

Introgresión de genes *E. guineensis* en híbridos interespecíficos OxG para recuperar la fertilidad del polen y otras características deseables en palma de aceite*

E. guineensis Gene Introgression in Interspecific OxG Hybrids for Recovering Pollen Fertility and other Desirable Oil Palm Traits

CITACIÓN: Barba, J. (2016). Introgresión de genes *E. guineensis* en híbridos interespecíficos OxG para recuperar la fertilidad del polen y otras características deseables en palma de aceite. *Palmas* 37(Especial Tomo I), pp. 285-293.

PALABRAS CLAVE: fertilidad de polen, híbrido interespecífico OxG, introgresión de genes.

KEYWORDS: Pollen fertility, interspecific hybrid OxG, introgression of genes.

* Artículo original recibido en español.



JULIÁN BARBA

Gerente de Investigación y Desarrollo,
Palmar del Río
Research and Development Manager,
Palmar del Río
jbarba@palmardelrio.com

Resumen

Está determinado que la especie *E. oleifera* transmite el gen de la tolerancia a la Pudrición del cogollo (PC), así como otras características deseadas en el cultivo de palma de aceite; sin embargo, factores agronómicos como la baja fertilidad del polen, y la extracción de aceite deben ser optimizados a través de la introgresión de genes. Para cubrir estas expectativas se realizó en Palmar del Río (PDR) Ecuador, cruces *dura guineensis* por *dura oleifera* Taisha, y paralelamente se cruzó el híbrido OxG con pisíferas. Se estudió en los segregantes *tenera* del retrocruzamiento la tolerancia a la PC, y el aumento de la fertilidad del polen. Luego de cinco años de evaluación en campo, la fertilidad del polen se restituyó en los cruces entre *dura* a 40 % y los segregantes *tenera* alcanzaron un valor promedio de 53,98 % de germinación. Las palmas *tenera* de los retrocruzamientos con una relación de genes 25 % *oleifera* y 75 % *guineensis* no presentan Pudrición del cogollo hasta la fecha; crecen 15,68 cm por año; la extracción promedio de aceite en laboratorio al segundo año de cosecha es de 26,7 %; mantienen el vigor híbrido, las inflorescencias masculinas producen poco polen; estos materiales también necesitan polinización asistida por lo menos en los primeros años. Se pueden utilizar como progenitores femeninos los cruces *dura Deli* x *dura Taisha*.

Abstract

It has been established that the *E. oleifera* species transmit the Bud Rot (BR) tolerance gene, in addition to other desirable oil palm traits; nevertheless, agronomic factors such as low pollen fertility and oil extraction must be optimized through gene introgression. In order to cover these expectations, crosses of *Dura guineensis* by *Dura oleifera* Taisha were performed in Palmar del Río – Ecuador (PDR); meanwhile, the OxG hybrid was crossed with *pisifera*. BR tolerance and increase in pollen fertility were studied in the *tenera* segregants of the backcross; after five years of field evaluation, pollen fertility was restored to 40% in *dura* crosses, and *tenera* segregants reached an average germination value of 53.98%. Backcrossed *tenera* palms with a 25% *oleifera* and 75% *guineensis* gene rate have shown no bud rot to this date, they grow 15.68 cm per year, average oil extraction in the lab at the second harvest year is 26.7%; they maintain a hybrid vigor and male inflorescence produce little pollen; these materials also require assisted polinization, at least during the first years. *Dura deli x Dura Taisha* crosses can be used as female parents.

Antecedentes

Se ha determinado que la especie *E. oleifera* transmite el gen de tolerancia a la enfermedad Pudrición del cogollo (PC) a sus descendientes híbridos interespecíficos OxG, siendo parcialmente identificados los materiales con menos susceptibilidad a esta enfermedad, considerando que las evaluaciones se efectuaron sobre áreas que presentaron afectación. Además, existen características vegetativas en los materiales OxG que son deseables para los palmicultores y que se obtuvieron con la siembra de estos cultivares, de manera especial la tasa de crecimiento, la calidad de aceite y la producción dado al vigor híbrido.

Con los híbridos OxG se considera solucionado en parte el principal problema letal de la palma aceitera en América; sin embargo, hay algunos tópicos que merecen investigarse a fin de optimizar labores y costos dentro de estos cultivares; entre ellos se mencionan la fertilidad del polen y la tasa de extracción. Para solucionar estos inconvenientes agronómicos es necesario recurrir a la introgresión de genes entre especies que presenten por lo menos un fenotipo similar a la palma *guineensis*, y esto ocurre con las oleíferas de la Amazonía ecuatoriana.

Es conocido que el gen que determina el grosor del cuesco es dominante en el género *Elaeis*, y si las

oleíferas por sus características se consideran como palmas *dura* en la formación de híbridos OxG, es posible el proceso de introgresión de genes para obtener cualidades deseadas en los programas de mejoramiento que tienen las empresas productoras de semillas a nivel mundial.

Con estos antecedentes Palmar del Río (PDR), Ecuador, inició sus investigaciones de introgresión de genes *E. guineensis* a la especie *E. oleifera* desde el año 2007 con una serie de ensayos tendientes a solucionar las siguientes hipótesis:

1. Es posible restaurar en los híbridos OxG la fertilidad del polen con la introgresión de genes de la especie *E. guineensis*.
2. Se podrá evitar la polinización de los híbridos interespecíficos con esta introgresión.
3. Con 25 % de genes *oleifera* se tendrán palmas menos susceptibles a la PC, al igual que con la relación 50/50 de genes *oleifera* y *guineensis*.

Para resolver estas hipótesis se realizaron y evaluaron dos ensayos en PDR, cuyo diagrama de cruzamientos y proceso se presentan en la Figura 1.

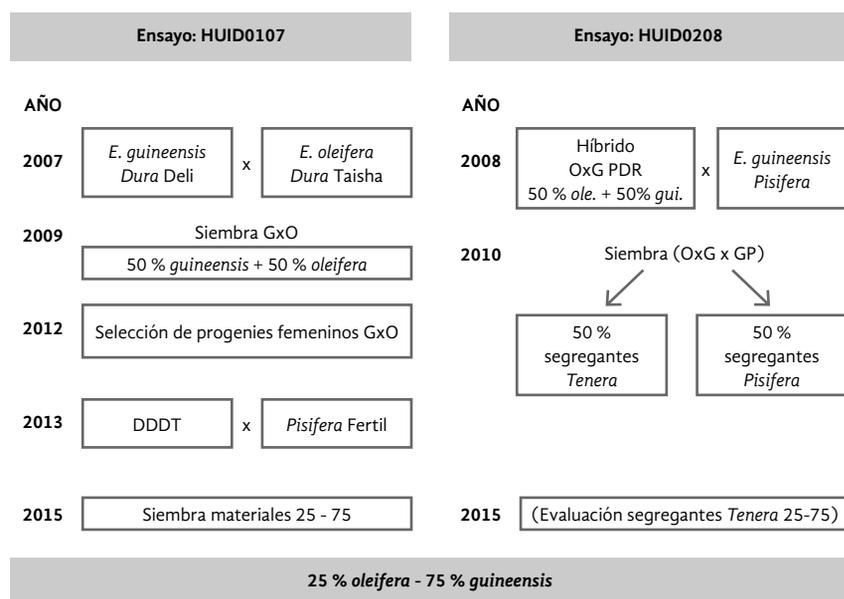


Figura 1. Diagrama de introgresión de genes entre las especies *E. guineensis* y *E. oleifera* Taisha.

Metodología

La investigación se realizó en la empresa Palmar del Río, ubicada en San José de Guayusa, provincia de Francisco de Orellana, Ecuador, entre las coordenadas geográficas 0° 19' latitud sur y 77° 06' longitud oeste, a una altitud de 280 msnm; con un promedio de precipitación en la última década de 266 mm/mes, radiación solar de 4148 watts/mes, temperatura mínima de 18,6 °C y máxima de 32,8 °C y humedad relativa de 78,13 %.

Durante el período 2007-2015 se evaluaron dos ensayos denominados HUID0107, que comprendió el cruzamiento entre progenitores *E. guineensis dura* Deli por *E. oleifera* Taisha, y el HUID0208, que estudió el retrocruzamiento procedente de progenitores híbri-

dos OxG-PDR (Taisha x Avros) por *pisifera* Avros. Los retrocruzamientos usados en los experimentos presentados en este artículo corresponden a pseudo-retrocruzamientos, al no ser el mismo parental recurrente que se utilizó para generar el híbrido. Las fases de los ensayos se describen en la Tabla 1.

Ensayo HUID0107: Selección de progenitores *E. guineensis dura* Deli y *E. oleifera* Taisha

En 2007 se seleccionaron dos palmas oleíferas OT 13:2 y OT 5:6 para realizar 10 cruzamientos con palmas *dura Deli* de Murgas & Lowe (Colombia); el detalle de los cruces se describe en la Tabla 2. Las progenies se sembraron en 2009 en el lote 13D1 de PDR.

Tabla 1. Cronología de los ensayos HUID0107 y HUID0208.

Período	Actividad
2007-2008	Selección de progenitores para cruzamientos en los ensayos.
2007-2008	Cruzamientos dirigidos, 10 por cada ensayo.
2008-2009	Germinación y viveros de los materiales en estudio.
2009-2010	Siembra de las parcelas experimentales.
2010-2015	Evaluación de materiales en campo progenitores y segregantes <i>tenera</i> .

Tabla2. Cruzamientos *dura Deli* por *Oleifera* Taisha.

FA	Código	<i>Dura Deli</i> Progenitor femenino	<i>Oleifera</i> Taisha PDR Progenitor masculino
1	DD x OT-1	710097*107-508	OT 13:2
2	DD x OT-2	710084*110-215	OT 5:6
3	DD x OT-3	710094*111-404	OT 13:2
4	DD x OT-4	710067*112-201	OT 5:6
5	DD x OT-5	710092*113-309	OT 13:2
6	DD x OT-6	710069*114-613	OT 5:6
7	DD x OT-7	710052*115-306	OT 13:2
8	DD x OT-8	710065*302-208	OT 5:6
9	DD x OT-9	710104*308-102	OT 13:2
10	DD x OT-10	710115*310-112	OT 13:2

Ensayo HUID0208: Selección de progenitores híbridos OxG-PDR (Taisha x Avros) por *pisifera* Avros

Con la información del ensayo de progenies HUGP4 de la primera serie de cruzamientos realizada en PDR de híbridos OxG (Barba, J., 2010), y del registro de dos años de producción se seleccionaron 10 plantas por sus rendimientos y contenidos de aceite, que fueron cruzadas con el progenitor 1203-3612 *pisifera* Avros en 2008. De estos cruzamientos solo se obtuvieron semillas del RC1 y RC7 (Tabla 3), con germinaciones de

14 y 54 %, respectivamente; los otros cruces no germinaron; estos materiales fueron sembrados en 2010 en el lote 11D2.

Resultados y discusión

Ensayo HUID0107: Evaluación de materiales en campo (progenitores)

Durante la etapa de crecimiento y desarrollo de las progenies se observaron aspectos agronómicos no deseados, entre ellos: amarillamiento del follaje, an-

Tabla 3. Selección de progenitores híbridos OxG-PDR (Taisha x Avros) por *pisifera* Avros.

FA	Código	OxG-PDR Avros (Progenitor femenino)	<i>Pisifera</i> Avros (Progenitor masculino)
1	RC1	10:23	1203-3612
9	RC2	15:6	1203-3612
6	RC3	15:13	1203-3612
6	RC4	13:3	1203-3612
5	RC5	4:1	1203-3612
6	RC6	13:4	1203-3612
7	RC7	7:7	1203-3612
14	RC8	3:2	1203-3612
7	RC9	7:8	1203-3612
6	RC10	13:6	1203-3612

drogénesis continua y baja producción de racimos; variabilidad que se puede atribuir a una escasa habilidad combinatoria de progenitores. Por esta causa los cruzamientos 2, 3, 4, 5, 6 y 7 fueron eliminados entre los 2 y 4 años de edad (Figuras 2a y 2b). De los cruzamientos 1, 8, 9 y 10 se seleccionaron 32 palmas por escasa androginia inicial, flores masculinas bien formadas con olor a anís y buena producción de racimos, como se muestra en las Figuras 3a y 3b.

Al año sexto de siembra, los híbridos interespecíficos *dura Deli* por *dura Taisha* (DDXOT) presentan menos susceptibilidad a la PC, no se han reportado casos; además, el polen de las inflorescencias de estos cruzamientos incrementó la capacidad de germinación hasta 41,01 %, en comparación con los híbridos OxG realizados con pisíferas, en donde la germinación no supera 21 %. Sin embargo, Sánchez G. (2009), en su estudio de germinación de polen en palma de

aceite, reporta una germinación mayor con los híbridos OxG realizados con progenitores *dura* y *tenera*, alcanzando 58,3 %, cuando se utilizó la oleífera de Manicore como progenitor femenino (Tabla 4).

Las principales características de desarrollo vegetativo de los híbridos *dura Deli* por *dura Taisha* seleccionados para los programas de mejoramiento se presentan en la Tabla 5.

Los racimos del híbrido *dura Deli* por *dura Taisha* presentan promedios de 50,29 % de frutos normales y 33,22 % de frutos partenocárpicos (Tabla 6); los frutos partenocárpicos pretenden formar cuesco, pero este se atrofia (Figura 4), a diferencia de los híbridos OxG realizados con pisíferas *guineensis*, cuyo fruto no presenta nuez.

Desde 2014 las palmas DDXOT se utilizan como progenitores femeninos en los retrocruzamientos



Figura 2. a. Amarillamiento de palmas DDXOT PDR.

b. Androgénesis pronunciada de palmas DDXOT PDR.



Figura 3. a. Palma con una producción normal de flores y racimos.

b. Palma con flor masculina normal.

Tabla 4. Esquema comparativo de porcentajes de germinación del polen en híbridos interespecíficos según el tipo de progenitor *guineensis*. PDR 2015.

Híbrido interespecífico	<i>Dura</i>	<i>Tenera</i>	<i>Pisifera</i>
OxG PDR - Taisha	40,01	29,12	21,14
OxG - Manicore	58,3	58,1	

Tabla 5. Características vegetativas de los híbridos *dura Deli* por *dura Taisha*.

Descriptor	
Tasa de crecimiento del tallo (cm/año)	11,46
Área foliar hoja 17 (m ²)	8,11
Presencia de espatas	Escasa
Antesis	Uniforme
Color del fruto	virenses
Peso promedio del fruto (g)	12,15
Nuez en fruto normal (%)	7,08
Racimos promedio por palma/año	11
Peso promedio del racimo (kg)	13,5
Producción (t/ha/año)	17,08

Figura 4. Frutos partenocárpicos y normales del híbrido DDxOT.



Tabla 6. Información promedio de contenidos de aceite y porcentajes de frutos en racimo de cuatro cruzamientos DDxOT Palmar del Río, Ecuador.

Código	Aceite en mesocarpio %	Aceite en racimo %	Mesocarpio en fruto %	Frutos normales en racimo %	Frutos partenocárpicos en racimo %
DD x OT 1	29,89	17,49	78,22	43,77	36,44
DD x OT 8	29,62	18,26	70,33	57,66	30,02
DD x OT 9	27,27	17,65	75,17	58,39	27,36
DD x OT 10	28,08	18,29	80,62	41,33	39,06
Media	28,72	17,92	76,09	50,29	33,22

que se efectúan en PDR con pisíferas fértiles *guineensis*, dada la información de los segregantes *tenera* del Ensayo HUID0208.

Ensayo HUID0208: Evaluación de materiales en campo - segregantes *tenera*

De los 10 códigos que fueron enviados a germinador solo dos se adaptaron al proceso de germinación establecido para los materiales OxG – PDR: RC1 y RC7, sembrando 23 y 47 palmas, respectivamente, en marzo de 2010 en el lote 11D2. Se evaluaron las características vegetativas de los retrocruzamientos que segregaron a *tenera* (Tabla 7). Con esta información y considerando los criterios usados por Bastidas *et al.*, (2007), como la disposición de folíolos en el raquis, largo y ancho de los mismos, vigor de los tallos, largo de hojas, largo de pe-

ciolos, largo del raquis, presencia de flores andróginas, y forma y color de los frutos, se determinó la segregación del fenotipo, obteniendo 61,1 % de palmas con fenotipo *guineensis* y 38,9 % híbrido OxG. Como se muestra en la Tabla 8, la segregación encontrada por Bastidas *et al.*, (2007) para este tipo de cruces presentó 62,7 % de los segregantes a híbridos y 37,3 % a *E. guineensis*; no obstante, estas diferencias son corroboradas con el postulado de Escobar y Alvarado (2004), explicando que los retrocruzamientos en palma de aceite dan lugar a la segregación de una serie de fenotipos diferentes, los cuales muestran características extremas e intermedias.

Se evaluó además la segregación de frutos, obteniendo 45,4 % de frutos *tenera* y 31,8 % de *pisifera* para el RC1, mientras que el RC7 presentó 72,9 % de *tenera* y 21,6 % de *pisifera*. Existen palmas en los dos códigos que aún no presentan racimos (Tabla 9).

Tabla 7. Características vegetativas de retrocruzamientos RC1 y RC7.

Característica	Unidad
Tasa de crecimiento del tallo (cm/año)	15,68
Área foliar (m ²)	5,41
Presencia de espatas	Escasa
Antesis	Uniforme
Color del fruto	virescens y nigrescens
Peso promedio del fruto (g)	15,21
Nuez en fruto (%)	3,11
Racimos promedio por palma segundo año	15
Peso promedio del racimo, segundo año (kg)	9,03
Producción segundo año (t/ha/año)	18,29

Tabla 8. Segregación de fenotipos en los RC1 y RC7.

Código	Evaluadas	Híbrido (%)	Guineensis (%)
RC 1	22	31,8	68,2
RC 7	37	45,9	54,1
Total	59	38,9	61,1

Tabla 9. Segregación de los tipos de frutos. * S

Código	Tenera %	Pisifera %	Sin definir %
RC 1	45,4	31,8	22,7
RC 7	72,9	21,6	5,4

Hasta la fecha no se han eliminado palmas por la PC; el 25 % de genes *oleifera*, con cinco años de siembra, está demostrando menos susceptibilidad a esta enfermedad letal. Los contenidos de aceite determinados en laboratorio fueron: mesocarpio (41,49 %) y racimo (25,99 %), similares a varios *tenera guineensis*; los frutos normales en racimo alcanzaron 63,65 % y 14,13 % de partenocárpico (Tabla 10).

La fertilidad del polen en los segregantes *tenera* del ensayo HUID0208 se restaura, alcanzando un valor promedio de 53,98 % de germinación. El problema existente en estos materiales es que el polen recolectado no supera los 8 gramos, que es bajo en comparación con el polen obtenido en una flor *guineensis* que supera los 30 gramos; de igual manera, sigue el vigor híbrido, y el número de inflorescencias masculinas es escaso. Es posible que esta condición cambie con la edad y pueda ser suficiente esta can-

tidad para obviar la polinización asistida en la etapa adulta del cultivo (Tabla 11).

Consideraciones finales

- Fue posible restaurar en los híbridos OxG realizados con *E. oleifera* Taisha la fertilidad del polen con la introgresión de genes de la especie *E. guineensis*.
- Con 25 % de genes *oleifera* se mantiene el vigor híbrido y hasta el momento la emisión de flores y polen es escasa. Estos materiales necesitan aún polinización asistida.
- Con 25 % de genes *oleifera*, aún no hay casos de la PC; esta generación de palmas mantiene el tamaño compacto y mejora la extracción de aceite en forma notable.

Tabla 10. Composición de racimo y contenidos de aceite (%).

Material	Mesocarpio en fruto	Frutos normales en racimo	Frutos partenocárpico en racimo	Aceite en mesocarpio	Aceite en racimo
RC7	86,50	56,40	18,83	39,96	25,46
RC1	84,32	70,89	9,43	43,01	26,52
Promedio	85,41	63,65	14,13	41,49	25,99

Tabla 11. Características de las inflorescencias masculinas del retrocruzamiento ((OxG) x G) – PDR 2015.

Característica	RC7	RC1	Promedio
Largo de pedúnculo	27,5	25	26,25
Nº espigas	99	117	108
Longitud media de espiga (cm)	14,0	11,17	12,59
Germinación del polen (%)	58,48	49,48	53,98
Polen colectado (g)	7,4	5,0	6,2

Referencias

- Alvarado, A. (2010). Avances en el mejoramiento genético de la palma de aceite en Centroamérica. *Palmas*, 1, 126-143.
- Amblard, P. (2010). Programa de mejoramiento de la palma aceitera de PalmElit y sus socios en Ecuador y Colombia. *Palmas*, Vol 1., 144-154.
- Amblard, P., Billotte, B., Cochard, T., Durand, J., Jacquemard, C., Louise, C., Nouy F, & Potier(2004). El mejoramiento de la palma de aceite *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera* por el Cirad-CP. *PALMAS*, Vol. 25, No. especial, Tomo II., 306-310.
- Barba, J. O. (2010). Evaluación agronómica de híbridos interespecíficos de palma de aceite OxG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) provenientes de diversos orígenes americanos y su tolerancia a la Pudrición de cogollo. *Palma* (Ecuador), 11-15.
- Bastidas, S., Peña, E., Reyes, R., Pérez, J. & Tolosa, W. (2007). Comportamiento agronómico del cultivar híbrido RC1 de Palma de aceite (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) x *Elaeis guineensis*. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. Vol, 8. 5-11.
- Escobar, R. & Alvarado, A. (2004). Estrategias para la producción comercial de semillas y clones de palma de aceite compactas. San José, Costa Rica. *ASD Oil Palm Papers*, 27. 13-26.
- Murphy, D. (2014). The future of oil palm as a major global crop opportunities and challenges. *Journal of oilpalmresearch*. Vol. 26, N°1, 1-24.
- Myint, K.A., Rafiil, M.Y., Sheikh-Abdullah, S.A., Lwin, N.M., Mohd Din, A. & Latif, M.A. (2012). Determination of the optimum pollen germination medium for different fruit forms of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol. 14, Issue 1: 1855-1865.
- Rajinder Singh, Eng-Ti Leslie Low, Leslie Cheng-Li Ooi, Meilina Ong-Abdullah, Ngoot-Chin Ting, Jayanthi Nagappan, Rajanaidu Nookiah et al. (2013). *The oil palm SHELL gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK*. Macmillan Publishers limited.
- Rajinder Singh, Meilina Ong-Abdullah, Eng-Ti Leslie Low, Mohamad Arif Abdul Manal, Rozna Rosli, Rajanaidu Nookiah et al. (2013). *Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and New worlds*. Macmillan Publishers limited.
- Rey, L. G. (2007). La variabilidad del germoplasma y su relación con el éxito de un programa de mejoramiento en palma de aceite. *Palmas*, Vol. 28, N°1, 166-175.
- Sánchez, A. y Romero, H. (2013). *Viabilidad y morfología del polen de diferentes materiales de palma de aceite*. Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite – Cenipalma, No. 171.
- Sánchez, G., Lopes, R., Vieira, R. & Carvalho, R. (2009). Germinação in vitro de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiaué e o dendezeiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, Vol.39, No.5, 1569-1571.