



Clones de palma de aceite: estado actual de las perspectivas para su uso comercial

Oil palm clones: Current status and perspectives for commercial use

N. RAJANAIDU
B.S. JALANI¹

RESUMEN

SUMMARY

El método actual de cultivo de tejidos está limitado por la baja tasa de éxito en los estados de formación de callo, embriogénesis y poliembriogénesis. Es necesario mejorar todas estas etapas con el fin de limitar el número de subcultivos necesarios para producir un número razonable de plántulas de cultivo de tejidos normal por ortet. Hasta el presente, el desempeño de los clones derivados de ortets seleccionados de alta producción de aceite no es consistente para la producción de racimos y de aceite. Sin embargo, la característica aceite/racimo (A/R) se transmite bien a los clones. Vale la pena hacer más énfasis en caracteres altamente hereditarios como A/R, nuez/racimo, altura y la composición de ácidos grasos en la selección de ortets. El prospecto inmediato de esta técnica es el de desarrollar semillas biclonales; es decir, multiplicar los progenitores de los cruces elite DxP mediante la multiplicación clonal de los progenitores y utilizarlos para producir semillas del híbrido DxP. Los datos publicados hasta el momento sobre el desempeño de los clones no son claros como para la comercialización o siembra a gran escala de clones de palma de aceite. Sin embargo, Agrocom, en Malasia, ha demostrado que los clones se pueden sembrar comercialmente a escala limitada.

The current tissue culture method is limited by the low success rate at the callusing, embryogenesis and polyembryogenesis stages. All these steps must be improved in order to limit the number of sub-cultures to produce a reasonable number of normal tissue culture plantlets per ortet. To-date the performance of clones derived from selected high oil yielding ortets is not consistent for FFB and oil yield. However, the trait O/B is well transmitted to the clones. It is worthwhile to place more emphasis on highly heritable traits such as O/B, K/B, height and fatty acid composition in the selection of ortets. The immediate prospect of this technique is to develop biclonal seeds i.e. to multiple the parents of elite DxP crosses through clonal multiplication of parents and use them to produce the hybrid DxP seeds. The present published data on the performance of clones are not clear for the commercialization or large scale planting of oil palm clones. However, Agrocom in Malaysia has shown that clones can be planted commercially in a limited scale.

Palabras claves: Palma de aceite, Fitomejoramiento, Clones, Cultivos de tejidos.

1. Instituto de Investigación de Aceite de Palma de Malasia (PORIM).

INTRODUCCION

La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) es un cultivo de polinización cruzada que se cultiva en muchos países tropicales de Asia, Africa, Sur y Centro América, como fuente de aceite vegetal. Se propaga exclusivamente por semillas, las cuales son heterocigotas en la naturaleza (Fig. 1). Las semillas comerciales se venden como una mezcla de cruces, porque un racimo solo produce únicamente un número limitado de semillas.

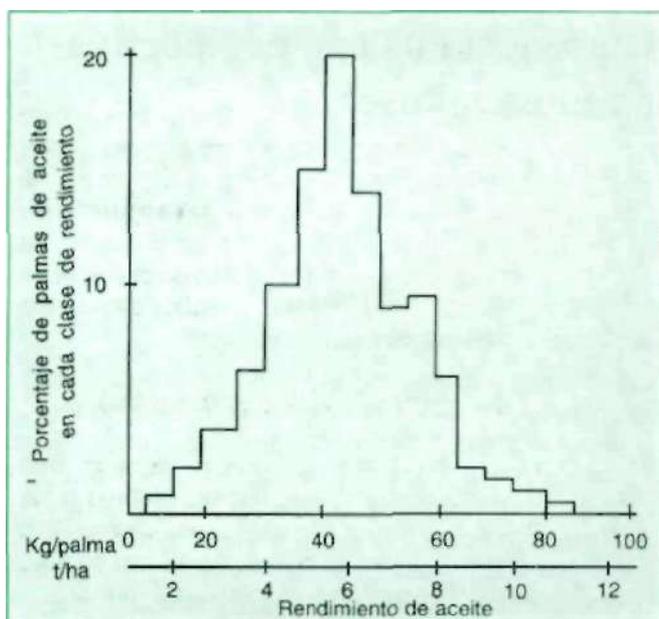


Figura 1. Variación en rendimiento de aceite por palma de un DxP

Una sola palma de aceite es de suma importancia en términos de valor monetario. Durante su vida útil, de más de 20 años en el campo, la palma produce aproximadamente 150 kg (10 racimos x 15kg) de racimos de fruta fresca (RFF) por año y 3 toneladas durante un período de 20 años. Su valor alcanza aproximadamente US\$150 por palma. Por lo tanto es importante invertir inicialmente aproximadamente de US\$1 a 5 en semillas/clones de productores bien reconocidos de material de siembra de palma de aceite.

El método convencional de mejoramiento y producción de semillas es dispendioso, y las semillas así producidas tienen un alto grado de heterogeneidad. Por consiguiente, la propagación vegetativa de la palma de aceite por cultivo de tejidos constituye una propuesta altamente atractiva para este costoso cultivo.

En la actualidad, a nivel mundial, se producen aproximadamente 120 millones de semillas por año para siembra. Por consiguiente, existe un mercado ya dispuesto para clones de palma de aceite de alta productividad. Se esperan incrementos en el rendimiento del 12 al 30% con la siembra de clones en comparación con la siembra convencional de plántulas DxP (Hardon al. 1982, Soh 1986; Meunier at. 1988).

El éxito de la propagación vegetativa de la palma de aceite por la técnica de cultivo de tejidos fue reportado por Jones (1974) y Rabechault y Martin (1976). En la actualidad se han establecido unos 20 laboratorios de cultivo de tejidos de palma de aceite a nivel mundial para la explotación comercial de esta técnica (Tabla 1). Diez de estos laboratorios se encuentran en Malasia. Hasta el momento, mínimo dos laboratorios comerciales de palma de aceite, Unifield TC en el Reino Unido y TropiClone en Francia, han dejado de funcionar. Las actividades del cultivo de tejidos en Unilever y CIRAD-ORSTOM han sido reducidas considerablemente.

Recientemente, Jones et al. (1993), Corley (1991), Corley et al. (1993) y Soh et al. (1989) han revisado el avance de los clones de palma de aceite y la técnica de cultivo de tejidos.

En este trabajo se pretende destacar la situación actual de la técnica de cultivo de tejidos, los aspectos relacionados con los problemas de anomalía y sus implicaciones en la producción de clones de palma de aceite para producción comercial.

ESTADO ACTUAL DE LA TECNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS PARA PROPAGAR LA PALMA DE ACEITE

El proceso del cultivo de tejidos de palma de aceite está bien desarrollado. Este comprende selección de ortets, muestreo de explantes, iniciación de callos, subcultivo de callos, embriogénesis, regeneración de brotes, enraizamiento y endurecimiento de ramets y evaluación de campo de los clones (Fig. 2).

Selección de Ortets

Es práctica rutinaria seleccionar las mejores palmas *tenera* en los ensayos de mejoramiento. Normalmente se seleccionan los ortets de las mejores familias y se elige el primer 5 a 10% de las palmas de alto rendimiento para el proceso de clonación.

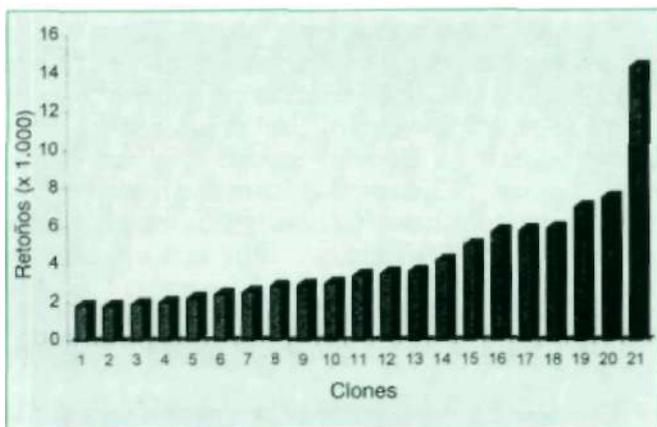


Figura 2. Producción de brotes en un periodo de 2 años en cultivo.

Los ortets se eligen sobre la base de su rendimiento de aceite, altura, composición de ácidos grasos, índice de racimo, libertad de enfermedades de la corona, etc.

En la actualidad se enfatiza en una relación aceite/racimo (A/R) de más del 30%. Esta se transmite bien de los ortets a los clones (Boudouin y Durrand-Gasselin 1991). Aunque la heredabilidad de la producción de RFF es baja, sigue siendo importante seleccionar ortets para una alta producción de RFF de >200 kg/palma/año. Boudouin et al. (1993) propusieron una técnica de suavizamiento para minimizar el efecto del ambiente en la selección de ortets.

Tabla 1. Laboratorios de cultivo de tejidos de Palma de Aceite en el mundo

Francia	=	CIRAD - CP
UK	=	Unilever (PBI)
Malasia	=	Felda, PORIM, AAR, Sime Darby, IOI, Pamol, Golden Hope, United Plantations, DOA Sabah, Agromac.
Indonesia	=	Marihat, Socfindo, Bah Lias.
Costa Rica	=	ASD
India	=	Hindustan Lever, Central Plantation Crop Research Institute
Nigeria	=	NIFOR
Costa de Marfil	=	IDEFOR

Tabla 2. Producción de callos de Ortets *tenera* Seleccionados con Explantes de Hoja Inmaduros

Edad (años)	No. de Palmas	Rango de Producción de Callo después de 6 meses en Cultivo (%)
9-10	36	5,2 a 54,6
14-16	39	4,9 a 60,1
22-23	41	5,5 a 61,3

Fuente :Wooi (1993)

Muestreo de Explantes

La mayoría de los laboratorios hacen el muestreo de brotes jóvenes no abiertos (-4 a -9) como fuente de los explantes. Esto provee cerca de 2.000 explantes por ortet, libres de cualquier contaminación, a diferencia de las raíces.

Wooi (1993) demostró que hay un amplio rango de producción de callos de explantes de hoja inmaduros y la edad de los ortets no pareció ser un factor que influyera en la producción de callos (Tabla 2).

Formación de Callos

Ginting et al.(1993) indicaron que la tasa de producción de callo depende del origen genético de los ortets. Varios informes señalan que el origen La Me puede producir de 20 a 60% de callos en comparación con el Yangambi que sólo produce de 5 a 20% después de 3 a 5 meses de cultivo. Esto demuestra que la formación de callos tiene sólo un 50% de éxito y que existe un amplio campo para mejorar aún más esta etapa.

Embriogénesis (formación de embrioides)

Los callos se transfieren a un medio diferente para obtener embrioides. Esta etapa representa un importante factor limitante debido a su alta impredecibilidad. Para los ortets que fueron embriogénicos, el porcentaje promedio de embriogénesis de cultivos de callos proliferantes fue de 50 a 60% (Tabla 3). La edad de los ortets no parece afectar la tasa de embriogénesis para los cultivos de callos (Wooi 1993).

Tabla 3. Embriogénesis de ortets *tenera* seleccionados durante un periodo de dos años en cultivo

Edad (años)	Ortets	Embriogénicos	Porcentaje
9-10	18	11	61,1
14-16	39	21	53,8
22-23	41	22	53,7

Fuente: Wooi (1993)

Varios estudios indican que el éxito de la embriogénesis en híbridos interespecíficos es más alto que en *dura*, *tenera* o *pisifera* (Wooi 1993)(Tabla 4).

El tiempo necesario para obtener los embrioides puede variar considerablemente según los clones. Algunos clones (10%) producen embrioides al cabo de un mes de

Tabla 4. Embriogénesis de distintos tipos de ortets durante un período de dos años en cultivo

Tipo de Palma	Ortets	Embriogénesis	Porcentaje
Tenera	98	54	55,1
Dura	12	3	25,0
Pisifera	26	6	23,1
Hibrido Interespecifico (E.o x E.g)	10	7	70,1

Fuente :Wooi (1993)

cultivo, mientras que otros (50%) pueden demorar de 2 a 6 meses y otros de 12 a 24 meses. Los embrioides necesitan otros 2 a 4 meses para convertirse en embrioides maduros o poliembrioides (Ginting et al. 1993).

Wooi (1993) demostró diferencias significativas en la regeneración de los brotes. Los resultados, basados en 21 clones con cultivos poliembriónicos establecidos, demostraron que:

- 1) El número total de líneas embriogénicas producidas fue de 135.
- 2) El número de líneas producidas por ortet varió de 1 a 17.
- 3) El 31,9% de las líneas no se establecieron.
- 4) El 17,8% de las líneas produjeron de 4 a 200 brotes.
- 5) El 50,4% de las líneas produjeron cultivos poliembriónicos. El número de brotes producido varió de 0 a 3.500 después de 2 años de cultivo.
- 6) El número de brotes producidos por clon varió de 1.700 a 14.200 después de 2 años de cultivo (Fig. 3).

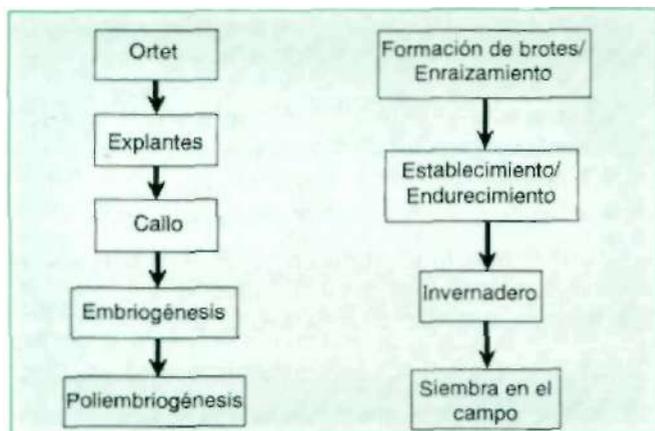


Figura 3. Proceso del cultivo de tejidos.

Es muy crítico incrementar el número de líneas poliembriónicas por ortet del actual nivel de 1 a 17 hasta 50. Con 50 líneas embriogénicas se podrían producir cerca de 50.000 plántulas (brotes) sin exceder de 1.000 plántulas por línea. Con este método se requeriría menos subcultivo. En este proceso se podría reducir el nivel de variación somaclonal (anormalidad) en los clones de palma de aceite. El método actual de multiplicación y la estrategia propuesta se esquematizan en las Figs. 4-6.

Anormalidad en los clones de palma de aceite

El primer informe de palmas clonales anormales fue presentado por Wooi et al. en 1981. Cuatro palmas derivadas de un solo cultivo del clon 931 fueron identificadas como anormales en el invernadero, por la morfología de sus hojas y el lento crecimiento. Posteriormente, el señor Tan Yap Pau, de United Plantations, se refirió, durante el Coloquio del ISOPB sobre «Mejoramiento y Selección de Palmas de Aceite Clonales», realizado el 21 de marzo de 1986, a los clones anormales de palma de aceite encontrados en un ensayo de parcelas. Hace aproximadamente 10 años que se hizo el primer informe sobre anormalidad en la palma de aceite clonal. Esto todavía preocupa a la industria y a los cultivadores de tejidos de palma de aceite.

En 1986, Corley se inventó el término «mantled» (cubierto) (que no debe confundirse con la palma genética «mantle») para describir la anormalidad floral de la palma de aceite. Este fenómeno de cobertura de la inflorescencia femenina se caracteriza por un desarrollo del androecio en pseudocarpelos. Los racimos con un

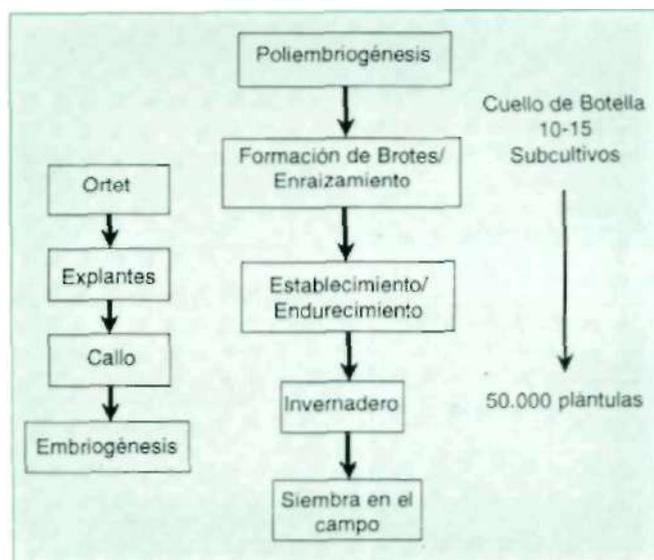


Figura 4. Proceso del cultivo de tejidos

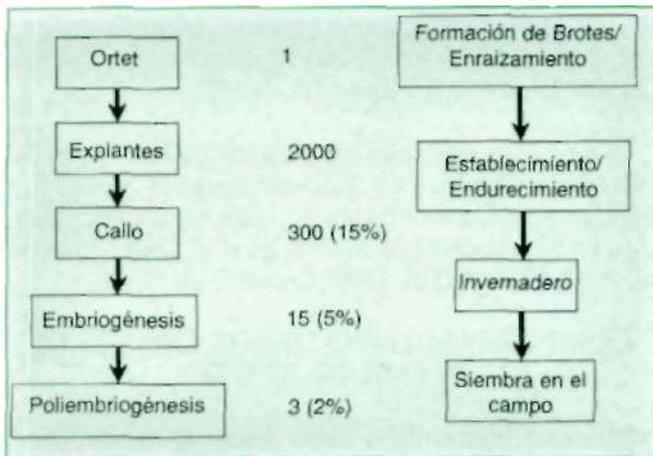


Figura 5. Proceso del cultivo de tejidos

alto grado de cobertura partenocárpica pueden resultar en falla del racimo.

Las técnicas practicadas por varios laboratorios los capacitan para producir palmas que son vegetativamente normales con un bajo nivel de anomalía. Maheran et al. (1993) informaron que cerca de un 96% de las palmas en florescencia en el campo son normales. Las palmas anormales, aproximadamente un 4,2%, están dentro de la categoría de un cubrimiento leve y cubrimiento serio.

Durand-Gasselín . et al. (1993) demostraron en La Mé, que de 93 clones, 44 (47%) no mostraron anomalía.

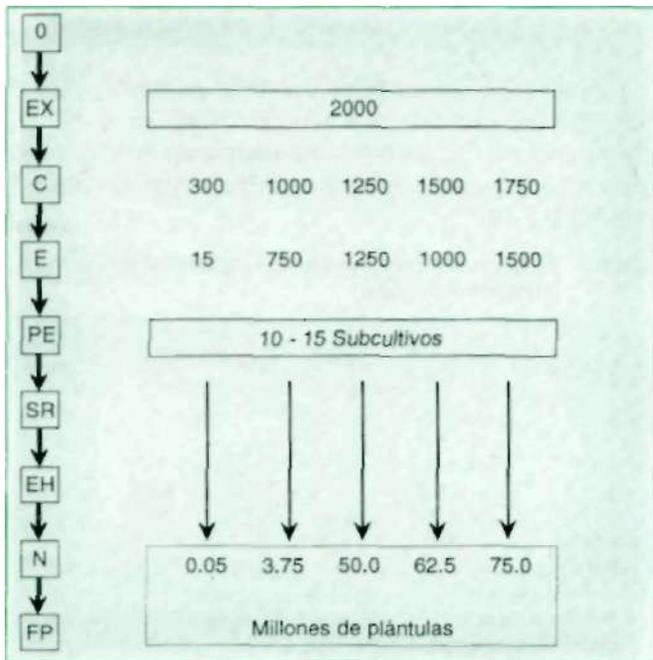


Figura 6. Proceso del cultivo de tejidos

Si se considera la intensidad de la anomalía, 60 (65%) no tenían anomalías significativas y 78 (84%) tenían menos del 10% de anomalía. En términos generales, de las 21.857 palmas en floración, el 95,6% fueron normales. Los datos tabulados por estos autores indican rangos de anomalía severa de 0 a 36% en los clones y el nivel de anomalía varía ampliamente dentro de un clon, el cual fue sembrado en varios sitios. Por ejemplo, el clon LMC73 tiene un nivel de anomalía que va de 1,7 a 31,6%. Esta incertidumbre es la que hace que sea muy difícil sembrar un solo clon en grandes números.

Las observaciones realizadas en la Estación La Mé demostraron que el tipo de callos utilizados para embriogénesis somática afecta la apariencia de anomalía (Duval et al. 1988). El uso de callos nodulares (CCN) da una frecuencia de palmas anormales de 5 a 10%, mientras que la embriogénesis obtenida sobre callos blancos y friables de crecimiento rápido (CCR), lleva a la regeneración del 100% de las palmas anormales.

Duval et al. (1993) tabularon un enlace constante a la fisiología del tipo de callo, cualquiera que fuera el clon. La relación auxina: citonoinina para los dos tipos de callos del mismo clon mostró un nivel más alto en callos friables de crecimiento rápido que la de los callos nodulares. Esto no concuerda con la experiencia de Unifield. Todos los clones se desarrollaron de callos primarios pero algunos han desarrollado plantas anormales (Corley et al. 1991).

Los tipos de callos CCR y CCN de cuatro clones se estudiaron mediante electroforesis unidimensional (Marmey et al. 1991). Estos investigadores descubrieron dos marcadores específicos para el tipo de callo. Una sola banda con un peso molecular de 20 a 30 k Da se encontró únicamente en el patrón de bandas específico para la proteína de los callos friables de crecimiento rápido (CCR). Otra banda de proteína, con un peso molecular evaluado entre 18 a 25 kDa, se encontró específica para los callos nodulares.

Besse et al. (1992) realizaron electroforesis bidimensional y su trabajo reveló dos proteínas con el mismo peso molecular pero con diferentes puntos isoeléctricos, las cuales son específicas para CCR.

Es útil contar con marcadores de proteínas para los dos tipos de callos considerados y es mucho más sencillo que analizar la composición hormonal de los callos. Existe la posibilidad de hacer un tamizado de los cultivos para las proteínas.

Recientemente se ha demostrado que el nivel de 2,4-D puede aumentar el nivel de metilación del ADN y el fenómeno de «cobertura» en palma de aceite. Esto puede respaldar la hipótesis de la hipermetilación del ADN por el 2,4-D y la reversión al estado normal con el tiempo por la desmetilación en ausencia de auxina (Lo Schiavoet al. (1989).

La interacción entre el nivel de 2,4-D en el cultivo y los genotipos podría explicar el variable nivel de anomalidad en los distintos clones.

Rao y Donough (1990) han demostrado que la anomalidad de «cubierta» en la palma de aceite podría transmitirse en forma meiótica. Ellos germinaron semillas de polinización abierta derivadas de las palmas cubiertas. Observaciones recientes en plantas de semillero derivados de plántulas normales de cultivo de tejidos demuestran la ocurrencia y expresión de genes receptores en el proceso del cultivo de tejidos (Donough. Comunicación Personal).

Ahora es posible diferenciar entre plántulas normales y anormales dentro de un clon a nivel de ADN mediante el uso de los métodos RAPD en algunos clones (Chowdhury. Comunicación Personal). Esto respalda la herencia genética de la anomalidad clonal. Sin embargo, la utilidad de un marcador dependerá de si se puede atribuir a anomalidad por análisis de segregación y si su expresión se produce en una amplia gama de clones.

La experiencia general en varias especies indica que el cultivo de tejidos que comprende una fase de formación de callo a menudo inducirá variación genética (Lee et al. 1987). Además de la ocurrencia de mutantes cualitativos,

Tabla 5. Producción de racimos de fruta fresca (kg/palma/año) en suelos costaneros

Clones Pruebas	31A	54A	90A	115E	Control DxP (Valores reales)
HCT 2	89,8		114,3*	92,4	200,9
HCT 4	105,0		11,0*	88,4*	201,3
HCT 5a	83,5*	115,5	103,7	69,3	167,5
HCT 5b	68,9*	114,0*	105,4	82,6*	156,8
HCT 9	82,1*	108,9	123,3*	96,4	225,2
Promedio	85,9	112,8	111,5	85,8	190,3

significativamente diferente del control DxP
Registros de producción 1984-90 (valores de los clones expresado como porcentaje del control DxP)

Fuente: Donough y Lee (1993)

las plantas regeneradas a menudo también tienen una anomalidad cromosómica que puede conducir a diversos grados de esterilidad (Lee et al. 1988).

Se ha propuesto que los cambios de metilación del ADN podrían explicar las diversas formas de variaciones inducidas por el cultivo de tejidos, incluyendo la expresión de caracteres cuantitativos (Phillips et al. 1991; Brown et al. 1987; Phillips et al. 1994; Brown et al. 1993).

COMPORTAMIENTO DE LOS CLONES DE PALMA DE ACEITE

El comportamiento a largo plazo de los primeros clones basados en ortets seleccionados y la tecnología de tejidos de Unilever fueron reportados por Donough y Lee (1993). La Tabla 5 muestra el comportamiento en RFF de los clones 31A, 54A, 90A (seleccionados por alto rendimiento + alto índice de racimos) y el 115E (seleccionado por rendimiento de aceite). Dos de los clones rindieron mejor que el DxP de control en suelos costaneros. Al probar estos clones en suelos mediterráneos, sólo el clon 54A produjo mejor que el DxP (Tabla 6). El ortet de este clon 54A se seleccionó en una parcela con bajo contenido de nitrógeno en una prueba de fertilizantes.

Las Tablas 7 y 8 muestran la relación Aceite/Racimo (%) de los cuatro clones evaluados en suelos costaneros y mediterráneos. El clon 115E mostró un nivel más alto (>11%) de A/R que el control DxP en ambos suelos.

En términos del rendimiento total de aceite, sólo el clon 90A produjo más que el control DxP, en 4,3%, en suelos costaneros, pero el comportamiento de los clones en suelos mediterráneos es más bajo que el de DxP (Tablas 9 y 10).

Tabla 6. Producción de racimos de fruta fresca (kg/palma/año) en suelos mediterráneos.

Pruebas	Clones				Control DxP (Valores reales)
	31A	54A	90A	115E	
HCT 3	73,3*		87,6*	88,4	148,9
HCT 6a	72,5*	109,7	82,2*	78,4*	168,3
HCT 6a	97,0	122,8*	96,7	89,1	131,9
Promedio	82,3	116,3	88,8	85,3	149,7

Registros de producción 1984-90 (valores de los clones expresado como porcentaje del control DxP)
Fuente: Donough y Lee (1993)

El siguiente conjunto de datos muestra el comportamiento de los clones IRHO en suelos mediterráneos y costaneros. En los suelos costaneros la producción de RFF de dos de los clones es más alta que la del control DxP. En los casos de A/R, tres clones son más altos, y en cuanto al rendimiento de aceite, un clon es más alto que el DxP. En los suelos mediterráneos, el

comportamiento de los clones, en términos generales, es inferior al del control DxP (Tablas 11 y 12).

Está ampliamente aceptado que la interacción Genotipo x Ambiente en los clones de palma de aceite es

Tabla 10. Rendimiento de aceite (kg/palma/año) en suelos mediterráneos.

Pruebas	Clones				Control DxP (Valores reales)
	31A	54A	90A	115E	
HCT 6a	65,7	93,1	74,8	88,7	46,1
HCT 6b	86,4	105,8	89,8	97,8	36,1
Promedio	76,1	99,5	82,3	93,3	41,1

Registros de producción 1984-90 valores de los clones expresados como porcentaje del control DxP.

Fuente: Donough y Lee (1993).

Tabla 11. Comportamiento de los clones IRHO en Teluk Intan (costanero).

Clones	RFF (kg/palma/año) (6'90-5'92)	A/R % (6'90-5'92)	Rendimiento de Aceite (kg/palma/año)
LMC 051	209,1	29,9	56,3
LMC 063	241,3	23,2	56,0
LMC 074	232,1	25,2	58,5
LMC 079	232,8	24,0	56,0
LMC 088	254,1	27,2	69,1
LMC 043	219,0	27,4	59,9
DxP control (Deli x Yangambi) D586/2.02 x P 103/1.20)	234,5	25,9	60,6

Fuente: Soh et al. (1993).

Tabla 12. Comportamiento de los clones IRHO en suelos mediterráneos.

Clones	RFF (kg/palma/año) (4'89-12'82)	A/R % (6'90-7'92)	Rendimiento de Aceite (kg/palma/año)
LMC 051	81,5	22,1	18,3
LMC 063	88,7	18,6	16,9
LMC 090	65,5	24,4	16,0
LMC 074	91,6	24,3	22,3
LMC 079	97,4	18,1	17,9
LMC 088	80,8	19,9	16,1
DxP Control (Deli x Avros) 0251/8 x 0280/18)			

Fuente: Soh et al. (1993).

Tabla 7. Relación Aceite/Racimo (%) en suelos costaneros.

Pruebas	Clones				Control DxP (Valores reales)
	31A	54A	90A	115E	
HCT 2	93,3*		95,5	111,7	26,4
HCT 4	94,3*		91,6*	108,0*	26,3
HCT 5a	93,4	90,3	95,4	108,9	25,9
HCT 5b	93,1	90,5	95,0	109,2	26,2
HCT 9	91,9	83,8	90,4	120,0*	26,0
Promedio	93,3	88,2	93,6	111,6	26,2

Registros de producción 1984-90 (valores de los clones expresado como porcentaje del control DxP).

Fuente: Donough y Lee (1993)

Tabla 8. Relación Aceite/Racimo (%) en suelos mediterráneos.

Pruebas	Clones				Control DxP (Valores reales)
	31A	54A	90A	115E	
HCT 6a	90,5	84,7	90,9	113,1	27,4
HCT 6b	89,1	86,1	92,7	109,5	27,4
Promedio	89,8	85,4	91,8	111,3	27,4

Registros de producción 1984-90 (valores de los clones expresado como porcentaje del control DxP).

Fuente: Donough y Lee (1993).

Tabla 9. Rendimiento de aceite (kg/palma/año) en suelos costaneros.

Pruebas	Clones				Control DxP (Valores reales)
	31A	54A	90A	115E	
HCT 2	84,2		109,2	103,4	53,0
HCT 4	99,1		101,4	95,7	52,0
HCT 5a	78,1	104,4	98,8	75,3	43,4
HCT 5b	64,2	103,2	100,2	90,0	41,4
HCT 9	75,4	91,3	111,4	115,7	58,6
Promedio	80,2	99,6	104,3	96,0	49,8

Registros de producción 1984-90 (valores de los clones expresado como porcentaje del control DxP).

Fuente: Donough y Lee (1993).

importante y la Tabla 13 muestra que el factor interacción es altamente significativo. Corley et al. (1993) estudiaron el rendimiento de clones de palma de aceite en distintas densidades y concluyeron que las interacciones clon x sitio fueron significativas en el segundo año de la producción, pero no en el tercero.

Tabla 13. Interacción Genotipo x Ambiente en clones de palma de aceite (ANOVA).

Fuente	FF (Cuadrados Medios)	A/R (Cuadrados Medios)
Clon x Ambiente	916,9**	23,9**
Clones 695,7**	32,7**	
Error 162,0	4,7	

"Clones IRHO comunes probados en dos ambientes: Teluk y Balau.

Fuente: Soh et al. 1993.

Una reciente prueba clonal realizada en suelos mediterráneos en Balau, Malasia, fue reportada por Soh et al. (1993). En este caso, en cuanto a RFF, sólo 3 de 12 clones tuvieron una producción mejor que el control DxP. Sin embargo, la relación Aceite/Racimo se ha transmitido en gran medida a los clones y no es inesperado, ya que la heredibilidad de la relación A/R es más bien alta en palma de aceite. La correlación entre ramet y ortet es de 0,4 para A/R. A pesar de la alta relación A/R en los clones, el rendimiento total de aceite fue de sólo 4 de 12 clones con un rendimiento mejor que los controles DxP (Tabla 14). Dos clones tuvieron una producción de aceite >30% en comparación con el control DxP.

Tabla 14. Comportamiento de los clones HRU/AAR en suelos mediterráneos.

Clon	RFF	A/R(%)		Rendimiento de Aceite	
	(7'92-6'93) (kg/palma/año)	Ramet	Ortet	(kg/palma/año)	(% de DxP)
1/3	66,0	28,2	26,5	18,7	95
2/7	57,0	27,3	27,9	15,5	79
3/12	70,0	27,0	28,4	18,9	96
5/15	59,4	29,3	28,0	17,3	88
5/17	56,1	28,4	28,0	15,9	81
5/14C	71,7	30,3	28,0	21,8	111
6/12	80,9	32,0	34,2	26,0	132
7/26	58,8	29,3	32,1	17,3	88
9/28	63,8	25,9	33,3	16,5	84
10/39	49,7	29,5	31,6	14,8	75
12/84	86,6	30,3	30,7	26,3	134
11/283	78,8	28,9	33,5	22,4	114
DXP Control	77,4	25,7		19,7	100
(Deli x Avros)		r = 0,4			

Fuente: Soh et al. 1993.

El nivel del coeficiente de variación (CV) para RFF es por lo general mayor en los cruces DxP que en los clones (Tabla 15). Esto demuestra, indirectamente, que los clones son más uniformes que el material de siembra DxP.

DISCUSION Y RECOMENDACIONES

El método de cultivo de tejidos es altamente mutagénico en naturaleza. Se puede suponer, de manera tentativa, que el cultivo de tejidos induce un efecto global en el genoma. Por consiguiente, el rendimiento y otras características cuantitativas es probable que se alteren, además del carácter de «cobertura» (mantling). Esto implica que la investigación sobre la detección temprana de variación de ramets y estrategias para reducir el nivel de anomalía en la palma de aceite es importante.

El nivel de anomalía en las plántulas de cultivo de tejidos de palma de aceite parece incrementarse con el aumento del número de subcultivos. Es vital mejorar el nivel de formación de callo, la embriogénesis y la poliembriogénesis de tal manera que se pueda reducir el número de subcultivos por línea, pero a la vez producir un número razonable de plántulas por ortet.

Aún se pueden lograr mejoras en las siguientes áreas:

- 1) Selección de ortets
- 2) Formulación de medios
- 3) Genotipos x media
- 4) Incidencia de anomalía desde el primer subcultivo hasta el máximo número de subcultivos.

Tabla 15. Nivel comparativo del Coeficiente de Variabilidad en clones y progenies DxP para RFF (kg/palma/año).

Clon/DxP	Promedio	CV
BC 068	160,4	17,6
FC 003	154,1	14,2
FC 004	146,1	21,8
FC 019	165,3	18,9
FC 025	143,3	19,0
FC 028	140,2	14,0
FC 080*	145,5	25,4
D x P 1	187,6	26,7
D x P 2	145,5	46,7

*Ortet seleccionado

Fuente: Maheran et al. (1993)

Los datos de la Tabla 15 ilustran los factores relacionados con el comportamiento de los clones. Sólo dos clones fueron significativamente mejores que el control en cuanto a rendimiento de aceite. El promedio de los 12 clones fue el 92% del control DxP. En el caso de RFF, el promedio de los clones es el 86% del control y sólo un clon excedió al DxP. En cuanto a la relación A/R, todos los clones fueron mejores que el control y el promedio de todos los clones fue 9% más alto que el control. En Malasia, el clon IRHO LMC086 se comportó razonablemente bien. Fue el 14% más alto que el control DxP para rendimiento de aceite. Los clones LMC y otros clones en suelos mediterráneos no se comportaron satisfactoriamente, su rendimiento promedio de aceite fue sólo el 77% del control.

Los clones IRHO se comportaron bien en Costa de Marfil e Indonesia, con una superioridad en RFF sobre el control DxP, dentro de un rango de 11 a 61% (Le Guen et al. 1991).

Ginting et al. (1993) informaron sobre clones con una producción de RFF de 10 a 97% mayor que la de las plantas de semillero en dos años de cosecha. Por lo general, los clones fueron capaces de producir RFF por lo menos 29% más que las plantas de semillero. Esta observación no se basa en experimentación y por lo tanto las cifras requieren ser verificadas.

Hasta la fecha, el comportamiento de los clones es muy variable. Resulta difícil predecir tanto el comportamiento como la anomalía. Por consiguiente, en el momento es difícil comercializar los clones. Sin embargo, la técnica de cultivo de tejidos es importante como sistema de regeneración para multiplicar las palmas de aceite transgénicas obtenidas mediante ingeniería genética. De cualquier forma, Agrocom ha demostrado que los clones de palma de aceite sí tienen un potencial comercial. Sus clones iniciales son en su mayoría normales y se han comportado mejor que los DxP en términos de RFF (Tabla 16), la relación aceite/racimo y rendimiento de aceite (Tabla 17).

El propósito inmediato de la técnica del cultivo de tejidos se relaciona con la producción de semillas biclonales. En este proceso, los progenitores de cruces élites DxP se multiplican para establecer semilleros. La estabilidad de los clones *dura* y *pisifera* se debe verificar antes de utilizar este método a gran escala. Esto se podría hacer autofecundando los clones *dura* y *pisifera* (si son fértiles) y buscar la expresión de genes recesivos. Este método es comparable con la explotación de la

Habilidad Combinatoria Específica en el esquema de selección recurrente recíproca. El método de producción de semilla biclonal no adolece de la falta de polen por la continua autopolinización de las palmas progenitoras como se experimentó en L2T.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Director General del PORIM por su autorización para la presentación de este trabajo.

Tabla 16. Perfiles tempranos de producción de RFF de los clones de Agromac (t/ha/año).

Clon	Sembrado	Suelo	Meses desde la siembra		
			26-36	37-48	49-60
AGK 1	Mayo 88	Harimau	10,96	20,49	25,12
Planta de Semilla					
D x P	Mayo 88	Harimau	6,02	14,40	17,07
AGK 1	Abril 89	BK Lunchu	6,92	20,88	
AGK 8	Abril 89	BK Lunchu	5,50	20,03	
Planta de semilla					
D X P	Abril 89	BK Lunchu	4,63	12,45	
AGK 1	Nov. 89	Carey	19,04		
AGK 8	Nov. 89	Carey	17,27		
Planta de semilla					
D x P	Nov 89	Carey	10,19		

Fuente: Anónimo 1993.

Tabla 17. Peso del racimo, aceite/racimo y rendimiento de aceite de los clones de Agrocom.

Caracter	Clon	Meses desde la siembra			
		26 - 36 (a)*	37 - 48 (b)*	49 - 60 (a)	60 - 66 (a)
Racimo Peso (Kg)	AGK 1	6,00	9,40	9,30	10,20
	AGK 6	-	5,90	-	-
	AGK 8	6,70	6,70	9,30	10,40
	Planta de semilla	3,90	4,70	5,30	6,50
Aceite de racimo (%)	AGK 1	20,8	26,6	26,7	NA
	AGK 6	19,90	18,70	-	-
	AGK 8	21,60	28,30	29,00	NA
	Planta de semilla	17,60	18,00	20,30	NA
Rendimiento de aceite (t/ha)	AGK 1	1,94	4,30	4,35	-
	AGK 6	-	2,89	-	-
	AGK 8	2,16	4,15	4,80	-
	Planta de semilla	0,9	1,56	2,48	-

(a) Harimau (b) Carey

Fuente: Anónimo 1993.

BIBLIOGRAFIA

- ANONIMO. 1993. Oil palm plantlets by tissue culture. Agrocom Enterprise Sd. Bhd. Bulletin No. 1. November 1993.
- BAUDOUIIN, L.; MEUNIER, J.; NOIRET, J.M. 1993. Methods used for ortet choice. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- _____; DURAND- GASSELIN, T. 1991. Genetic transmission of characters linked to oil yields in oil palm by cloning results of young palms. *Oleagineux (Francia)* v. 46 no. 8-9, p.
- BESSE, I.; VERDEIL, J.L.; DUVAL, Y.; SOTTA, V.; MALDINEY, R.; MIGINIAC, E. 1992. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal fidelity: endogenous cytokinins and indoleacetic acid in embryogenic callus cultures. *Journal of Experimental Botany (Inglaterra)* v.43, p.983-989.
- BROWN, P.T.H. 1987. DNA methylation in plants and its role in tissue culture. *Genome* () v.31, p.717-729.
- _____. 1993. The role of Biotechnology in oil palm breeding. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- CORLEY, R.H.V. 1982. Clonal planting material for the oil palm industry. *The Planter (Malasia)* v.58, no.690, p.515-528.
- _____. 1991. Fifteen years experience with oil palm clones - a review of progress. In: 1991 PORIM International Palm Oil Conference - Agriculture. Proceedings PORIM, Kuala Lumpur. p. 69-81.
- _____; BOONRAK TUISIRI; DONOUGH, C.R.; NELSON, S.; DUMORITIER, F.; SOEBAGJO, F.X.; VALLEJO, G. 1993. Yield of oil palm in different environments. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- DURAND-GASSELIN, T.; DUVAL, Y.; BAUDOUIIN, L.; MAHERAN, A.B.; KONAN, K.; NOIRET, J.M. 1993. Description and degree of the mantled flowering abnormality in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clones produced using the Orstom-CIRAD procedure. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- DUVAL, Y.; DURAND-GASSELIN, T.; KONAN, K.; PANNETIER, C. 1988. *In vitro* vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) strategy and results. *Oleagineux (Francia)* v.43, p.39-47.
- _____; BESSI, I.; VERDEIL, J.L.; MALDINEY, R.L. 1993. Study on the induction of the floral morphogenesis abnormality in oil palm during the *in vitro* regeneration process. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- DONOUGH, C.R.; LEE, C.H. 1993. Longer-term results from clone trials at PAMOL Plantations and Golden Hope Plantations. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- GINTING, G.; LUBIS, A.U.; FATMAWATI. 1993. Yield and vegetative characteristic of oil palm, clonal planting material. In: 1993 PIPOC -Update and Vision-. 20-25 September 1993, Hotel Istana, Kuala Lumpur, Malaysia.
- HARDON, J.J.; CORLEY, R.H.V.; LEE, C.H. 1982. Breeding and selection for vegetative propagation in the oil palm. In: Improvement of vegetatively propagated plants. Proceedings of the 8th Long Ashton Symposium. Academic Press, London. p.64-79.
- JONES, L.H. 1974. Propagation of clonal oil palms by tissue culture. *The Planter (Malasia)* v.50, p.374-381.
- _____. 1993. Clonal propagation of oil palm, past, present and future: A personal view. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- LEE, M.; GEADELMANN, J.L.; PHILLIPS, R.L. 1988. Agronomic evaluation of inbred lines derived from tissue culture of maize. *Theoretical and Applied Genetics (Estados Unidos)* v.75, p.841-849.
- _____; PHILLIPS, R.L. 1987. Genetic variation in progeny of regenerated maize (*Zea mays*) plants. *Genome* v.29, p.834-839.
- _____; _____. 1988. The chromosomal basis of somaclonal variation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology (Estados Unidos)* v.39, p.413-437.
- LE GUEN, V.; SAMARITAN, G.; ZARIN OTHMAN, A.; CHIN, C.W.; KONAN, K.; DURAND-GASSELIN, T.C. 1991. Oil production in young oil palm clones. *Oleagineux (Francia)* v.46 no.10, p.347-359.
- LO SCHIAVO, F.; PITTO, L.; GIULANO, G.; TORTI, G.; NUTI-RONCHI, V.; MARAZZITI, D.; VERGARA, R.; ORSELLI, S.; TERZI, M. 1989. DNA methylation of embryogenic carrot cell cultures and its variations as caused by mutation, differentiation, hormones and hypomethylating drugs. *Theoretical and Applied Genetics (Estados Unidos)* v.77, p.325-331.
- MARMEY, Ph.; BESSE, I.; VERDEIL, J.L. 1991. Mise en évidence d'un marqueur protéique différenciant deux types de cals issu de même clones chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) Académie des Sciences Comptes Rendus Hebdomadaires de Séances (Francia) Serie III. v.313, p.313-338.
- MAHERAN, A.B.; AW KHOO TENG; ABU ZARIM OTHMAN; CHIN CHEUK WENG. 1993. Vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis*) from laboratory to the field-FELDA's experience. 1993 PIPOC «Update and Vision». 20-25 Septembre 1993, Hotel Istana, Kuala Lumpur, Malaysia.
- MEUNIER, J.; BAUDOUIIN, L.; NOUY, B.; NOIRET, J.M. 1988. The expected value of oil palm clones. *Oleagineux (Francia)* v.43 no.5, p.195-200.
- PHILLIPS, R.L. 1991. Prospects of cell and molecular biology breeding interface in crop improvement. In: 1991 PORIM International Palm Oil Conference. Agriculture. Proceedings. PORIM, Kuala Lumpur. p.9-16.
- _____; KAEPLER, S.M.; PESCHKE, V.M. 1990. Do we understand somaclonal variation? In: H.J.J. Nijkamp, L.H.W. Van Aartrijk (eds.) *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology. Proceedings 7th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture*. Amsterdam, The Netherlands. Kluwer Academic Public., Dordrecht. p.131-141.
- RABECHAUULT, H.; MARTIN, J.P. 1976. Multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) à l'aide de cultures de tissus foliaires. *Académie des Sciences Comptes Rendus Hebdomadaires de Séances. Série D: Sciences Naturelles (Francia)* v.283, p.1735-1737.
- RAO, V.; DONOUGH, C.R. 1990. Preliminary evidence of a genetic cause for the floral abnormalities in some oil palm clones. *Elaeis (Malasia)* v.2 no.2, p.199-207.
- SOH, A.C. 1986. Expected yield increase with selected palma clones from current DxP seedling materials and its implications on clonal, breeding and ortet selection. *Oleagineux (Francia)* v.41 no.2, p.51-56.
- _____; YONG, Y.Y.; HO, Y.W.; RAJANAIDU, N. 1993. Commercial potential of oil palm clones: Early results of their performance in several locations. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.
- WOOL KHENG CHOO; WONG CHOONG YEW; CORLEY, R.H.V. 1981. Tissue culture palms - a review. In: Costed Symposium on Tissue Culture of economically important plants. Proceedings. Singapore. p.138-144.
- _____. 1993. Oil Palm Tissue Culture - Current Practice and Constraints. In: Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. ISOPB/PORIM, Kuala Lumpur.

PANEL

P/ Pedro León Gómez.

Veíamos dos puntos de vista encontrados en cuanto a las posibilidades de utilización comercial de los clones, nos explicaban las dificultades que se estaban presentando y las posibilidades de que en los próximos 15 años no tengamos todavía materiales comerciales que puedan competir con las semillas. Me gustaría conocer el concepto del Dr. Meunier respecto al futuro de los clones y su utilización en forma comercial.

R/ Dr. Meunier.

Ahora se pueden producir clones en escala muy pequeña, unos millares de plántulas por cada clon, pero no se puede producir a escala industrial, hasta tanto no se tenga un marcador de normalidad. No hay otra posibilidad. No queremos tomar el riesgo de tener clones que por razones que no controlamos pueden salir 30 o 40% de anormales en un clon. Y el problema es que al palmicultor se le presentan los resultados de los clones siempre querrá el clon que él considera como el mejor, entonces aumenta el riesgo porque la tendencia natural del cultivador es cultivar menos clones, pero únicamente los mejores.

P/ Libardo Santa Cruz .

Dr. Rajanaidu, durante las sesiones de genética pude observar que se vienen manejando en investigación densidades comerciales de 130 palmas por ha. En algunas zonas del Llano, la luminosidad es baja y hay materiales que por su crecimiento y su área foliar son relativamente grandes. Quisiera conocer su concepto sobre la densidad de siembra y el manejo que se le está haciendo en investigación con las 130 palmas que se hablaba.

R/ Dr. Rajanaidu.

Nosotros tenemos diferentes pruebas con diferentes densidades, en Malasia, en unas de las zonas costeras,

siembran 135 palmas/ha, en algunos otros tipos de suelo siembran hasta 180 palmas/ha. Hay también experimentos que se están llevando a cabo para incrementar la densidad desde 160 hasta 180 palmas/ha, hay algunas sorpresas que en algunas plantaciones están sembrando unas 120 palmas/ha, lo más importante es cuál es el rendimiento que obtenemos por hectárea, no importan tanto el número de palmas por hectárea, sino obtener la densidad óptima para el máximo rendimiento.

En mi investigación, los resultados pueden variar según el tipo de planta desde 120 hasta 160 palmas/ha. Hay muchos factores que están envueltos en este aspecto, como el vigor de la planta y las condiciones ambientales. En Malasia cuando se siembra en la zona costera, las palmas crecen muy vigorosas y por lo tanto se utiliza una menor densidad; en el interior del país, las palmas crecen más lentamente y se puede intensificar la densidad para obtener un alto rendimiento por hectárea.

Comentario: Guillermo Vallejo.

La pregunta anterior hace referencia a la zona de Villanueva, en donde se han sembrado algunos genotipos vigorosos y dado que allí, durante los meses de abril a junio, hay una disminución en la radiación solar, la plantación se ha visto en necesidad de hacer raleo. Por otro lado como la palma de aceite tiene su máxima área foliar entre el 6o. y 7o. años entonces es cuando se presenta la mayor competencia y se ha observado en Villanueva que la producción disminuyó. En este sentido, en zonas donde hay problemas de luminosidad lo más lógico sería ampliar la distancia entre palmas. Ahora, como dice el Dr. Rajanaidu, en áreas donde el suelo es mucho más fértil la palma crece mucho más que en zonas donde el suelo es un poco menos fértil.