

Cultivos de Tejidos*

1. INTRODUCCION

La mayor parte del trabajo que estoy realizando en la actualidad se relaciona con la propagación vegetativa de la palma aceitera, utilizando el cultivo de tejidos.

La propagación vegetativa, en cualquier tipo de planta, permite sembrar material que sea idéntico desde el punto de vista genético. Esto significa que es posible seleccionar las palmas de mayor rendimiento, propagarlas vegetativamente y hacer grandes plantaciones con un material que presenta la misma composición genética y de alto rendimiento.

Cuando la palma aceitera proviene de una semilla, tal como sucede actualmente, cada plántula es diferente de las demás y al tiempo que se tienen en una parcela algunas palmas de muy alto rendimiento, se encuentran otras cuyo rendimiento es pobre. También, y como ejemplo, cuando se cruzan dos Teneras, en la descendencia resulta una mezcla de Duras de cuesco grueso, Teneras de cuesco delgado y Pisíferas sin cuesco; el espesor del cuesco está controlado por un solo gen. En una característica como el rendimiento de aceite, que está controlado por muchos genes, el rango de variación en una progenie de plantas de semillero es aún mayor que el que se observa para espesor del cuesco. Con la propagación vegetativa, lo anterior cambia por completo y mediante el uso de este sistema se evitan tales diferencias.

2. CULTIVO DE TEJIDOS

El proceso de cultivo de tejidos que estamos utilizando fue desarrollado por uno de los laboratorios de investigación de UNILEVER en In-

glaterra. Cuando se logró desarrollar la técnica, nosotros comenzamos a trabajar en el laboratorio en Malasia, desde hace unos tres años. Nuestra intención es producir material de siembra, a nivel comercial, mediante el cultivo de tejidos, con el fin de reemplazar las semillas.

Empezamos con una palma seleccionada de alto rendimiento y tomamos pedazos de tejido de diversas partes: de las raíces, del meristemo apical, de las inflorescencias jóvenes y de las hojas jóvenes. Hemos utilizado todas estas clases de tejidos y con todos ellos se puede hacer la propagación vegetativa; es posible quitar tejidos de inflorescencias jóvenes sin lesionar mucho la palma; el uso del meristemo apical mismo mata la palma y, en la actualidad, se trata de no utilizar tejidos de esta parte, sino trabajar con los otros que ya he mencionado. En la mayor parte del trabajo empleamos las raíces, ya que con ellas se logran los mejores resultados.

Los pedazos de tejido se colocan en un cultivo estéril sobre un medio de agar que contiene nutrientes, hormonas, vitaminas, etc..

No se sabe claramente cómo sucede, pero a partir del pedazo inicial de tejido se desarrolla, en primer término, un callo. Este es un tipo de tejido indiferenciado que crece más bien como un cáncer; y continúa creciendo casi indefinidamente. De tal manera que de un solo pedazo de raíz podemos obtener en tubos de ensayo, literalmente, miles de especímenes idénticos de callo.

De un solo pedazo de raíz podemos obtener un salón lleno de recipientes de cultivo, cada uno de los cuales contiene un pedazo de callo que es idéntico, desde el punto de vista genético, a la palma de donde provino el pedazo de raíz original. Luego, a partir del callo, cambiamos la composición hormonal del medio de cultivo. De ahí, se desarrollan pequeños embriones; estos embriones se convertirán en retoños, que se pueden separar y colocar en medio propicio para el desarrollo de raíces.

* Resumen de la Conferencia dictada por el Doctor H. Corley en la III CONFERENCIA SOBRE LA PALMA DE ACEITE. Bucaramanga, noviembre 1979. FEDE PALMA.

3. EL PROCESO

Los embriones que se desarrollan de los callos tienen aproximadamente 2 ó 3 milímetros de largo; son muy pequeños y similares a los embriones de una semilla de palma de aceite. Luego se empiezan a desarrollar hasta convertirse en pequeños retoños. A medida que éstos crecen se pueden separar, y cada retoño individual se coloca en medio para inducir la producción de raíces. Este proceso no es muy claro, pero la planta ya ha desarrollado un gran número de raíces y está casi lista para ser sembrada en el vivero. A partir de este punto, las plántulas crecerán exactamente igual a las de semillero y en esta etapa parecen más una maleza (*Imperata cylíndrica*), pero en realidad son palmas de aceite, todas idénticas desde el punto de vista genético.

Palmas logradas mediante cultivo de tejidos se han sembrado en el campo y están creciendo bastante bien. Dos años después de la siembra, ya se encontraba un buen número de racimos en las primeras palmas, las cuales tienen una apariencia muy normal. Hemos germinado algunas de las semillas y obtenido plantas normales a partir de ellas. Al examinar la viabilidad del polen se ha encontrado que es bastante normal. De tal manera que, aunque han sido producidas a través del cultivo de tejidos, parecen tener un comportamiento exactamente igual al de las aceiteras comunes, lo cual es un hallazgo muy alentador.

Para resumir el proceso, diremos que se toma de una palma superior (una palma seleccionada) un pedazo de tejido y se pone en un cultivo estéril. A partir de dicho tejido se desarrolla un callo. Este se puede multiplicar para obtener grandes cantidades de cultivos. De los callos se desarrollan pequeños embriones y luego plántulas que se pueden sembrar para lograr un clon seleccionado; clon superior que es idéntico a la palma de donde se obtuvo el material.

4. VARIACIONES

La variación entre las plantas de un clon es mucho menor que entre las provenientes de Bemia. Por supuesto, esto era de esperarse en teoría, pero es muy alentador descubrir que también es cierto en la práctica. Desde luego que sigue habiendo alguna variación entre las plantas porque siempre la hay en el suelo, principalmente en su profundidad y fertilidad; sin embargo, la variación es mucho menor puesto que

no hay variación genética entre ellas.

Los primeros hallazgos confirman que el material clonal es más uniforme que el de semillas, tal como se esperaba. En general, esto podría ser una ventaja, pero existen algunas áreas en las que podría ser una desventaja.

Al comparar el porcentaje de inflorescencias femeninas y la relación sexual, contra el número de hojas y el tiempo de la secuencia de aparición de hojas consecutivas, se encuentra que para las plantas de semilla la relación sexual aumenta pero fluctúa de un mes a otro; en un corto período alcanza el 100%, pero en general fluctúa alrededor de 80% de inflorescencias femeninas, de tal manera que siempre hay una producción de flores masculinas en la población de plantas de semillero. Cuando se observan las plantas provenientes de clones, vemos que se presenta un cambio muy rápido entre una producción de flores totalmente masculinas a flores totalmente femeninas, es decir, un ciclo de floración muy definido. Esto confirma la uniformidad, pero una situación como ésta podría conducir a graves problemas de polinización. Si no hay producción de flores masculinas no habrá polinización natural. Es posible que se logre superar esta situación sembrando mezclas de clones; dos o más clones juntos. Pero incluso un hecho como éste se puede convertir en una ventaja, ya que los cultivadores podrán estar seguros de que durante un período determinado, una parcela sembrada con este tipo de material no necesitará ser cosechada.

Es conveniente aclarar que los primeros clones no fueron producidos a partir de padres seleccionados, debido a la dificultad para obtener tal material en Inglaterra. En la actualidad, el trabajo que estamos realizando con los tejidos en Malasia se hace con progenitores seleccionados. Los primeros clones obtenidos de estas palmas ya están en el vivero, pero aún no tenemos siembras en el campo.

Se cuenta con algunas plantas obtenidas de una palma seleccionada. Esta palma, en particular, si mal no recuerdo, tenía un rendimiento de cerca de 80 kg. de aceite por año. Esperamos poder sembrar campos enteros con estas palmas, cuyo rendimiento individual será de 80 kg.

5. DURACION DEL PROCESO

Seleccionados los posibles padres, el proceso de cultivo de tejidos en sí requiere al menos dos

años para producir plantas en el vivero; luego, deben pasar alrededor de un año allí. Hay un período de inmadurez de cerca de dos años y medio, antes de que las palmas empiecen a producir en el campo. Por último, se necesita un mínimo de dos años, y tal vez más, para identificar los mejores clones, llevando un registro del rendimiento de las palmas cuando empiezan a producir. De manera que para producir clones probados, de buena calidad, se requiere mucho tiempo.

Al seleccionar un buen padre, no hay seguridad de que se trata de una palma de alto rendimiento; es decir, no podemos estar seguros si es una buena palma desde el punto de vista genético o si simplemente tiene un alto rendimiento porque está sembrada en un buen terreno. Por lo tanto, es necesario examinar los clones en todos los casos. Actualmente, los primeros clones de palmas seleccionadas van a entrar en el vivero. Tendrán que pasar otros tres años antes de que produzcan racimos y otros dos años, o más, antes de saber cuáles son los clones buenos dentro del grupo. Así, a pesar de que estamos progresando en el trabajo, vamos muy lentamente. Tendrán que transcurrir varios años para poder llegar al punto de vender plantas de éstas.

El plan es, en un futuro, vender material vegetal a cualquier persona que esté en capacidad de comprarlo, y el tipo de planta que se espera vender en Malasia tendrá tres o cuatro hojas y estará sembrada en una pequeña maceta hecha de turba y fibra de madera. La ventaja de este sistema es que las raíces crecen por entre las paredes de la maceta y así es posible transplantar las plántulas directamente a bolsas de polietileno en el vivero, sin que sufran ningún daño por el cambio.

La otra posibilidad es ofrecer una plántula en un tubo de ensayo. El problema que presenta este sistema es que es muy difícil transplantar las plántulas del tubo de ensayo a la tierra. En las primeras siembras que hicimos perdimos más del 50% de las plantas, aunque después de algunos experimentos hemos logrado una supervivencia de más del 90% después de la siembra. Sin embargo, sigue siendo difícil sembrarlas y, en general, sería mejor para los cultivadores comprar plantas que ya estuvieran establecidas en el vivero.

6. CARACTERISTICAS DE LAS PALMAS

Ahora, es bueno analizar brevemente algunas

de las diversas características que estamos tratando de seleccionar al buscar las palmas progenitoras. La característica más obvia, desde luego, es un alto rendimiento de aceite; la resistencia a las enfermedades, de especial importancia en algunas partes de Colombia; la calidad del aceite es otro aspecto importante, que adquiere cada vez mayor trascendencia, debido a que en la medida que los proveedores de aceite de palma aumenten en el mundo, los compradores se van a volver cada vez más exigentes en relación con lo que están dispuestos a comprar. Otro aspecto que se debe tener en cuenta es la altura de los troncos, ya que cuando son cortos la recolección de frutos es mucho más fácil. Existen otras características menores que iremos recordando, pero, repito, la más importante de todas es el alto rendimiento, la mayor cantidad de toneladas por hectárea; hago énfasis en este punto. no necesariamente queremos el máximo rendimiento por palma, sino el máximo rendimiento por hectárea.

6.1. Rendimiento. En un gran experimento, realizado en Malasia para observar las diferentes densidades de siembra, había desde 110 hasta 230 palmas por hectárea, de tal manera que se tenía una amplia gama de densidades. Con 110 palmas por hectárea, que es una cantidad menor de la que recomendamos nosotros o de la que recomendaría cualquier persona para la siembra, el rendimiento de cada palma individual es muy bueno pero toda la tierra que queda libre es luz solar desperdiciada, luz que las palmas no están utilizando. Por lo tanto, desde el punto de vista de un cultivador de palma aceitera, se trata de luz desperdiciada.

A una mayor densidad de siembra, es decir, 230 palmas por hectárea, la intercepción de la luz solar es mucho más eficiente, pero desafortunadamente el rendimiento de los racimos en esta densidad es muy bajo; la mayor parte de la producción de la palma se centra en la formación de más hojas y más tronco y muy pocos racimos. A medida que se aumenta el índice de área de hojas, incrementando el número de palmas por hectárea, la producción total de materia seca y la fotosíntesis total de la población de palmas sigue aumentando y podemos obtener 40 toneladas de materia seca por hectárea, pero el rendimiento de los racimos disminuye para cuando se llega a densidades de siembra tan altas. El mayor rendimiento de los racimos se obtiene de una

densidad mucho más baja, en donde no se logra el máximo posible de materia seca.

En nuestra selección, quisimos tener palmas que se pudieran sembrar a esta densidad y cuyos racimos sigan el patrón de rendimiento similar, sin disminuir; esto es algo que estamos tratando de hacer en nuestro programa: buscar palmas cuyo rendimiento de racimos siga aumentando a medida que aumentamos la densidad de siembra. Se presenta la posibilidad de obtener 40 toneladas de materia seca y sacar un 40% en forma de racimos; se producirán 32 toneladas de racimos, o tal vez más. Hay muchas posibilidades, si se encuentran las palmas adecuadas y, ciertamente, las estamos buscando. Estamos realizando ensayos de densidad de siembra con algunos de los primeros clones, utilizando el diseño de experimentación ya mencionado, en el cual la densidad de siembra aumenta de una punta del camino a la otra. De tal manera que en una sola hilera de palmas, tenemos una densidad muy alta en un extremo y una densidad muy baja en el otro extremo. Esto permite probar una gran cantidad de densidades de siembra dentro de un área muy reducida.

La polinización es muy importante. Estoy seguro de que todos han sido racimos que se pudren a causa de una mala polinización, racimos con muchos frutos no polinizados. Esto se puede superar en parte mediante la polinización asistida en las palmas jóvenes; pero la polinización asistida es costosa. En partes de Malasia, especialmente en la región de Sabah, es necesario continuar haciendo la polinización asistida incluso en palmas de 8 o 9 metros de altura, lo cual se hace aún mucho más costoso. De hecho, se ha desarrollado una máquina especial para polinizar estas palmas tan altas, pero lo más necesario es seleccionar palmas que no requieran polinización asistida. Esto significará un aumento en el número de flores masculinas por palma, para no tener que obtener el polen de otras fuentes.

En la mayoría de las áreas del mundo, la palma de aceite es polinizada por los insectos. Esto es algo que se sabe muy bien aquí en Colombia, pero en África, hasta hace dos años, siempre se había supuesto que eran polinizadas por el viento. En Malasia también se creía que las palmas eran polinizadas por el viento, pero investigaciones recientes realizadas en

UNILEVER han demostrado que, en todas estas áreas, los insectos polinizan las palmas de aceite. En áreas como Sabah, en el oriente de Malasia, hay problema de polinización en las palmas viejas y dicho problema se debe a que allí no hay insectos polinizadores y, por lo tanto, tendrán que continuar haciendo la polinización asistida manual.

No es una respuesta genética al problema, pero en esta área están tratando de introducir insectos para que realicen la polinización. Por otra parte, es importante seleccionar palmas que sean atractivas para los insectos; por lo tanto al hacer la selección se debe tener en cuenta el aroma de las flores.

6.2. Calidad del Aceite. La calidad del aceite es de importancia. La llamada "palma albescens" o mejor "palma de fruto albescente" es una palma aceitera africana normal, pero con un contenido muy bajo de caroteno en el aceite, el cual es de color muy pálido y no necesita casi ningún blanqueador, de tal manera que podría ser de gran valor en la industria. En la actualidad el problema con las palmas albescens es que todas las que se conocen tienen cuercos muy gruesos, con muy poco mesocarpio y con un rendimiento muy bajo de aceite por palma, pero se están haciendo algunas investigaciones y experimentos de producción para lograr palmas de éstas con mayor rendimiento.

Otro aspecto que se debe considerar en la calidad del aceite es la producción de híbridos. La *Elaeis* oleífera cruzada con *Elaeis* guineensis da un aceite más líquido que también es de valor en la producción industrial, ya que es mejor para el fraccionamiento que el aceite de palma común. Creo que ustedes en Colombia tienen más experiencia en híbridos que nosotros en Malasia, pero según entiendo, el nivel de ácidos grasos libres en el aceite producido por un híbrido tiende a ser menor. Es mucho más fácil producir un aceite con acidez baja partiendo de un híbrido que de la *E. guineensis*. Por lo tanto, ésta es una posible ventaja para los híbridos. Por supuesto, tienen muchas más.

6.3. Resistencia a Enfermedades. En África Occidental se presenta una enfermedad bastante grave: el marchitamiento por *Fusarium*. Es posible hacer una selección para la resistencia contra el *Fusarium*.

Muchas de las investigaciones en este campo se han realizado en África Occidental y un ejemplo del tipo de resultados que se pueden obtener es el siguiente: al sembrar cada una de cuatro hileras con una progenie diferente de un cruce diferente, e inmediatamente antes de la siembra, inoculando las plántulas con el hongo Fusarium, se ha observado que hay progenies resistentes y altamente susceptibles. Por consiguiente, mediante este tipo de selección en el vivero es posible eliminar progenies susceptibles del material para siembra comercial y aumentar así la resistencia general al Fusarium. Lo anterior podría aplicarse muy bien a algunas de las enfermedades que tienen aquí.

6.4. Altura del Tronco. La altura del tronco es una característica de gran importancia. En Malasia cosechar una palma de 8 o 9 años no es muy difícil, pero con la rápida expansión de las plantaciones se está desarrollando un problema de escasez de mano de obra, ya que cuando se trata de cosechar palmas de gran tamaño no se encuentra mucho personal para hacerlo. La cosecha se lleva a cabo con una vara larga de bambú, con un cuchillo en la punta, pero los trabajadores prefieren cosechar palmas pequeñas. Es seguro que el problema aumentará a medida que la industria se vaya expandiendo y que ustedes tendrán el mismo problema aquí a medida que la industria local también vaya aumentando. Por consiguiente, sería muy ventajoso si se pudieran producir palmas más cortas, para hacer menos laboriosa la recolección. Existen diversas posibilidades.

En África Occidental se encuentra una palma aceitera común, pero de una variedad particular. Una palma de éstas a los 13 años de edad tenía los racimos a más o menos dos metros del suelo, o sea que es una palma con un tronco muy corto. Las palmas son muy pequeñas y ciertamente se podrían sembrar grandes números de plantas por hectárea para obtener un alto rendimiento. Pero, en la actualidad, la calidad del fruto es muy mala y el contenido de aceite de los racimos es muy pobre. Se están utilizando palmas de este tipo en programas de producción, para tratar de obtener troncos más cortos.

Una de las principales ventajas de la Elaeis oleífera, la palma Noli, es que tiene el tronco muy corto. Aparte de los troncos cortos, la

Noli tiene otras ventajas: el aceite tiene un alto contenido de ácidos grasos no saturados que, como mencioné anteriormente, es una característica deseable, y también es resistente a las enfermedades; existe alguna evidencia de que es resistente al Ganoderma, que es una enfermedad importante en Malasia, y aquí ha demostrado ser resistente a la pudrición del cogollo. Por lo tanto, los híbridos entre *E. oleífera* y *E. guineensis* tienen la posibilidad de adquirir cada vez una mayor importancia.

Se están haciendo muchos trabajos experimentales con híbridos en Malasia. Todavía no hay siembras a nivel comercial, pero espero que se hagan en un futuro próximo.

Regresando, entonces, al cultivo de tejidos, les diré que lo estamos realizando con palmas híbridas. Hasta ahora hemos llegado a la etapa de los callos y aunque no hemos logrado regenerar embriones o plántulas de tal material, hemos obtenido callos y nuestros cultivos parecen normales. Creemos firmemente que podremos utilizar el proceso de cultivo de tejidos con los híbridos.

7. RESUMEN

Para resumir volveré al cultivo de tejidos, que es tal vez el más importante entre los puntos que he tratado. Estamos cosechando racimos de las primeras palmas provenientes de clones obtenidos del cultivo de tejidos; se ha encontrado, como era de esperar, que la variación entre las palmas clonales es menor que entre las plantas provenientes de semilla. Ya tenemos en el vivero plantas producidas a partir de palmas seleccionadas de alto rendimiento y, si todo sale de acuerdo con nuestros planes, esperamos tener material listo para la venta antes de 1986.

Los primeros clones provenían de padres no seleccionados y es poco probable que tuvieran mucho valor comercial, pero las palmas de dos años de edad se ven bastante bien. Algunas palmas de estos clones a los tres años ya habían dado cerca de 60 kilogramos de racimos por palma, que no es una cifra despreciable; es aceptable y ciertamente sugiere que podremos tener mejores resultados en el futuro.

8. ALGUNAS PREGUNTAS

P/El componente hormonal que utilizan, es sintético o es un componente de la planta¹?

R/Estamos utilizando hormonas totalmente sintéticas; son productos muy similares a algunas de las hormonas naturales.

Pl Usted se refirió a una posible venta en el futuro y nos mostró algunas diapositivas de plantas sembradas en macetas. ¿Cómo sería el transporte de estas plantas, digamos, desde Malasia hasta América?

R/De Malasia a América se transportaría el material en tubos de ensayo, lo cual resultaría más fácil y menos costoso, y aquí se establecería una unidad de vivero. En dicha unidad de vivero se sembrarían las plantas en las macetas, quedando listas para la venta a los cultivadores.

Pl ¿Cuál será el costo de producción de este tipo de plántulas en comparación con las plantas de semillero? ¿Cuántas veces se elevaría su valor?

R/El costo de producción es difícil de calcular con exactitud. En la actualidad en Malasia una planta de vivero, una planta proveniente de semilla con tres o cuatro hojas y en bolsa de polietileno, cuesta cerca de un dólar malayo. Esperamos poder vender el material de cultivo de tejidos en la misma etapa por unos cinco dólares, de manera que el costo sería cinco veces mayor. Pero, también calculamos que es muy posible que el rendimiento sea 30% mayor, luego el costo extra del material vegetal se podrá recuperar muy rápidamente.

P/ Al seleccionar las mejores palmas en una plantación específica, se podrían obtener mejores resultados en cuanto se refiere a la producción, la resistencia a las enfermedades locales, etc. ¿Quisiera usted hacer algún comentario sobre este punto?

R/Creo que es así, especialmente cuando existen enfermedades graves como es el caso de Colombia. Me parece muy importante que se haga la selección a nivel local o que se ensayen los clones a nivel local antes de sembrarlos a escala comercial. Ciertamente es nuestra intención tratar de ensayar los clones en tantas áreas como sea posible. También esperamos obtener material para cultivo, proveniente de palmas seleccionadas de tantos lugares como sea posible.

P/El patrón que usted mostró en las palmas pequeñas muestra inflorescencias totalmente nuevas en un período de varios meses, según

entendí. Todos los clones que ustedes tienen producen el mismo patrón? ¿O muestran todos diferentes patrones en lo referente a la relación macho—hembra?

R/Cada clon muestra un patrón diferente, tal como cada planta en una población de plantas provenientes de semilla muestra un patrón diferente. Pero todas las plantas dentro de un clon tienden a comportarse en una forma bastante similar. Si observamos una pequeña parcela con unas 10 palmas, el patrón dentro de ella será muy uniforme entre las plantas, pero si miramos otra parcela del mismo clon, sembrada a unos 200 o 300 metros de diferencia, tendemos a encontrar un patrón ligeramente distinto, de donde se desprende que el medio ambiente ejerce un efecto considerable. Creo que no encontraríamos en nuestras parcelas exactamente el mismo patrón y que aún es posible que tengamos problemas.

P/Es posible tomar tejidos de una planta que haya resultado del proceso de cultivo de tejidos para producir nuevas plantas y nuevos cultivos?

R/Repetir el proceso? Sí, es perfectamente posible, y ya lo estamos haciendo con las primeras plantas que tenemos en el campo. Ya hemos establecido cultivos por segunda vez.

P/El principio establecido para la reproducción de las plantas mediante el cultivo de tejidos podría aplicarse a especies animales?

R/No. La diferencia entre las plantas y los animales es que cualquier célula de una planta siempre contiene toda la información genética para reconstruir la planta; toda la información genética está allí; por lo tanto, es posible tomar una célula de una hoja, colocarla en cultivo y tener el potencial para producir flores, raíces, tallos. En el caso de los animales, a medida que éstos se desarrollan, las células van perdiendo la información; de manera que si se toma una célula hepática, por ejemplo, es posible colocarla en un medio de cultivo y producir toneladas de hígado, pero no podrá producir más. La anterior parece ser, entonces, la gran diferencia entre las plantas y los animales: al desarrollarse la planta cada una de sus células continúa con toda la información necesaria; en los animales esta información se pierde.