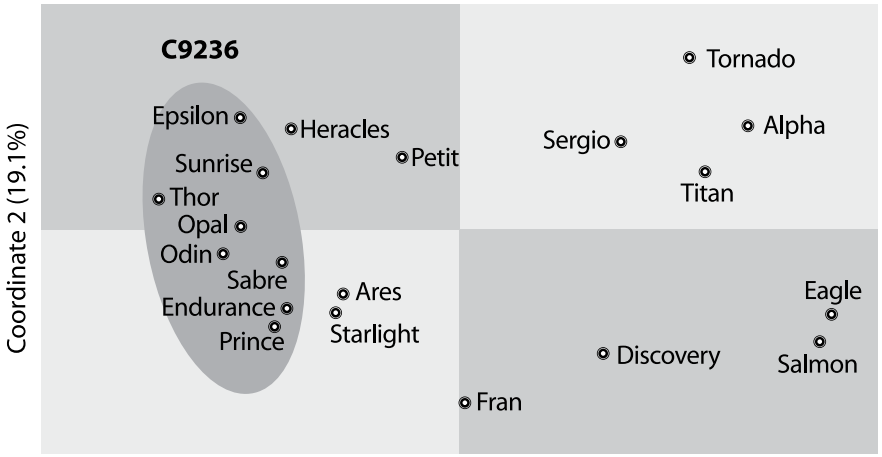


Fig. 1. Principal coordinates analysis based on pairwise genetic distances of compact ortets.

Validation of fingerprintings

The identification of oil palm genotypes must be a reproducible and reliable system to determine accurately the size of the amplified alleles, particularly if used as a mechanism to protect property rights of germplasm through the certification of the legitimacy of a variety or a clone. The results generated by the genetic analyzer ABI 3130, both from the University of Costa Rica and ASD, resulted in the generation of two identical DNA fingerprintings when the validation process was carried out at different laboratories. The genetic fingerprinting of *ortets* analized is shown in table 4.

The high degree of polymorphism of microsatellites and the ease of amplification by PCR, make them ideal for analysis of genetic fingerprinting. Because the sequences of primers are available, this marker system is easily transferable from one laboratory to another. Microsatellite markers are also transferable between different species which increases its value in studies of plants (Peakall et al. 1998). This allows us to conclude that the protocol for molecular identification of genotypes of palm oil is reliable and reproducible when run in different laboratories with different ABI 3130 genetic analyzers (Applied Biosystems). It has been shown that microsatellites provide twice the information than markers such as AFLP, RAPD and RFLP in soybean (Powell et al. 1996) and six times more informative than RAPD in *Populus* (Rajora and Rahman 2003).

Conclusions

The results showed the suitability of microsatellite markers for molecular identification of oil palm compact clones by using a reliable and highly discriminating set of microsatellites. These markers were also suitable for assessing the variation and genetic distance between clones. The development of microsatellite genetic fingerprintings is of interest when elite materials are vegetatively propagated, especially to describe those genotypes that need to be registered. Besides this, it is an important tool for quality control to verify that clones have the same genetic makeup than the superior palm where they came from.

The information on the genetic distance between individuals is important in making decisions on breeding programs, since you can obtain a larger segregation in a progeny when crossing more distant individuals. This strategy may increase the probability to obtain segregating palms that could be selected for cloning.

Microsatellites evaluated in this study have been used in ASD Costa Rica for further analysis in *Elaeis guineensis* and *Elaeis oleifera* and have proven useful for other applications such as searching for alleles associated with phenotypic traits. Currently, a new set of microsatellites are being incorporated and tested in different germplasm of ASD, which is expected to increase the capacity of discrimination between individuals or populations, especially when they are highly related.

Table 4. Genetic fingerprinting of 20 compact ortets (and clones) of ASD as generated with 17 microsatellites. Numbers indicate the size in base pairs of amplified alleles in each microsatellite

Clone	mEgCIR0046	mEgCIR0067	mEgCIR3286	mEgCIR0254	mEgCIR0350A	mEgCIR0350B	mEgCIR3413	mEgCIR3716	mEgCIR0008	mEgCIR0332	mEgCIR1772	mEgCIR0009	mEgCIR0219A	mEgCIR0219B	mEgCIR0353	mEgCIR0465	mEgCIR0221A	mEgCIR0221B	mEgCIR0391	mEgCIR3275
Heracles	234	158	119	155	271	301	211	186	198	150	176	170	210	342	99	123	196	224	288	127
	234	158	119	167	272	310	226	192	198	150	190	176	217	342	99	129	196	229	296	131
Starlight	234	150	124	162	271	308	211	192	198	150	176	176	217	342	96	123	196	224	296	127
	234	150	124	167	271	308	211	205	209	150	190	179	219	342	99	129	196	229	296	131
Sergio	234	150	121	155	271	301	211	192	198	145	176	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	234	158	121	167	271	308	226	205	198	145	178	179	219	342	95	123	196	224	296	131
Discovery	232	158	115	159	271	301	211	203	198	150	176	179	217	342	102	123	196	222	296	127
	234	158	117	167	271	308	211	205	205	150	195	179	219	342	104	123	208	224	296	131
Salmon	232	150	115	159	271	308	213	186	198	145	176	179	217	342	104	123	196	222	296	127
	234	158	115	167	271	308	226	192	205	145	195	179	219	342	104	132	208	223	296	131
Titan	232	150	121	153	271	308	220	192	198	145	175	170	217	342	96	123	196	220	288	127
	234	156	121	167	284	308	226	192	198	145	178	176	219	342	102	129	208	222	288	131
Endurance	234	148	117	155	271	308	211	186	198	150	178	176	217	342	99	123	196	222	288	127
	234	150	119	167	271	308	211	205	205	150	178	179	223	342	102	129	202	222	296	131
Epsilon	234	150	119	155	271	308	211	186	198	150	176	170	217	342	96	123	197	224	288	127
	234	160	119	162	272	310	226	192	198	150	178	176	223	342	96	123	202	224	296	127
Odin	234	148	117	155	271	308	211	205	198	150	178	176	217	342	99	123	196	222	296	127
	234	150	124	167	272	310	211	205	198	150	178	179	223	342	99	123	196	229	296	131
Opal	230	150	117	155	271	308	211	186	198	150	178	170	210	342	99	123	196	222	288	127
	232	160	119	162	271	308	211	205	198	150	190	176	217	342	102	123	196	229	296	127
Prince	230	150	117	162	271	308	211	205	198	150	176	176	217	342	96	123	196	222	296	127
	234	160	124	167	271	308	211	205	209	150	190	179	223	342	102	123	196	229	296	131
Sabre	230	148	124	155	271	308	211	192	198	150	176	176	217	342	99	123	196	224	295	127
	234	150	124	162	271	308	226	192	209	150	190	179	223	342	99	129	196	229	296	131
Sunrise	230	150	119	155	271	308	211	192	198	150	176	170	217	342	96	123	196	224	288	127
	234	160	119	162	271	308	226	192	209	150	178	176	223	342	96	129	196	224	296	131
Thor	234	150	117	155	271	308	211	205	198	150	178	170	217	342	96	123	196	222	288	127
	234	160	124	167	272	310	211	205	209	150	190	176	223	342	96	123	196	229	296	131
Petit	234	158	119	155	271	301	209	189	198	150	178	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	234	160	121	162	273	310	211	205	198	150	190	179	219	342	104	123	196	222	296	131
Eagle	232	150	121	159	271	308	213	186	198	145	176	179	217	342	90	123	196	222	296	127
	234	158	121	167	271	308	226	192	205	145	195	179	219	342	102	132	208	224	296	131
Ares	230	148	117	167	271	308	211	186	198	150	178	176	219	342	99	123	196	222	296	127
	230	158	124	167	271	308	226	192	198	150	190	179	223	342	99	129	196	229	296	131
Alpha	232	150	121	155	271	301	211	192	198	145	176	176	217	342	95	123	196	222	296	127
	232	150	121	157	273	301	226	205	198	145	176	179	219	342	95	123	196	224	296	131
Tornado	232	148	117	155	271	301	209	189	198	145	176	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	232	150	117	167	273	301	226	192	198	145	176	176	219	342	95	123	196	224	296	131

References

Alvarado, A; Guzmán, N; Chinchilla, C; Escobar, R. 2007. El programa de clonación de variedades compactas de palma aceitera por ASD de Costa Rica: realidades y potencial comercial. Palmas 28 (no. Especial, Tomo I): 256-264.

Araya, E; Murillo, O; Aguilar, G; Rocha, O. 2005b. A DNA extraction and initial primers screening in *Hyeronima alchorneoides* Fr. all for AFLP applications. Foresta Veracruzana 7(1): 1-4.

Billote, N; Risterucci, AM; Barcelos, E; Noyer JL, Amblard, P; Baurens FC. 2001. Development, characteriza tion, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) microsatellite markers. Genome. 44:413-425.

Billotte, N; Marseillac, N; Risterucci, AM; Adon, B; Brottier, P; Baurens, FC; Singh, R; Herran, A; Asmady, H; Billot, C; Amblard, P; Durand-Gasselin, T; Courtois, B; Asmono, D; Cheah, SC; Rohde, W; Ritter, E; Charrier, A. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.). Theor. Appl. Genet. 110:754-765.

Glaubitz, J; Moran, G. 2000. Genetic tools: the use of biochemical and molecular markers. In Young, A; Boshier, D y Boyle, T (eds). Forest Conservation Genetics, Principles and Practice. Collingwood, AU. CSIRO Publishing. 352 p.

Jack, PI; James, C; Price, Z; Rance, K; Gorvers, L; Corley, RHV; Nelson, S; Rao, V. 1998. Application of DNA markers in oil palm breeding. In: 1998 Int.Oil Palm Conf. 23-25 september. Nusa Dua, Bali. MY.

Jones, L.H. 1974. Propagation of clonal palms by tissue culture. Oil Palm News 17:1-8.

Kirst, M; Cordeiro, CM; Rezende, GDSP; Grattapaglia, D. 2005. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in Eucalyptus grandis breeding populations. Journal of Heredity 96(2): 161-166.

Morgante, M; Hanafey, M; Powell, W. 2002. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. Nature Genetics 30:194-200.

Peakall, R., Gilmore, S., Keys, W., Morgante, M., Rafalski, A. 1998. Cross-species amplification of soybean (Glycine max) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: implications for the transferability of SSRs in plants. Molecular Biology and Evolution 15: 1275-1287.

Peakall, R; Smouse, PE. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6:288-295.

Powell, W; Morgante, M; Andre, C; Hanafey, M; Vogel, J; Tingey, S; Rafalski, A. 1996. The compaeison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.

Powell, W; Morgante, M; Andre, C; Hanafey, M; Vogel, J; Tingey, S; Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analyses. Molecular Breeding 2:225-238.

Rajora, OP; Rahman, MH. 2003. Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting, identification and genetic relationship of hybrid poplar (Populus x canadensis) cultivars. Theoretical and Applied Genetics 106:470-477.

Rocha, PJ. 2002. Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de aceite. Palmas 23(3):9-17.

Shah, FH; Rashid, O; Simona, AJ; Dunsdon, A. 1994. The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). Theoretical and Applied Genetics. 89:713-718.

Singh, R; Nagappan, J; Tan, SG; Panandam, JM; Cheah, SC. 2007. Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones. Asian Pacific J. Mol. Bio. and Biotech. 15(3):121-131.

Soh, AC; Wong, G; Tan, CC; Cew, PS; Hor, TY; Chong, SP; Gopal, K. 2001. Recent advances towards commercial production of elite oil palm clones. In Malaysian Palm Oil Board. ed. Int. Palm Oil Con.: Agric. Proc. Kuala Lumpur, MY. pp. 33-44.

Huella genética de clones compactos de palma aceitera (*Elaeis guineensis*): identificación con marcadores microsatélite

Emmanuel Araya[1], *Amancio Alvarado*[2]

Resumen

Se trabajó con 20 clones compactos de la compañía ASD Costa Rica para obtener su huella genética utilizando 17 marcadores microsatélite, descritos previamente para la detección de SSRs en las especies *Elaeis guineensis* y *E. oleifera*. La huella obtenida fue reproducible y confiable cuando se amplificó el ADN de los clones en dos laboratorios distintos y con el mismo conjunto de microsatélites. Los alelos amplificados se visualizaron mediante electroforesis capilar en dos diferentes analizadores genéticos ABI 3130, uno perteneciente al Centro de Investigación en Biología Molecular y Celular de la Universidad de Costa Rica, y el propio de ASD Costa Rica. El uso de las metodologías idénticas produjo como resultado el mismo perfil genético de los clones con una probabilidad de identidad de $3{,}47 \times 10^{-13}$ y una probabilidad de exclusión >0,99999. Se obtuvieron 4,05 ± 1,39 alelos por locus y la heterocigocidad esperada promedio (H_e) fue 0,55. Además, se observó la amplificación de doble loci en tres microsatélites; lo cual no había sido descrito anteriormente. El 'análisis de coordenadas principales' (PCoA) en los dos primeros ejes permitió explicar 46,3% de la variación observada; lo cual evidenció las relaciones genéticas de los genotipos según su descendencia. Los resultados indican que los microsatélites evaluados fueron idóneos para evaluar la legitimidad de los clones. Algunas aplicaciones de los resultados en el futuro incluyen el control de calidad de la producción de clones para garantizar la uniformidad genética y el uso de huellas genéticas para el registro del germoplasma. Adicionalmente es posible determinar la relación genética entre el germoplasma de diferentes orígenes.

Introducción

Los marcadores moleculares para definir una huella genética de los *ortets* (palmas superiores seleccionadas para clonación) de palma aceitera, pueden usarse para la evaluación de la fidelidad genética de las plantas derivadas del cultivo de tejidos. Adicionalmente, la huella genética se puede usar para identificar clones ya sembrados en el campo, detectar mezclas de clones, y para confirmar la identidad de diversos materiales obtenidos de la *reclonación*, lo cual contribuye a respaldar la autenticidad de los clones comerciales ofrecidos al mercado.

La propagación vegetativa de la palma aceitera por cultivo de tejidos se inició hace más de 30 años (Jones 1974) y es una alternativa para incrementar la productividad del cultivo cuando se realizan siembras de individuos homogéneos provenientes de palmas (ortets) de alto potencial productivo. Soh et al. (2001) estimaron 30% de aumento en productividad para variedades comerciales tradicionales de palma aceitera; pero este potencial puede ser fácilmente superado con materiales compactos, que pueden sembrarse a mayores densidades que las variedades tradicionales de hojas más largas. Algunos clones compactos soportan densidades de siembra de 180 plantas/ha, manteniendo una alta productividad por planta y una tasa de extracción de aceite por encima de variedades tradicionales como Deli x AVROS (Alvarado et al. 2007).

[1] ASD Costa Rica, e.araya@asd-cr.com
[2] ASD Costa Rica, a.alvarado@asd-cr.com

Debido al fuerte efecto ambiental sobre características como el rendimiento de fruta y el desarrollo vegetativo, es importante contar con herramientas como los marcadores genéticos, ya que estos no son afectados por el ambiente (Rocha 2002). La determinación de las diferencias en la secuencia del ADN entre individuos se puede realizar con el uso de técnicas como la de los marcadores microsatélite (SSRs); los cuales se caracterizan por su alto poder de discriminación al generar un alto número de fragmentos de ADN con respecto a otros marcadores. Además, la transferencia de fragmentos se da incluso dentro de subgéneros y es relativamente fácil trabajar con ellos una vez que han sido desarrollados. Debido a que son reproducibles, también es fácil establecer pruebas para validar los datos de la huella genética, debido a que la secuencia de los imprimadores es invariable y pueden ser fácilmente aplicados en diferentes laboratorios (Glaubitz y Moran 2000, Kirst et al. 2005).

En palma aceitera, los marcadores moleculares se han usado para el desarrollo de huellas genéticas y así confirmar la legitimidad genética de clones usando marcadores RFLP (Jack et al. 1998). El conjunto de microsatélites desarrollados por Singh et al. (2007) han sido de gran utilidad para identificar clones, detectar mezclas, monitorear la uniformidad de líneas de cultivo in vitro y confirmar la identidad de *ramets* para la *reclonación*. Adicionalmente, se han desarrollado una amplia cantidad de marcadores microsatélites en *Elaeis guineensis* (Billote et al. 2001, Billote et al. 2005).

En este trabajo se presenta la metodología empleada en ASD Costa Rica para generar la huella genética de varios clones compactos de palma aceitera mediante el análisis con microsatélites. La información puede ser usada como referencia para la identificación molecular de materiales clonales y como complemento a la evaluación del comportamiento de los clones. No obstante, las técnicas no pueden ser usadas para la identificación o detección de materiales *clonales* anormales, lo cual corresponde a otro campo de estudio.

Metodologías

Material vegetal y extracción de ADN

El trabajo se realizó con los *ortets* de 20 clones (Cuadro 1) de crecimiento compacto, seleccionados en la colección de ASD en la región del Pacífico sur de Costa Rica. Se colectaron foliolos de la hoja nueve en la filotaxia de cada una de las plantas seleccionadas y el tejido se lavó con agua y jabón, se limpió con agua destilada y se maceró en nitrógeno líquido. El ADN se extrajo con la técnica de basada en el CTAB, con el cual se ha obtenido ADN de calidad alta en varias especies incluyendo *E. guineensis* (Araya et al. 2005, Agüero 2007, Fernández 2008).

La verificación de la calidad del ADN extraído se realizó mediante electroforesis en un gel de agarosa. Para determinar la cantidad de ADN se realizó una cuantificación en un espectrofotómetro mediante lecturas a 260 nm. La concentración de ADN de todas las muestras se ajustó a 50 ng/µl para realizar la amplificación de los microsatélites.

Análisis con los marcadores microsatélite

Se utilizaron 17 imprimadores para la detección de los microsatélites; los cuales han sido previamente descritos (Cuadro 2). Estos microsatélites se seleccionaron con base en los siguientes criterios: (1) fácil interpretación de los alelos amplificados en un secuenciador automático, (2) presencia de polimorfismo de acuerdo a evaluaciones previas en diversos análisis del germoplasma de ASD y (3) reproducibilidad de los resultados cuando se analizaron los alelos amplificados en el proceso de validación; para el cual la huella genética de cada uno de los *ortets* se generó dos veces.

Las amplificaciones por PCR se hicieron en un volumen final de 25 µl; cuya mezcla contenía los siguientes componentes (concentración final): amortiguador de PCR 1X (Fermentas), 2.0 mM de $MgCl_2$, 160 µM de dNTPs, 0,2 µM de cada

imprimador (adelantamiento y reverso) y 1 unidad de Taq polimerasa (Fermentas). Las condiciones del *termociclador* (DNA Engine, BioRad) para la amplificación del ADN fueron 95°C por 1 min, 32 ciclos de 94°C por 30 segundos, temperatura de hibridación por 1 min (Cuadro 2), 72°C por 2 min y una extensión final a 72°C por 8 min.

Los fragmentos amplificados fueron separados por electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems), usando un capilar de 36 cm y el polímero POP7. El tamaño de los alelos se calculó con base en la migración del estándar de tamaño GeneScan™-500 LIZ™. Cada imprimador generó un fragmento en aquellos genotipos homocigotas en un microsatélite y dos fragmentos para los heterocigotas. El tamaño de estos alelos en pares de bases se determinó con el uso del programa GeneMapper™ 4.0 (Applied Biosystems).

Cuadro 1. Origen de los ortets compactos de palma aceitera usados para el estudio de huella genética

Clon	Línea	Siembra	Origen
Heracles	93C351	1996	BC2F1
Starlight	95C098	1997	BC2F1
Sergio	C333	1978	BC1
Discovery	C9235	1986	BC2
Salmon	C9235	1986	BC2
Titan	C9235	1985	BC2
Endurance	C9236	1985	BC2
Epsilon	C9236	1985	BC2
Odin	C9236	1985	BC2
Opal	C9236	1986	BC2
Prince	C9236	1985	BC2
Sabre	C9236	1986	BC2
Sunrise	C9236	1985	BC2
Thor	C9236	1985	BC2
Petit	C9259	1986	BC2
Eagle	C9268	1986	BC2
Ares	C9269	1986	BC2
Alpha	C9274	1986	BC2
Tornado	C9274	1986	BC2
Fran	C9278	1986	BC2

BC1: compacta del primer retrocruce
BC2: compacta del segundo retrocruce
BC2F1: compacta de la F1 del segundo retrocruce

Cuadro 2. Microsatélites, secuencia de los imprimadores y temperatura de hibridación para la amplificación de las regiones microsatélites en los ortets compactos de ASD

Microsatélite	Accesión EMBL	Imprimador adelantamiento 5' to 3'	Imprimador reverse 5' to 3'	Temperatura (°C)*
mEgCIR0008[1]	AJ271625	CGGAAAGAGGGAAGATG	ACCTTGATGATTGATGTGA	52
mEgCIR0009[1]	AJ271633	CAGTCTTTAAGTACGGCTATGAT	GAATTTTTAGTTCAACCAGGTAGA	52
mEgCIR0046[1]	AJ271635	AGCCTTAGTATTTTGTTGAT	CCTCTGATTTGTCCTTTTGG	52
mEgCIR0067[1]	AJ271636	TACACAACCCATGCACAT	AAAAACATCCAGAAATAAAA	52
mEgCIR0219[1]	AJ271637	TTTGCTCGGCGGATACAT	CTCACTGGCCTCTTTCTT	52
mEgCIR0221[1]	AJ271638	TGCCATGTTCCAGAGAGC	TTCAGATTTTTCCGACTTC	52
mEgCIR0254[1]	AJ271640	CCTTTTGTGCTTTCTTC	GCTGTGCACTAGGTTTC	52
mEgCIR0332[1]	AJ271933	ATTTCGTAAGGTGGGTGT	CCTCCAAACTCCTCTGT	52
mEgCIR0350[1]	AJ271934	AAATCCTAAATCCTAAACTC	TCTACCTGTACTGGTGACAA	55
mEgCIR0353[1]	AJ271935	AGAGAGAGAGAGTGCGTATG	GTCCCTGTGGCTGCTGTTTC	61
mEgCIR0391[1]	AJ271938	TTCATCGCCTTCCCCTCTG	CCCGACCTAATCCAACATC	55
mEgCIR0465[1]	AJ271940	TCCCCCACGACCCATTC	GGCAGGAGAGGCAGCATTC	59
mEgCIR1772[1]	AJ271937	ACCTTGTATTAGTTTGTCCA	CTTCCATTGTCTCATTATTCTCTTA	55
mEgCIR3275[2]	AJ578630	GAAGCCTGAGACCGCATAGA	TTCGGTGATGAAGATTGAAG	58
mEgCIR3286[2]	AJ578633	GTTTATCATTTTGGGGTCAG	CGGTGTCCCTCAGGATGTA	58
mEgCIR3413[2]	AJ578665	AAAGCTATGGGGTGAAAGAT	TGGATAAGGGCGAGAAGAGA	58
mEgCIR3716[2]	AJ578711	GCAGACATGGCAGCAAAAAG	GGGGATGTTCCTGGATATCA	61

[1] Billote et al. 2001 [2] Billote et al. 2005 * Temperaturas optimizadas en el laboratorio de ASD Costa Rica EMBL: European Molecular Biology Laboratory

Análisis de datos

Estimación de parámetros

La frecuencia alélica es la base para calcular los parámetros de información genética que caracterizan a los microsatélites y además determina la capacidad que estos tienen para la identificación clonal. Con el uso del programa GenAlex (Peakall y Smouse 2006) se calcularon los siguientes parámetros: (1) número de alelos observados por microsatélite, (2) heterocigocidad esperada ($He = 1 - \Sigma pi^2$) donde pi es la frecuencia del alelo i-th el microsatélite analizado, (3)

probabilidad de identidad ($PI = (\Sigma pi^2)^2 - \Sigma pi^4$) de cada uno de los microsatélites, la cual corresponde a la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar muestren el mismo genotipo y (4) probabilidad de exclusión (PE) (Peakall y Smouse 2006).

Relaciones genéticas entre los ortets

El cálculo de la distancia genética de los genotipos estudiados se realizó con el programa GenAlEx (Peakall y Smouse 2006) con la opción de "*distancia genética para datos genotípicos codominantes*", considerando cada *ortet* como un individuo y generándose una matriz de distancia de *'a pares'* (*pairwise comparisons*) entre los clones. Esta matriz se usó para realizar un análisis de coordenadas principales en GenAlEx; el cual es una técnica de reducción de variables que muestra las relaciones entre observaciones (*ortets* en este caso) representadas por distancias o similitudes, en un plano tal que las distancias verdaderas sean preservadas tanto como sea posible.

Validación de la huella genética

El proceso de validación consistió en la generación de dos huellas genéticas para cada uno de los *ortets*. Adicionalmente, se colectaron muestras de clones de cada uno de los 20 *ortets*, las cuales fueron procesadas como se describió anteriormente. En la primera etapa la extracción de ADN y la amplificación de los microsatélites por PCR se realizaron en los laboratorios del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Los fragmentos amplificados se enviaron al Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica, donde se detectaron en un secuenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems). La segunda etapa se ejecutó en el Laboratorio de Biología Molecular de ASD Costa Rica, donde se aplicaron las mismas metodologías de la primera etapa. Se siguió el mismo protocolo para la extracción de ADN, se utilizó el mismo termociclador para la amplificación de los fragmentos, pero la detección se hizo en el secuenciador automático ABI 3130 propiedad de ASD Costa Rica. Los resultados de ambas etapas se compararon para la validación de la huella genética.

Resultados y discusión

Los resultados de la huella genética revelaron que los 17 imprimadores amplificaron un total de 81 alelos con un promedio de 4,05 ± 1,39 alelos por microsatélite. La heterocigocidad esperada (He) estuvo en el ámbito de 0,05 a 0,80. Este dato es una medida del grado de información que proporcionan los microsatélites (Cuadro 3). De este modo, el microsatélite mEgCIR0219_B mostró la He más baja (0,05), lo cual no está descrito previamente ya que este imprimador mostró una amplificación doble de la secuencia simple repetida; es decir, hay una duplicación de este microsatélite en el genoma de los individuos estudiados. Con los imprimadores mEgCIR0350¬_B y mEgCIR0221_B también se observó una duplicación (no descrito previamente), lo cual evidencia la idoneidad de los microsatélites para revelar la variabilidad genética en el germoplasma del género *Elaeis*. Entre los microsatélites que mostraron la heterocigocidad más alta (>0,70) estuvieron el mEgCIR0067, mEgCIR0254, mEgCIR1772 y mEgCIR0353 (Cuadro 3), lo cual coincide con lo descrito por Billotte et al. (2001).

Los datos de las frecuencias alélicas se usaron para calcular la probabilidad de identidad (PI) con el complemento de Microsoft® Excel denominado GenAlEx (Peakall y Smouse 2006). La PI final es el producto de las PIs de cada microsatélite analizado, las cuales estuvieron en un ámbito entre 0,086 y 0,90 (Cuadro 3). Considerando que cada microsatélite del estudio segrega independientemente, la probabilidad de encontrar genotipos idénticos en el grupo de clones estudiado, es el producto de las probabilidades de

cada uno de los 17 loci incluidos en el análisis. El estimado del producto de las probabilidades de identidad fue de 3,47 x 10^{-13}, lo que significa que el chance de encontrar dos individuos con la misma huella genética es un evento cercano a cero.

Por otro lado, la probabilidad de exclusión se ubicó entre 0,188 y 0,707 (Cuadro 3). El poder de exclusión combinado para los 17 loci fue 0,99999 indicando que la batería de loci evaluados es apropiada para el análisis de parentesco entre germoplasma de *Elaeis guineensis*, la verificación de contaminación entre clones y la evaluación de la legitimidad de los clones y de cruces controlados. Se puede tomar como referencia un estudio realizado en *Eucalyptus grandis* donde el uso combinado de seis microsatélites proporcionaron una PI de 2 x 10^{-9} pero con un tamaño de muestras de 192 individuos (Kirst et al. 2005).

Cuadro 3. Parámetros del contenido de información genética de 17 microsatélites, estimados en 20 ortets compactos de ASD

Microsatélite	Na	He	PI	PE
mEgCIR0046	3	0,54	0,274	0,37
mEgCIR0067	5	0,72	0,126	0,595
mEgCIR3286	5	0,78	0,086	0,595
mEgCIR0254	7	0,75	0,106	0,707
mEgCIR0350_A	4	0,34	0,452	0,504
mEgCIR0350_B	3	0,49	0,313	0,37
mEgCIR3413	5	0,56	0,254	0,595
mEgCIR3716	5	0,69	0,151	0,595
mEgCIR0008	3	0,41	0,388	0,37
mEgCIR0332	2	0,42	0,425	0,188
mEgCIR1772	6	0,74	0,112	0,66
mEgCIR0009	3	0,65	0,199	0,37
mEgCIR0219_A	4	0,66	0,178	0,504
mEgCIR0219_B	2	0,05	0,906	0,188
mEgCIR0353	6	0,80	0,073	0,66
mEgCIR0465	3	0,37	0,442	0,37
mEgCIR0221_A	4	0,34	0,458	0,504
mEgCIR0221_B	5	0,67	0,172	0,595
mEgCIR0391	3	0,43	0,395	0,37
mEgCIR3275	3	0,52	0,344	0,37
Total	81		3,47x10-13	0,99999
Promedio	4,05	0,54		
Desv. Est.	1,39	0,19		

Total de PI y PE es el producto de las probabilidades individuales de los microsatélites
Na: número de alelos amplificados, **He:** heterocigocidad esperada, **PI:** Probabilidad de identidad, **PE:** Probabilidad de exclusión

Relación genética entre los ortets

Para el análisis de parentesco se calculó la distancia genética mediante comparaciones de *'a pares'* entre los *ortets*, generando una matriz de la distancia de N x N individuos, para un total de 200 comparaciones. El promedio de la distancia genética entre los ortets fue de 16,64 con un ámbito entre 4,73 y 24,02. Mediante una distribución de frecuencias de las distancias genéticas se registraron 168 comparaciones con distancias superiores a la media, lo que significa que 84% de las distancias genéticas eran media-altas, e idóneas para el análisis de parentesco entre los *ortets*. Así por ejemplo, la menor distancia genética registrada (4,73) fue entre los *ortets* Eagle y Salmón; los cuales son medios hermanos; lo que indica que un alto porcentaje de sus elementos genéticos fue transmitido desde su progenitor en común. La comparación entre algunos clones que son hermanos completos registró valores menores que demuestran un alto grado de parentesco.

El 'análisis de coordenadas principales' (Fig. 1) representó 46,3% de la variación observada y mostró la cercanía entre los *ortets* miembros de una misma línea (denominada C9236), resaltando la similitud entre Odin, Opal, Sabre, Thor, Sunrise y Epsilon. Aunque Starlight pertenece a otro cruce, aparece cerca de los miembros de C9236 debido a que sus progenitores son parte de esta línea; el *ortet* Ares es medio hermano de aquellos de la línea C9236 lo cual explica su cercanía.

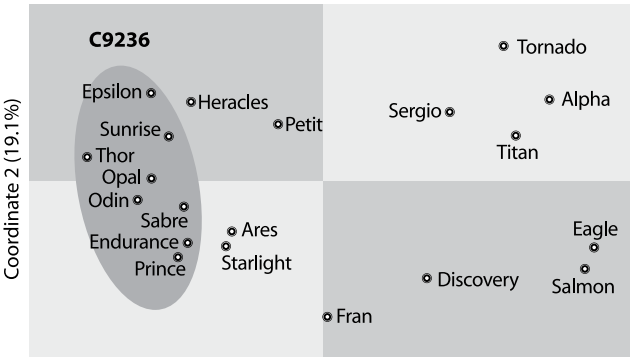


Fig. 1. Análisis de 'coordenadas principales' con base en el cálculo de la distancia genética entre los clones compactos de palma aceitera de ASD Costa Rica

Validación de la huella genética

La identificación de genotipos de palma aceitera debe ser un sistema reproducible y confiable que permita determinar con precisión el tamaño de los alelos amplificados, principalmente si se usará como mecanismo de protección del derecho de propiedad del germoplasma mediante la certificación de la legitimidad de una variedad o de un clon. Los resultados generados por el analizador genético ABI 3130, tanto de la Universidad de Costa Rica como de ASD, resultaron en la generación de dos huellas genéticas idénticas cuando el proceso de validación se ejecutó en los diferentes laboratorios. El cuadro 4 muestra la huella genética de los *ortets* en cuestión.

El alto grado de polimorfismo de los microsatélites y la facilidad con que pueden ser amplificados por PCR, hace que estos marcadores sean ideales para análisis de huellas genéticas. Debido a que las secuencias de los imprimadores están accesibles, este sistema de marcadores es fácilmente transferible de un laboratorio a otro. Los marcadores microsatélite además son transferibles entre diferentes especies lo cual incrementa su valor en estudios de plantas (Peakall et al. 1998).

Lo anterior permite concluir que el protocolo para la identificación molecular de genotipos de palma aceitera es confiable y reproducible cuando se ejecuta en diferentes laboratorios y con diferentes analizadores genéticos ABI 3130 de Applied Biosystems. Se ha demostrado que los microsatélites aportan el doble de información que marcadores como los AFLP, RAPD y RFLP en soya (Powel et al. 1996) y seis veces más informativos que RAPD en *Populus* (Rajora y Rahman 2003).

Conclusiones

Los resultados de este trabajo mostraron la idoneidad de los marcadores microsatélite para la identificación molecular de clones compactos de una manera precisa y con una alta capacidad de discriminación. La elaboración de perfiles genéticos con microsatélites es de interés cuando se propagan vegetativamente materiales élite tanto para describir aquellos genotipos cuya identidad se deseen registrar comercialmente, como en el control de calidad para verificar que los clones tienen la misma carga genética de la planta que les dio origen.

La información de la distancia genética entre individuos es importante para tomar decisiones en programas de mejoramiento genético, ya que se puede obtener mayor segregación en una progenie cuando se cruzan los individuos más distantes y de esta forma aumentar la probabilidad de obtener más segregantes candidatos para ser clonados o para la selección de progenitores.

Los microsatélites del presente estudio se han usado en ASD Costa Rica para realizar otros análisis en *Elaeis guineensis* y en *Elaeis oleifera* y han mostrado su utilidad para otras aplicaciones como la búsqueda de alelos asociados a rasgos fenotípicos. Actualmente, se está incorporando otro conjunto de microsatélites, por lo que se espera aumentar la capacidad de discriminación entre individuos y/o poblaciones, especialmente cuando se encuentran altamente emparentados.

Cuadro 4. Huella genética de 20 clones compactos de ASD Costa Rica generada con marcadores microsatélite; los números indican el tamaño en pares de bases de los alelos amplificados en cada clon con 17 microsatélites

Clon	mEgCIR0046	mEgCIR0067	mEgCIR3286	mEgCIR0254	mEgCIR0350A	mEgCIR0350B	mEgCIR3413	mEgCIR3716	mEgCIR0008	mEgCIR0332	mEgCIR1772	mEgCIR0009	mEgCIR0219A	mEgCIR0219B	mEgCIR0353	mEgCIR0465	mEgCIR0221A	mEgCIR0221B	mEgCIR0391	mEgCIR3275
Heracles	234	158	119	155	271	301	211	186	198	150	176	170	210	342	99	123	196	224	288	127
	234	158	119	167	272	310	226	192	198	150	190	176	217	342	99	129	196	229	296	131
Starlight	234	150	124	162	271	308	211	192	198	150	176	176	217	342	96	123	196	224	296	127
	234	150	124	167	271	308	211	205	209	150	190	179	219	342	99	129	196	229	296	131
Sergio	234	150	121	155	271	301	211	192	198	145	176	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	234	158	121	167	271	308	226	205	198	145	178	179	219	342	95	123	196	224	296	131
Discovery	232	158	115	159	271	301	211	203	198	150	176	179	217	342	102	123	196	222	296	127
	234	158	117	167	271	308	211	205	205	150	195	179	219	342	104	123	208	224	296	131
Salmon	232	150	115	159	271	308	213	186	198	145	176	179	217	342	104	123	196	222	296	127
	234	158	115	167	271	308	226	192	205	145	195	179	219	342	104	132	208	223	296	131
Titan	232	150	121	153	271	308	220	192	198	145	175	170	217	342	96	123	196	220	288	127
	234	156	121	167	284	308	226	192	198	145	178	176	219	342	102	129	208	222	288	131
Endurance	234	148	117	155	271	308	211	186	198	150	178	176	217	342	99	123	196	222	288	127
	234	150	119	167	271	308	211	205	205	150	178	179	223	342	102	129	202	222	296	131
Epsilon	234	150	119	155	271	308	211	186	198	150	176	170	217	342	96	123	197	224	288	127
	234	160	119	162	272	310	226	192	198	150	178	176	223	342	96	123	202	224	296	127
Odin	234	148	117	155	271	308	211	205	198	150	178	176	217	342	99	123	196	222	296	127
	234	150	124	167	272	310	211	205	198	150	178	179	223	342	99	123	196	229	296	131
Opal	230	150	117	155	271	308	211	186	198	150	178	170	210	342	99	123	196	222	288	127
	232	160	119	162	271	308	211	205	198	150	190	176	217	342	102	123	196	229	296	127
Prince	230	150	117	162	271	308	211	205	198	150	176	176	217	342	96	123	196	222	296	127
	234	160	124	167	271	308	211	205	209	150	190	179	223	342	102	123	196	229	296	131
Sabre	230	148	124	155	271	308	211	192	198	150	176	176	217	342	99	123	196	224	295	127
	234	150	124	162	271	308	226	192	209	150	190	179	223	342	99	129	196	229	296	131
Sunrise	230	150	119	155	271	308	211	192	198	150	176	170	217	342	96	123	196	224	288	127
	234	160	119	162	271	308	226	192	209	150	178	176	223	342	96	129	196	224	296	131
Thor	234	150	117	155	271	308	211	205	198	150	178	170	217	342	96	123	196	222	288	127
	234	160	124	167	272	310	211	205	209	150	190	176	223	342	96	123	196	229	296	131
Petit	234	158	119	155	271	301	209	189	198	150	178	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	234	160	121	162	273	310	211	205	198	150	190	179	219	342	104	123	196	222	296	131
Eagle	232	150	121	159	271	308	213	186	198	145	176	179	217	342	90	123	196	222	296	127
	234	158	121	167	271	308	226	192	205	145	195	179	219	342	102	132	208	224	296	131
Ares	230	148	117	167	271	308	211	186	198	150	178	176	219	342	99	123	196	222	296	127
	230	158	124	167	271	308	226	192	198	150	190	179	223	342	99	129	196	229	296	131
Alpha	232	150	121	155	271	301	211	192	198	145	176	176	217	342	95	123	196	222	296	127
	232	150	121	157	273	301	226	205	198	145	176	179	219	342	95	123	196	224	296	131
Tornado	232	148	117	155	271	301	209	189	198	145	176	170	217	342	95	123	196	222	288	127
	232	150	117	167	273	301	226	192	198	145	176	176	219	342	95	123	196	224	296	131

Referencias

Alvarado, A; Guzmán, N; Chinchilla, C; Escobar, R. 2007. El programa de clonación de variedades compactas de palma aceitera por ASD de Costa Rica: realidades y potencial comercial. Palmas 28 (no. Especial, Tomo I): 256-264.

Araya, E; Murillo, O; Aguilar, G; Rocha, O. 2005b. A DNA extraction and initial primers screening in *Hyeronima alchorneoides* Fr. all for AFLP applications. Foresta Veracruzana 7(1): 1-4.

Billote, N; Risterucci, AM; Barcelos, E; Noyer JL, Amblard, P; Baurens FC. 2001. Development, characteriza tion, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) microsatellite markers. Genome. 44:413-425.

Billotte, N; Marseillac, N; Risterucci, AM; Adon, B; Brottier, P; Baurens, FC; Singh, R; Herran, A; Asmady, H; Billot, C; Amblard, P; Durand-Gasselin, T; Courtois, B; Asmono, D; Cheah, SC; Rohde, W; Ritter, E; Charrier, A. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.). Theor. Appl. Genet. 110:754-765.

Glaubitz, J; Moran, G. 2000. Genetic tools: the use of biochemical and molecular markers. In Young, A; Boshier, D y Boyle, T (eds). Forest Conservation Genetics, Principles and Practice. Collingwood, AU. CSIRO Publishing. 352 p.

Jack, PI; James, C; Price, Z; Rance, K; Gorvers, L; Corley, RHV; Nelson, S; Rao, V. 1998. Application of DNA markers in oil palm breeding. In: 1998 Int.Oil Palm Conf. 23-25 september. Nusa Dua, Bali. MY.

Jones, L.H. 1974. Propagation of clonal palms by tissue culture. Oil Palm News 17:1-8.

Kirst, M; Cordeiro, CM; Rezende, GDSP; Grattapaglia, D. 2005. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in Eucalyptus grandis breeding populations. Journal of Heredity 96(2): 161-166.

Morgante, M; Hanafey, M; Powell, W. 2002. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. Nature Genetics 30:194-200.

Peakall, R., Gilmore, S., Keys, W., Morgante, M., Rafalski, A. 1998. Cross-species amplification of soybean (Glycine max) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: implications for the transferability of SSRs in plants. Molecular Biology and Evolution 15: 1275-1287.

Peakall, R; Smouse, PE. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6:288-295.

Powell, W; Morgante, M; Andre, C; Hanafey, M; Vogel, J; Tingey, S; Rafalski, A. 1996. The compaeison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.

Powell, W; Morgante, M; Andre, C; Hanafey, M; Vogel, J; Tingey, S; Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analyses. Molecular Breeding 2:225-238.

Rajora, OP; Rahman, MH. 2003. Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting, identification and genetic relationship of hybrid poplar (Populus x canadensis) cultivars. Theoretical and Applied Genetics 106:470-477.

Rocha, PJ. 2002. Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de aceite. Palmas 23(3):9-17.

Shah, FH; Rashid, O; Simona, AJ; Dunsdon, A. 1994. The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). Theoretical and Applied Genetics. 89:713-718.

Singh, R; Nagappan, J; Tan, SG; Panandam, JM; Cheah, SC. 2007. Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones. Asian Pacific J. Mol. Bio. and Biotech. 15(3):121-131.

Soh, AC; Wong, G; Tan, CC; Cew, PS; Hor, TY; Chong, SP; Gopal, K. 2001. Recent advances towards commercial production of elite oil palm clones. In Malaysian Palm Oil Board. ed. Int. Palm Oil Con.: Agric. Proc. Kuala Lumpur, MY. pp. 33-44.

Ph.(506) 2284-1120 / 2257-2666 · Fax (506) 2257-2667 · E-mail: sales@asd-cr.com
Web site: www.asd-cr.com · P.O. Box 30-1000 San José, Costa Rica