

# Avances recientes de la biología molecular de la palma de aceite en Malasia

## Recent Developments of Oil Palm Molecular Biology in Malaysia

**Lee Yang Ping<sup>1</sup>**  
**Meilina Ong Abdullah<sup>1</sup>**  
**Kwan Yen Yen<sup>1</sup>**  
**Wai Har Ng<sup>1</sup>**  
**Choi Mei Chooi<sup>1</sup>**  
**Zaidah bte Rahmat<sup>1</sup>**  
**Ooi Siew Eng<sup>1</sup>**  
**See Pao Theen<sup>1</sup>**  
**Ho Chai Ling<sup>1</sup>**  
**Tan Siang Hee<sup>1</sup>**  
**A. Loos<sup>2</sup>**  
**C.K. Rha<sup>3</sup>**  
**A.J. Sinskey<sup>2</sup>**  
**S.C. Cheah<sup>4</sup>**  
**Sharifah S. Rabiah bte Syed Alwee<sup>4</sup>**  
**J.A. Harikrishna<sup>5</sup>**  
**K.Harikrishna<sup>6</sup>**

### Palabras Clave

Biología molecular,  
Biotecnología de la palma de aceite,  
Marcadores moleculares.

### Resumen

Durante los últimos años se ha observado un rápido desarrollo de las ciencias biológicas, lo cual incluye la reciente conclusión de los proyectos relacionados con el genoma (como por ejemplo de la levadura, del ser humano, del arroz y de *Arabidopsis*). La información derivada de tales proyectos ya está cambiando la práctica de la medicina y de la agricultura modernas. Estas tecnologías tienen grandes posibilidades de mejorar la agricultura y, en particular, el cultivo de la palma de aceite. Los proyectos relacionados con el genoma ya han influido en las direcciones tomadas por la investigación realizada acerca de la palma de aceite en Malasia. Este documento se referirá a los recientes avances logrados en la comprensión de la biología molecular de importantes procesos biológicos de las palmas de aceite (como por ejemplo la floración y el cultivo de tejidos). Uno de los métodos utilizados fue un enfoque genómico comparativo para identificar características conservadas y divergentes en la expresión genética, entre palma de aceite y *Arabidopsis*, mediante la clonación de RT-PCR de genes de interés y el uso de microarreglos de ADN. Puesto que los miembros de la familia de genes MADS-box desempeñan importantes funciones en el desarrollo floral, más de 20 miembros de esa familia se aislaron mediante amplificación degenerada por RT-PCR a partir de inflorescencias de la palma de aceite. Una metodología utilizando EST dio como resultado el aislamiento de más de 10.000 EST de palma de aceite, a partir de varios tejidos que actualmente se utilizan para producir arreglos de ADN de palma de aceite y como sondas de RFLP para mapeo génico. Todo esto ha contribuido también a lograr tener una mejor comprensión de la biología molecular de la callogénesis y la embriogénesis somática. Se abordarán también otros progresos realizados en la investigación de la palma de aceite mediante el uso de la genómica funcional.

1. Department of Biotechnology & Institute of Bioscience, Faculty of Food Science & Biotechnology, University Putra Malaysia, UPM-Serdang 43400, Selangor, Malaysia.
  2. Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139-4307, USA.
  3. Department of Biomaterials Science & Engineering, Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139-4307, USA.
  4. Malaysian Palm Oil Board, P.O. Box 10620, 50720 Kuala Lumpur, Malaysia.
  5. Malaysian University for Science & Technology, Unit GL 33 Block C, Dataran Usahawan Kelana, 17, Jln SS7/26, 47301, Petaling Jaya, Selangor, Malaysia
  6. Email: hharikrishna@yahoo.com; current address Sime Darby Technology Center
- Nota: Traducido por Fedepalma.



## Summary

The last few years have seen rapid development of biological sciences including the recent completion of genome projects such as for yeast, humans, rice and Arabidopsis. Information derived from these projects is already changing the practice of modern medicine and agriculture. These technologies have great potential to improve agriculture and in particular oil palm cultivation. These genome projects have already influenced the research directions taken for oil palm research in Malaysia. This paper will address recent advances in understanding the molecular biology of specific important biological processes of oil palms such as flowering and tissue culture. One approach used was a comparative genomics approach to identify conserved and divergent features in floral gene expression between oil palm and Arabidopsis by RT-PCR cloning of genes of interest and the use of DNA microarrays. As members of the MADS-box gene family perform important roles in floral development, over 20 members of this family were isolated by degenerate RT-PCR amplification from oil palm inflorescences. An EST approach has resulted in the isolation of over 10,000 oil palm ESTs from various tissues that are currently being used to produce oil palm cDNA arrays and as RFLP probes for genetic mapping. These approaches have also contributed to a better understanding of the molecular biology of callogenesis and somatic embryogenesis. Other advances in oil palm research by the use of functional genomics will also be covered.

## Introducción

La última década ha visto muchos avances en biotecnología que han conducido al mejoramiento de plantas. A la fecha, el impacto comercial más importante ha sido en el desarrollo de nuevos cultivos. Sin embargo, en la mayoría de los casos, los avances han sido principalmente en cultivos anuales. El avance en cultivos perennes ha sido más lento, debido especialmente a su largo período de generación y a la falta de información fundamental acerca de su genética y fisiología. Esta falta de información hace difícil alterar en forma efectiva los sistemas de las plantas perennes. Por tanto, existe la necesidad de realizar estudios biológicos de estos cultivos para facilitar el mejoramiento dirigido del cultivo.

En Malasia se ha reconocido la necesidad de realizar estudios tanto básicos como aplicados en palma de aceite, apoyados por el gobierno y la industria. Varios grupos de investigación a nivel nacional han adoptado diferentes enfoques para desarrollar un mejor entendimiento del cultivo. A pesar de la diferencia en las estrategias empleadas, toda esta nueva información se ha podido integrar mediante el uso de la bioinformática. De esta manera, la investigación realizada usando enfoques histológicos, fisiológicos, de mapeo, genómicos, proteómicos y metabolómicos está siendo integrada para apoyar el mejoramiento dirigido de la palma de aceite.

Por medio de estudios realizados en modelos de sistemas de plantas se han establecido los tipos de modificaciones que son factibles, particularmente cuando se sabe que la bioquímica

fundamental es similar. Se espera que las probabilidades de éxito mejoren de manera sustancial en los próximos años, a medida que más mecanismos de control responsables del crecimiento, desarrollo y rendimiento sean identificados a través de estudios genómicos comparativos de las plantas, una vez se completen los estudios genómicos en tomate, arroz, maíz, etc., y se comprendan mejor las diferencias entre especies de plantas y su importancia.

## Tecnología de marcadores moleculares/mapeo

Las técnicas de marcadores moleculares como el polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) y polimorfismos para la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) han sido ampliamente usadas para identificar polimorfismos útiles para mapeo de poblaciones. Recientemente, también se han usado marcadores microsatélite para mapeo de programas de mejoramiento de poblaciones. Se ha demostrado que unos pocos de estos marcadores son útiles como marcadores de diagnóstico para identificar contaminantes en cruces específicos para mejoramiento genético. MPOB ha hecho importantes avances en el desarrollo de un mapa físico para palma de aceite y ha mapeado la posición del rasgo virescente a una distancia de 3cM. Sin embargo, como la densidad de los marcadores en el mapa es todavía insuficiente para facilitar la clonación basada en mapa de genes en forma rutinaria, pasará algún tiempo antes de que pueda ser realizada.

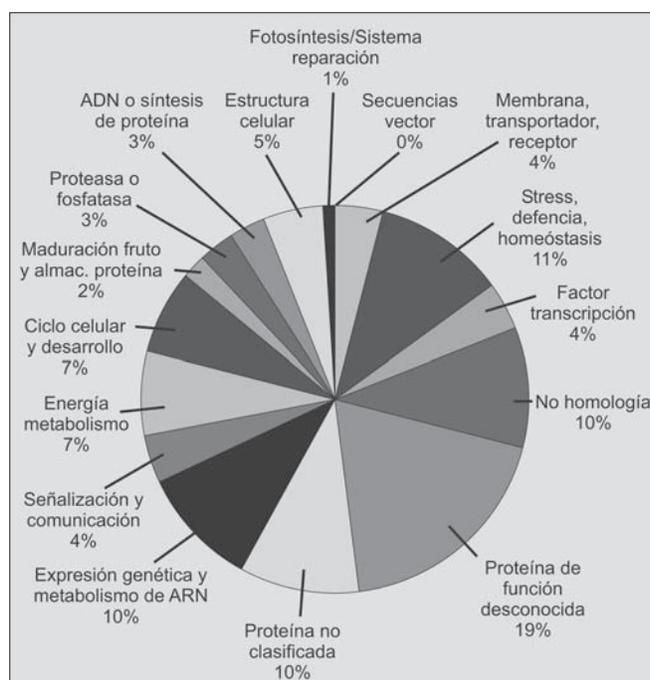
## Genómica de la palma de aceite e identificación de genes útiles

Se han tomado dos enfoques contrastantes para aislar e identificar genes: un enfoque directo basado en secuencias homólogas de especies modelo, y un enfoque al azar usando Marcadores de Secuencia Expresada (EST). Estos proyectos EST se han realizado en bibliotecas ADNc hechas a partir de varios órganos de palma de aceite por varios grupos de Malasia. Los ESTs constituyen una forma rápida para establecer un inventario de genes expresados, determinando las secuencias parciales de un simple paso de clones de ADNc seleccionados al azar con la base de datos existente (Adams *et al.*, 1991). Muchos ESTs contienen suficiente información estructural para indicar la función probable de un gen y su relación con otros genes. Este método también tiene el potencial de facilitar el aislamiento de nuevos genes y además evaluar la función de un gen usando la información existente en las bases de datos (Hieter y Boguski, 1997). Como este enfoque tiene limitaciones, especialmente con redundancia genética, se han empleado varias estrategias que tienen el potencial para superar este problema, como por ejemplo hibridación en placa fría y supresión substracción. Más de 10.000 secuencias de un gen se han generado usando estos métodos en Malasia. Todos estos enfoques han producido más de 40% de ESTs que corresponden a genes cuya función se desconoce o genes únicos (Fig. 1). Para apoyar la identificación de la función o el perfil de transcripción de estos ESTs se emplearon estrategias de microarreglos (*microarrays*) y técnicas de mancha usando ADN complementario. Estos enfoques se complementaron con métodos de hibridación con ARN *in situ* para facilitar la generación de perfiles de expresión específicos de tejidos.

Mediante dichos análisis, una nueva oxidasa del ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) identificada por hibridación basada en supresión-substracción de callo embriogénico vs. callo no embriogénico parece ser un marcador útil para la embriogénesis. Los niveles de expresión parecen correlacionarse con las tasas de proliferación embriogénica entre diferentes líneas genéticas de callos. El análisis de hibridación *in*

*situ* ha demostrado que estas transcripciones se asocian con las capas exteriores de células que eventualmente forman la epidermis del embrión.

Estos recursos genéticos se han empleado para desarrollar microarreglos (*microarrays*) ADNc de palma de aceite que se están usando para determinar perfiles de expresión de genes en un genoma a escala amplia. Sin embargo, esto es técnicamente exigente y el análisis de datos de microarreglos es muy complejo y dispendioso. Así que probablemente no se podrá tener pronto una idea clara de los cambios transcripcionales asociados con estados específicos de crecimiento y desarrollo.



**Figura 1** Categorización funcional putativa de EST de flores femeninas en palma de aceite

## Transformación de palma de aceite

La transferencia de genes parece no ser un problema en la mayoría de las plantas dicotiledóneas y algunas monocotiledóneas donde la mayoría de las plantas transgénicas se han producido exitosamente, ya sea a través de transformación mediante pistola de partículas o transformación mediante *Agrobacterium* (Lessard *et al.*, 2002). El mayor problema con la

transformación parece estar relacionado con la regeneración de tejidos transgénicos dentro de las plantas. El reciente éxito en transformación de cereales está directamente relacionado con el uso de una fuente de tejidos altamente regenerable para transformación.

Dos métodos se han usado exitosamente para generar plantas transgénicas de palma de aceite: bombardeo de partículas e infección con agrobacterias. Actualmente, plantas que contienen genes marcadores seleccionables, como Basta, están floreciendo y no muestran señales de anormalidades. También se han generado plantas transgénicas que contienen genes relacionados con resistencia a insectos, tiempo de floración y calidad de aceite, y que están siendo evaluadas.

## Conclusión

Se han iniciado programas de investigación que examinan la biología básica y biología molecular de palmas de aceite en Malasia, mediante los cuales se han identificado marcadores moleculares polimórficos potencialmente útiles para programas de mejoramiento genético. Varios genes homólogos de palma de aceite que contienen MADS u *homeodomain motifs* se han clonado y caracterizado. Este análisis sugiere que el control molecular del desarrollo de meristemas e iniciación y desarrollo de flores es muy similar a la *Arabidopsis*. Además, estos proyectos sobre

EST han producido un aumento en recursos de secuencias genéticas de palma de aceite que están siendo usados para desarrollar microarreglos de ADN para estudios de expresión amplia de genoma. Estos microarreglos de ADN están siendo usados para iniciar estudios sobre desarrollo de la palma de aceite, respuestas a estímulos ambientales y sobre desarrollo floral anormal.

## Agradecimientos

Deseo agradecer a los Dres. Tan Siang Hee, Jennifer Ann Harikrishna, Sharifah Shahrul Alwee, Meilina Ong Abdullah y Faridah Qamaruz Zaman, por sus útiles consejos, y a Lee Yang Ping, Choi Mei Chooi, Siti Habsah Roowi, Kwan Yen Yen y Zaidah Rahmat, por suministrar sus datos no publicados. ☘

## Bibliografía

- ADAMS, M.D. *et al.* 1991. Complementary DNA sequencing: Expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 252, p.1651-6.
- HIETER, P.; BOGUSKI, M. 1997. Functional genomics: its all how you read it. *Science*, 278, p.601-2.
- LESSARD, P.A.; HARIKRISHNA, K.; YORK, G.M.; SINSKEY, A.J. 2002. Manipulating Gene Expression for the Metabolic Engineering of Plants. *Metabolic Engineering* 4, p.67-79.