

# Genoma de *Phytophthora palmivora*

Mariana Herrera-Corzo<sup>1</sup>, Juanita Gil<sup>1,2,4</sup>, Jorge Duitama<sup>2</sup>, Greicy Sarria<sup>3</sup>, Silvia Restrepo<sup>4</sup>, Hernán Mauricio Romero<sup>1,5,6\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Biología y Mejoramiento de Cenipalma; <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería de Sistemas y Computación, Universidad de los Andes; <sup>3</sup>Programa de Plagas y Enfermedades Cenipalma; <sup>4</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes; <sup>5</sup>Coordinador Programa de Biología y Mejoramiento, Director de Investigación Cenipalma; <sup>6</sup>Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Correo: hromero@cenipalma.org

## Introducción

La palma de aceite *Elaeis guineensis* es la especie vegetal que genera la mayor producción de aceite en el mundo. Colombia es el principal productor de aceite de palma en Suramérica y el cuarto productor a nivel mundial, con más de 1'600.000 toneladas de aceite producidas en 2018 en un área aproximada de 500.000 ha.

La enfermedad Pudrición del cogollo (PC), la cual es causada por *Phytophthora palmivora*, es la principal limitación en la producción de aceite de palma en Colombia, causando pérdidas en la última década que superan los 2'385.00 USD. Dentro del arsenal empleado por *P. palmivora* para colonizar el tejido de la palma de aceite, se encuentran los factores de virulencia, algunas de sus funciones son: la evasión de la respuesta de defensa y manipulación de metabolismo de la planta para su beneficio, las moléculas más importantes son proteínas llamadas efectores, que poseen en su estructura dominios conservados, posibilitando su identificación teniendo como referencia el genoma completo del patógeno, mediante herramientas bioinformáticas.

## Metodología

Aislamientos de *P. palmivora* provenientes de las cuatro zonas palmeras.



Figura 3. Ensamblaje y anotación del genoma de *Phytophthora palmivora*. Estrategia de ensamblaje usando el software CANU (OLC algorithm) y NGSEP (corrección de bases), y anotación usando el flujo de trabajo de MAKER.

## Resultados

### Ensamblaje del genoma de referencia

El genoma ensamblado de *P. palmivora* proveniente de aislamiento CPPhZC-05 de palma de aceite con PC. El genoma tiene una longitud total de 165,55 Mbp (millones de pares de bases), la cual es similar al tamaño esperado para este organismo (151,23 Mbp) según publicaciones previas en cacao (Ali *et al.*, 2017). Gracias al tipo de secuencias usadas para este ensamblaje es posible que algunas regiones hayan sido mejor ensambladas y resueltas en este genoma, lo cual explicaría la diferencia de tamaños entre los dos genomas.

Comparado con otros genomas públicos para diferentes especies del género *Phytophthora*, el ensamblaje obtenido en este trabajo para *P. palmivora* es uno de los mejores actualmente, al poseer poco número de secuencias ensambladas, con una gran longitud y una profundidad muy alta 50X.

Tabla 1. Estadísticas del ensamblaje del genoma.

Especie	Hospedero	Longitud de ensamblaje (Mbp)	N50	Contigs
<i>P. palmivora</i>	Palma de aceite	165.5	220,825	2,322
<i>P. palmivora</i>	Cacao	107.7	6,694	24,809
Mejora	-	-	33x	11x

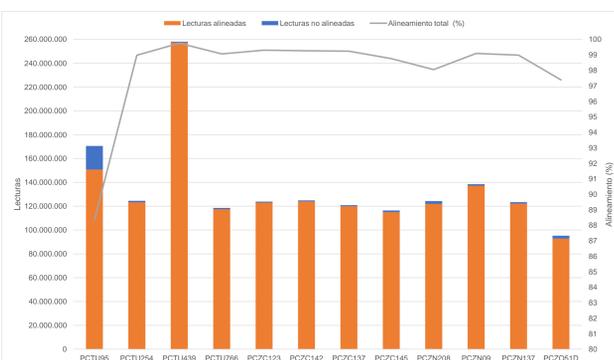


Figura 4. Alineamiento de lecturas de 12 aislamientos de *P. palmivora* sobre el genoma de referencia ensamblado.

### Anotación del genoma de referencia e identificación de efectores

Para el genoma ensamblado o de referencia CPPhZC-05 se anotaron 45,416 genes, para los cuales se reporta tamaño, como también el tamaño de las proteínas. Además, a partir de la anotación se identificaron genes de tipo efectores: 799 de tipo RxLR y 8 CRN.

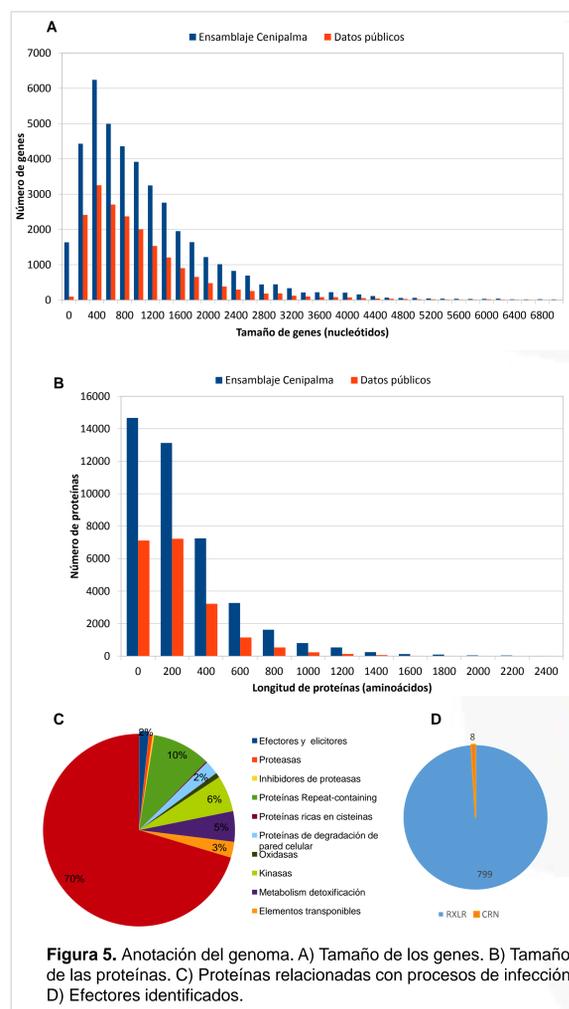


Figura 5. Anotación del genoma. A) Tamaño de los genes. B) Tamaño de las proteínas. C) Proteínas relacionadas con procesos de infección. D) Efectores identificados.

### Diversidad genética

Las lecturas de todos los aislamientos fueron sobrelapadas con el genoma de referencia CPPhZC-05 y posteriormente se realizó el análisis de variantes alélicas. Finalmente se construyó una matriz de distancias genéticas para inferir las diferencias genéticas, empleando el método de agrupamiento Neighbor-joining.

Tabla 2. Lista de aislamientos de *P. palmivora*, de la Colección de Microorganismos de la Palma de Aceite MPA, secuenciados y comparados con el genoma de referencia.

Código aislamiento	Origen
CPPhZC-02	Santander
CPPhZC-03	Santander
CPPhZC-04	Santander
CPPhZC-05	Santander
CPPhZN-01	Magdalena
CPPhZN-02	Magdalena
CPPhZN-03	Magdalena
CPPhZN-05***	Magdalena
CPPhZOC-01	Nariño
CPPhZOC-02	Nariño
CPPhZOC-03	Nariño
CPPhZOC-04	Nariño
CPPhZOR-01	Meta

\*\*\* Aislamiento proveniente de palma con PC- hoja clorótica

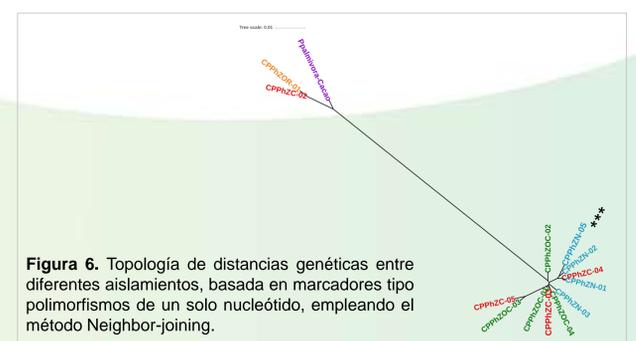


Figura 6. Topología de distancias genéticas entre diferentes aislamientos, basada en marcadores tipo polimorfismos de un solo nucleótido, empleando el método Neighbor-joining.

## Conclusiones

Se cuenta con un genoma ensamblado de alta calidad para un aislamiento de *P. palmivora* proveniente de palma de aceite. En el ensamblaje se identificaron proteínas involucradas en el proceso de virulencia. Basado en marcadores tipo polimorfismos de un solo nucleótido se caracterizó la diversidad genética de 13 aislamientos de *P. palmivora* colombianos, los cuales generan dos grupos, es decir, se observa poca diversidad.

## Perspectivas

Estos resultados son importantes porque proporcionan información valiosa a emplear en el Programa de Mejoramiento, con el objetivo de lograr una resistencia durable a enfermedades como la PC, mediante el entendimiento de la genética de *P. palmivora* y los mecanismos de virulencia que emplea para infectar la palma de aceite.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Colciencias por la financiación de esta investigación bajo el Contrato 158-2016 Estrategia de selección de materiales de *Elaeis guineensis* resistentes a la Pudrición del cogollo mediante expresión transitoria de proteínas de virulencia de *Phytophthora palmivora*. Se agradece también al equipo de trabajo de los laboratorios de Biología Molecular y Fitopatología de Cenipalma por la ayuda prestada en esta investigación, al Laboratorio de Micología y Fitopatología de la Universidad de los Andes, al Servicio de Cómputo de Alto Desempeño de la Universidad de los Andes. Se agradece a la investigadora Dalí Rojas por todo su apoyo en los trámites de permisos ante entidades gubernamentales para realizar la presente investigación. Este proyecto también fue financiado por el Fomento de Fondo Palmero. Estos resultados se encuentran amparados por el contrato de Acceso a Recurso Genético 194-2017 entre Cenipalma y el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Los aislamientos de *P. palmivora* son recursos biológicos colombianos.