Biotecnología, actualidad y futuros desarrollos para la agroindustria de la Palma de Aceite

COLOMBIA PALMERA EN LÍNEA
12 OCTUBRE 2023

CONTENIDO

* Caracterización de la diversidad genética de las colecciones biológicas de CENIPALMA

* Estudios de factores abióticos relevantes para el cultivo

Factores genéticos claves para la síntesis de ácidos grasos

Genes asociados a la generación de frutos partenocárpicos en respuesta a la aplicación de inductores de crecimiento

Modelo biológico de la respuesta al estrés por Aluminio

* Estudios de factores bióticos limitantes para el cultivo

Determinación del agente causal de la Pudrición Basal del Estípite

Determinación del agente causal de la Marchitez Letal

Biotecnología para enfrentar la pudrición del cogollo

cenipalma

Caracterización de la diversidad genética de las colecciones biológicas de CENIPALMA

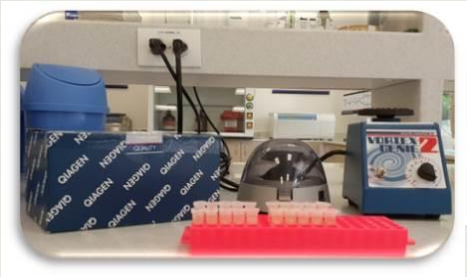
Palma *E. oleifera* en condición silvestre.

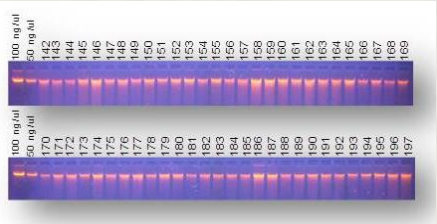
cenipalma

Flujo de trabajo para los estudios de diversidad genética

1) Colecta de Material Vegetal y Macerado

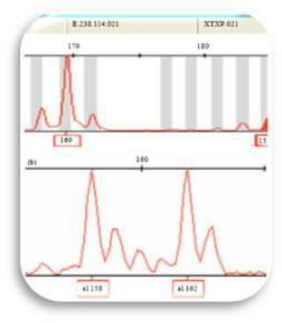
2) Extracción de ADN



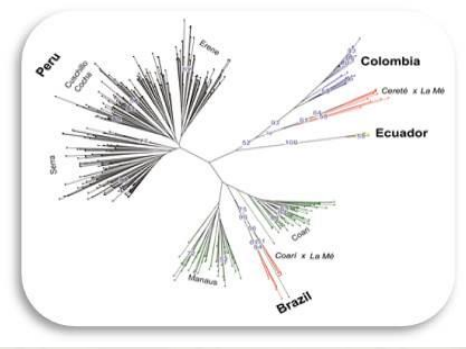


3) Amplificación con Marcadores Microsatélites y Análisis de Diversidad Genética

3500xL Genetic Analyzer" de AB Applied Biosystem_Secuenciador



Amplificación SSR

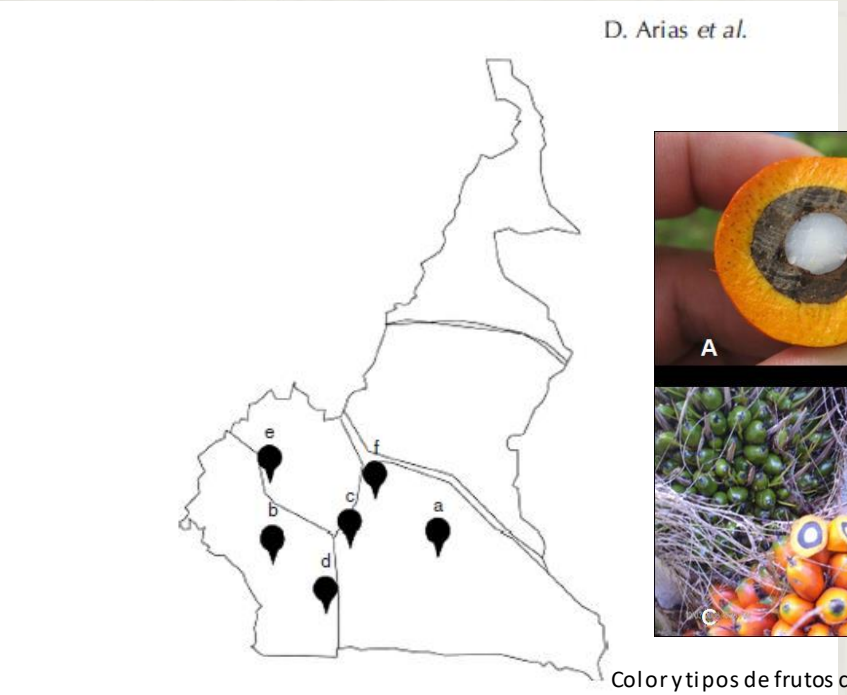


Análisis de Diversidad Genética

cenipalma

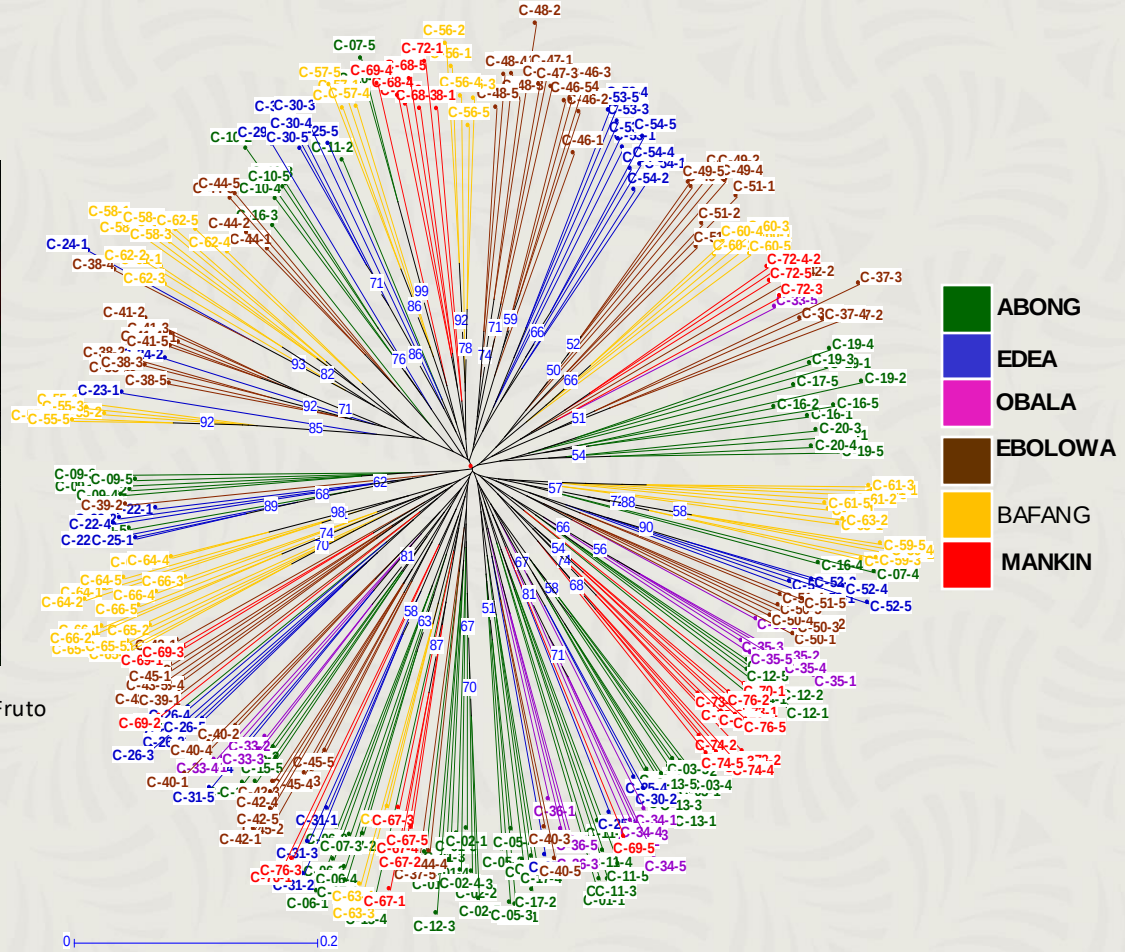
ESTUDIOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS COLECCIONES BIOLÓGICAS DE CENIPALMA

Colecta de Palma de Aceite (*E. guineensis*) en la República de Camerún (África)



Mapa de la República de Camerún con los lugares donde se realizó la colecta de semillas de Palma de Aceite

Color y tipos de frutos colectados en Camerún. A: Fruto tipo Dura. B: Fruto tipo Ténera. C: Fruto Virescens. D: Fruto Nigrescens

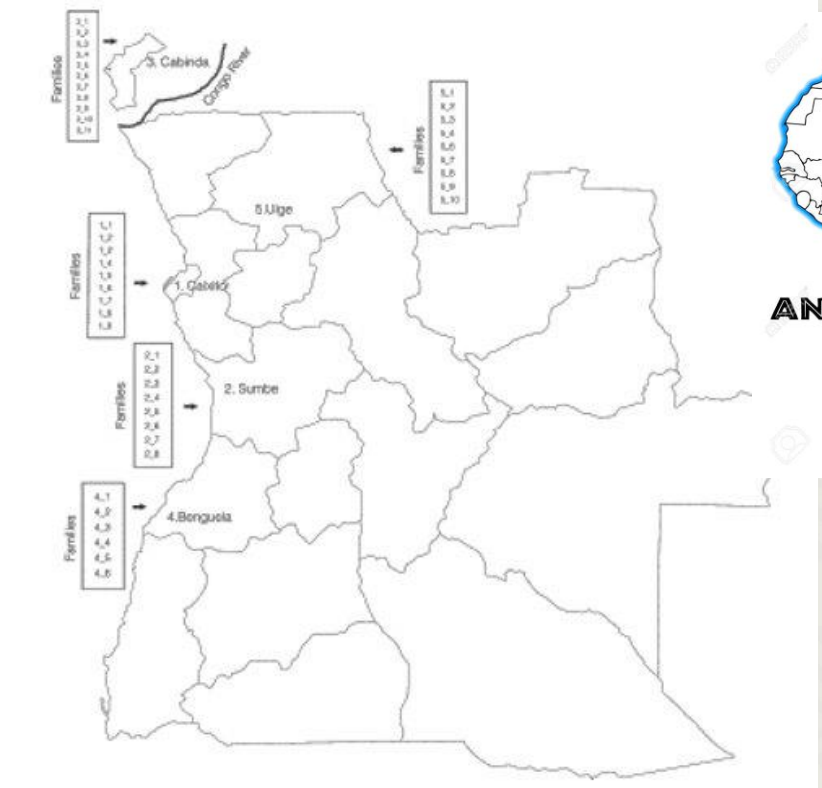


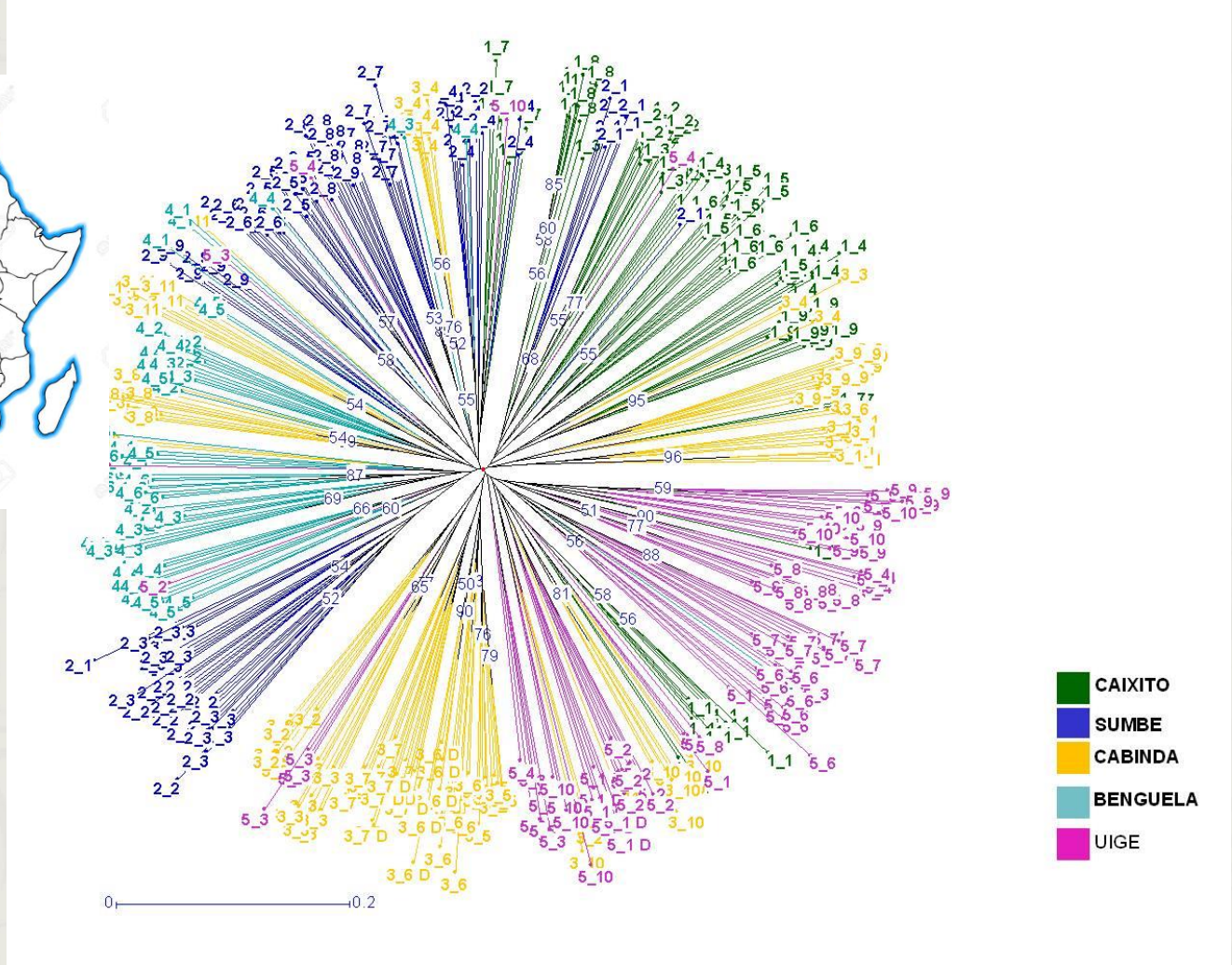
Topología basada en el método de agrupamiento Neighbor-joining y el índice de disimilaridad. Incluye las 311 accesiones de *E. guineensis* de la Colecta de Camerún, las cuales no se observan separadas por su origen geográfico.

Arias, D., Montoya, C., & Romero, H. (2012). Molecular characterization of oil palm Elaeis guineensis Jacq. materials from Cameroon. Plant Genetic Resources, 11(02), 140–148. https://doi.org/10.1017/S1479262112000482

cenipalma

Colecta de Palma de Aceite (*E. guineensis*) en la República de Angola (África)





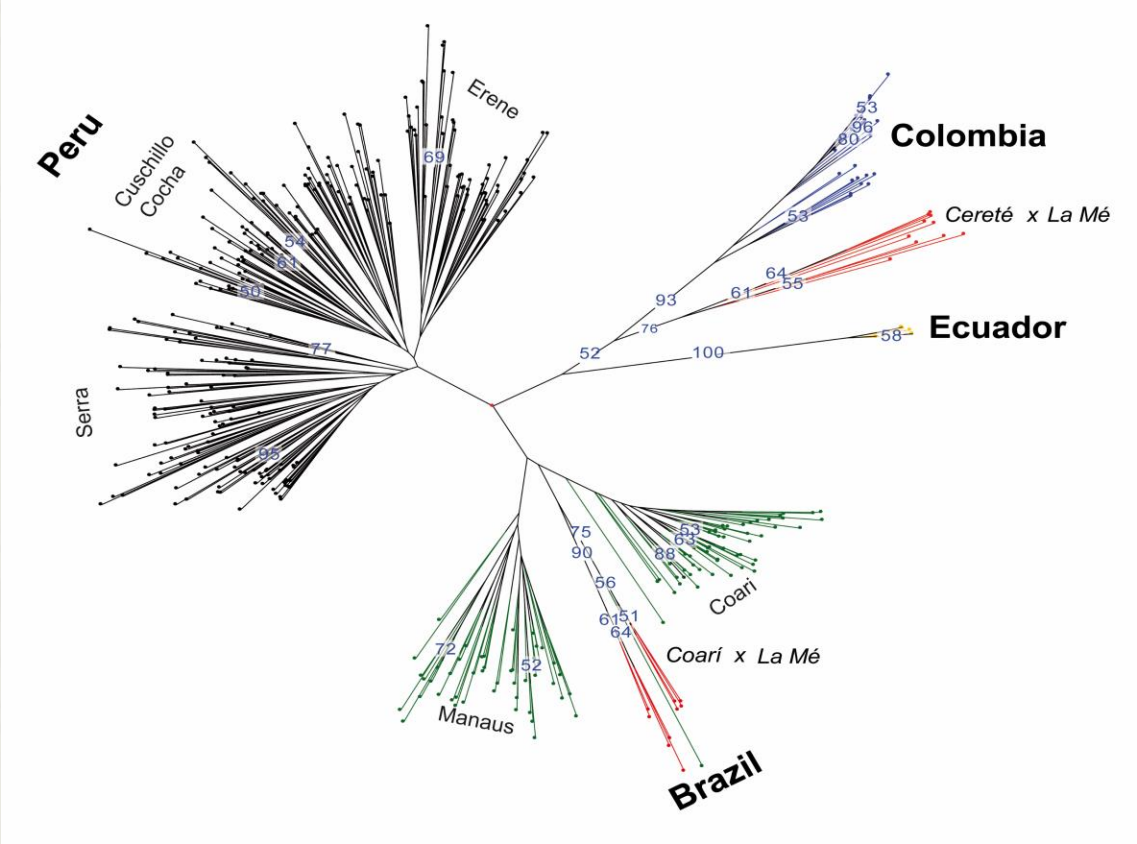
Arias, D., González, M., Prada, F., Restrepo, E., & Romero, H. (2013). Morpho-agronomic and molecular characterisation of oil palm Elaeis guineensis Jacq. material from Angola. Tree Genetics & Genomes, 9(5), 1283–1294. https://doi.org/10.1007/s11295-013-0637-5

Figura 1. Topología Neighbor Joining (método Weighted) a partir de una matriz de disimilaridad con un índice de apareamiento simple (DARwin 6.0). Se incluyen 455 palmas de la colección de germoplasma de Angola

cenipalma

ESTUDIOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS COLECCIONES BIOLÓGICAS DE CENIPALMA

Palma Americana, *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortes



Híbridos OxG

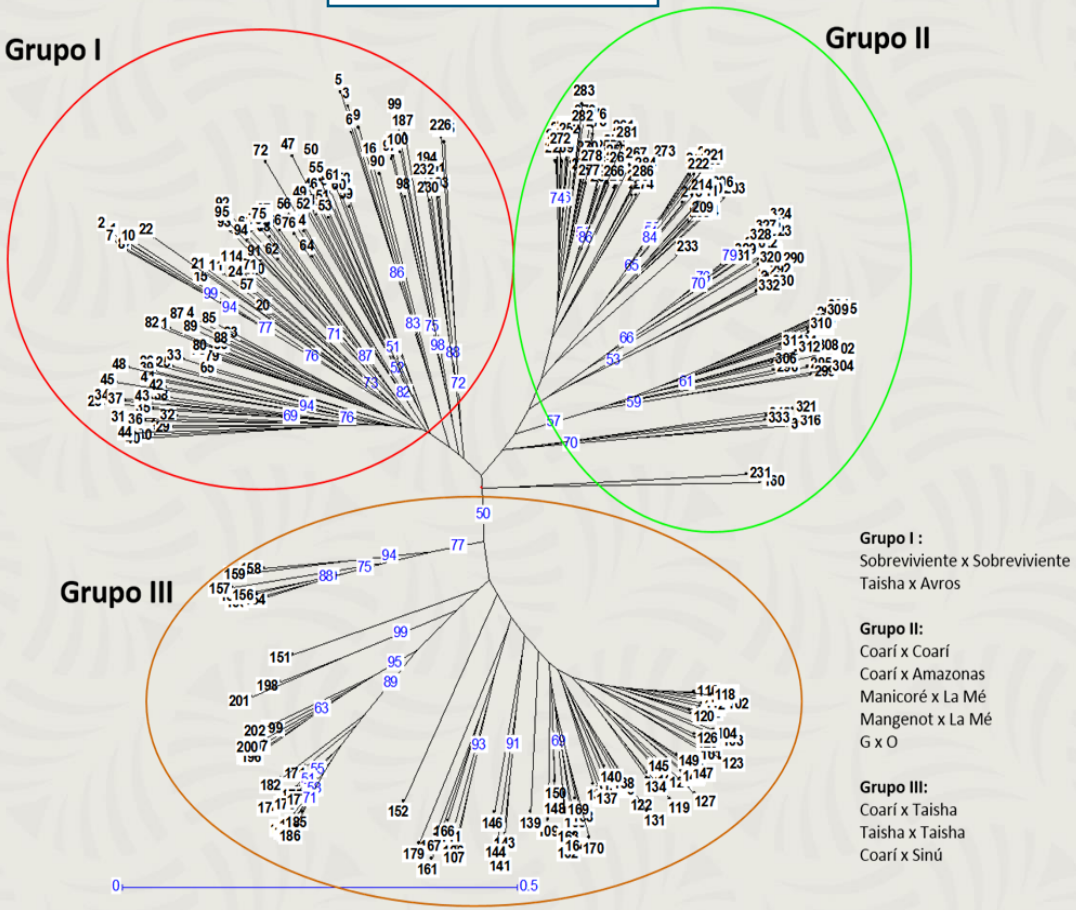


Figura 1. Topología Neighbor Joining (método Weighted) a partir de una matriz de disimilaridad con un índice de apareamiento simple (DARwin 6.0).

cenipalma

Estudio de la estructura genética espacial de la palma *Elaeis oleifera (Kunth) Cortés* en zonas de distribución natural de Colombia con fines de conservación *ex situ*

Proyecto Colciencias (Contrato 152-2016).

Pre-prospección de la especie *E. oleifera* en el territorio colombiano

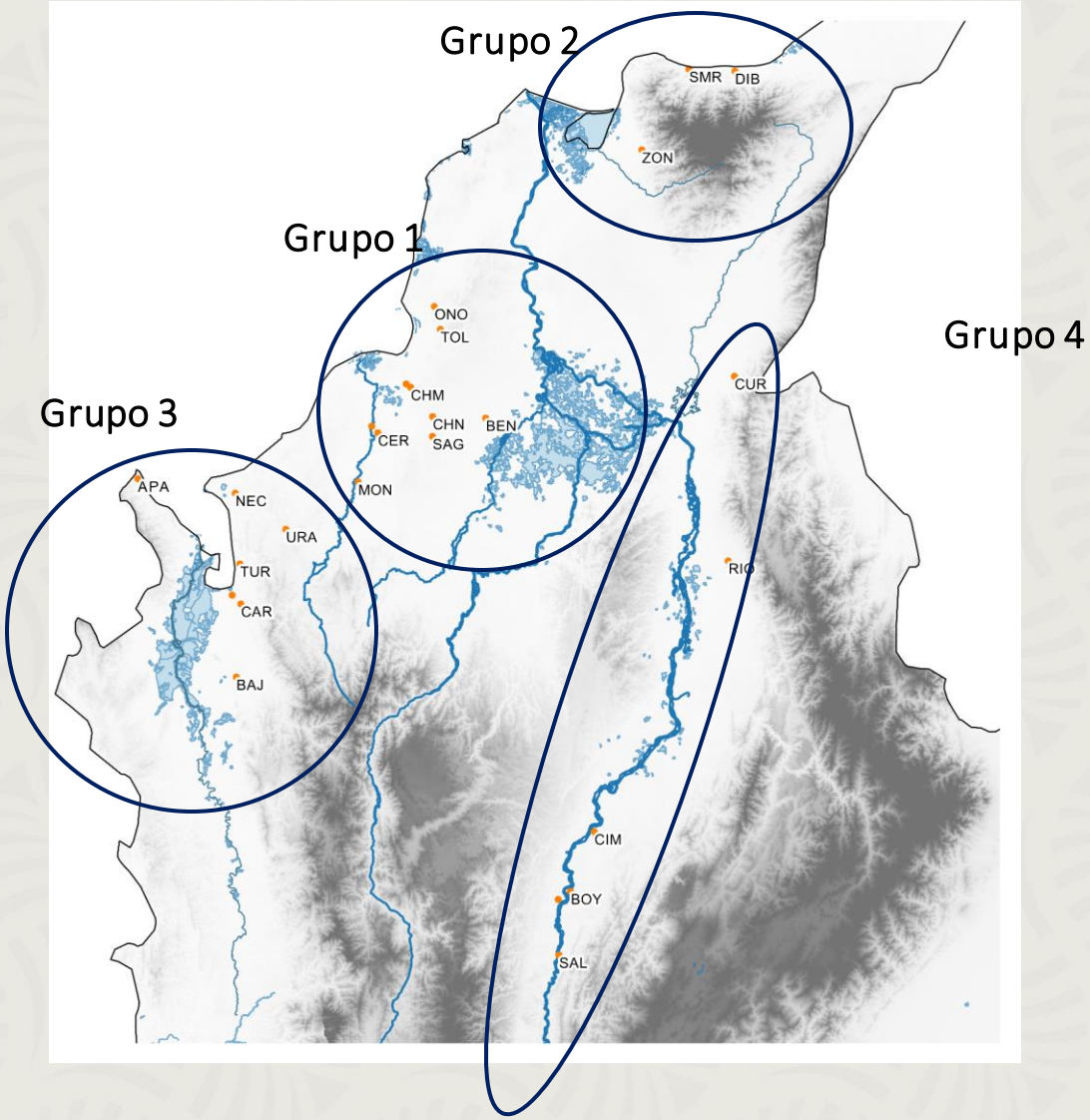
Tabla 1. Lista de Departamentos y Municipios en los cuales se realizó la pre-prospección de la especie *E. oleifera.*

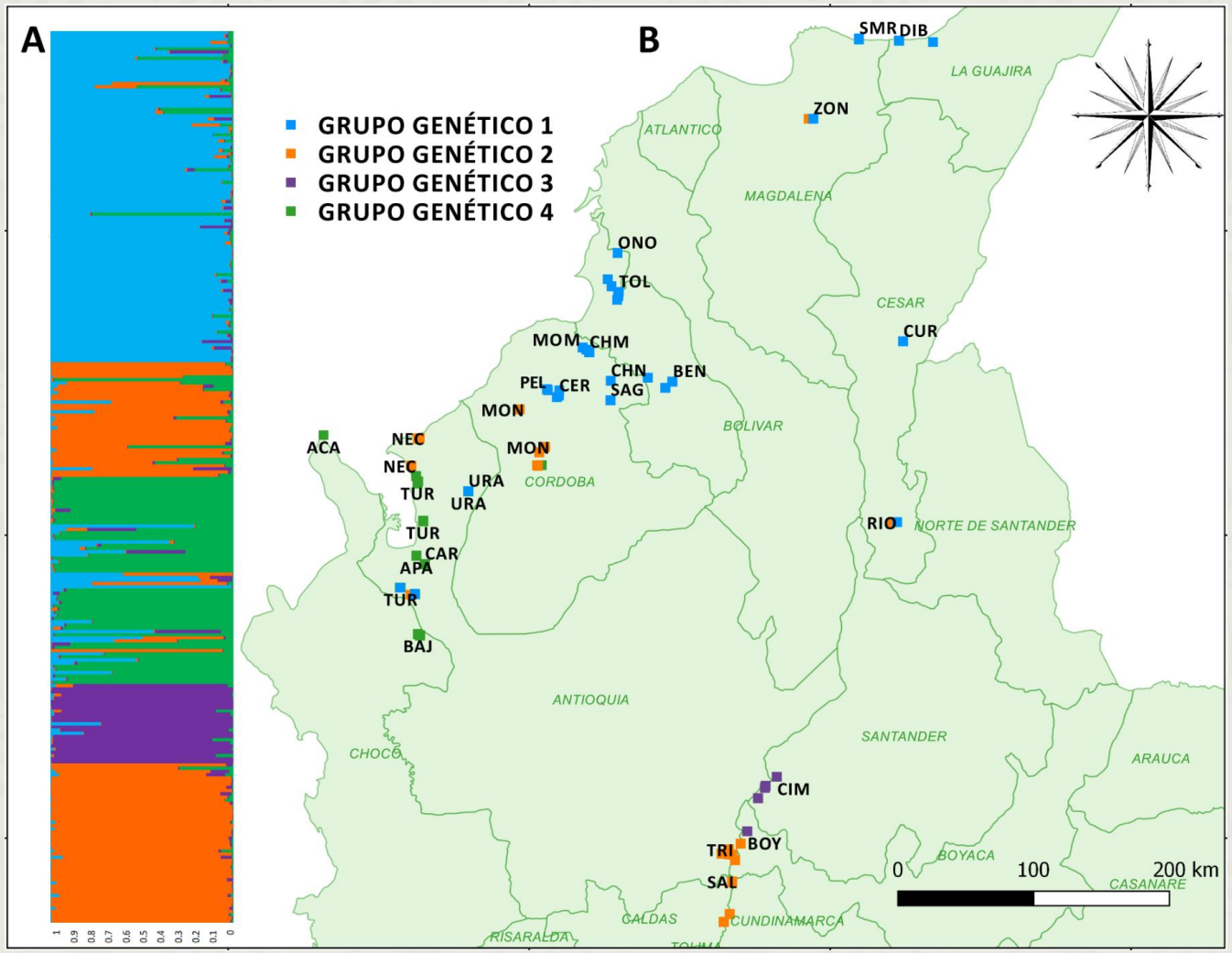
Departamento	Municipio
Antioquia	Carepa, Chigorodó, Necoclí, Puerto Triunfo, San Pedro de Urabá, Turbo
Boyacá	Puerto Boyacá
Bolívar	María La Baja
Caldas	La Dorada
Cesar	Curumaní, Pelaya, Río de oro
Chocó	Belén de Bajirá
Córdoba	Cereté, Chinú, Chimá, Momil, Montería, Purísima, San Pelayo, Sahagún, Tierra Alta
Cundinamarca	Puerto Salgar
Guajira	Dibulla, Riohacha
Magdalena	Santa Marta, Zona Bananera
Santander	Cimitarra, Puerto Parra, Puerto Wilches
Sucre	Caimito, Palmito, San Benito Abad, San Onofre, Sincelejo, Tolú, Tolú Viejo

Figura 1. Mapa de pre-prospección de la especie *E. oleifera* en 12 departamentos y 37 municipios de las regiones del Andina y Caribe

cenipalma

Principales Resultados





Patrones de diversidad genética de las poblaciones del estudio

cenipalma

Factores genéticos claves para la síntesis de ácidos grasos

cenipalma

Perfil de la composición en ácidos grasos del aceite vegetal …

Aceite de Oliva

Saturados	15 %
Mono-insaturados	**75 %**
Poli-insaturados	10 %

Aceite de Colza

Saturados	6 %
Mono-insaturados	**62 %**
Poli-insaturados	32 %

Aceite de Maíz

Saturados	14 %
Mono-insaturados	**28 %**
Poli-insaturados	58 %

Aceite de Palma

Saturados	50 %
Mono-insaturados	**40 %**
Poli-insaturados	10 %

Aceite de girasol

Saturados	12%
Mono-insaturados	**22 %**
Poli-insaturados	66 %

Aceite de Soya

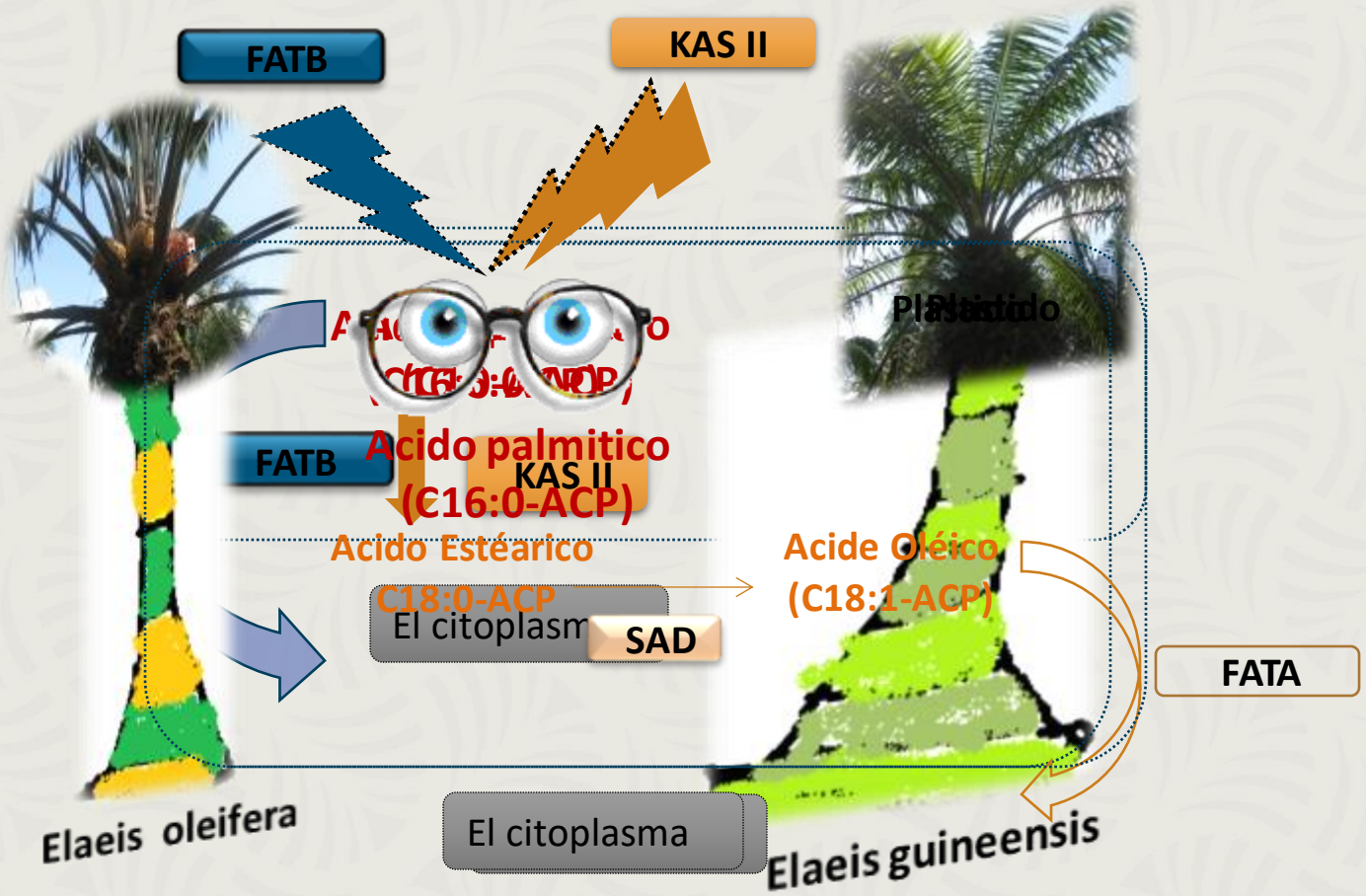
Saturados	15 %
Mono-insaturados	**24 %**
Poli-insaturados	61 %

cenipalma

Nosotros tenemos el escenario siguiente que consideramos es el mas probable:

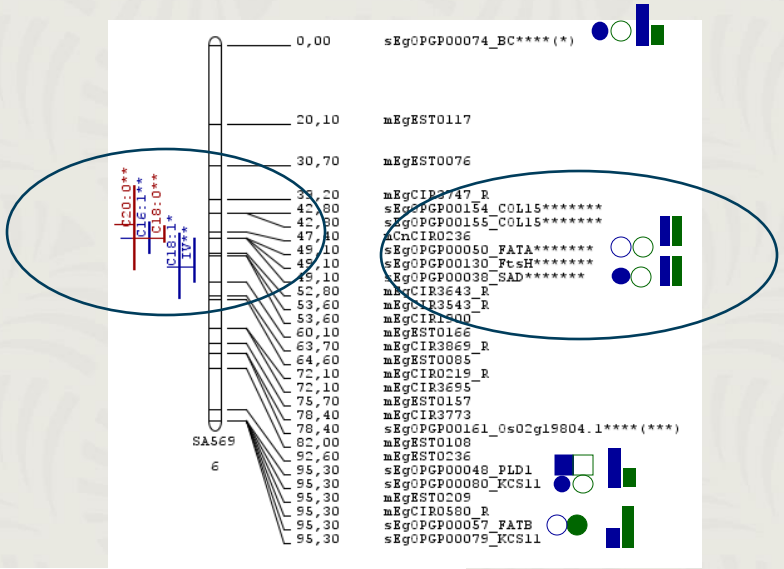
✓ ***El nivel de la expresión de los genes de la vía de síntesis y de montaje de los ácidos grasos es mas elevado en E. guineensis.***

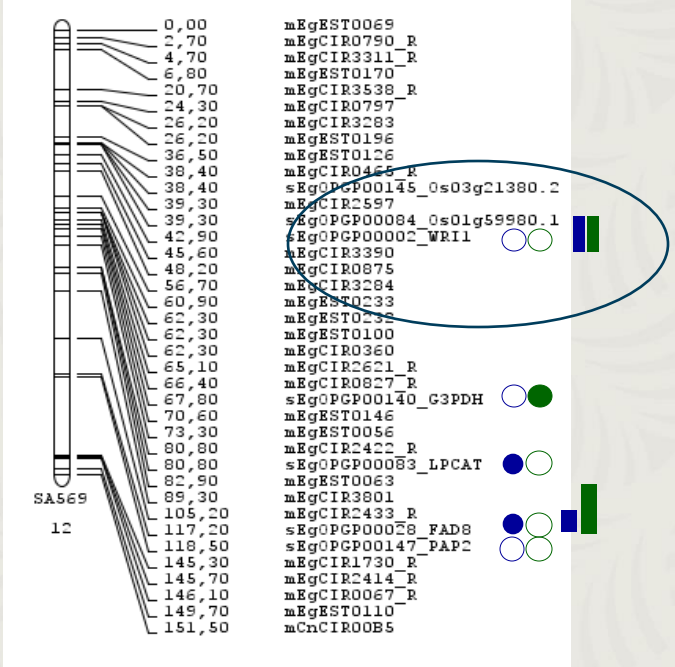
✓***Elaeis oleifera*** **tiene un retraso en la expresión de toda la maquinaria de síntesis de los ácidos grasos.**

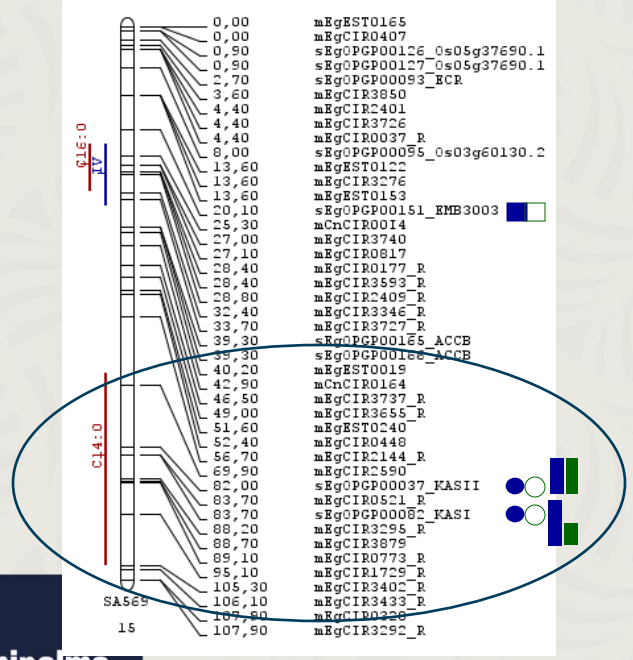


cenipalma

Caso de QTL y genes co-localizados







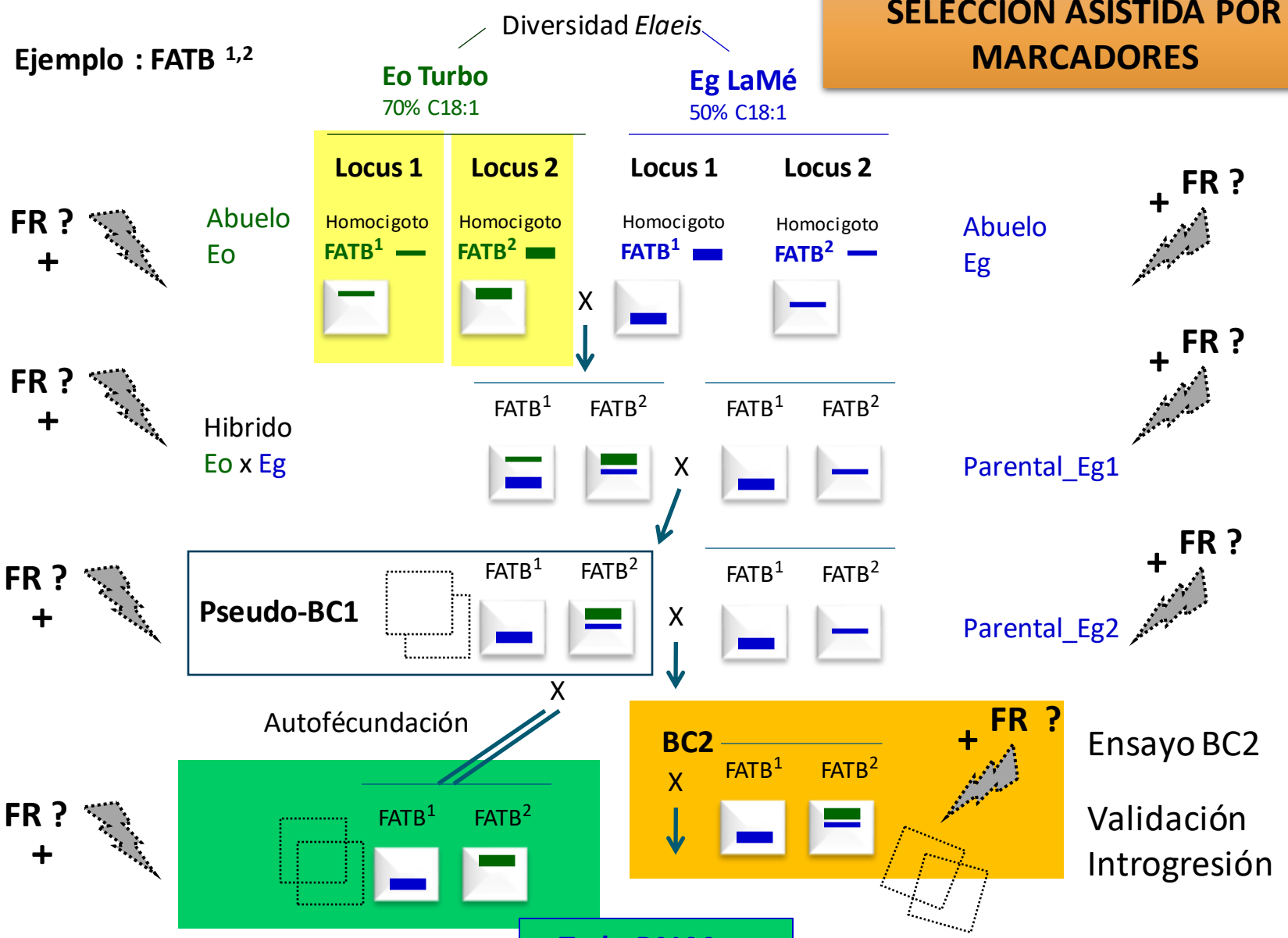
Resultados

- ✓ Principales genes homólogos mapeados
- ✓ SNP intra-génicos disponibles para estudios genómicos
- ✓ Varios genes candidatos homólogos confirmados por los QTL (FATA, SAD, KAS I, KAS III)
- ✓ **WRI1 no parece influir en las proporciones de ácidos grasos**

cenipalma

SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES

Ejemplo : FATB [1,2]



Se puede imaginar otras opciones a **« TurboPALM »** min. 80% C18:1 **?** *un verdadero aceite de oliva tropical*

Genes asociados a la generación de frutos partenocárpicos en respuesta a la aplicación de inductores de crecimiento

cenipalma

Genes asociados a la generación de frutos partenocárpicos en respuesta a la aplicación de inductores de crecimiento

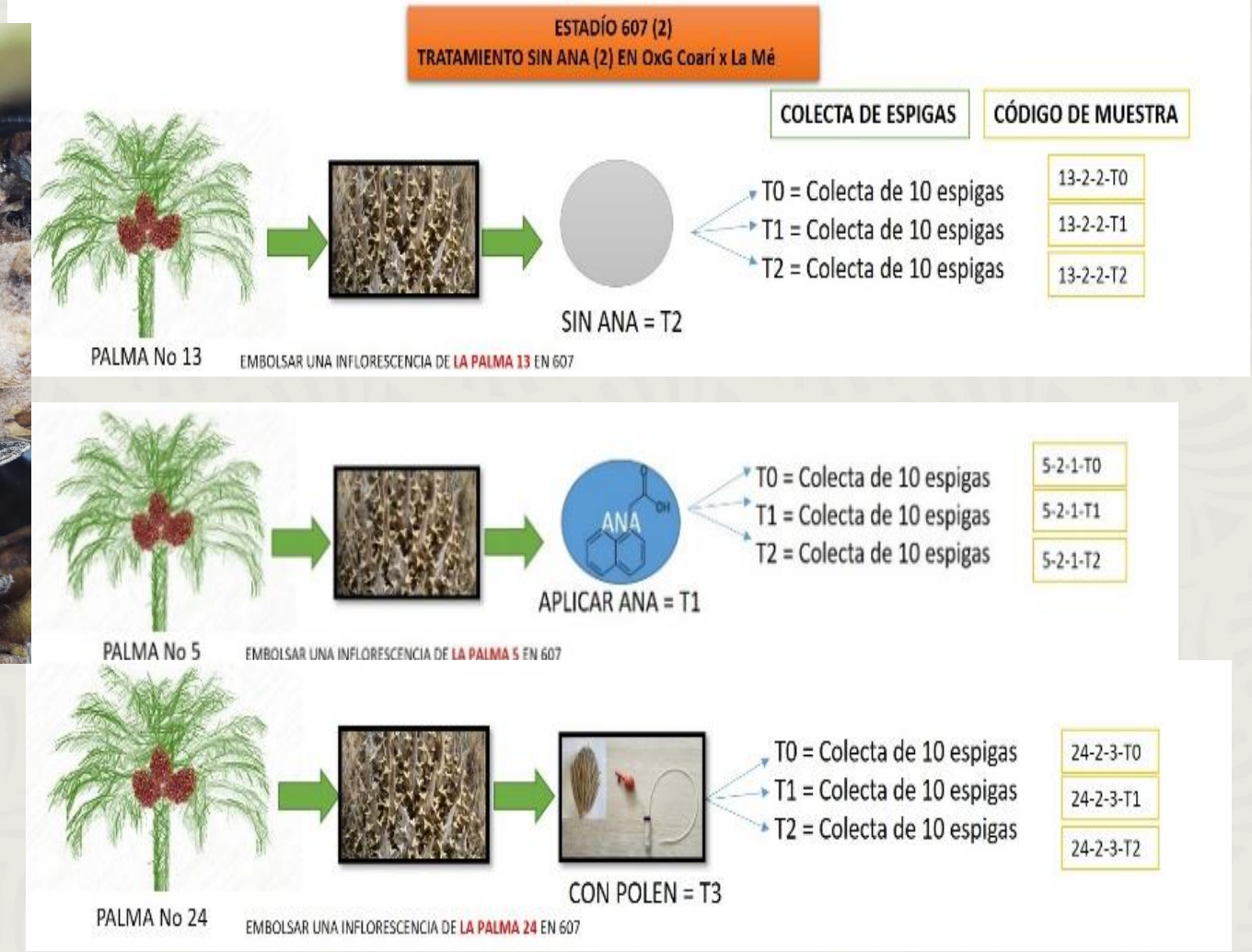
Metodología en campo para analizar la expresión genes

Estadío 603

Estadío 607

Estadío 700

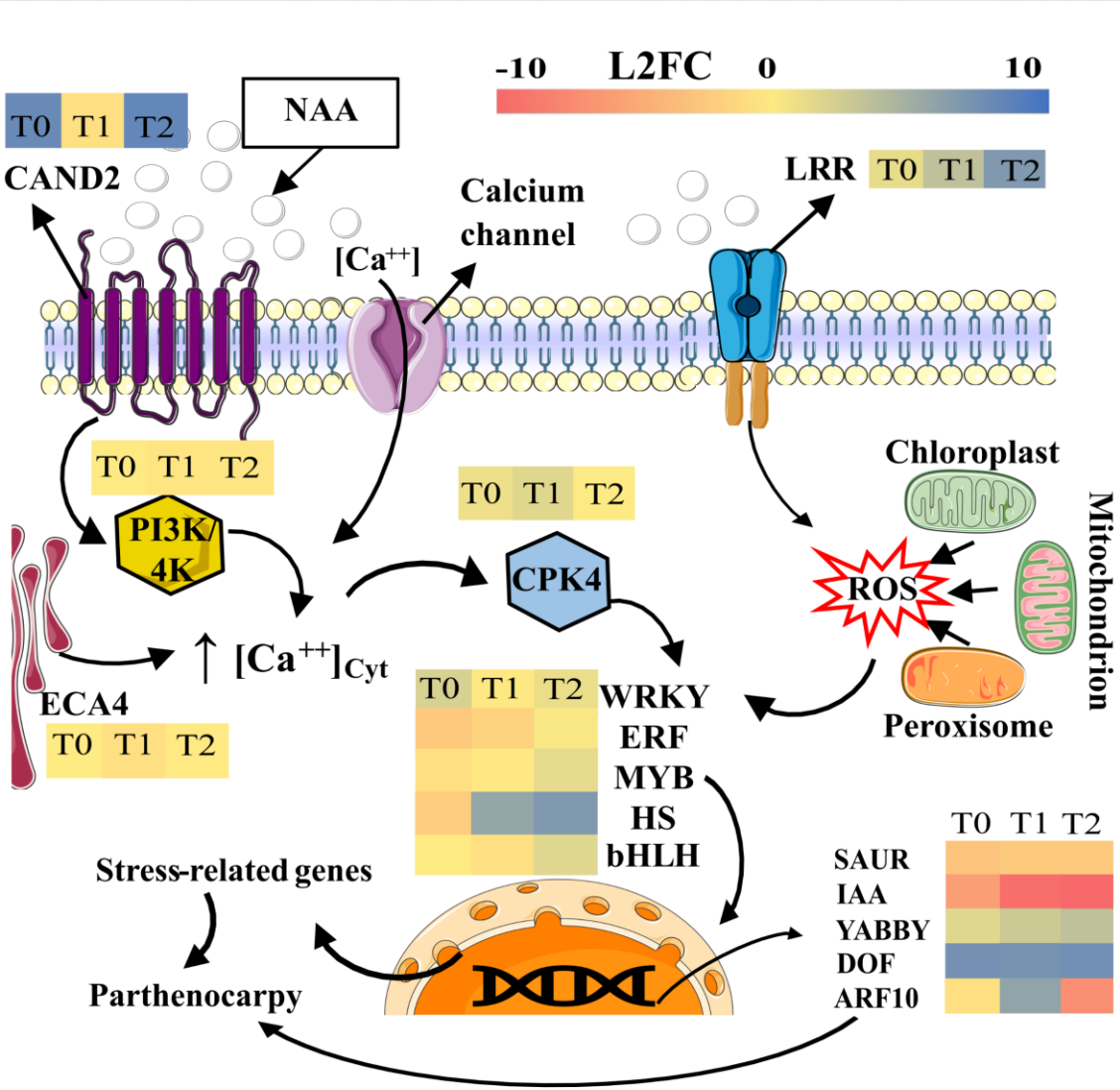
Tratamiento con inductor de crecimiento: Ácido Naftalenacético (ANA) con dosis de 1.200 ppm



cenipalma

Modelo biológico propuesto en respuesta a la aplicación de ANA

Inflorescencia estado 607



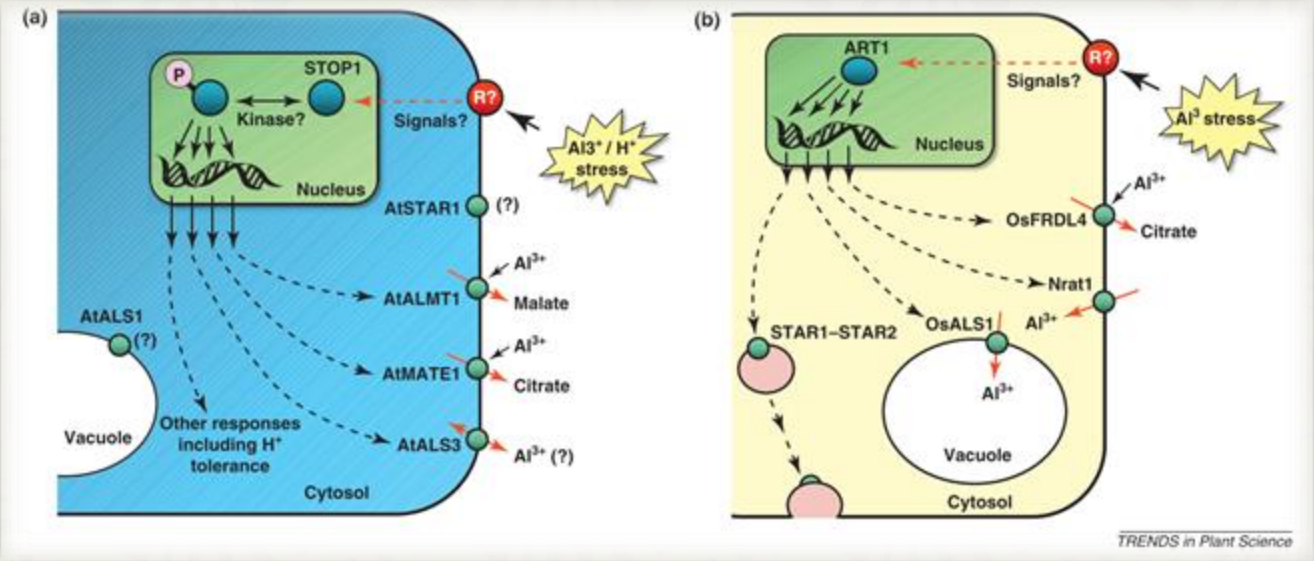
Modelo de respuesta biológica a la aplicación del tratamiento con inductor de crecimiento: Ácido Naftalenacético (ANA)

Racimo con frutos partenocárpicos

Montoya, C., Mejia-alvarado, F. S., Botero-rozo, D., Ayala-diaz, I. M., & Romero, H. M. (2023). Parthenocarpy-related genes induced by naphthalene acetic acid in oil palm interspeci fi c O × G [Elaeis oleifera (Kunth) Cortés × Elaeis guineensis Jacq .] hybrids. Frontiers in Genetics, 14:1099489(March), 1–12. https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1099489

cenipalma

Modelo biológico de la respuesta al estrés por Aluminio en Palma de Aceite



Modelos biológicos de tolerancia a Aluminio para A. thaliana y arroz

Delhaize, E., Ma, J. F., & Ryan, P. R. (2012). Transcriptional regulation of aluminium tolerance genes. Trends in Plant Science, 17(6), 341–348. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.008

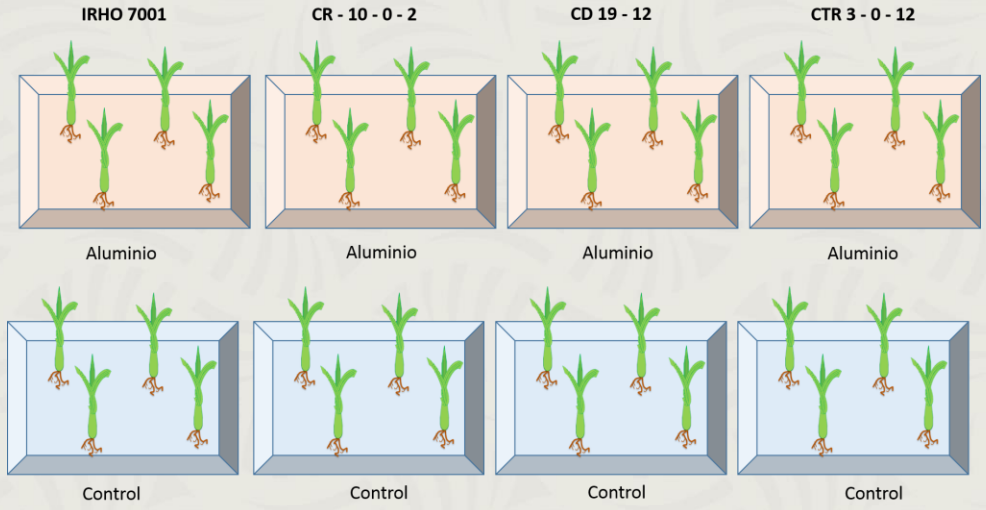
cenipalma

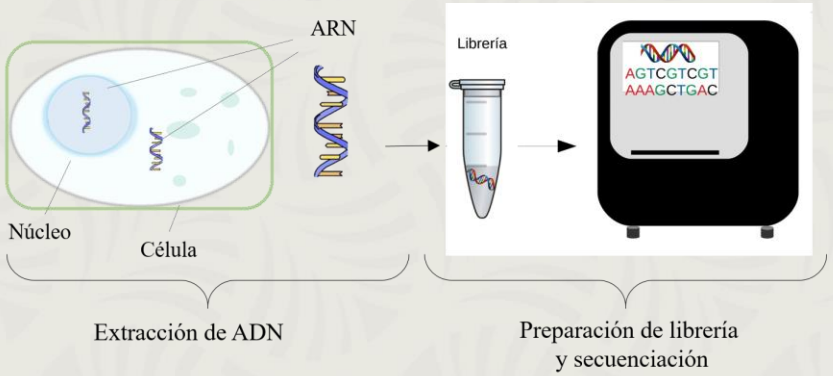
Metodología para analizar la expresión genes

1. Siembra en casas de malla del ensayo
2. Corte de tejidos de las raíces para extracción el RNA
3. Análisis de expresión de genes asociados a la respuesta al estrés por Aluminio

Figura 1. Montaje en casa de mallas. Palmas en recipientes de poliestireno con solución Hoagland.

Evaluación de 4 materiales, un cultivar comercial IRHO 7001 y tres progenies de cruzamientos de la colección biológica de Camerún x Yangambí (CR-10-0-2, CD19-12 y CTR3-0–12).





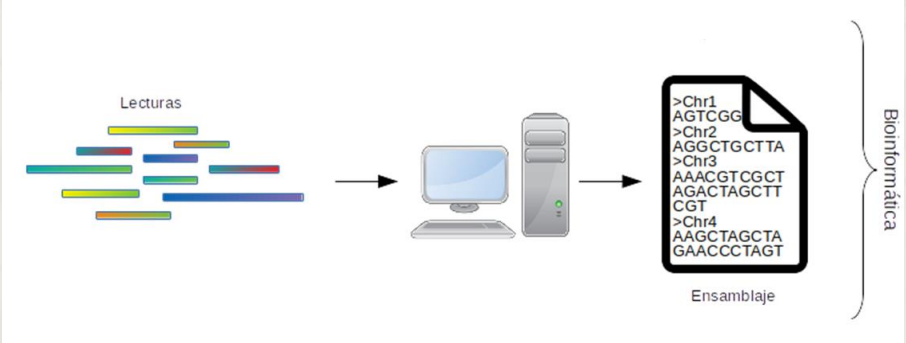
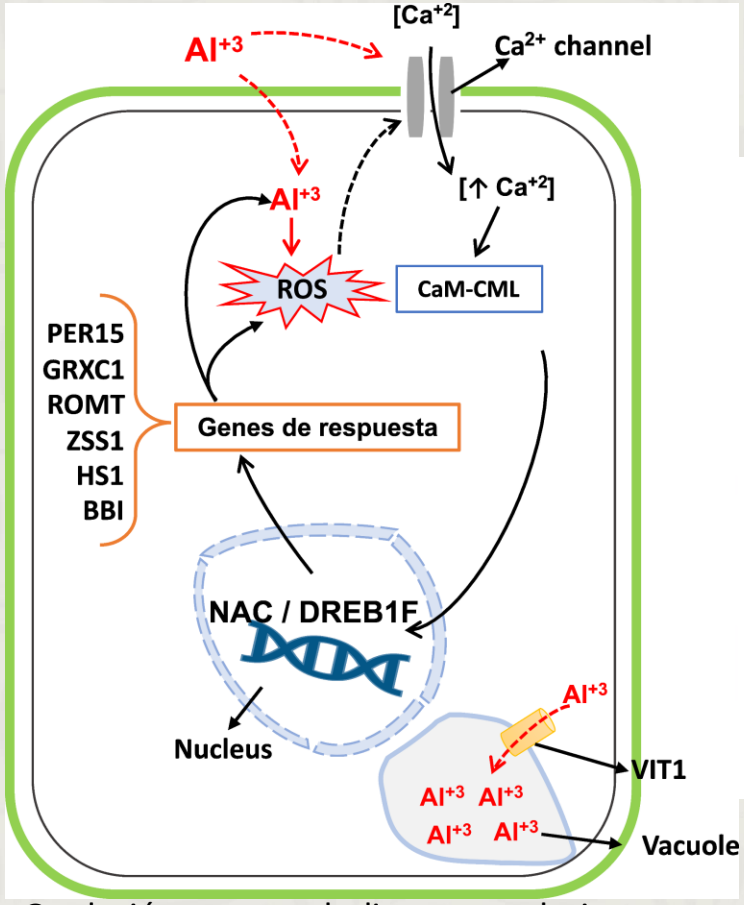


Figura 2. Flujo de trabajo para la evaluación de la expresión diferencial de genes implicados en la respuesta ante toxicidad por aluminio, empleando cuatro genotipos y dos condiciones (control y Al^{+3}).

cenipalma

Modelo biológico de la respuesta al estrés por Aluminio

Mecanísmo interno

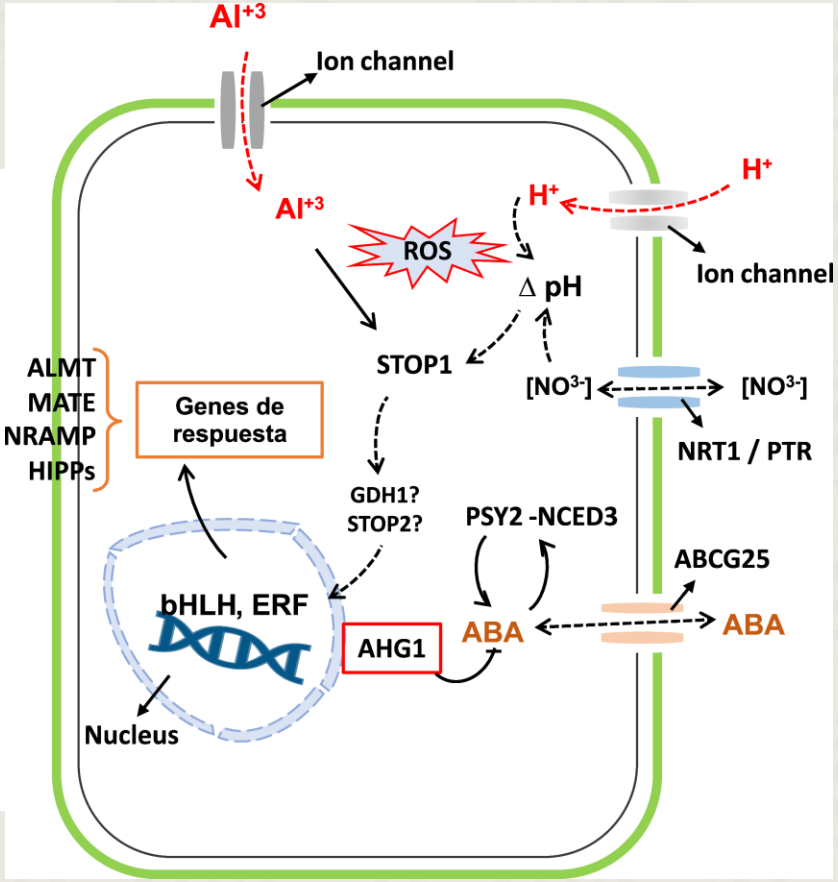


- Quelación por metabolitos secundarios
- Desintoxicación por enzimas
- Compartimentalización en órganos celulares

Fig. 1 Hematoxylin staining of primary roots. (**a**) IRHO 7001, (**b**) CTR 3-0-12, (**c**) CR 10-0-2, and (**d**) CD 19 – 12, subjected to aluminum stress. A higher intensity and proportion of purple or blue colors represent a more substantial aluminum accumulation in the root apex and elongation zone

Resultados de la tinción de raíces primarias con Hematoxilina

Mecanísmo externo

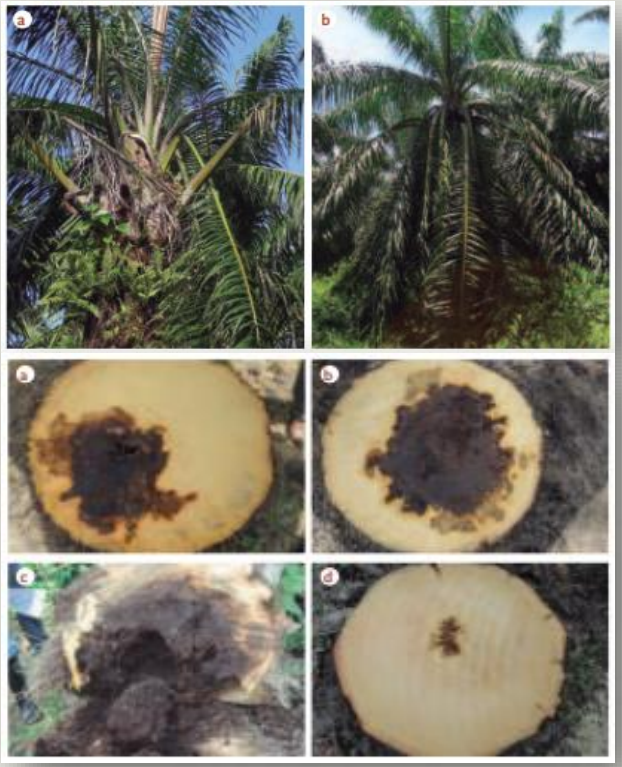


- Modificación de la membrana plasmática
- Exudación de ácidos orgánicos
- Cambio del pH en la rizosfera

Mejia-alvarado, F. S., Botero-rozo, D., Araque, L., Bayona, C., Herrera-corzo, M., Montoya, C., Ayala-díaz, I., & Romero, H. M. (2023). Molecular network of the oil palm root response to aluminum stress. BMC Plant Biology, 23:346, 1–12. https://doi.org/10.1186/s12870-023-04354-0

cenipalma

Determinación del agente causal de la Pudrición Basal del Estípite



Mestizo *et al*. (2015)

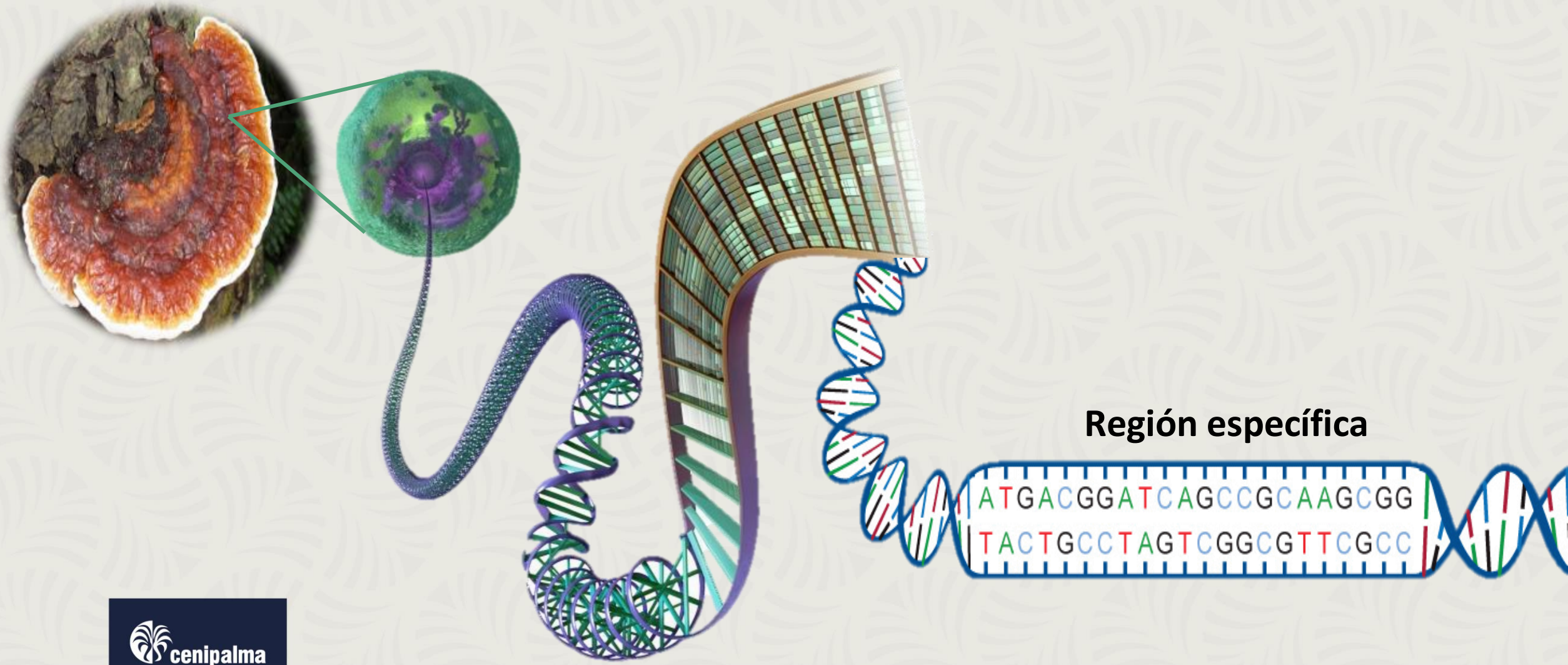
Rakib *et al*. (2014)

Mestizo, Y., Zúñiga, L., Arango, M., Bandera, G., Martínez, J., Pineda, B., & Martínez, G. (2015). Avances en la investigación de la Pudrición basal del estípite (PBE) en palma de aceite en Colombia *. *Revista Palmas*, *36*(2), 55–65.

Rakib, M. R. M., Bong, C. F. J., Khairulmazmi, A., & Idris, A. S. (2014). Genetic and Morphological Diversity of Ganoderma Species Isolated from Infected Oil Palms (Elaeis guineensis). *International Journal of Agriculture and Biology*, *16*(4), 691–699.

cenipalma

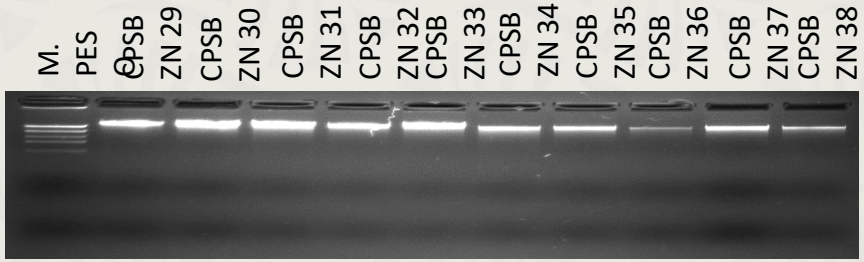
¿Qué se hace desde la biología molecular para identificar un patógeno?



cenipalma

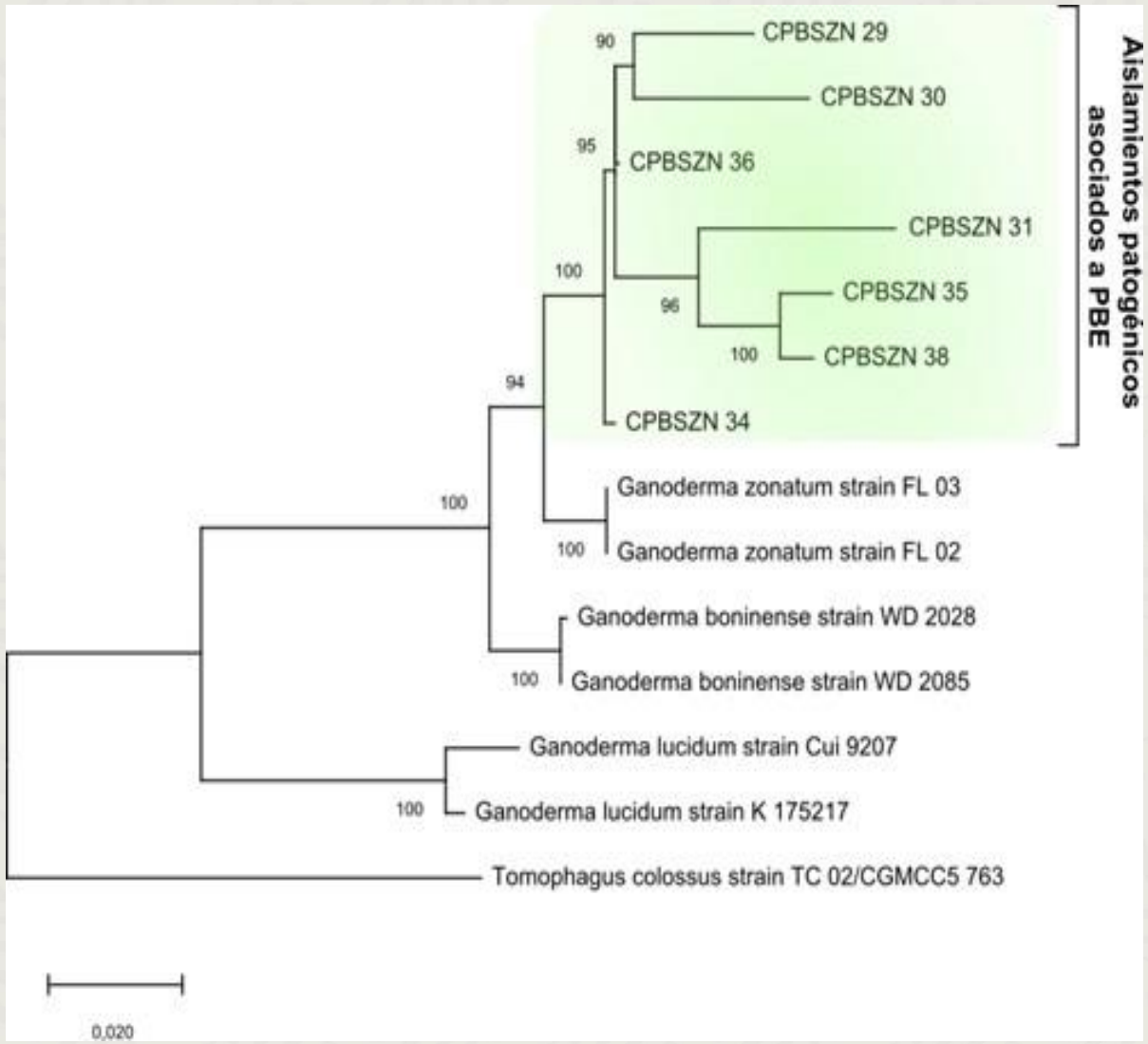
Metodología

ADN del patógeno



Castillo, S. Y., Rodríguez, M. C., González, L. F., Zúñiga, L. F., Mestizo, Y. A., Medina, H. C., Montoya, C., Morales, A., Romero, H. M., & Sarria, G. A. (2022). Ganoderma zonatum Is the Causal Agent of Basal Stem Rot in Oil Palm in Colombia. *Journal of Fungi*, *8*(230). https://doi.org/10.3390/jof8030230

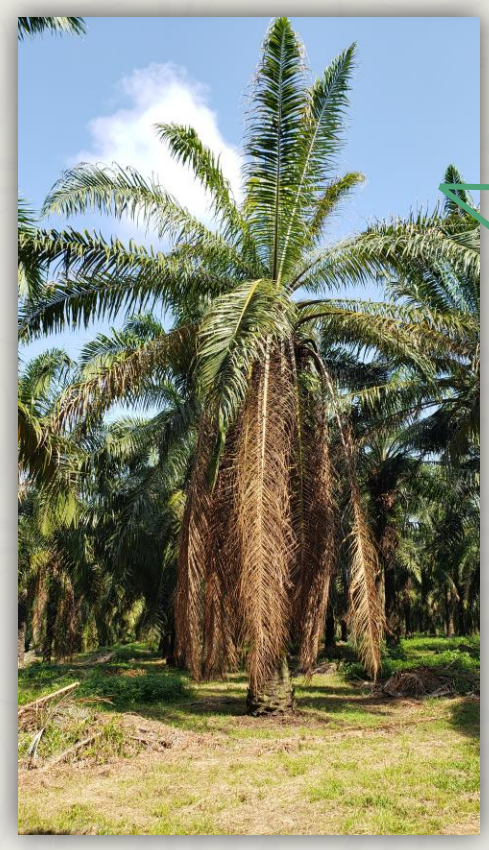
Resultado

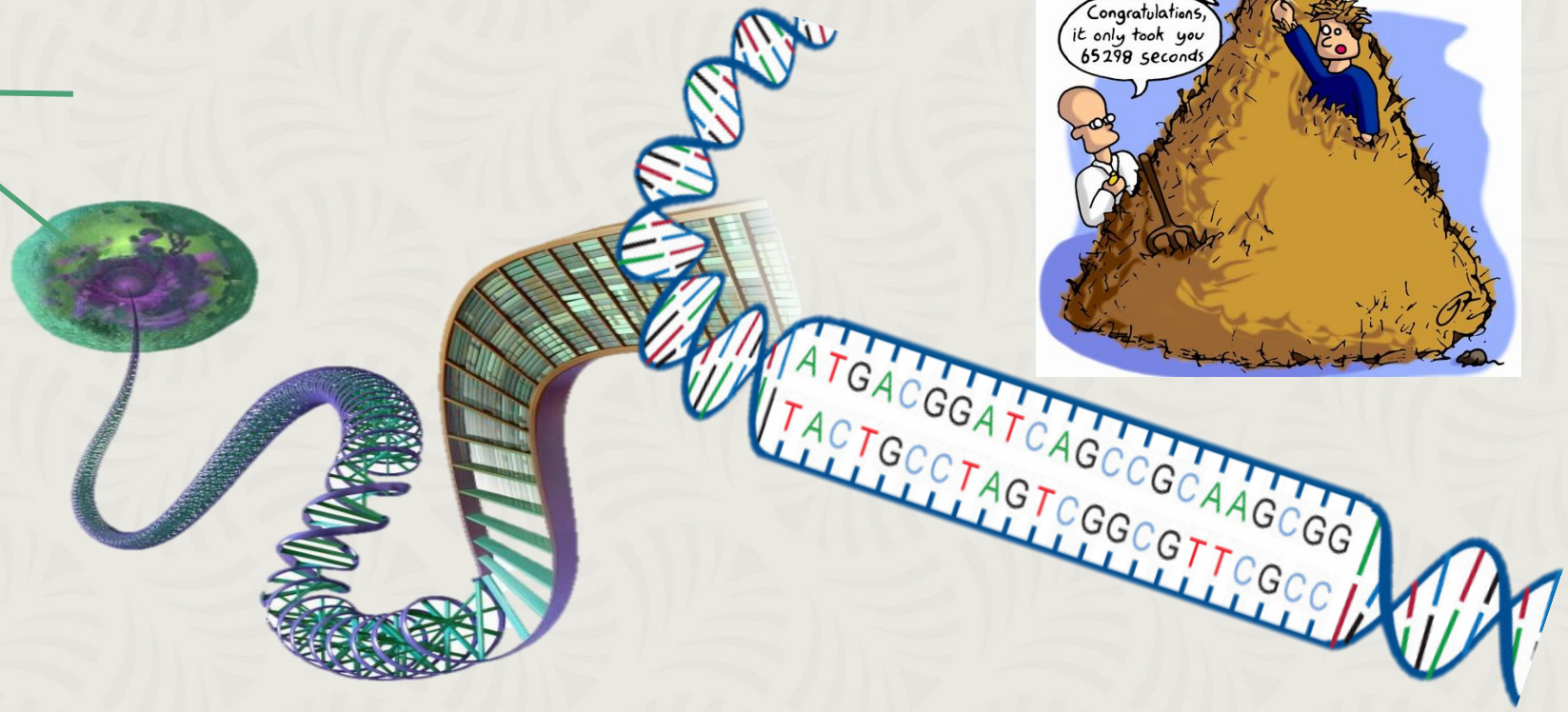


Árbol filogenético de los aislamientos asociados a PBE basada en los datos de una combinación las regiones de ITS, rpb2 y tef1α. Los números sobre los nodos representan los valores de bootstrap. La topología y valores se derivan del análisis de máxima verosimilitud.

cenipalma

Determinación del agente causal de la Marchitez Letal (ML)



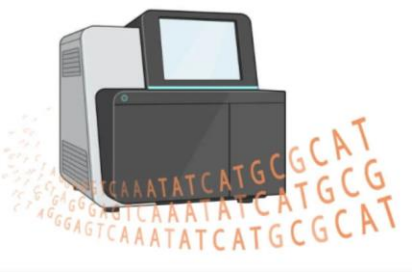


Palma con ML

cenipalma

Metodología

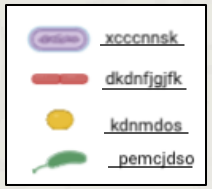
Palma con Marchitez zona central



Secuenciación para identificación de microorganismos

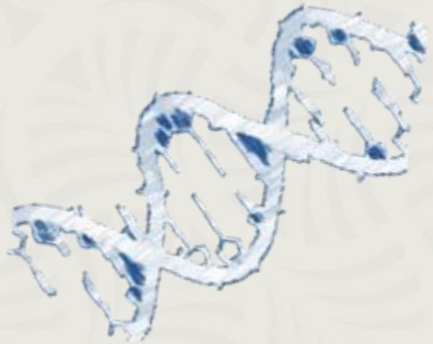
Validación en laboratorio

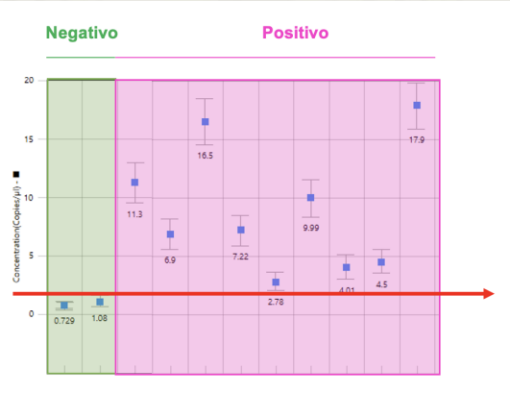
Lista de microorganismos



Lista de microorganismos presentes en todas las muestras con ML

Comparación bases de datos

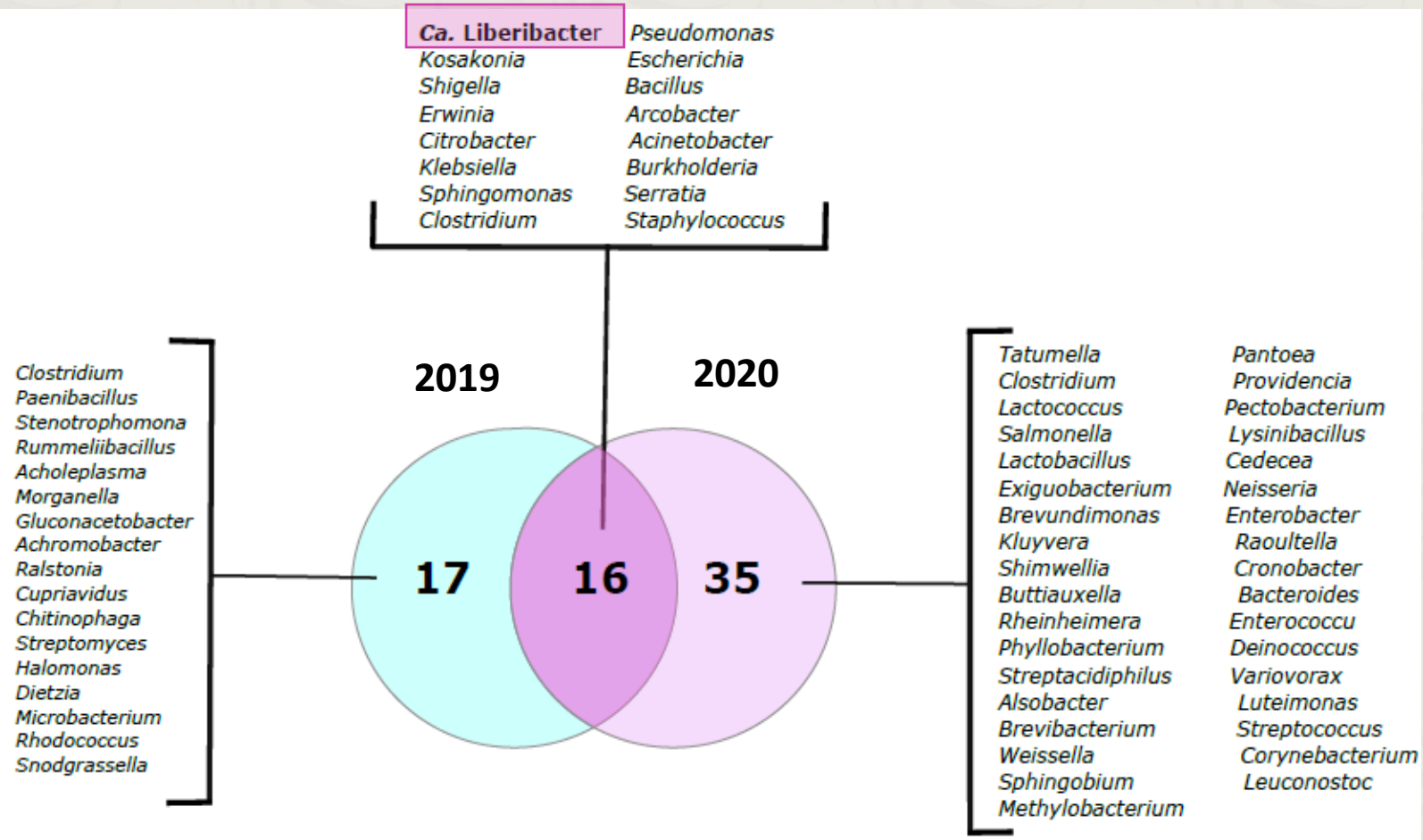




PCR digital

cenipalma

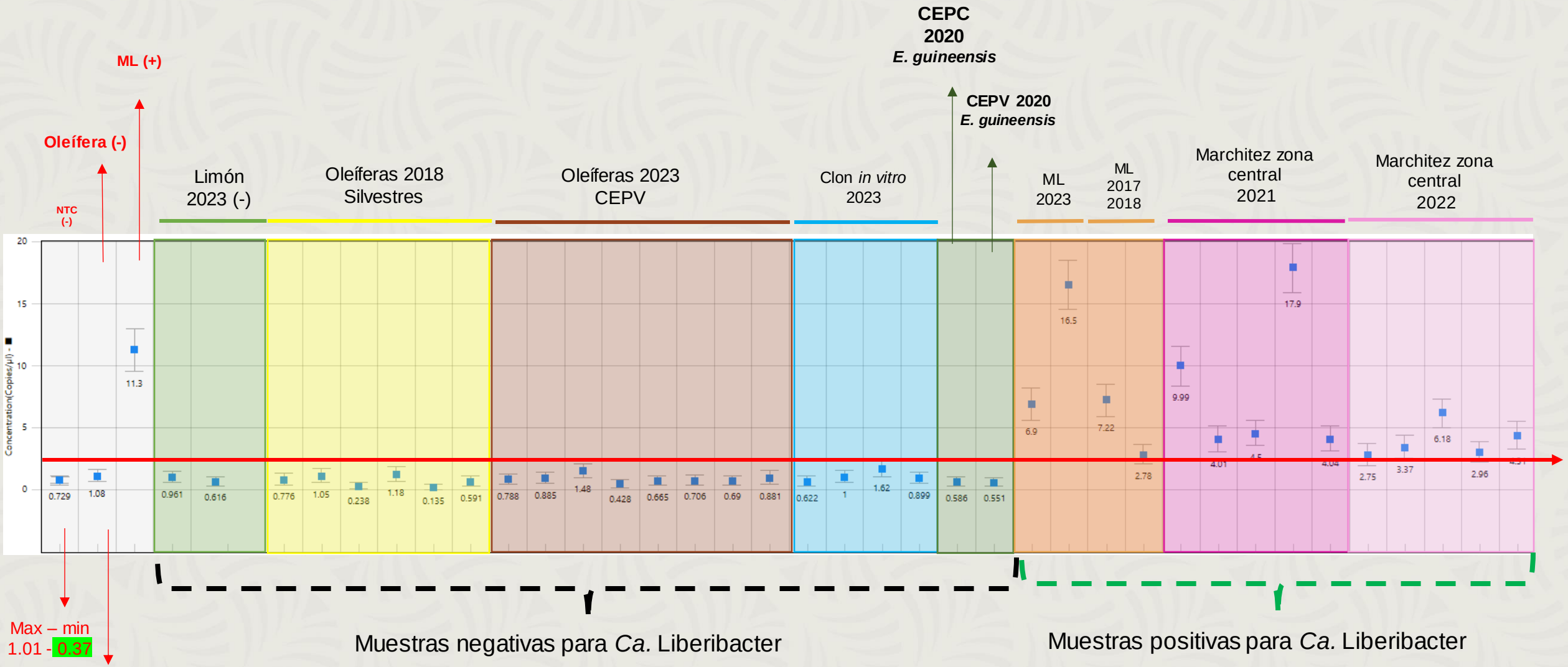
Lista de **géneros bacterianos compartidos** entre palmas con ML año 2019 y 2020 **Zona Oriental (ZO)**



***Ca.* Liberibacter** asociado a los síntomas de **palmas con marchitez en zona oriental**

cenipalma

Análisis de diferentes muestras mediante PCR digital



Las herramientas moleculares como la **metagenómica y la PCR digital** permitieron **confirmar** la presencia de ***Ca. Liberibacter*** como **agente causal de Marchitez Letal** en palmas de aceite en **zona oriental y central** permitiendo enfocar los protocolos de manejo integrado de una manera exitosa, contribuyendo con el estatus fitosanitario del cultivo

cenipalma

Biotecnología para enfrentar la pudrición del cogollo (PC)

01 Catálogo de proteínas de virulencia y evaluación transitoria en palma de aceite

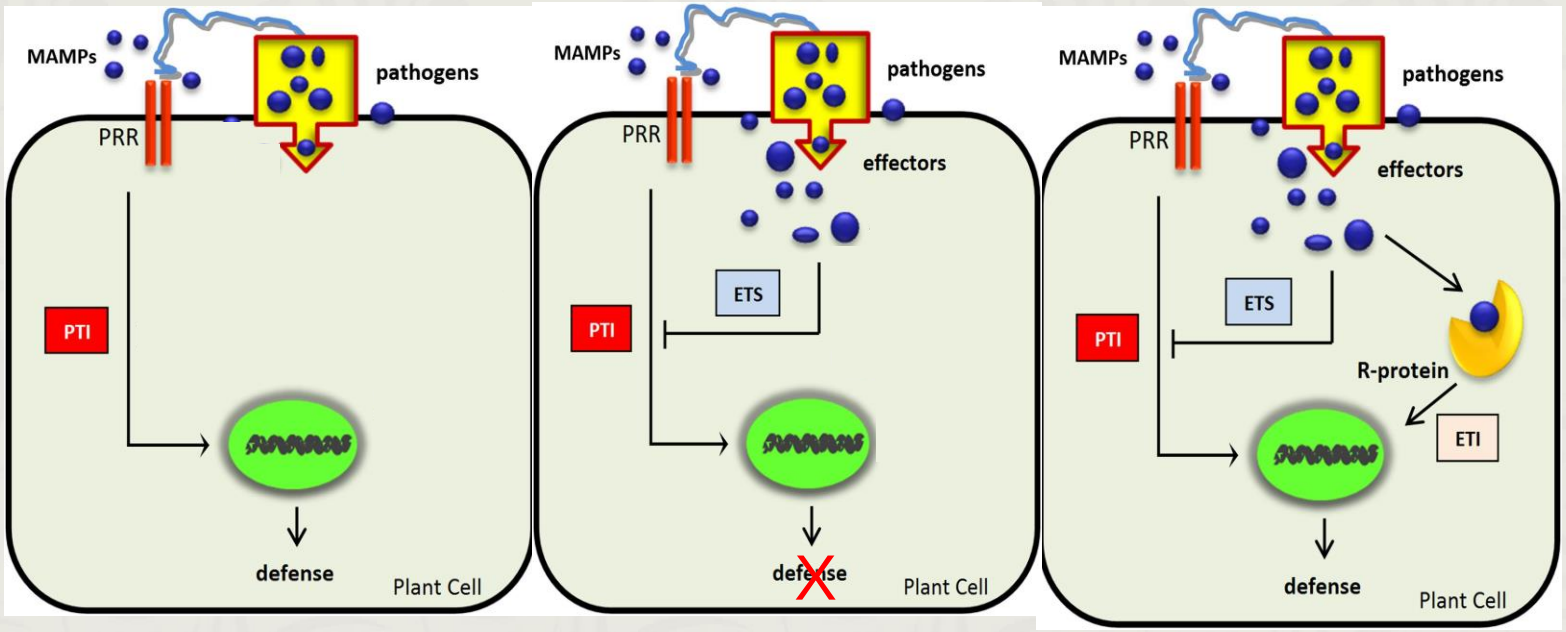
02 Evaluación cultivares contrastantes *E. guineensis*

03 Transformación de callos y embrioides de palma de aceite

04 Diagnóstico de patógenos de palma de aceite

cenipalma

Evaluación transitoria de proteínas de virulencia de P. palmivora en tejido de palma de aceite



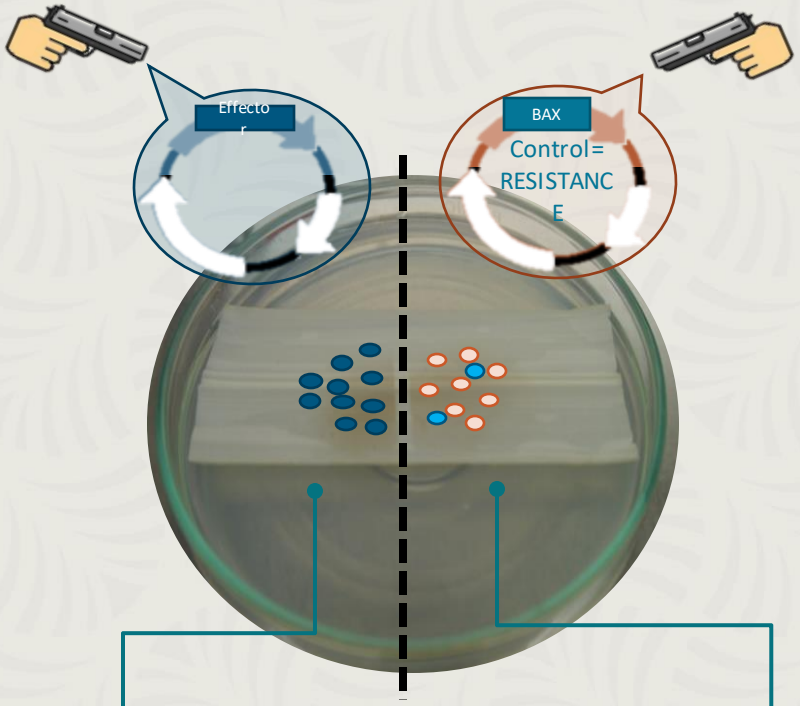
HR = respuesta hipersensible
Muerte celular programada

P. palmivora

Modificado de Kazan and Lyons. Plant Cell 2014:26.

cenipalma

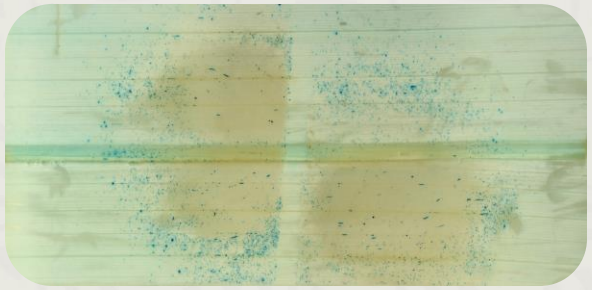
Evaluación transitoria de proteínas de virulencia en tejido de palma de aceite



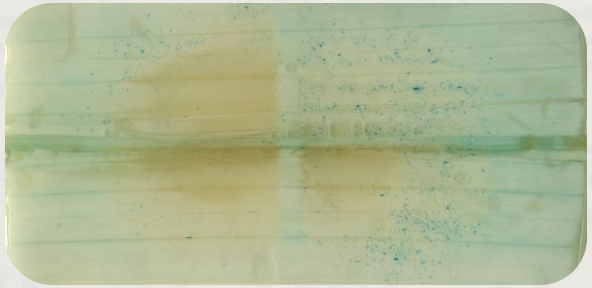
Más **puntos azules** el **Efector NO** prende defensa de la palma.

Menos puntos azules el efector induce **defensa (HR)** de la planta.

Efector + **BAX** vs **EV**
Cód. **48-Susceptible**



BAX vs **EV**
Cód. **48-Susceptible**



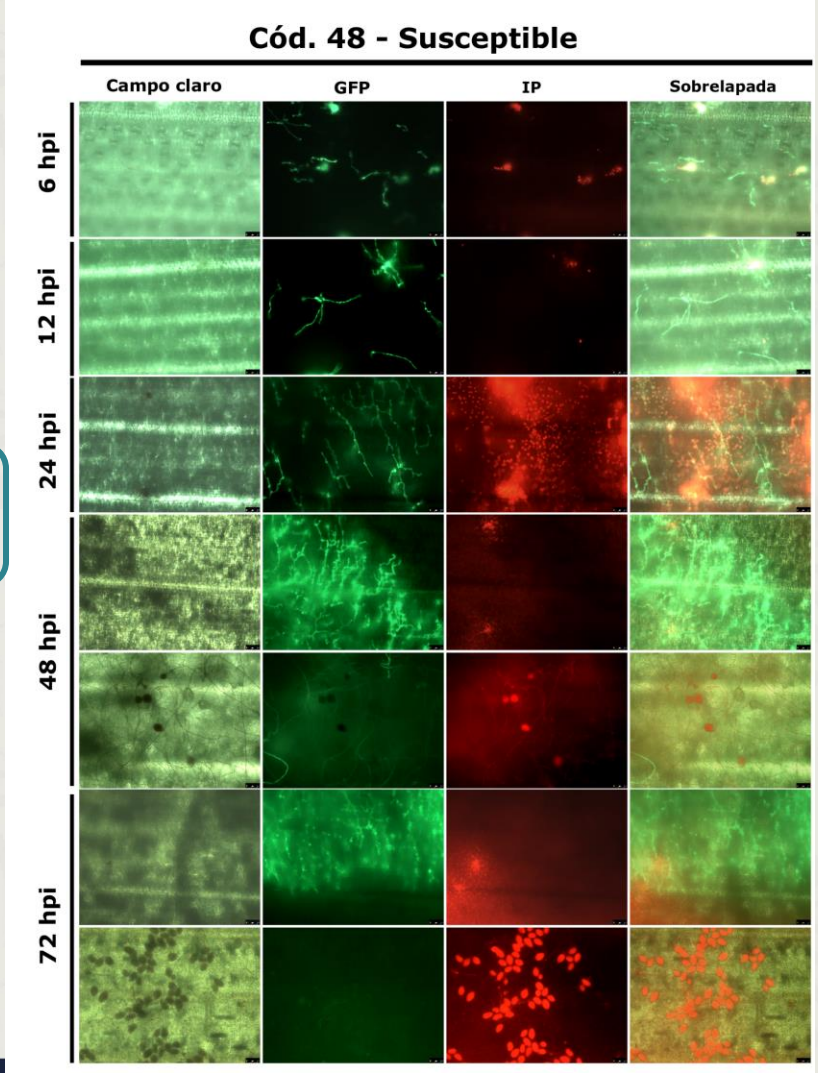
Efector + **BAX** vs **EV**
Cód. **82-Resistente**

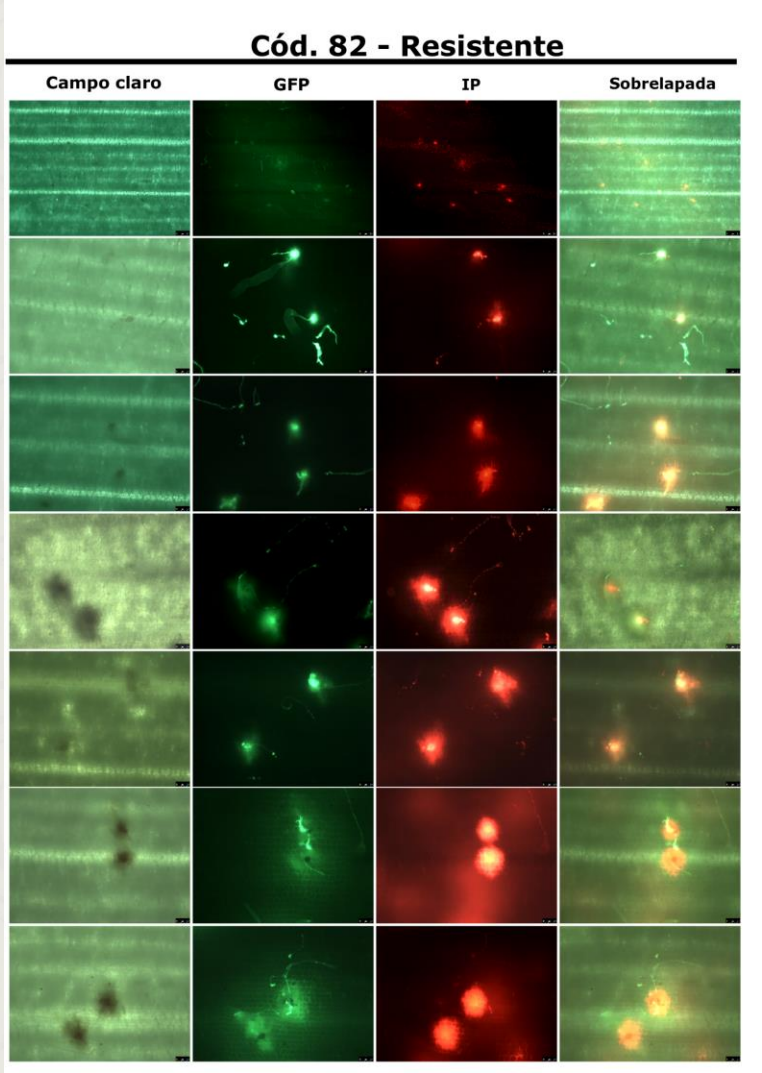
BAX vs **EV**
Cód. **82-Resistente**

Cada combinación de ensayos busca determinar si un efector podría suprimir la muerte celular provocada por BAX.

Evaluación de progenies de *E. guineensis* mediante *P. palmivora* transformada genéticamente

Microscopía de fluorescencia

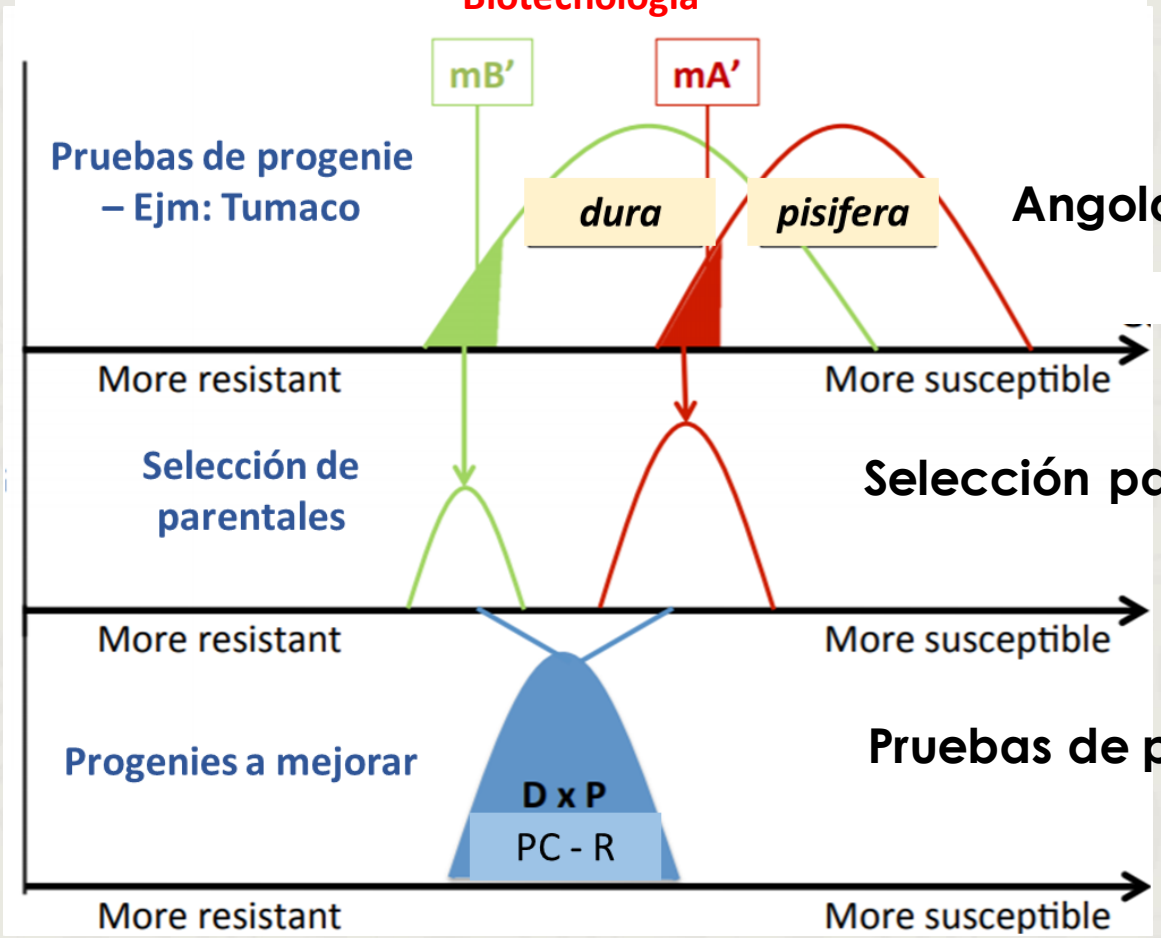




cenipalma

Búsqueda de fuentes de resistencia a la pudrición del cogollo en *Elaeis guineensis* Jacq.

Identificación de genotipos resistentes con apoyo de la Biotecnología



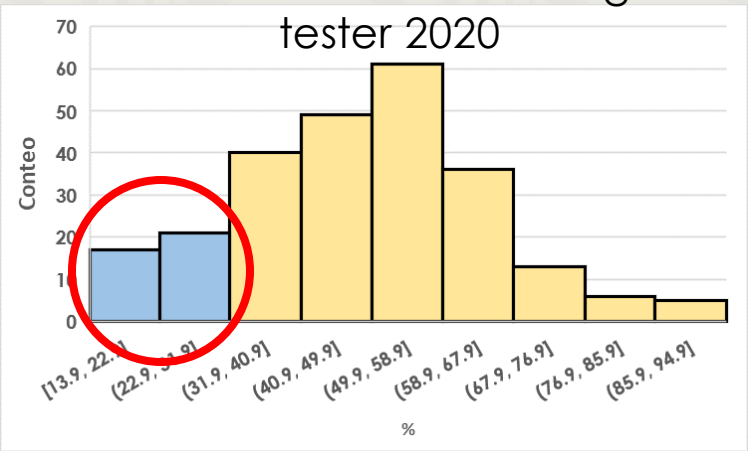
Angola x tester

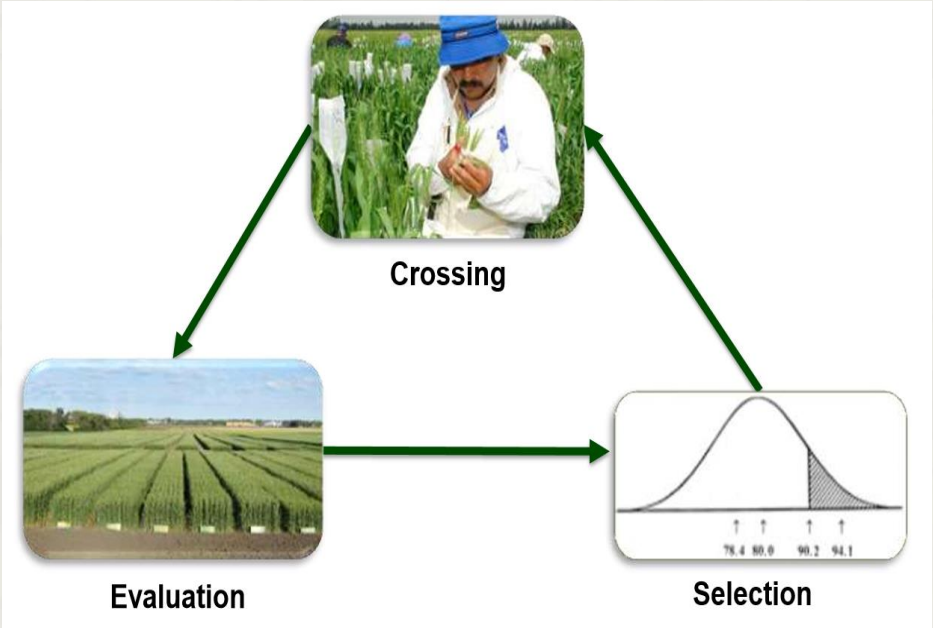
Selección parentales

Pruebas de progenie

Adaptado de Durand-Gasselin, Findings and advances on Ganoderma in oil palm. 2015

Mortalidad - Resultados Angola x tester 2020





Tomado de: Poland, J. 2014. Genomics Assisted Breeding and Field-Based High Throughput Phenotyping. DOE ARPA-E – Advanced Plant Phenotyping Workshop

cenipalma

Gracias

cenipalma