

# Diversidad genética de *Moringa oleifera* Lam. en el nororiente colombiano utilizando marcadores RAMs

## Genetic diversity of *Moringa oleifera* Lam. in the northeast of Colombia using RAMs markers

GIOVANNI CHAVES-BEDOYA<sup>1, 2</sup>  
ZAIDA LORENA GALVIS-PÉREZ<sup>1</sup>  
LUZ YINETH ORTIZ-ROJAS<sup>1</sup>



**Vaina del árbol de moringa.**

Foto: F. Berbesi

### RESUMEN

*Moringa oleifera* Lam., también conocida como *Moringa pterygosperma* Gaertn., es un árbol endógeno de la región del Himalaya, de crecimiento rápido que puede alcanzar los 12 m de alto. Moringa es empleado como alimento o como medicina, reconocido por sus compuestos bioactivos. En Colombia, moringa se ha promovido principalmente por sus propiedades medicinales. Sin embargo, a pesar de la importancia de este recurso fitogenético, no existen estudios de su variabilidad genética en el país. En esta investigación, empleando marcadores moleculares microsátélites amplificadas al azar (RAMs), se analizaron 45 accesiones de moringa procedentes de 4 departamentos del Nor Oriente de Colombia. Los coeficientes de Dice y Nei-Li a un nivel de similitud de 0,75 diferenciaron la población en 4 grupos genéticos. La heterocigocidad estimada fue de 0,13 para el cebador CT y de 0,29 para los cebadores CGA y GT. El porcentaje de loci polimórfico osciló entre 31 y 100% para los cebadores CT y CA, respectivamente. Por la agrupación UPGMA, se identificó que las accesiones de Villa del Rosario en Norte de Santander están genéticamente aislados. Se encontró que la diversidad genética de las accesiones de Moringa estudiadas es baja. El conocimiento de la variabilidad genética de moringa en las regiones de estudio, proporciona un nuevo aporte a los cultivadores colombianos que puede ser empleado en futuros programas de mejoramiento.

**Palabras clave adicionales:** germoplasma, polimorfismo, recursos genéticos, mejoramiento vegetal.

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Biología, Grupo de Investigación PLANTAE, Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta (Colombia). ORCID Chaves-Bedoya, G.: 0000-0003-1013-614X; ORCID Galvis-Pérez, Z.L.: 0000-0002-0749-597X; ORCID Ortiz-Rojas, L.Y.: 0000-0002-0818-3089

<sup>2</sup> Autor para correspondencia. [gchavesb@ufps.edu.co](mailto:gchavesb@ufps.edu.co)

## ABSTRACT

*Moringa oleifera* Lam., also known as *Moringa pterygosperma* Gaertn., is a fast growing tree, indigenous to Himalaya that has been used as food or as medicine, recognized for its bioactive compounds. In Colombia, moringa has been promoted primarily because of its medicinal properties. However, despite the importance of this phylogenetic resource, there are no studies on its genetic variability. In this study, we analyzed 45 accessions of moringa from four departments in the northeast of Colombia. The DICE and Nei-Li coefficients, at a level of similarity of 0.75, differentiated the population into four genetic groups. The expected heterozygosity was 0.13 for the oligo CT and 0.29 for the oligos CGA and GT. The percentage of polymorphic loci ranged from 31 to 100% for the primers CT and CA, respectively. With the UPGMA grouping, we revealed that the *Moringa* accessions from Villa del Rosario in Norte de Santander are genetically isolated. The genetic diversity of the studied *Moringa* accessions was low. This knowledge on the genetic variability of moringa provides a new contribution to Colombian growers that can be used in future breeding programs.

**Additional key words:** germoplasm, polymorphism, genetic resources, plant breeding.

Fecha de recepción: 19-12-2016 Aprobado para publicación: 30-09-2017

## INTRODUCCIÓN

*Moringa oleifera* L. (Familia: *Moringaceae*) es una planta angiosperma perenne nativa de la región del Himalaya (Norte de la India y Nepal) (Leone *et al.*, 2015), cultivada en los países tropicales y subtropicales del mundo incluido Colombia, con sistema de reproducción alógamo (Krieg *et al.*, 2017). También conocida como *Moringa pterygosperma* Gaertn., incluye otras doce especies; sin embargo, solamente *M. oleifera* ha sido objeto de investigación aplicada o mejoramiento (Olson, 2002). *M. oleifera* es una planta comestible, con una variedad de propiedades nutricionales y medicinales atribuidos al contenido de minerales, vitaminas, aminoácidos y compuestos con actividad antioxidante (Mbikay, 2012).

En Colombia, el empleo de semillas de moringa o diferentes partes de la planta se ha promovido principalmente por sus propiedades medicinales. La literatura científica reporta que esta planta tiene efectos benéficos en el tratamiento de la hiperglicemia y dislipidemia (Mbikay, 2012). Así mismo, se han realizado estudios evaluando el potencial de *Moringa* por su actividad antimicrobiana, anti inflamatoria, antioxidante, prevención del cáncer, entre otros (Al-Asmari *et al.*, 2015; Martin *et al.*, 2013).

Tradicionalmente, la diversidad se evalúa por la medición de la variación en los rasgos fenotípicos tales como el color de la flor, hábitos de crecimiento o,

rasgos agronómicos cuantitativos como el potencial de producción, tolerancia al estrés, etc. los cuales son de interés para los usuarios. Ese enfoque presenta limitaciones como: la información genética proporcionada por características morfológicas es limitada y la expresión de los rasgos cuantitativos está sujeta a la influencia ambiental. Por otro lado, las técnicas basadas en ADN introducidas en las últimas décadas tienen el potencial de identificar los polimorfismos representados por diferencias en las secuencias de ADN.

La información de la variabilidad genética de plantas silvestres y cultivadas es importante para la identificación, conservación y desarrollo del cultivar. Y los marcadores de ADN son los más apropiados para estudiar la diversidad entre un grupo de genotipos o cultivares (Saini *et al.*, 2013). Estos métodos se están empleando como estrategias complementarias a los enfoques tradicionales para la medición de la diversidad genética.

Las principales ventajas del análisis de variación a nivel de ADN por sí mismo son: la exclusión de las influencias ambientales, puede realizarse en cualquier estado de crecimiento, empleando cualquier parte de la planta y requiere pequeñas cantidades de material vegetal. Existen diferentes métodos moleculares para la determinación de la diversidad genética vegetal.

Estos difieren con respecto a los requerimientos técnicos, niveles de polimorfismos y reproducibilidad. Los microsatélites amplificados al azar (RAMs por sus siglas en inglés), son una técnica de marcadores moleculares basada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa, que permite el estudio de la variabilidad genética en diferentes especies vegetales, con la ventaja de ser de amplia distribución en el genoma y de bajo costo (Rasouli *et al.*, 2015).

Ejemplos del empleo de marcadores microsatélites pueden encontrarse en la literatura científica (Aoki *et al.*, 2014; Jungmann *et al.*, 2010; Kantartzi *et al.*, 2009; Kuhn *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2003; Muller *et al.*, 2009; Nei y Li, 1979; Saddoud *et al.*, 2007; Sanabria *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2011; Wu y Yang, 2010).

El conocimiento que se tiene de la variabilidad genética de moringa a nivel global en general es bajo y se concentra en materiales del continente asiático o del subcontinente Indio (Ganesan *et al.*, 2014; Jiang-Chong y Jing, 2010; Shahzad *et al.*, 2013). En Sur América existe un reporte de la variabilidad genética del banco de Germoplasma de Moringa en Brasil (Cruz da Silva *et al.*, 2012). En Colombia no se ha reportado ningún estudio de variabilidad genética en *M. oleifera*.

Esta investigación tuvo como objetivo principal caracterizar molecularmente con el marcador RAM árboles de *M. oleifera* en el nororiente de Colombia a partir de 45 accesiones colectadas en los departamentos de Magdalena, Norte de Santander, Santander y Meta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En total se analizaron 45 muestras de *M. oleifera*: nueve de Mompós, Magdalena, dos de las cuales proceden del jardín botánico El Cuchubo, y las demás corresponden a árboles que se encontraron en la ciudad sembrados en huertas en casas de diferentes barrios. Diez muestras se colectaron en Puerto León, Norte de Santander, estas muestras corresponden a un cultivo comercial. Nueve muestras proceden del departamento de Santander, siete son de diferentes parcelas en la vereda Guamo Medio, del municipio de Pie de Cuesta, y dos más colectadas en el SENA y el barrio San Alfonso en Bucaramanga. Trece muestras adicionales se colectaron de diferentes lugares cercanos a la ciudad de Cúcuta, Norte de Santander; cuatro se muestrearon en el vivero El Diamante, en la

vía Cúcuta-Pamplona, en la cabecera del municipio de Pamplonita; cinco muestras en el Municipio de los Patios y cuatro en el municipio de Villa del Rosario, barrio Lagos de Palujan. Finalmente, en el departamento del Meta se colectaron muestras en la Universidad de los Llanos, vereda Barcelona, y en la finca La Bonanza, en Guacavía (Fig. 1). En el caso de árboles fructificados, se colectaron adicionalmente vainas para comparar su morfología.



**Figura 1.** Lugares de muestreo de Moringa en 4 departamentos del Nor Oriente de Colombia. Fuente: Google Earth Pro V7.1.7.2606 del 20 de diciembre, 2016). Localidades de muestreo con diferentes coordenadas geográficas, Altura del ojo 1.461,18 km.

## Extracción de ADN

El tejido foliar de cada accesión de moringa, se llevó al Laboratorio de Investigación PLANTAE, en la

Universidad Francisco de Paula Santander, sede Col-sag, en la Ciudad de Cúcuta, Norte de Santander. Cada muestra fue triturada, utilizando nitrógeno líquido y la extracción de ADN se realizó utilizando el método del CTAB con algunas modificaciones (Chaves-Bedoya y Nuñez, 2007). La calidad y cantidad del ADN se estimó mediante la visualización de la muestra en gel de agarosa al 1,5% y cuantificación en un espectrofotómetro Genesys 10S (Thermo Scientific, MA, USA) a longitudes de onda de 260 y 280 nm, respectivamente. El ADN se almacenó a 80°C en un ultracongelador Forma™ 88000 Series (Thermo Scientific, MA, USA).

### Amplificación microsátélites

La reacción de amplificación de los RAMs se hizo a una concentración final de 25 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  de ADN, empleando los marcadores microsátélites CCA, CGA, GT, AG y CT (Tab. 1) (Muñoz *et al.*, 2008). Se preparó un coctel en un tubo estéril de microcentrifuga (1,5 mL) en un volumen final de 25  $\mu\text{L}$ . La mezcla de reacción se hizo con buffer 1X,  $\text{MgCl}_2$  1,5 mM, dNTPs 0,2 mM y Taq polimerasa 1 U, cebador 2  $\mu\text{M}$ . La desnaturalización inicial fue a 95°C durante 5 min; desnaturalización a 95°C por 30 s, hibridación a una temperatura dependiendo del cebador durante 45 s, extensión final de 72°C por 2 min, y 40 ciclos. La verificación de los productos amplificados se hizo en geles de agarosa al 1% y posteriormente teñidos con bromuro de etidio.

**Tabla 1. Cebadores utilizados para la amplificación por microsatélites amplificados al azar de *M. oleifera*.**

Cebador	Secuencia (5' a 3')
CCA	DDB(CCA) <sub>5</sub>
CGA	DHB(CGA) <sub>5</sub>
GT	VHV(GT) <sub>7</sub> G
TG	HVH(TG) <sub>7</sub> T
AG	HBH(AG) <sub>7</sub> A
CT	DYD(CT) <sub>7</sub> C

Las siguientes designaciones se usan para los sitios degenerados: H (A ó T ó C); B (G ó T ó C); V (G ó A ó C) y D (G ó A ó T).

### Análisis de datos

Para evaluar la diversidad genética, se estimó la heterocigocidad esperada y el porcentaje de loci polimórficos utilizando el paquete estadística TFPGA (Tools for population genetic analyses, versión 1.3, 1997). El valor de 'F' estadístico insesgado se determinó con

un intervalo de confianza del 95%. Con los datos de la amplificación se generó una matriz binaria de ausencia (cero) y presencia (uno). La similitud genética entre los individuos se calculó utilizando el coeficiente de similitud de Nei y Li (Nei y Li, 1979), también conocido como DICE. El análisis de conglomerados se realizó empleando el algoritmo UPGMA y se generó un dendograma utilizando el paquete NTSYS (Numerical taxonomy system for personal computer, versión 2.02 PC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Diversidad genética

Los cebadores empleados para caracterizar genéticamente moringa generaron un número variable de bandas que oscilo entre 18 para el marcador TG y 29 para el marcador CT con un total de 140 bandas. El cebador CA realizó un mayor aporte a la variación genética observada, con un  $F_{st}$  de 0,77, lo que significa que su empleo permite una mayor diferenciación entre los materiales de *M. oleifera* (Tab. 2).

**Tabla 2. Diferenciación poblacional y estadístico  $F_{st}$  para 45 accesiones de *M. oleifera* con 6 cebadores RAMs evaluados.**

Cebador	No Loci	$F_{st}$	SD
CGA	28	0,20	0,05
CT	29	0,69	0,07
CCA	19	0,39	0,08
GT	23	0,22	0,06
TG	18	0,43	0,09
CA	23	0,77	0,06
Población total	140	0,48	0,03

El porcentaje de loci polimórficos para los cebadores evaluados estuvo en un rango comprendido entre 31% (CT) a 100% (CA) (Tab. 3), valores similares a lo reportado para germoplasma de *M. oleifera* en el continente asiático (Rufai *et al.*, 2013; Shamsuddeen *et al.*, 2013). Sin embargo, el porcentaje de loci polimórficos reportados en este estudio son mayores a los reportados para accesiones de la India (Saini *et al.*, 2013).

Los valores de heterocigocidad para los cebadores estuvo comprendida entre 0,13 (CT) y 0,29 (CGA y GT). En promedio la heterocigocidad para todos los materiales de moringa evaluados fue de 0,18 (Tab. 3).



**Tabla 3. Heterocigocidad estimada promedio (He) y porcentaje de loci polimórficos para 6 cebadores RAMs evaluados en 45 accesiones de *M. oleifera*.**

Cebador	He estimada	% Loci polimórficos (95%)
CGA	0,29	85,7
CT	0,13	31,0
CCA	0,23	73,6
GT	0,29	82,6
TG	0,28	83,3
CA	0,28	100
Población total	0,18	52

La diversidad genética de las accesiones de moringa de las regiones de Colombia bajo estudio, es similar a la encontrada en Taiwán, Malasia (Rufai *et al.*, 2013; Shamsuddeen *et al.*, 2013) y Brasil (Cruz da Silva *et al.*, 2012). Por otra parte, esta baja diversidad contrasta con lo reportado para accesiones procedentes de la India y Myanmar, en las que se encontró valores de heterocigocidad esperada de 0,36 y 0,76 (Jiang-Chong y Jing, 2010), o la variabilidad genética de una colección de moringa comprendida por accesiones procedentes de lugares como India, Tanzania, Zimbawe y Pakistán, con valores de heterocigocidad esperada de 0,61 y 0,57 (Shahzad *et al.*, 2013). En un estudio más reciente en el que analizaron 300 genotipos de 12 poblaciones de dos Estados de la India, se encontraron valores de heterocigocidad esperada comprendida entre cero y 0,41 (Ganesan *et al.*, 2014).

Los valores de heterocigocidad esperada para estimar la diversidad genética de una población están comprendidos entre 0 y 1 (Nei, 1973), y se define como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes. Valores de heterocigocidad alta indican mayor variabilidad genética, por lo que de acuerdo a los valores de heterocigocidad estimada encontrados en las accesiones de moringa colectados en departamentos del Oriente de Colombia (entre 0,13 y 0,29), se puede afirmar que su diversidad genética es baja, sugiriendo que las accesiones colombianas se pudieron derivar de una población común o de pocas poblaciones. La diversidad genética de moringa es mucho más alta en la India, África o Pakistán. Se sabe que existe un vínculo claro entre diversidad genética, el patrón de distribución geográfica y el origen del cultivo (Engels *et al.*, 2006). El origen de moringa podría estar en los bosques tropicales caducifolios del noreste de la India y en el este de Pakistán, en la Zona

entre Simia en la India y Faisalabad en Pakistán (Olson y Fahey, 2011).

### Análisis de conglomerados

El análisis mediante el coeficiente de Nei-Li (Nei y Li, 1979) a un nivel de similitud del 70%, diferencio la población en cuatro grupos (Fig. 2).

El grupo I es el más grande, incluye 32 accesiones de las 45 colectadas. En este grupo se pueden observar 3 subgrupos de moringa, de acuerdo al lugar geográfico de procedencia: el primero está conformado por accesiones de Mompos, identificadas como MM1, MM2, MM3, MM4, MM5, MM6, el segundo incluye las accesiones MM8, MM9, y MM11 (Mompos), y las accesiones MA1, MA2, MA3, MA6, MA9, MA10, MA4, MA5, Y MA8) (de Puerto León, en Norte de Santander (corresponden a un cultivo comercialmente establecido). De acuerdo al agrupamiento MA1 y MA2 son genéticamente idénticas; el tercer subgrupo está conformado por accesiones procedentes de la vereda Guamo Medio, y Bucaramanga en Santander, y accesiones procedentes del vivero el Diamante en la vía Cúcuta-Pamplonita, en Norte de Santander. A pesar de la separación geográfica entre las localidades de Mompos y de Puerto León, accesiones de estas localidades presentan mayor similitud genética entre ellas, en comparación a las muestras de Pamplonita con Puerto León, ubicados en el mismo departamento de Norte de Santander. Las accesiones MD1 y MD4 colectadas en el vivero El Diamante tienen una mayor similitud con accesiones de Guamo medio en Santander.

El grupo II, está formado por las accesiones MPT2, MP3, MP1 y MP2. Estas cuatro accesiones fueron colectadas en Los Patios en Norte de Santander. El grupo III está conformado por siete accesiones, cinco del departamento del Meta (cuatro son de la vereda Barcelona, y una genéticamente más distante colectada en la finca la Bonanza, en Guacavía-Meta). En este mismo grupo se encuentra dos accesiones colectadas en Villa del Rosario (Lagos de Palujan), Norte de Santander. Finalmente, el grupo IV está conformado por dos accesiones, colectadas en Villa del Rosario (Lagos de Palujan), Norte de Santander y son las más distantes genéticamente (Fig. 2). Esta mayor diferencia genética, coincide con la forma circular que se presentó particularmente en las vainas de los árboles de esta localidad, en comparación a la forma trigonal de las vainas de moringa de otras localidades (Fig. 3).

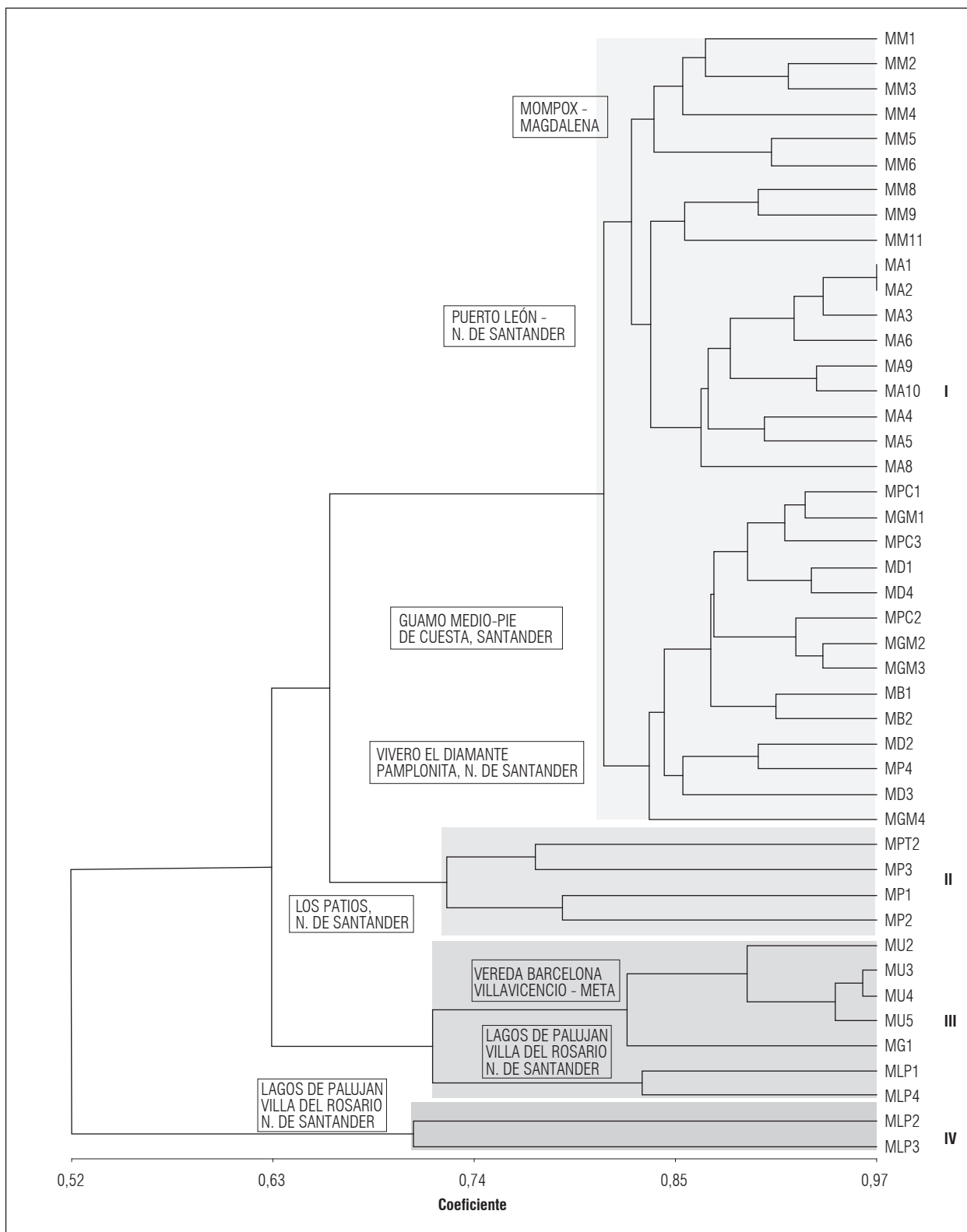


Figura 2. Dendrograma de 40 materiales de *Moringa oleifera* basado en el coeficiente de similitud de Nei-Li calculado con seis marcadores RAMs.



**Figura 3. Morfología de las vainas de *Moringa oleifera* colectadas en diferentes localidades del nororiente de Colombia.**

## CONCLUSIÓN

En este estudio mediante el empleo de marcadores moleculares RAMs, se realizó la caracterización genética de accesiones de moringa procedentes de cuatro departamentos del Nororiente de Colombia., encontrándose que existe una baja diversidad genética, en comparación a los materiales de moringa de la India o Pakistán. *M. oleifera* es una opción atractiva para ser cultivada en la región Nororiental de Colombia por sus propiedades medicinales y nutricionales. Sin embargo, es necesario determinar si hay variación en parámetros de interés como contenido de proteína o actividad antioxidante entre las accesiones estudiadas y promover una mayor diversidad para emplearse en programas de mejoramiento.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo de Investigaciones Universitarias (FINU) de la Universidad Francisco de Paula Santander (UFPS), por la financiación recibida para la ejecución del proyecto FINU 017-2016.

**Conflicto de intereses:** el manuscrito fue preparado y revisado con la participación de los autores, quienes declaran no tener algún conflicto de interés que coloquen en riesgo la validez de los resultados aquí presentados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Asmari, A.K., S.M. Albalawi, M.T. Athar, A.Q. Khan, H. Al-Shahrani y M. Islam. 2015. *Moringa oleifera* as an anti-cancer agent against breast and colorectal cancer cell lines. PLoS One 10(8), e0135814. Doi: 10.1371/journal.pone.0135814
- Aoki, K., S. Ueno, T. Kamijo, H. Setoguchi, N. Murakami, M. Kato y Y. Tsumura. 2014. Genetic differentiation and genetic diversity of *Castanopsis* (Fagaceae), the dominant tree species in Japanese broadleaved evergreen forests, revealed by analysis of EST-associated microsatellites. PLoS One 9, e87429. Doi: 10.1371/journal.pone.0087429
- Chaves-Bedoya, G. y V. Nuñez. 2007. A SCAR marker for the sex types determination in Colombian genotypes of *Carica papaya*. Euphytica 153 (1-2), 215-220. Doi: 10.1007/s10681-006-9256-7
- Cruz da Silva, A., A. ferreira dos Santos, A. Silva, R. Barroso, C. Almeida, G. Melo da Silva y M. Alves. 2012. Moringa genetic diversity from germoplasm bank using RAPD markers. Trop. Subtrop. Agroecosyst. 15, 31-39.
- Engels, J.M.M., A.W. Ebert, I. Thormann y M.C. de Vicente. 2006. Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. Genet. Resour. Crop Evol. 53(8), 1675-1688. Doi: 10.1007/s10722-005-1215-y
- Ganesan, S., R. Singh, D. Choudhuery, J. Bharadwaj, V. Gupta y A. Singode. 2014. Genetic diversity and population structure study of drumstick (*Moringa oleifera* Lam.) using morphological and SSR markers. Ind. Crops Prod. 60, 316-25. Doi: 10.1016/j.indcrop.2014.06.033
- Jiang-Chong, W. e Y. Jing. 2010. Isolation and characterization of twenty polymorphic microsatellite loci for *Moringa oleifera* (Moringaceae). HortScience 45(4), 690-692.
- Jungmann, L., B.B. Vigna, K.R. Boldrini, A.C. Sousa, C.B. do Valle, R.M. Resende, M.S. Pagliarini, M.I. Zucchi y A.P. de Souza. 2010. Genetic diversity and population structure analysis of the tropical pasture grass *Bracharia humidicola* based on microsatellites, cytogenetics, morphological traits, and geographical origin. Genome 53(9), 698-709. Doi: 10.1139/G10-055
- Kantartzi, S.K., M. Ulloa, E. Sacks y J.M. Stewart. 2009. Assessing genetic diversity in *Gossypium arboreum* L. cultivars using genomic and EST-derived microsatellites. Genet. 136(1), 141-147. Doi: 10.1007/s10709-008-9327-x
- Krieg, J., D. Goetze, S. Porembski, P. Arnold, K.E. Linsenmair y K. Stein. 2017. Floral and reproductive biology

- of *Moringa oleifera* (Moringaceae) in Burkina Faso, West Africa. *Acta Hort.* 1158, 63-69. Doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1158.8
- Kuhn, D.N., J.C. Motamayor, A.W. Meerow, J.W. Borrone y R.J. Schnell. 2008. SSCP markers provide a useful alternative to microsatellites in genotyping and estimating genetic diversity in populations and germplasm collections of plant specialty crops. *Electrophoresis* 29(19), 4096-4108. Doi: 10.1002/elps.200700937
- Leone, A., A. Spada, A. Battezzati, A. Schiraldi, J. Aristil y S. Bertoli. 2015. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *Int. J. Mol. Sci.* 16(6), 12791-12835. Doi: 10.3390/ijms160612791
- Liu, K., M. Goodman, S. Muse, J.S. Smith, E. Buckler y J. Doebley. 2003. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genet.* 165(4), 2117-2128.
- Martin, C., G. Martin, A. Garcia, T. Fernandez, E. Hernandez y J. Puls. 2013. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. *Pastos Forrajes* 36(2), 137-149.
- Mbikay, M. 2012. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: A review. *Front Pharmacol.* 3, 24. Doi: 10.3389/fphar.2012.00024
- Muller, F., M. Voccia, A.B. y J.M. Bouvet. 2009. Genetic diversity and gene flow in a Caribbean tree *Pterocarpus officinalis* Jacq.: a study based on chloroplast and nuclear microsatellites. *Genet.* 135(2), 185-198. Doi: 10.1007/s10709-008-9268-4
- Muñoz, J., A. Morillo y Y. Morillo. 2008. Microsatellite amplificados al azar (RAM) en estudios de diversidad genética vegetal. *Acta Agron.* 57 (4), 219-226.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70(12), 3321-3323. Doi: 10.1073/pnas.70.12.3321
- Nei, M. y W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(2), 5269-5273. Doi: 10.1073/pnas.76.10.5269
- Olson, M. 2002. Combining data from DNA sequences and morphology for a phylogeny of Moringaceae (Brassicales). *Syst. Bot.* 27(1), 55-73. Doi: 10.1043/0363-6445-27.1.55
- Olson, M.E. y J.W. Fahey. 2011. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Rev. Mex. Biodiversidad* 82, 1071-1082.
- Rasouli, M., P. Martínez-Gómez y R. Karimi. 2015. Application of Random Amplified Microsatellite Polymorphism (RAMP) in *Prunus* characterization and mapping. *J. Nuts* 6(1), 1-5.
- Rufai, S., M.M. Hanafi, M.Y. Rafii, S. Ahmad, I.W. Aroly y J. Ferdous. 2013. Genetic dissection of new genotypes of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) using random amplified polymorphic DNA marker. *Biomed. Res. Int.* 2013, 598-604. Doi: 10.1155/2013/604598
- Saddoud, O., K. Chatti, A. Salhi-Hannachi, M. Mars, A. Rhouma, M. Marrakchi y M. Trifi. 2007. Genetic diversity of Tunisian figs (*Ficus carica* L.) as revealed by nuclear microsatellites. *Hereditas* 144(4), 149-157. Doi: 10.1111/j.2007.0018-0661.01967.x
- Saini, R.K., K.R. Saad, G.A. Ravishankar, P. Giridhar y N.P. Shetty 2013. Genetic diversity of commercially grown *Moringa oleifera* Lam. cultivars from India by RAPD, SSR and cytochrome P450-based markers. *Plant Syst. Evol.* 299(7), 1205-1213. Doi: 10.1007/s00606-013-0789-7
- Sanabria O., H., M. García, J. Muñoz y H. Díaz. 2006. Caracterización molecular con marcadores RAM de árboles nativos de *Psidium guajava* (guayaba) en el Valle del Cauca. *Acta Agron.* 55(1), 23-30.
- Shahzad, U., M. Awais, M. Jaffar, I. Ahmad y S. Korban. 2013. Genetic diversity and population structure of *Moringa oleifera*. *Conserv. Genet.* 14(6), 1161-1172. Doi: 10.1007/s10592-013-0503-x
- Shamsuddeen, R., M. Hanafi, M. Rafii, S. Ahmad, I. Aroly y J. Ferdous. 2013. Genetic dissection of new genotypes of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) using Random Amplified Polymorphic DNA Marker. *BioMed Res. Int.* 2013, 604598. Doi: 10.1155/2013/604598
- Sun, Y., X. Wen y H. Huang. 2011. Genetic diversity and population structure of two important medicinal plant species *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* revealed by nuclear microsatellites. *Genet.* 139(4), 497-503. Doi: 10.1007/s10709-011-9570-4
- Wu, J. y J. Yang. 2010. Isolation and characterization of twenty polymorphic microsatellite loci for *Moringa oleifera* (Moringaceae). *HortScience* 45(4), 690-692.