

# Generación de ideotipos innovadores de palma de aceite mediante biotecnologías\*

Generating Innovative Oil Palm Ideotypes through Biotechnologies



## ALAIN RIVAL

Director Regional para los Países Insulares del Sudeste Asiático, Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo.

Regional Director for Countries Island of Southeast Asia, Agricultural Research Centre for International Development (CIRAD)

**CITACIÓN:** Rival, A. (2019). Generación de ideotipos innovadores de palma de aceite mediante biotecnologías. *Palmas*, 40 (Especial Tomo I), 130-139.

**PALABRAS CLAVE:** biotecnologías, reproducción, genómica, marcadores moleculares, fenotipos.

**KEYWORDS:** Biotechnologies, reproduction, genomics, molecular markers, phenotypes.

\*Artículo original recibido en inglés y traducido por Carlos Arenas París.

## Resumen

Las biotecnologías de la palma de aceite han evolucionado a tal punto que varias de sus aplicaciones se encuentran en la actualidad totalmente integradas y juegan un papel fundamental en las estrategias de reproducción. Los marcadores moleculares se utilizan rutinariamente para verificar y rastrear con precisión la identidad de materiales de siembra de interés agronómico. Estos también son de uso general en la evaluación y control de colecciones vivas de palma de aceite destinadas a la conservación de sus recursos genéticos. La secuenciación y anotación adicional de genomas de la palma de aceite han abierto el camino a la selección genómica, una estrategia de gran interés para los cultivos perennes con ciclos de reproducción largos. La fisiología molecular está respaldada por estudios genómicos que per-

miten el entendimiento profundo de las funciones clave que establecen el crecimiento y desarrollo de la palma de aceite y, por lo tanto, los determinantes básicos de rendimiento de aceite, resistencia a plagas y enfermedades o factores climáticos extremos. La metagenómica suministra información valiosa sobre la salud del suelo en respuesta a varias prácticas agrícolas, dado que se puede analizar la abundancia y composición de todos los organismos vivos en una muestra de suelo determinada, mediante la secuenciación y posterior identificación de todo el ADN presente en esta. Igualmente, es de interés primordial para la exploración de patologías complejas como la Pudrición del cogollo, la cual es de importancia para toda la industria de la palma de aceite en Colombia y Latinoamérica. En los últimos años se han integrado muchas biotecnologías a las estrategias de reproducción dado que la secuenciación del genoma de la palma de aceite ha abierto muchas nuevas oportunidades para la generación de ideotipos adaptados cada vez más solicitados por los usuarios finales.

## Abstract

Oil palm biotechnologies are definitely out of infancy, as a number of its applications are now fully integrated and actually play a key role in breeding strategies. Indeed molecular markers are now of everyday routine use in order to accurately check and trace the identity of planting material of agronomic interest. Such markers are also of general use in the assessment and management of living collections of oil palm aimed at preserving genetic resources. The sequencing and further annotation of the oil palm genome have paved the way to genomic selection, a strategy with outstanding interest for perennial crops with extremely long breeding cycles. Molecular physiology is now backed by genomic studies that allow the in-depth understanding of key functions that govern the growth and development of the oil palm hence the basic determinants of oil yield, resistance to pest and diseases, or of the resilience to extreme climatic factors. Metagenomics is now able provide valuable information on soil health in response to various agricultural practices as the abundance and composition of all living organisms captured in a given soil sample can be analyzed through the sequencing and further identification of all the DNA present in the sample. Metagenomics is also of paramount interest for the exploration of complex pathologies such as Bud rot, which is of importance for the whole oil palm industry in Colombia and Latin America. In recent years, many biotechnologies have been integrated in breeding strategies. The best is yet to come as the sequencing of the oil palm genome has open many new opportunities for the generation of the adapted ideotypes requested by end users.

---

## Introducción

El desarrollo sostenible del cultivo de la palma de aceite está generando una serie de preguntas por resolver, no solo en los campos tradicionales de la ciencia de las plantas, incluyendo reproducción y biotecnologías (Rival & Jaligot, 2010; Rival & Durand-Gasselín, 2013), sino también en los campos más amplios de la socioeconomía y las ciencias sociales y humanas (Rival, 2013; Rival & Levang, 2014; Sodano *et al.*, 2018). Los ciclos recurrentes de selección han removido con éxito muchos de los alelos “no deseados” de las poblaciones reproductoras, proporcionando así una ganancia genética de 1 % cada año para la palma de aceite (Cochard *et al.*,

2005). Sin embargo, este progreso también podría haber afectado la habilidad de las poblaciones para resistir amenazas ambientales y las ganancias genéticas en el futuro.

La mejora del cultivo de palma de aceite necesitará proceder más allá de la selección de rasgos clásicos, ya que la investigación ómica estudia procesos fisiológicos básicos, tales como la biosíntesis del aceite y el desarrollo del fruto en la palma de aceite (Teh *et al.*, 2016). También necesitamos explorar el suministro y flujo de carbono, las respuestas de la planta al estrés, la captación de nutrientes y el uso del agua a través de una combinación de genética, bioquímica, epigenética e interacción de genes, junto con un análisis de datos fenotípicos más detallado y continuo.

Soh (2018) presentó una revisión exhaustiva del progreso reciente y las líneas de investigación que se han abierto desde la publicación del genoma diploide de 1.8-Gb de la palma de aceite (Singh *et al.*, 2013a). En una revisión dedicada al mejoramiento de la palma de aceite, Forster *et al.* (2017) expusieron una visión a futuro del potencial de las biotecnologías emergentes para el mejoramiento de la palma de aceite, incluyendo nuevos rasgos para la cosecha mecánica y la producción de aceites especiales.

La relación entre las prácticas sostenibles de cultivo y las biotecnologías se ha hecho más robusta con la aparición de la metagenómica como una herramienta precisa para la investigación de la abundancia y biodiversidad de microbioma y el perfil genético funcional de los suelos. Actualmente, se utilizan enfoques de secuenciación metagenómica completa, para investigar los perfiles taxonómicos y funcionales de comunidades microbianas presentes en el agua dulce utilizada para el riego (Meneghini *et al.*, 2017). El desafío es integrar microbiomas beneficiosos de plantas en la producción agrícola (Busby *et al.*, 2017), favoreciendo su crecimiento, la eficiencia del uso de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la resistencia a enfermedades como parte de los servicios ambientales.

## Las tecnologías de marcadores moleculares están mejorando la eficiencia reproductiva

El trabajo reproductivo realizado por las grandes agroindustrias e instituciones de investigación durante los últimos 50 años ha llevado a un progreso genético constante, que se estima actualmente en 1 % por año (Cochard *et al.*, 2005). Se espera que en el futuro cercano los rendimientos futuros alcancen, e incluso superen, las 10 toneladas de aceite/hectárea/año (Corley & Tinker, 2016).

Las tecnologías de marcadores moleculares pueden mejorar enormemente la eficiencia de reproducción de la palma de aceite. Los marcadores de ADN y los mapas de ligamiento genético, son recursos esenciales para la selección asistida por marcadores (SAM), con el fin de acelerar el mejoramiento genético. La identificación de EST-SSR que detectan po-

limorfismos en material genético elite proporciona herramientas para estrategias de mejora molecular. Así mismo, el reconocimiento de SSR en transcripciones, en particular aquellas que codifican las proteínas involucradas en la regulación transcripcional y postranscripcional, permitiría conocer los roles funcionales de estas proteínas al revelar cómo los rasgos fenotípicos se segregan con estos marcadores.

Con el fin de identificar el QTL (locus de carácter cuantitativo) para la composición de ácido graso de la palma de aceite, Montoya *et al.* (2014) estudiaron un pseudo retrocruzamiento interespecífico de *Elaeis* de primera generación (*E. oleifera* x *Elaeis guineensis*) x *Elaeis guineensis*. Los órdenes relativamente lineales de los locus mapeados sugirieron la ausencia probable de reordenamientos cromosómicos entre los genomas de *E. oleifera* y *Elaeis guineensis*. La gran cantidad de locus de SSR hipervariable de órdenes lineales relativos conocidos y la información de QTL, hacen que estos recursos sean valiosos para mapear en otros materiales genéticos de *Elaeis*.

Se han construido varios mapas de ligamiento genético utilizando marcadores dominantes y codominantes para facilitar el mapeo de QTL en la palma de aceite. Sin embargo, los primeros no son fácilmente transferibles entre diferentes laboratorios. Lee *et al.*, (2015) desarrollaron un mapa de ligamiento de consenso para la palma de aceite utilizando marcadores codominantes, es decir, microsatélites y SNP, y dos poblaciones genéticas F1 generadas por el cruce de individuos Dura x Pisífera.

Los polimorfismos de nucleótido único (SNP) son variaciones generalizadas de nucleótidos en los genomas, el tipo más abundante de marcador de ADN, y se detectan fácilmente en genomas de alto rendimiento. Al aprovechar la secuencia de genoma de referencia de la palma de aceite obtenida recientemente (Singh *et al.*, 2013b), es posible desarrollar marcadores de ADN de todo el genoma con recursos de información genética. Adicionalmente, los marcadores SNP basados en genes podrían, por sí solos, ser los causantes de rasgos SNP y han sido utilizados para desarrollar mapas de transcripción, análisis de QTL, mapeo de asociación y análisis de sintenia usando genotipado por secuenciación (Pootakham *et al.*, 2015). Empleando tanto SNP como marcadores microsaté-

lite, Bai *et al.* (2018) construyeron un mapa de ligamiento que contiene 10.023 marcadores que abarcan 16 cromosomas. Gan *et al.* (2018) reportaron el primer uso de la plataforma DArTseq para genotipar dos poblaciones de palma de aceite autopolinizadas estrechamente relacionadas. La identificación del marcador Sh demostró la solidez de utilizar la plataforma DArTseq para generar mapas genéticos de alta densidad de la palma de aceite, con una cobertura adecuada del genoma. Tanto los mapas genéticos como los integrados son de interés primordial para el análisis QTL de importantes rasgos de rendimiento, así como para potencialmente apoyar el anclaje de mapas genéticos a secuencias genómicas.

## El gen SHELL, la piedra angular del mejoramiento de la palma de aceite

La palma de aceite tiene un gen mendeliano bien caracterizado de importancia agronómica abrumadora: grosor de la cáscara. Este es un rasgo relevante en los programas de mejoramiento genético de la palma de aceite y es la base para la clasificación de variedades en los tipos Dura, Tenera y Pisífera. Es controlado por un locus único, con dos alelos (sh + y sh -), que presentan una expresión codominante.

Billote *et al.* (2005) construyeron un mapa de ligamiento genético de alta densidad basado en microsatélites para la palma de aceite a partir de un cruce entre dos padres heterocigotos, a saber: una palma Tenera de la población La Mé (Lm2T) y una palma Dura de la población Deli (DA10D). Un marco de microsatélites denso y de todo el genoma, además de saturar los polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP), permitieron la elaboración de dicho mapa que consiste de 225 microsatélites, 688 AFLP y el locus del gen Sh, que controla la presencia o ausencia de cáscara en el fruto de la palma de aceite. Un marcador aFLP, E-Agg/M-CAA132, fue mapeado a 4,67 cm del locus de Sh. Los 944 marcadores genéticos se distribuyeron en 16 grupos de ligamiento (LG) y cubrieron 1.743 cm. Este fue el primero en la palma de aceite en tener 16 grupos independientes de ligamiento, correspondientes a los 16 pares de cromosomas homólogos de la planta.

Singh *et al.* (2013b) describieron el mapeo e identificación del gen SHELL, encargado de las diferentes formas del fruto en la palma de aceite. Con el uso del mapeo de homocigosidad por secuenciación, encontraron dos mutaciones independientes en el dominio de unión al ADN de un homólogo del gen MADS-box SEEDSTICK (STK, también conocido como AGAMOUS-LIKE 1), que controla la identidad del óvulo y el desarrollo de la semilla en *Arabidopsis thaliana*. El gen SHELL es responsable por el fenotipo Tenera tanto en palmas cultivadas como silvestres del África subsahariana, y Singh *et al.* (2013b) suministraron una explicación genética para el vigor híbrido (o heterosis) del gen único, atribuido a SHELL mediante heterodimerización.

## Explorando la base de transcripción de rutas metabólicas

La secuenciación de nueva generación permite el desarrollo de estudios exhaustivos que tienen como objetivo comprender las bases transcripcionales de las rutas metabólicas clave que rigen la fisiología básica de la palma de aceite. Tranbarger *et al.* (2011) examinaron la base transcripcional de los caracteres metabólicos en el mesocarpio de la palma de aceite. Las características morfológicas, celulares, bioquímicas y hormonales definieron las fases clave del desarrollo del mismo. La palma de aceite presenta un modelo original para examinar los procesos de maduración y regulación. Los análisis histoquímicos y mediciones de parámetros celulares, revelaron la expansión y degradación de la membrana celular y la laminilla media durante la maduración en respuesta al etileno (Tranbarger *et al.*, 2017). Los perfiles de transcripción relacionados con la membrana celular sugieren que la transición de síntesis a degradación está bajo control transcripcional durante la maduración, en particular un cambio de la síntesis de celulosa, hemicelulosa y pectina a hidrólisis y degradación.

## Descifrando los mecanismos clave de la biosíntesis de ácidos grasos

Los aceites vegetales están conformados predominantemente por triacilgliceroles (TAG) que consisten

de glicerol esterificado con tres ácidos grasos (AG). Los diversos usos de los aceites vegetales dependen principalmente de la composición de AG de los TAG. Dussert *et al.* (2013) analizaron tres tejidos de acumulación de TAG de la palma de aceite, mostrando que la regulación transcripcional juega un papel importante en las diferencias considerables en contenido de aceite y composición de AG que existen entre estos tejidos.

Para obtener información sobre los mecanismos que rigen la síntesis del aceite y la composición de ácidos grasos (AG) en el fruto de la palma de aceite, Guerin *et al.* (2016) utilizaron un enfoque multinivel que combina el análisis de coexpresión de genes, la cuantificación de expresión específica a alelos y el análisis multivariable conjunto de datos transcriptómicos y lipídicos en una población retrocruzada interespecífica entre *Elaeis guineensis* y *E. oleifera*, que muestran contenidos de aceite y composiciones de AG contrastantes. La red de coexpresión de genes producida por este trabajo, reveló una estrecha coordinación transcripcional de síntesis de ácidos grasos (SAG) en el plástido con rutas de detección de azúcar, glucólisis plasmidial, almacenamiento transitorio de almidón y de recaptura de carbono. También descubrió una regulación concertada, junto con la SAG, de la transferencia de AG nacientes al retículo endoplasmático, donde se produce el ensamblaje de triacilglicerol, y de la producción de glicerol-3-fosfato, que proporciona la columna vertebral de los triacilgliceroles.

## La selección genómica llegó para quedarse

La selección genómica (SG) es un enfoque que utiliza marcadores distribuidos a lo largo de todo el genoma. A diferencia de las estrategias convencionales, la SG no requiere ninguna asociación entre el marcador molecular y el rasgo generado por el mapeo de ligamiento y el estudio de asociación de todo el genoma (GWAS) (Teh *et al.*, 2016). El objetivo de la selección genómica es acelerar la ganancia

La palma de aceite presenta un modelo original para examinar los procesos de maduración y regulación.

genética en los programas de mejoramiento, enfoque particularmente útil para los cultivos perennes como la palma de aceite, los cuales tienen ciclos de reproducción largos y requieren grandes áreas para la ejecución de ensayos genéticos.

Kwong *et al.* (2017) evaluaron los diferentes métodos y sistemas de marcadores disponibles para la selección genómica de la palma de aceite. Claramente, este novedoso enfoque no se ha desarrollado por completo, y el método óptimo para la SG aún está en debate. Los autores valoraron el efecto de diferentes sistemas de marcadores y métodos de modelación para implementar la selección genómica en una familia Dura introgresada derivada de Deli Dura x Nigerian Dura (Deli x Nigerian) con 112 individuos. Los autores concluyeron que, debido a la alta resolución genómica, el uso de SNP de todo el genoma mejoró dramáticamente la eficiencia de la selección genómica para la palma de aceite y lo recomiendan para los programas de mejoramiento genético de Dura. Se encontró que el aprendizaje automático superó ligeramente a los otros métodos, aunque requirió optimizar los parámetros para implementar la selección genómica.

Por otra parte, Cros *et al.* (2017) mostraron que la preselección para componentes de rendimiento utilizando el genotipado por secuenciación (GBS) es la primera aplicación posible de la secuenciación genómica en la palma de aceite, permitiendo aumentar la intensidad de la selección y mejorando el desempeño de los híbridos comerciales. Con la selección genómica, ahora es posible superar el obstáculo del número limitado de individuos evaluados mediante ensayos de progenie tradicionales. El impacto práctico de este estudio fue ilustrado, cuantificando la producción adicional de racimos de los cruces elegidos en el experimento de validación si se hubiera aplicado la preselección genómica en las poblaciones parentales antes de los ensayos de progenie.

## La epigenética rige la plasticidad fenotípica

Los enfoques moleculares contribuyen a resolver preguntas importantes respecto a la biología del desarrollo en la palma de aceite. Al respecto, Jaligot *et al.* (2011) describieron estudios sobre la anomalía de la floración epigenética del manto observada en las palmas de aceite producidas *in vitro*, identificando que el desarrollo a gran escala de protocolos de micropropagación basada en embriogénesis somática se ve obstaculizado por la aparición de la variante somaclonal cubierta en proporciones pequeñas pero significativas, lo cual se asemeja a los mutantes florales de clase B de las plantas modelo (Jaligot & Rival, 2015). Las palmas anormales pueden ser estériles y, por lo tanto, improductivas, anulando así cualquier mejora genética potencial hecha en el programa de mejoramiento del que se obtuvieron. Por lo tanto, existe mucho interés en identificar las causas moleculares del fenotipo cubierto, que se ha demostrado es epigenético por naturaleza. Jaligot *et al.* (2011) revisaron el conocimiento y las prioridades actuales para la investigación futura de este complejo pero desafiante fenómeno, dirigido a factores moleculares de particular interés tales como genes MADS-box y elementos transponibles, debido a su participación en los procesos regulatorios relacionados en las plantas modelo.

Shearman *et al.* (2013) realizaron una secuenciación de ARN en muestras de flores en desarrollo y frutos de palmas de aceite normales y cubiertas, para caracterizar sus transcriptomas. Estos autores también estudiaron la información de expresión para todas las transcripciones en las muestras de flores y

frutos normales y cubiertos, evidenciando así que muchos genes se expresan de forma diferente, incluyendo varios de rutas que pueden ser la causa del fenotipo cubierto si se interrumpen, por ejemplo, genes involucrados en las respuestas hormonales primarias, la replicación y reparación de ADN, la remodelación de cromatina y un gen involucrado en el ARN.

El fenotipo cubierto se asoció con la hipometilación del ADN de un retrotansposón LINE (elemento nuclear intercalado largo) (Karma) presente en el intrón del gen de clase B DEFICIENS, que lleva a un empalme alternativo y a la terminación prematura de la transcripción (Ong-Abdullah *et al.*, 2015). Este enfoque basado en el epigenoma, confirmó los resultados anteriores sobre el origen epigenético de la variación somaclonal cubierta, que había sido descifrada previamente por Jaligot *et al.* (2014) con base en la regulación epigenética de un gen candidato MADS-box (Adam *et al.*, 2007, 2011) mediado por la metilación del ADN.

## Las promesas de la ingeniería genética

El principal fin de la investigación en biotecnología de la palma de aceite ha sido aumentar el ácido oleico en el mesocarpio. Otros objetivos incluyen el ácido esteárico, el palmitoleico y el ricinoleico, licopeno (carotenoide) y plásticos biodegradables. Sobre el tema, se han reportado logros significativos para los estudios bioquímicos, el aislamiento de genes útiles de la palma de aceite y la caracterización de promotores importantes. Varios constructos de transformación para diversos productos específicos, fueron producidos con éxito utilizando genes y promotores aislados de la palma de aceite. Estos constructos se transformaron en cultivos embriogénicos de palma de aceite, mientras que la regeneración de palma de aceite transgénica que alberga los genes útiles está progresando (Parveez *et al.*, 2015).

La ingeniería genética continúa siendo un gran desafío en la palma

El principal fin de la investigación en biotecnología de la palma de aceite ha sido aumentar el ácido oleico en el mesocarpio. Otros objetivos incluyen el ácido esteárico, el palmitoleico y el ricinoleico, licopeno (carotenoide) y plásticos biodegradables.

de aceite. El bombardeo de partículas (Parveez *et al.*, 2015) y la transformación mediada por *Agrobacterium* (Yenchon y Te-chato, 2012) son ineficientes y, a menudo, producen palmas quiméricas y escapes. Los protoplastos son útiles como objetivos para la ingeniería genética porque son totipotentes, y se pueden evitar quimeras regenerando plantas transgénicas a partir de células únicas. Por lo tanto, los enfoques novedosos para la transformación de los protoplastos de la palma de aceite (Masani *et al.*, 2014) podrían ofrecer una estrategia nueva y eficiente.

La disponibilidad de un método confiable para que los investigadores transformen y regeneren las palmas de aceite transgénicas de forma eficiente, impulsará drásticamente la investigación en la expresión y función de genes dado que, hasta el momento, se deben realizar experimentos clave de validación sobre plantas modelo como *Arabidopsis* o arroz. Adicionalmente, la aceptación del público, especialmente en Europa, es un paso clave para la adopción global de cultivos transgénicos, y la palma de aceite no sería una excepción. Paradójicamente, siendo que actualmente el aceite de palma es el único no modificado genéticamente en el mercado, es probable que el desarrollo de palmas transgénicas tenga que enfrentar grandes problemas de comercialización, además de las controversias sobre su producción sostenible (Rival & Levang, 2014).

## Metagenómica para la palma de aceite

Con el creciente interés por integrar los servicios ambientales al manejo sostenible del cultivo, han surgido una serie de preguntas por resolver relacionadas con el impacto de las prácticas de cultivo en la salud del suelo, particularmente por la biodiversidad.

Los enfoques en metagenómica pueden suministrar información valiosa sobre la salud del suelo en respuesta a varias prácticas agrícolas, considerando que estos se encargan de analizar la abundancia y composición de todos los organismos vivos en una muestra de suelo determinada mediante la secuenciación y posterior identificación de todo el ADN presente en la misma. Las interacciones entre genotipo de planta, medioambiente y microbioma, son desafíos prácticos para la integración exitosa de

microbiomas beneficiosos a los programas de mejoramiento y manejo agrícola. De hecho, el genotipo de la planta y los parámetros ambientales (tanto bióticos como abióticos) determinan los fenotipos de la planta, y los rasgos fenotípicos influyen en el subconjunto de microbios de la comunidad ambiental. Los métodos de manejo de cultivos (labranza, abono, riego, etc.) afectan principalmente el rendimiento, alterando las dinámicas de las interacciones genotipo-ambiente-microbioma, y pueden modificar el microbioma del cultivo directamente (Busby *et al.*, 2017). La metagenómica también es de interés primordial para la exploración de patologías complejas como la Pudrición del cogollo, que es de importancia para toda la industria de la palma de aceite en Colombia y Latinoamérica.

## Conclusión

El lanzamiento de la secuencia del genoma de la palma de aceite por parte de Singh *et al.* (2013a) ha generado grandes avances en su biotecnología. Incluso si un conocimiento y recursos moleculares considerables ya estaban disponibles antes de esta fecha (Rival & Jali-got, 2010), la disponibilidad de la secuencia del genoma aceleró varios proyectos de investigación que van desde la selección genómica hasta descifrar los componentes clave del rendimiento, tales como la proporción de sexos o la síntesis de aceite. Los hallazgos en áreas de vanguardia de la biotecnología contribuirán al cultivo sostenible de la palma de aceite, únicamente si el conocimiento es divulgado por la comunidad de investigadores y diseminado rápidamente como una innovación útil a los grupos de interés.

Las herramientas biotecnológicas y el mejoramiento molecular llegaron para quedarse, aunque no son indispensables para el mejoramiento de la palma de aceite. Actualmente, están cerrando la brecha entre la genética de cultivos de plantación y los avances biotecnológicos transversales que surgen de plantas modelo, anuales y perennes. Si bien no hay duda de que las herramientas biotecnológicas continuarán mejorando, el éxito final de su aplicación yace en la realización de pruebas de campo dedicadas (Soh, 2018) a suministrar datos confiables y a la validación de sus usos tanto en el mejoramiento como en la agronomía.

## Referencias

- Adam, H., Jouannic, S., Orioux, Y., Morcillo, F., Richaud, F., Duval, Y., & Tregear, J. W. (2007). Functional characterization of MADS box genes involved in the determination of oil palm flower structure. *Journal of Experimental Botany*, *58*, 1245-1259.
- Adam, H., Collin, M., Richaud, F., Beulé, T., Cros, D., ... & Tregear, J. W. (2011). Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Annals of Botany*, *108*, 1529-1537.
- Bai, B., Wang, L., Zhang, Y. J., Lee, M., Rahmadsyah, R., ... & Yue, G. H. (2018). Developing genome-wide SNPs and constructing an ultrahigh-density linkage map in oil palm. *Scientific Reports*, *691*, 1-7.
- Billote, N., Marseillac, N., Risterucci, A. M., Adon, B., Brottier, P., ... & Charrier, A. (2005). Microsatellite-based high-density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor Appl Genet.*, *110*(4), 754-65.
- Busby, P. E., Soman, C., Wagner, M. R., Friesen, M. L., Kremer, J., ... & Dangl, J. L. (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biology*, *15*(3), e2001793.
- Cochard, B., Amblard, P., & Durand-Gasselin, T. (2005). Oil palm genetic improvement and sustainable development. *OCL*, *12*(2): 141-147.
- Corley, R. H. V., & Tinker, P. B. (2016). *The oil palm* (5th Edition). London: Wiley & Sons Ltda.
- Cros, D., Bocs, S., Riou, V., Ortega-Abboud, E., Tisné, S., ... & Durand-Gasselin, T. (2017). Genomic preselection with genotyping-by-sequencing increases performance of commercial oil palm hybrid crosses. *BMC Genomics*, *18*, 839.
- Dussert, S., Guerin, C., Andersson, M., Joët, T., Tranbarger, T. J., Pizot, M., & Morcillo, F. (2013). Comparative transcriptome analysis of three oil palm fruit and seed tissues that differ in oil content and fatty acid composition. *Plant Physiology*, *162*, 1337-1358.
- Forster, B. P., Sitepu, B., Setiawati, U., Kelanaputra, E. S., Nur, F., ... & Caligari, P. D. S. (2017). Oil Palm (*Elaeis guineensis*). In: *Genetic Improvement of Tropical Crops*. Cham: Springer.
- Gan, S. T., Wong, W. C., Wong, C. K., Soh A. C., Kilian, A., ... & Mayes, S. (2018). High density SNP and DArT-based genetic linkage maps of two closely related oil palm populations. *Journal of Applied Genetics*, *59*, 23.
- Guerin, C., Joet, T., Serret, J., Lashermes, P., Vaissayre, V., Agbessi, M. D., & Durand-Gasselin, T. (2016). Gene coexpression network analysis of oil biosynthesis in an interspecific backcross of oil palm. *The Plant Journal*, *87*, 423-441.
- Kwong, Q. B., Teh, C. K., Ong, A. L., Chew, F. T., Mayes, S., Kulaveerasingam, H., & Harikrishna, J. A. (2017). Evaluation of methods and marker Systems in Genomic Selection of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *BMC Genetics*, *18*(107).
- Jaligot, E., Adler, S., Debladis, E., Beulé, T., Richaud, F., Ilbert, P., Finnegan, E.J., & Rival, A. (2011). Epigenetic imbalance and the floral developmental abnormality of oil palm. *Annals of Botany*, *108*, 1453-1462.
- Jaligot E., & Rival, A. (2015). Epigenetic variations: a trade-off between genome stability and phenotypic plasticity. In: Al-Khayri, J. M., Jain, S. M., and Johnson, D. V. (Eds.). *Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding, Biotechnology and Molecular Tools*. London: Springer.

- Jaligot, E., Hooi, W. Y., Debladis, E., Richaud, F., Beulé, T., Collin, M., Agbessi, M. D. T., ... & Rival, A. (2014). DNA methylation and transcriptional activity of the EgDEF1 gene and neighboring retrotransposons in mantled somaclonal variants of oil palm. *PLoS One*, *9*, e91896.
- Lee, M., Xia, J. H., Zou, Z., Ye, J., Alfiko, Y., Jin, J., & Wong, L. (2015). A consensus linkage map of oil palm and a major QTL for stem height. *Scientific Report*, *5*, 8232.
- Masani, M. Y. A., Noll, G. A., Parveez, G. K. A., & Sambanthamurthi, R. (2014). Efficient Transformation of Oil Palm Protoplasts by PEG-Mediated Transfection and DNA Microinjection. *PLoS ONE*, *9*(5), e96831.
- Meneghini, A. K., Nielsen, S., Varani, A. M., Thomas, T., & Carareto-Alves, L. M. (2017). Metagenomic analysis of soil and freshwater from zoo agricultural area with organic fertilization. *PLoS ONE*, *12*(12), e0190178.
- Montoya, C., Cochard, B., Flori, A., Cros, D., Lopez, R., ... & Billote, N. (2014). Genetic Architecture of Palm Oil Fatty Acid Composition in Cultivated Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Compared to Its Wild Relative *E. oleifera* (H.B.K) Cortés. *PLOS ONE*, *9*(6), e101628.
- Ong-Abdullah, M., Ordway, J. M., Jiang, N., Ooi, S.-E., Kok, S.Y., Sarpan, N., & Azimi, N. (2015). Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature*, *525*, 533-537.
- Parveez, G. K. A., Bahariah, B., Ayub, N. H., Masani, M. Y., Rasid, A., ... & Ishak, Z. (2015). Production of polyhydroxybutyrate in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) mediated by microprojectile bombardment of PHB biosynthesis genes into embryogenic calli. *Front Plant Sci.*, *6*, 598.
- Pootakham, W., Jomchai, N., Ruang-areerate, P., Shearman, J.R., Sonthirod, C., Sangsrakru, D., Tragoonrung, S., & Tangphatsornruang, S. (2015). Genome-wide SNP discovery and identification of QTL associated with agronomic traits in oil palm using genotyping-by-sequencing (GBS). *Genomics*, *105*, 288-295.
- Rival, A., & Jaligot, E. (2010). Oil palm biotechnologies are definitely out of infancy. *Oleagineux Corps gras Lipides*, *17*(6), 368-374.
- Rival, A., & Durand-Gasselin, T. (2013). Genotype and phenotype. Exploring the breeder's black box. En *Memorias XVII Conferencia Internacional sobre Palma de Aceite*. Cartagena, Colombia, 25-28 de septiembre de 2012.
- Rival, A., & Levang, P. (2014) *Palms of controversy: oil palm and development challenges*. Bogor: Cifor.
- Shearman, J. R., Jantasuriyarat, C., Sangsrakru, D., Yoocha, T., Vannav-ichit, A., Tragoonrung, S., & Tangphatsornruang, S. (2013) Transcrip-tome analysis of normal and mantled developing oil palm flower and fruit. *Genomics*, *101*, 306-312.
- Singh, R., Low, E. T. L., Ooi, L. C. L., Ong-Abdullah, M., Chin, T.N., Nagappan, J., Nookiah, & R. (2013a). The oil palm SHELL gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK. *Nature*, *500*, 340-344.
- Singh, R., Ong-Abdullah, M., Low, E. T., Manaf, M. A., Rosli, R., Nookiah, R., Ooi, L. C., & Ooi, S. E. (2013b). Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and new worlds. *Nature*, *500*, 335-339.
- Soh, A. C., Mayes, S., & Roberts, J. A. (Ed.). (2017). *Oil Palm Breeding: Genetics and Genomics*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Sodano, V., Rivero, R., & Scafuto, F. (2018). Investigating the intention to reduce palm oil consumption. *Calitatea*, *19*(S1), 500-505.

- Soh, A. C. (2018). Applications and challenges of biotechnology in oil palm breeding. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science*, 183, 012002.
- Teh, C. K., Ong, A. L., Kwong, Q. B., Apparow, S., Chew, F. T., Mayes, S., ... & Kulaveerasingam, H. (2016). Genome-wide association study identifies three key loci for high mesocarp oil content in perennial crop oil palm. *Scientific Reports*, 6, 19075.
- Tranbarger, T. J., Dussert, S., Joët, T., Argout, X., Summo, M., Champion, A., & Cros, D. (2011). Regulatory mechanisms underlying oil palm fruit mesocarp maturation, ripening, and functional specialization in lipid and carotenoid metabolism. *Plant Physiology*, 156, 564-584.
- Tranbarger, T. J., Fooyontphanich, K., Roongsattham, P., Pizot, M., Collin, M., Jantasuriyarat, C., Suraninpong, P., & Tragoonrung, S. (2017). Transcriptome Analysis of Cell Wall and NAC Domain Transcription Factor Genes during *Elaeis guineensis* Fruit Ripening: Evidence for Widespread Conservation within Monocot and Eudicot Lineages. *Frontiers in Plant Science*, 8, 603.
- Yenchon, S., & Te-chato, S. (2012). Effect of bacteria density, inoculation and co-cultivation period on *Agrobacterium*-mediated transformation of oil palm embryogenic callus. *Journal of Agricultural Technology*, 8, 1485-1496.