

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

Biotechnología para enfrentar la pudrición del cogollo

Caracterización de la diversidad genética de las colecciones biológicas de CENIPALMA



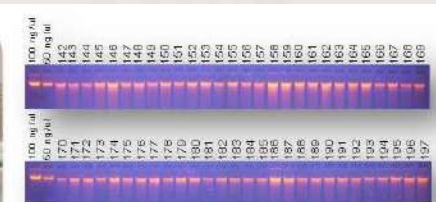
Flujo de trabajo para los estudios de diversidad genética



1) Colecta de Material Vegetal y Macerado



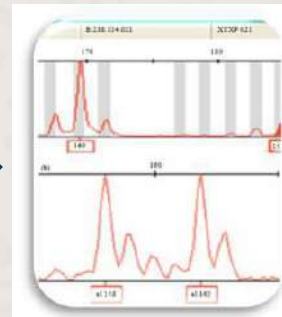
2) Extracción de ADN



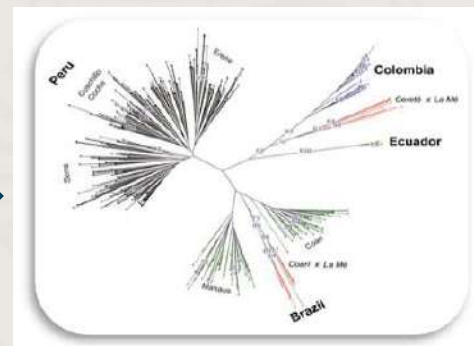
3) Amplificación con Marcadores Microsatélites y Análisis de Diversidad Genética



3500xL GeneticAnalyzer" de AB
Applied Biosystem_Secuenciaador



Amplificación
SSR

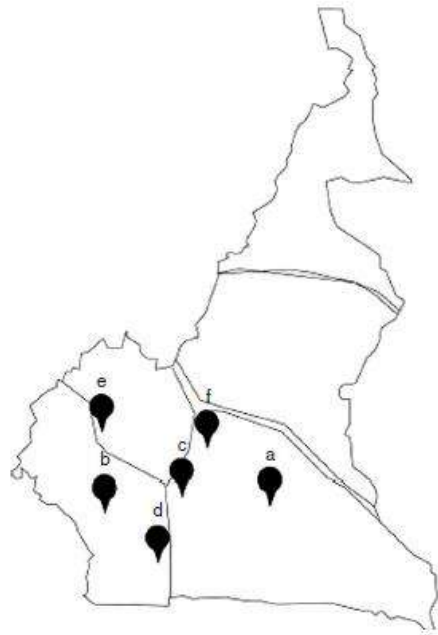


Análisis de Diversidad
Genética

ESTUDIOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS COLECCIONES BIOLÓGICAS DE CENIPALMA

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

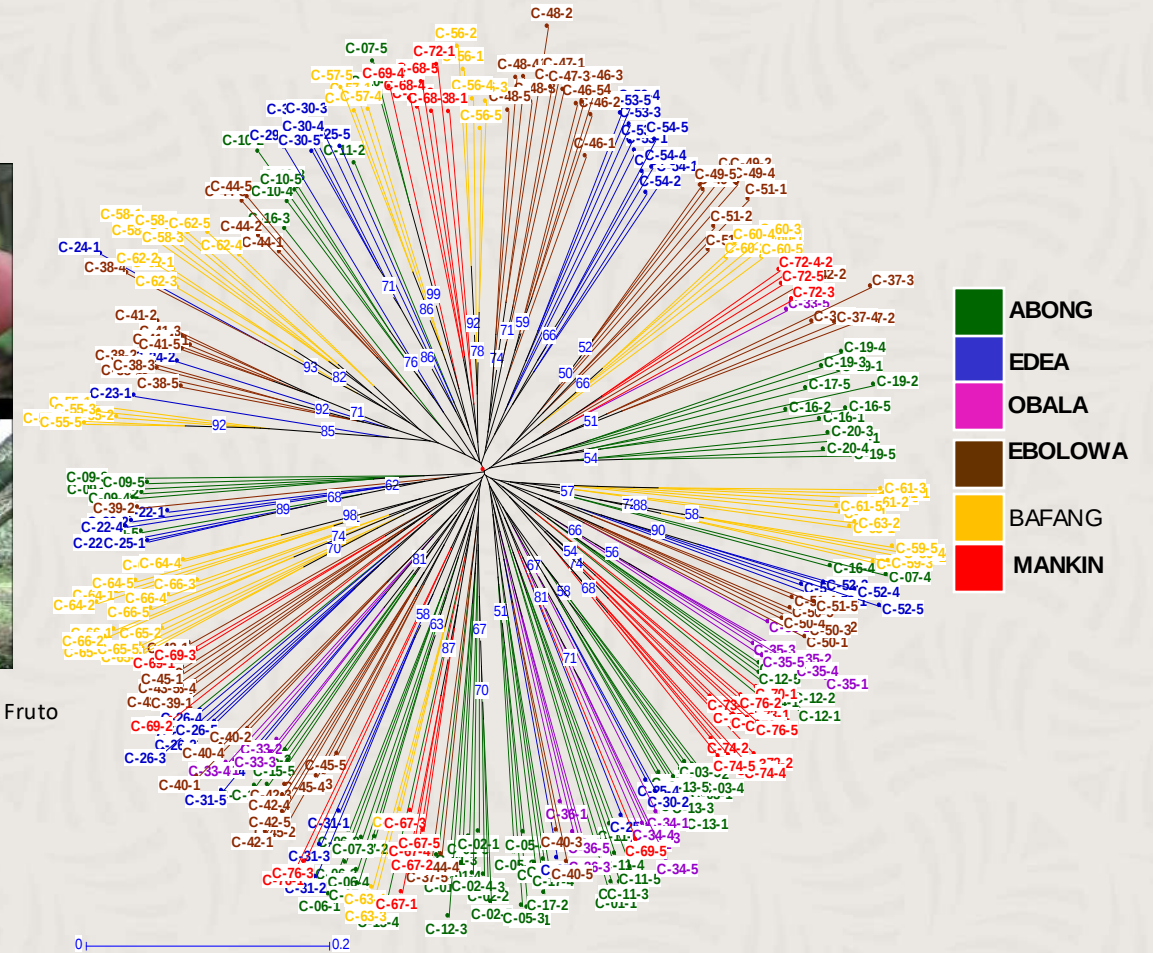
D. Arias *et al.*



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

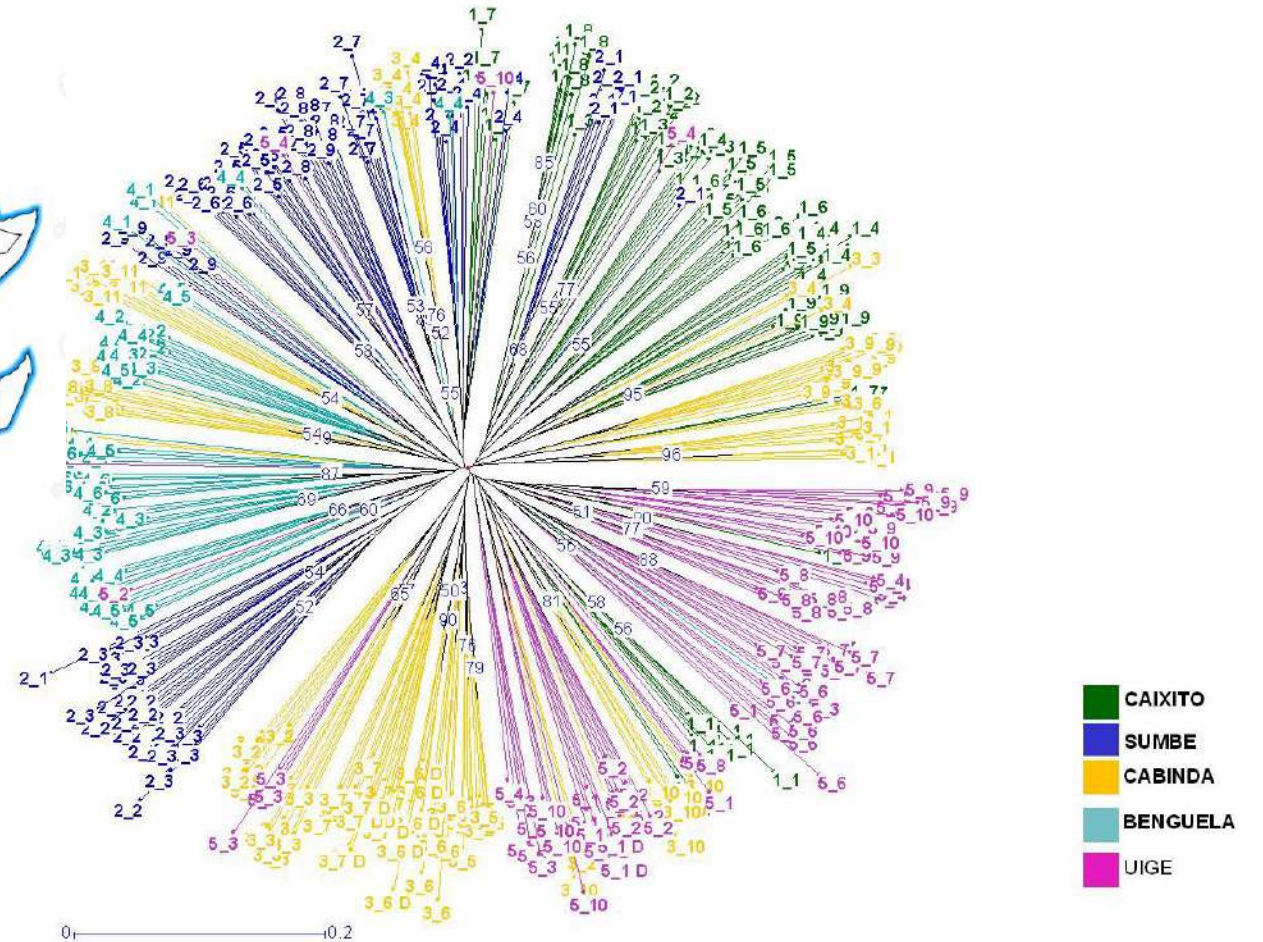
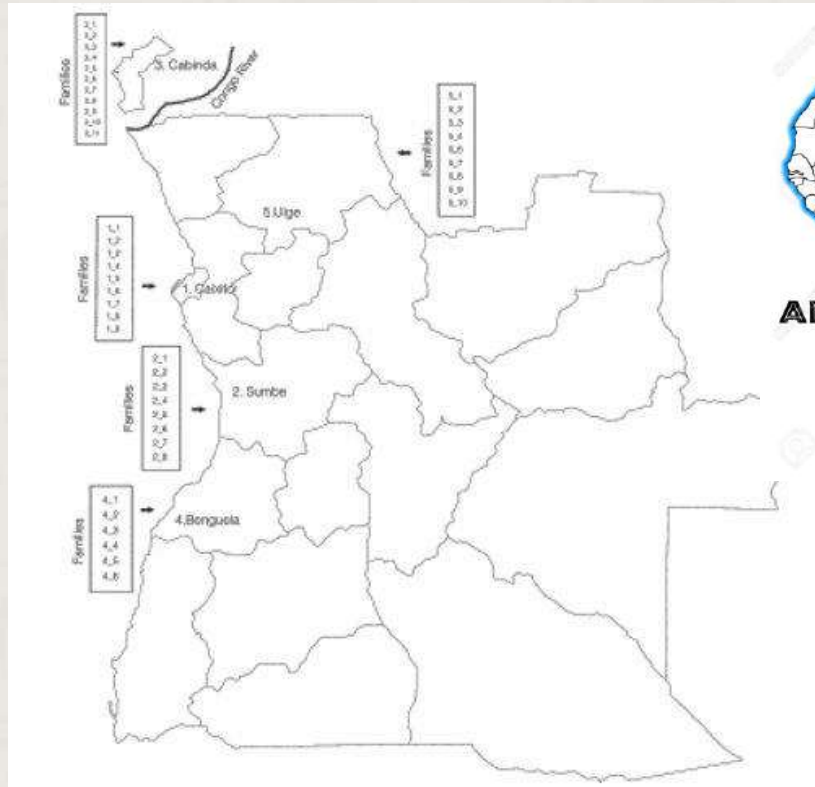
Mapa de la República de Camerún con los lugares donde se realizó la colecta de semillas de Palma de Aceite

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>



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.

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

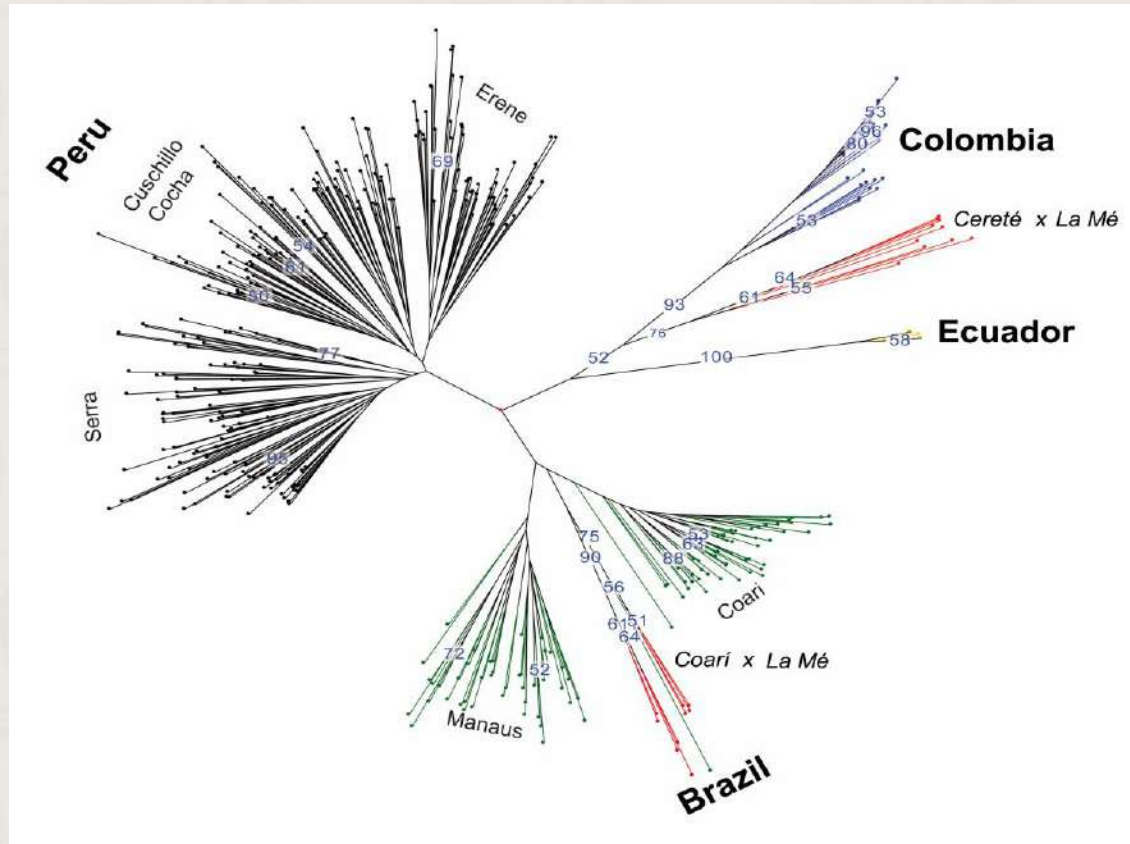


Arias, D., González, M., Prada, F., Restrepo, E., & Romero, H. (2013). Morpho-agronomic and molecular characterisation of oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. material from Angola. *Tree Genetics & Genomes*, 9(5), 1283–1294. <https://doi.org/10.1007/s11295-013-0637-5>

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

ESTUDIOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS COLECCIONES BIOLÓGICAS DE CENIPALMA

Palma Americana, *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortes



Híbridos OxG

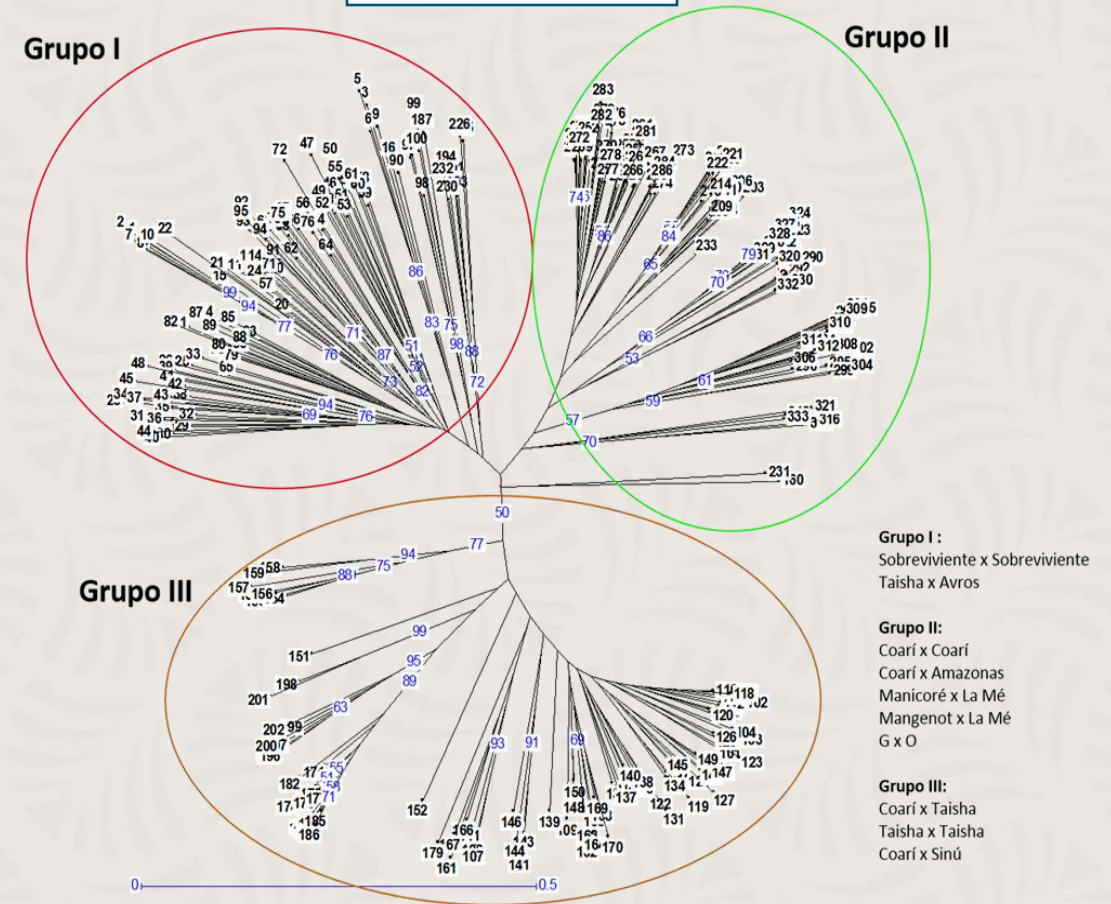


Figura 1. Topología Neighbor Joining (método Weighted) a partir de una matriz de disimilaridad con un índice de apareamiento simple (DARwin 6.0).

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

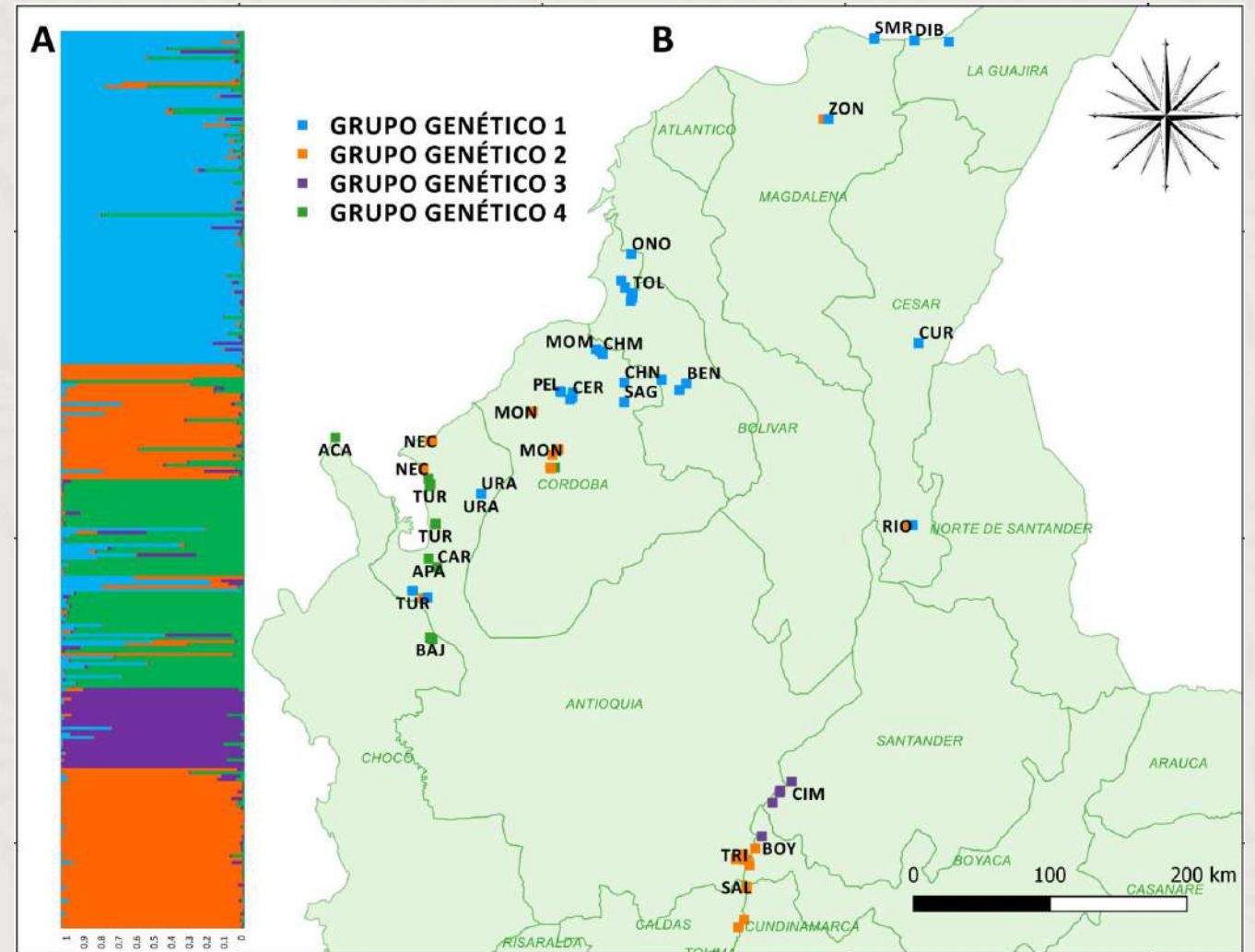
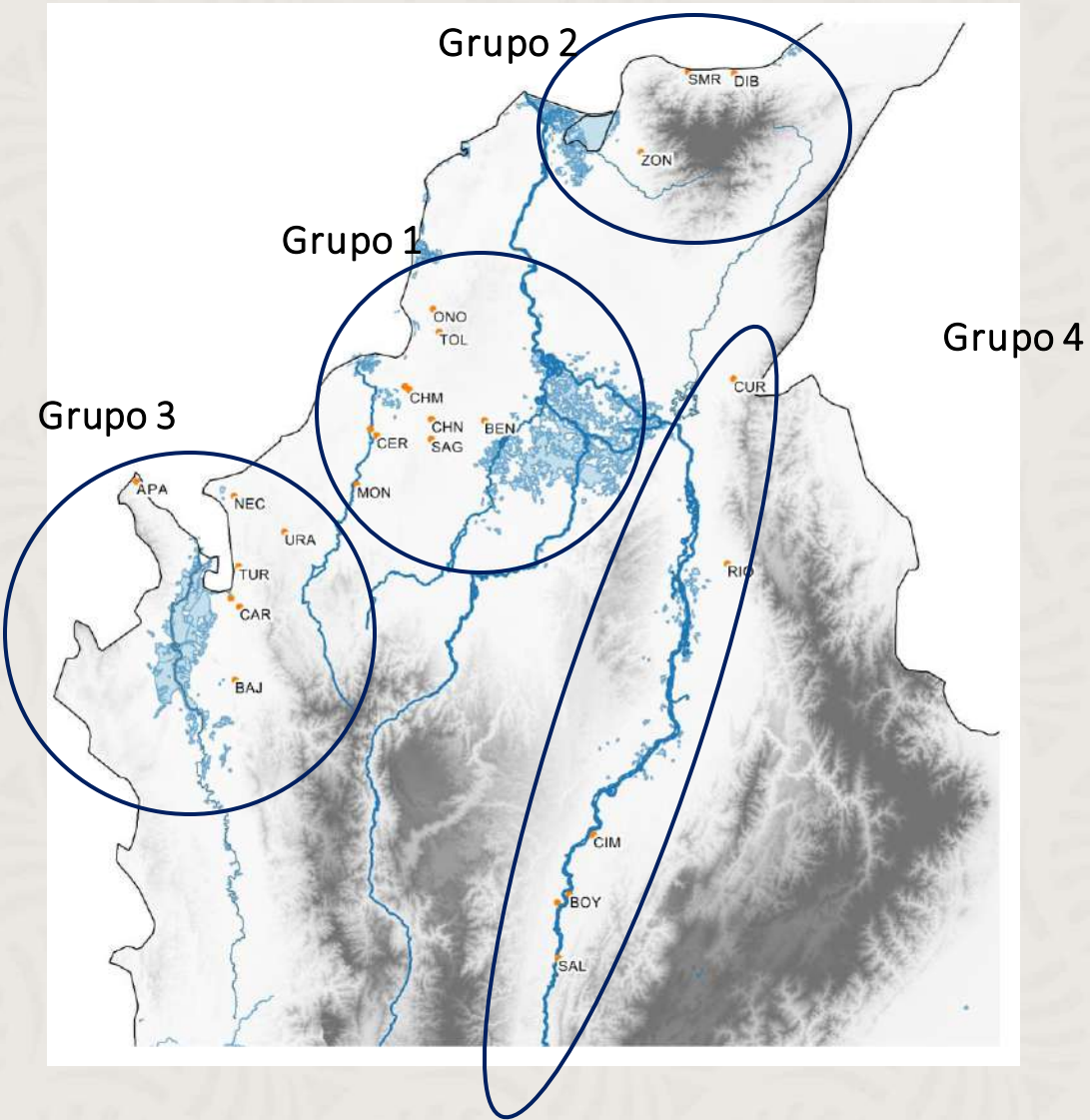


Tabla 1. Lista de Departamentos y Municipios en los cuales se realizó la pre-prospección de la especie *E. oleifera*.

Departamento	Municipio
Antioquia	Carepa, Chigorodó, Necolí, 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

Principales Resultados



Patrones de diversidad genética de las poblaciones del estudio

Factores genéticos claves para la síntesis de ácidos grasos



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 %



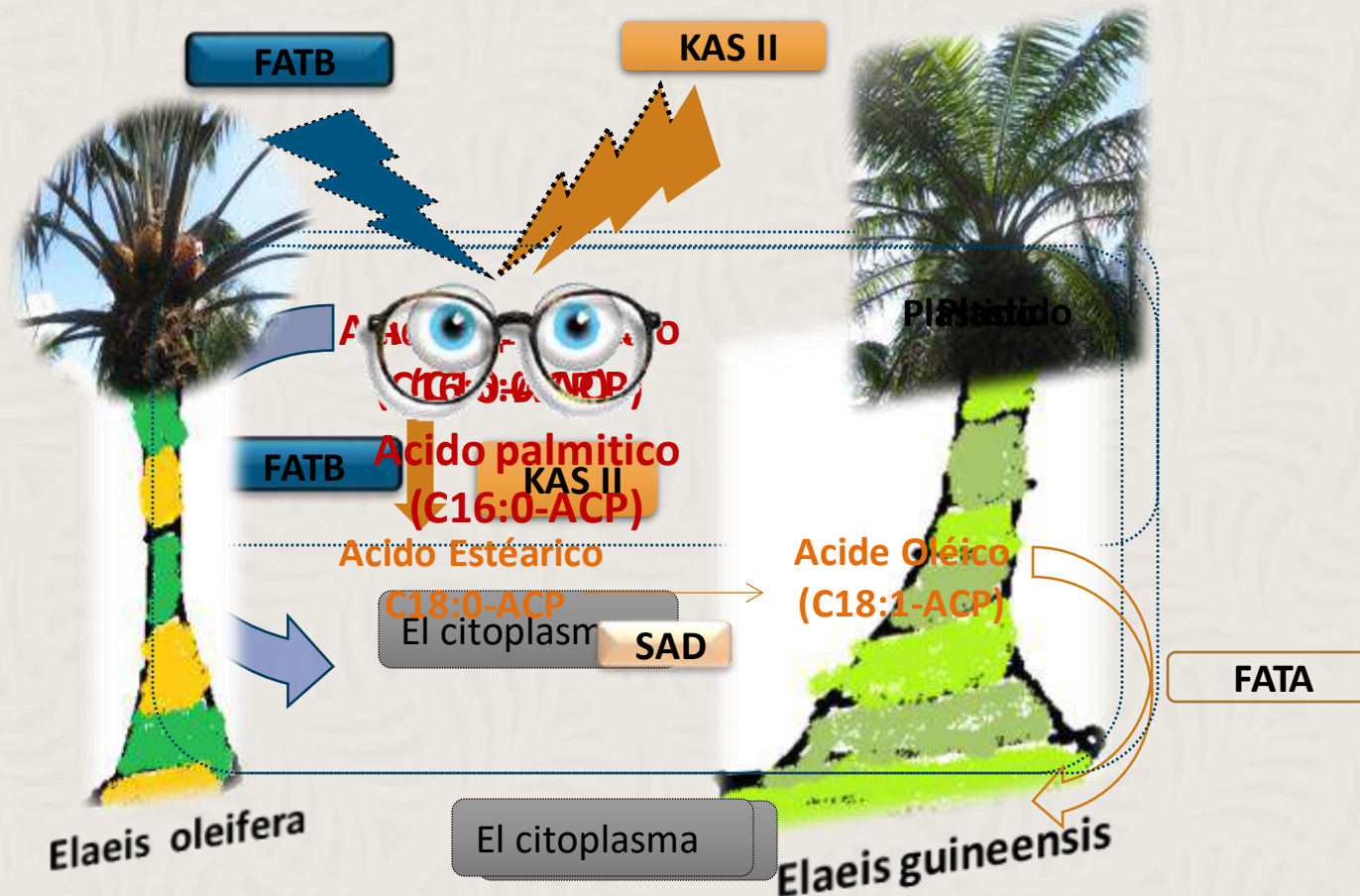
Aceite de Soya

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

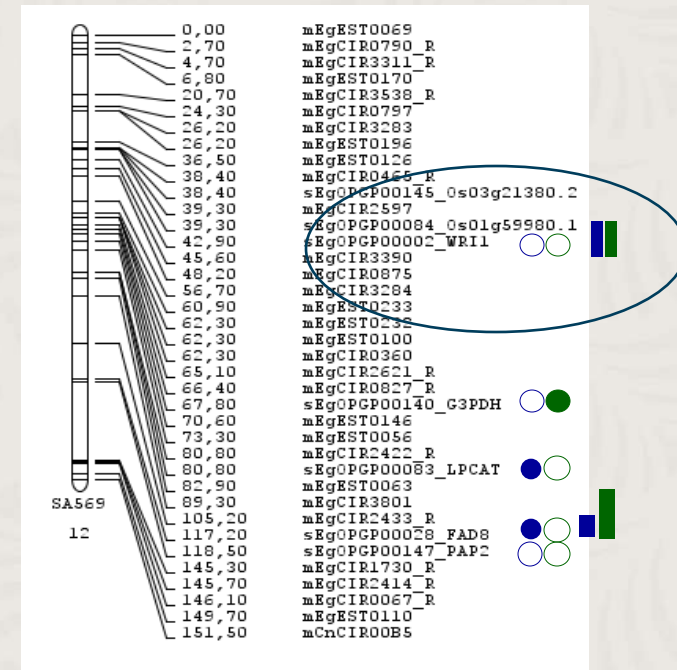
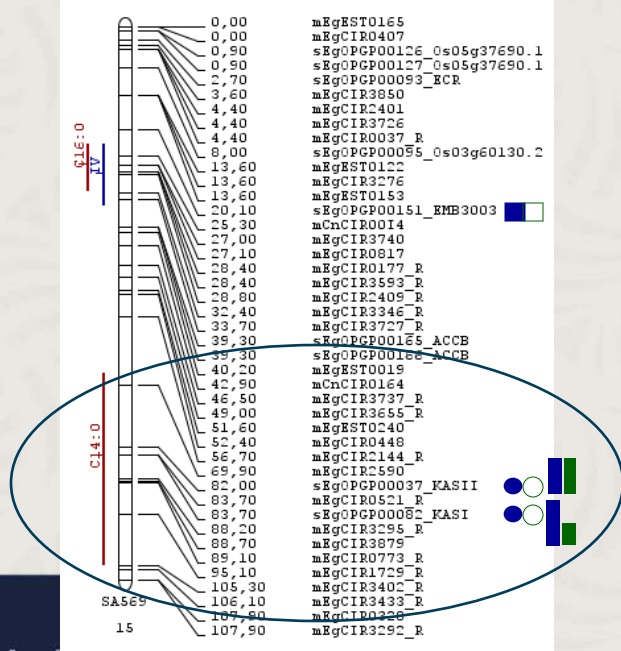
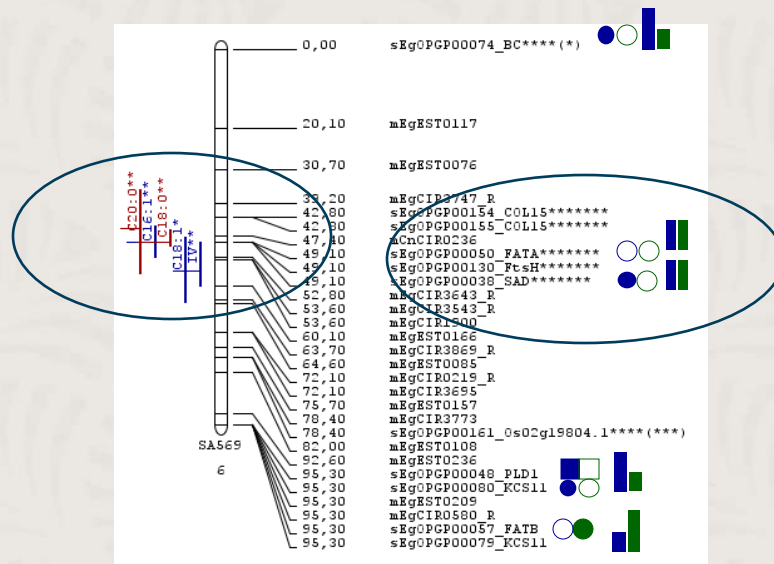
Nosotros tenemos el escenario siguiente que consideramos es el mas probable:

✓ *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.



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

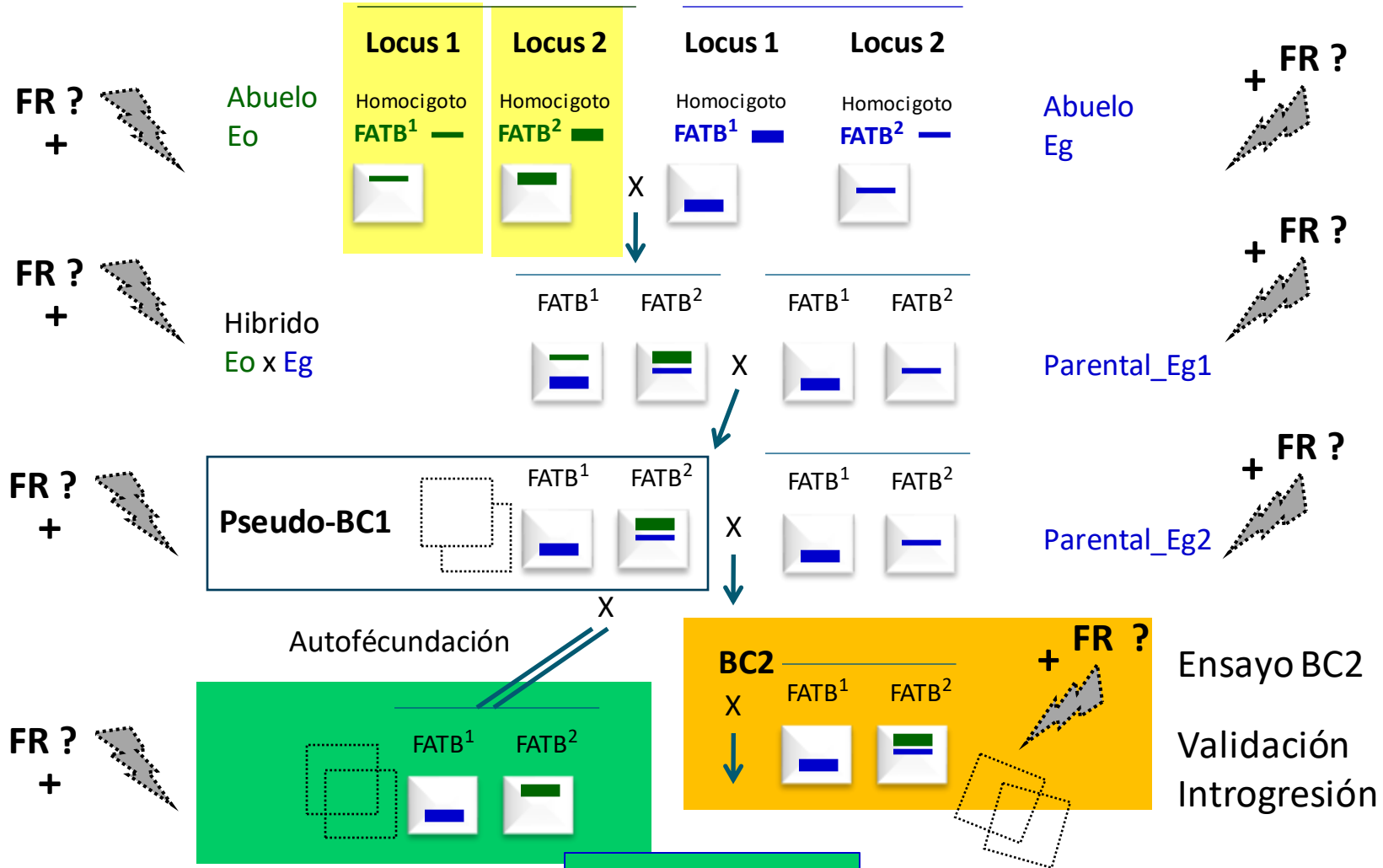
SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES

Ejemplo : FATB^{1,2}

Diversidad *Elaeis*

Eo Turbo
70% C18:1

Eg LaMé
50% C18:1



« TurboPALM »
min. 80% C18:1 ?

Se puede imaginar otras opciones a

un verdadero aceite de oliva tropical

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



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

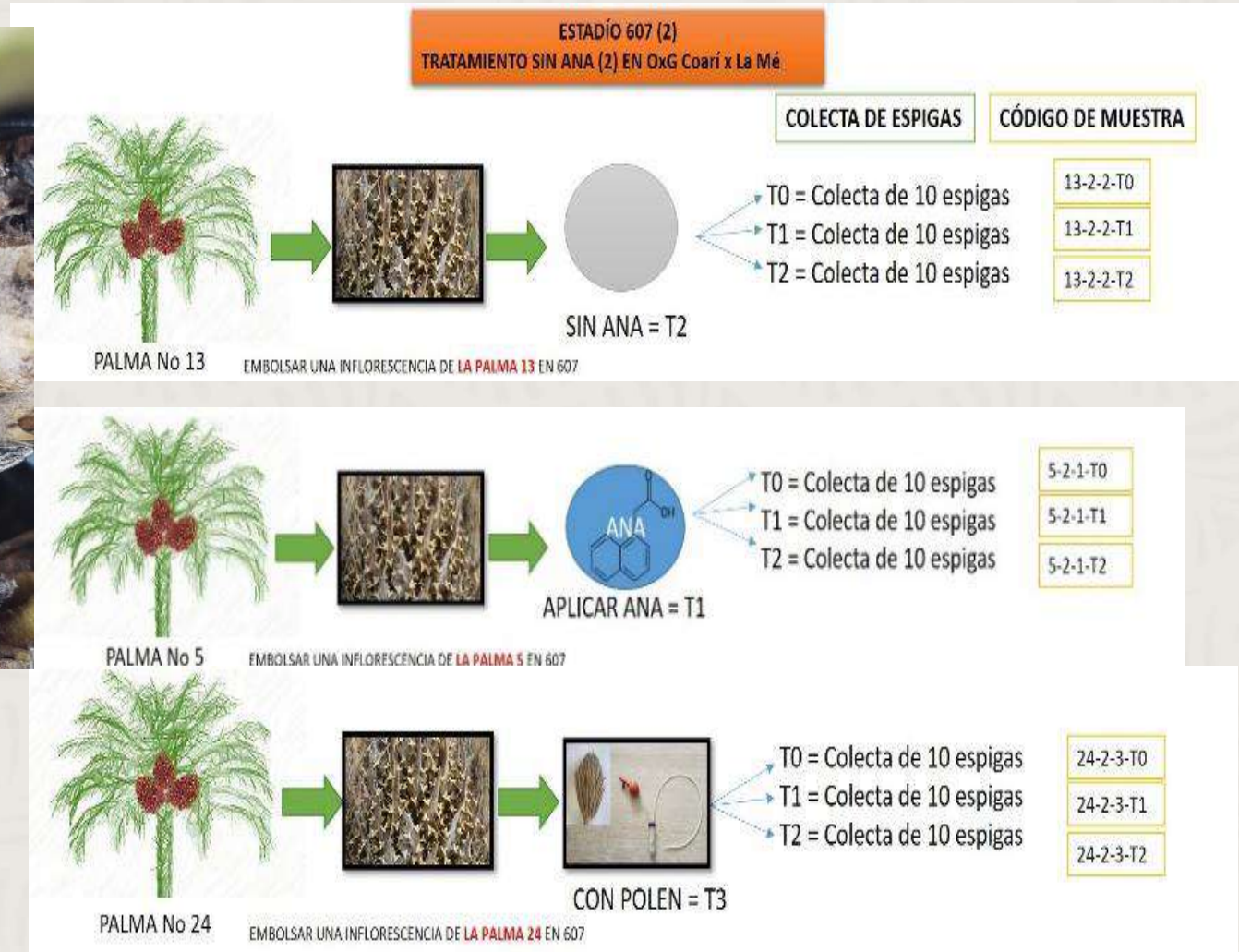


Estadío 607



Estadío 700

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

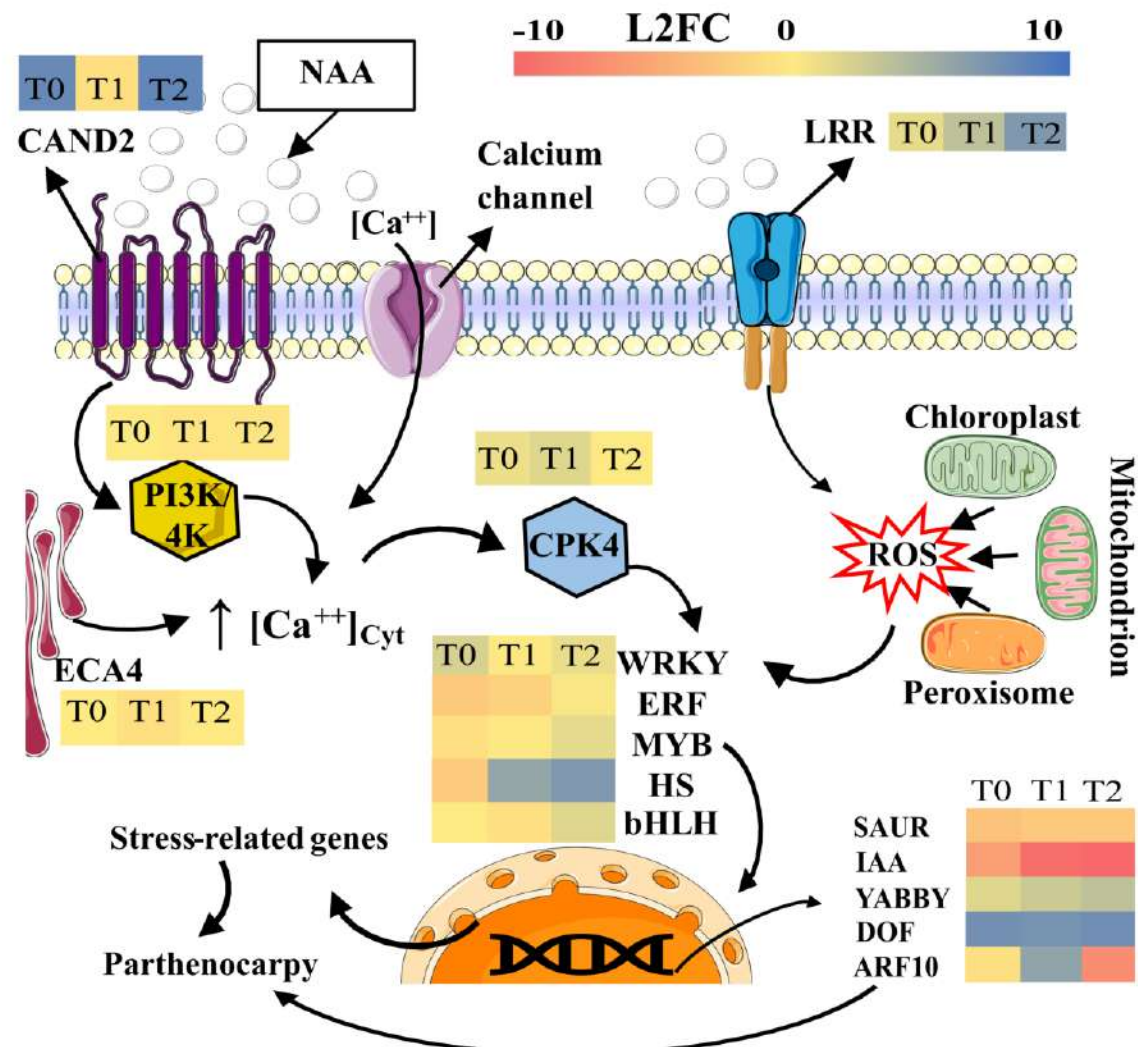


Modelo biológico propuesto en respuesta a la aplicación de ANA

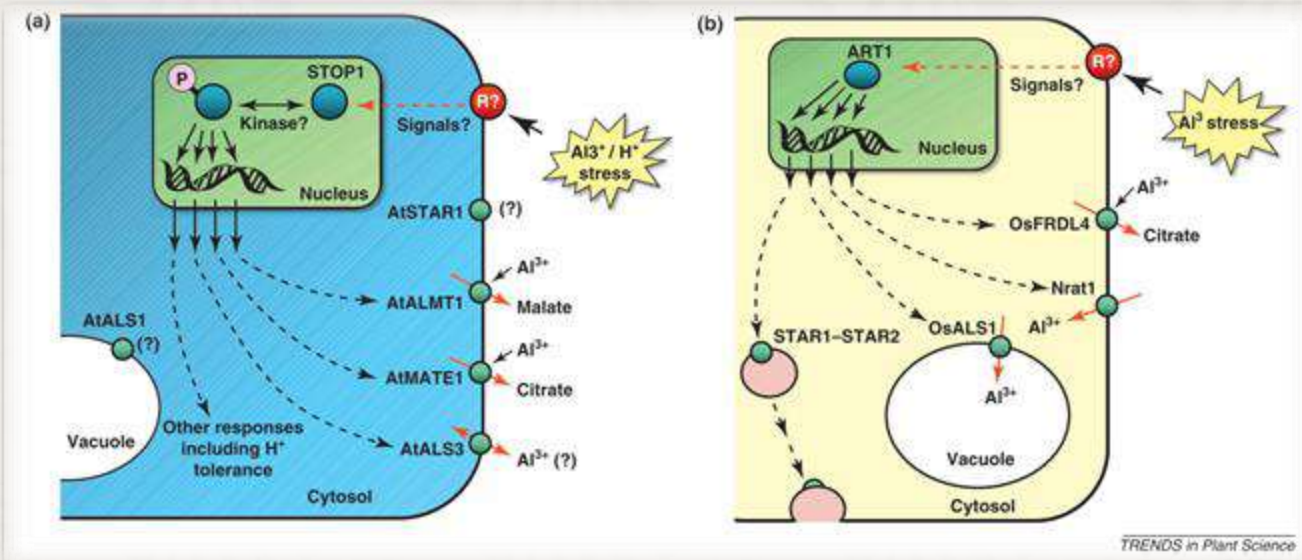
Inflorescencia estado 607



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 interspecific *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>



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>



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 Yangambi (CR-10-0-2, CD19-12 y CTR3-0-12).

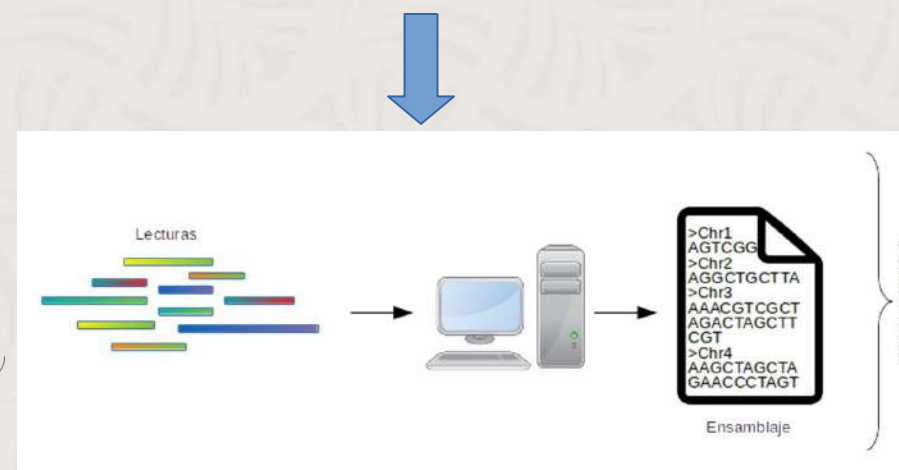
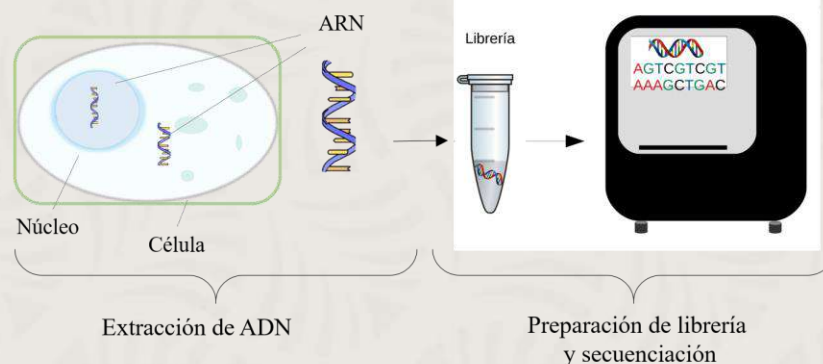
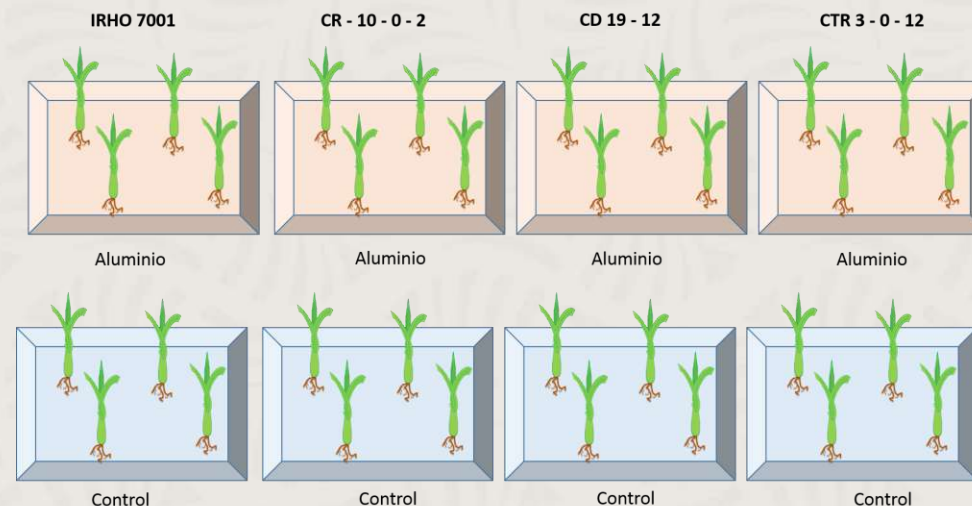
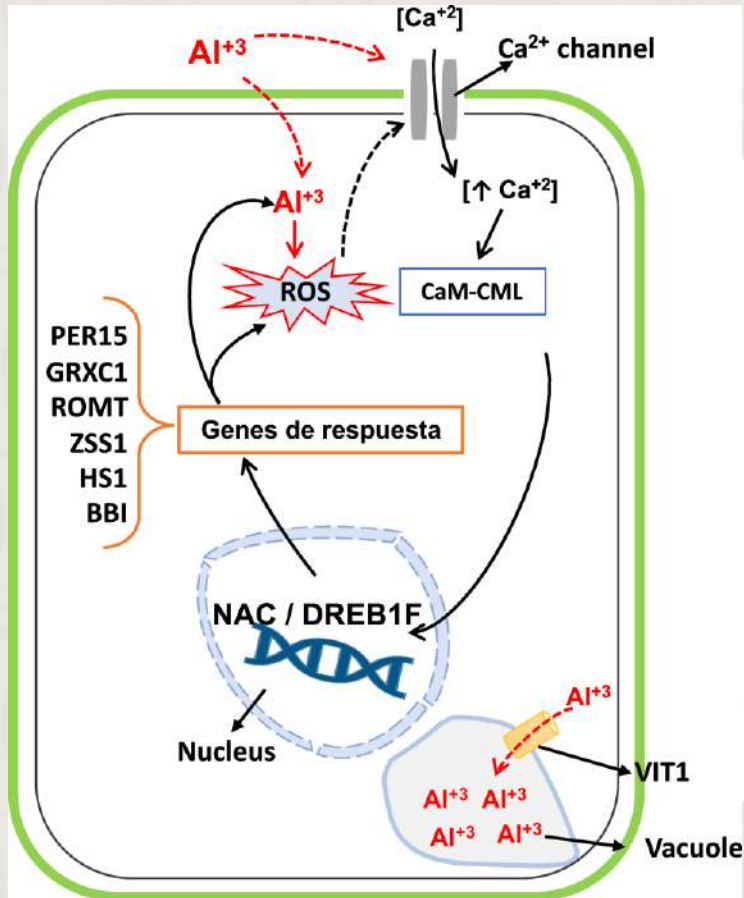


Figura 2. Flujo de trabajo para la evaluación de la expresión diferencial de genes implicados en la respuesta ante toxicidad por aluminio, empleando cuatro genotipos y dos condiciones (control y Al^{+3}).

Modelo biológico de la respuesta al estrés por Aluminio

Mecanismo interno



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

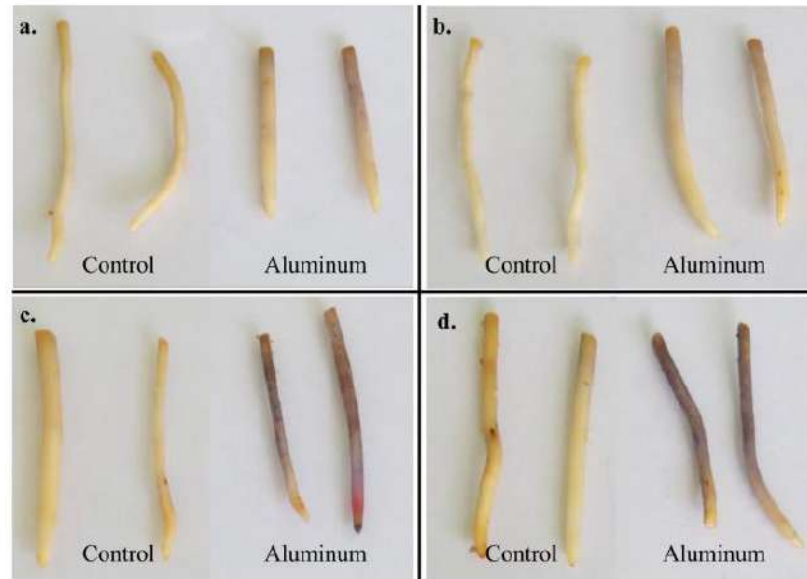
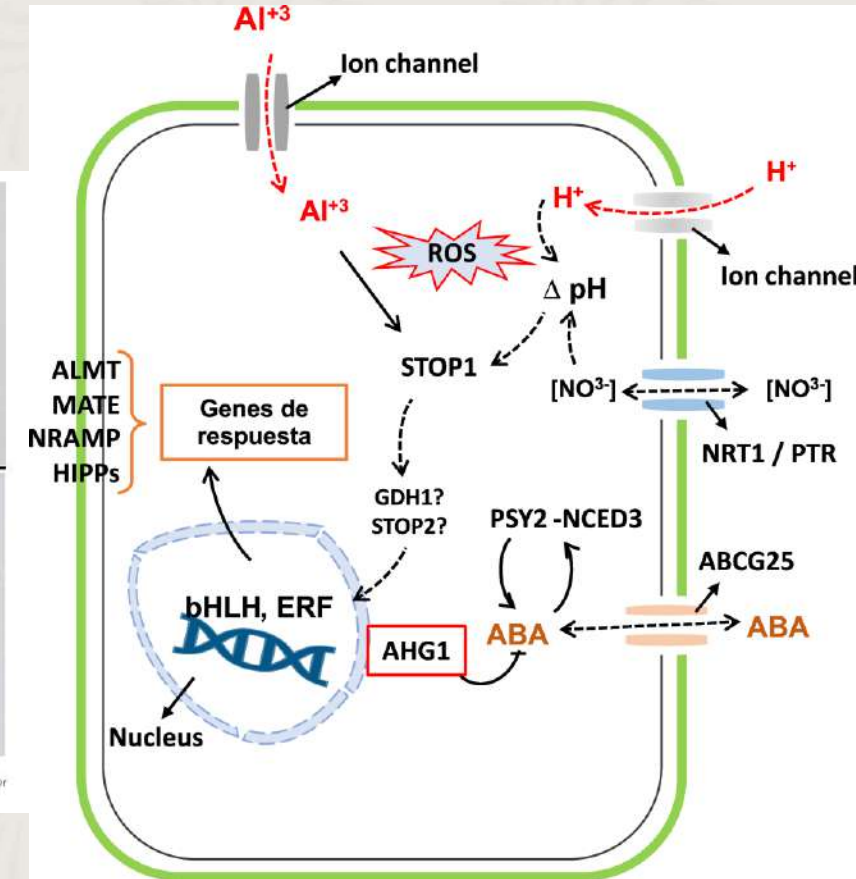


Fig. 1 Hematoxylin staining of primary roots. (a) IRHO 7001, (b) CTR 3-0-12, (c) CR 10-6-2, and (d) CD 19-12, subjected to aluminum stress. A higher intensity and proportion of purple or blue colors represent a more substantial aluminum accumulation in the root apex and elongation zone.

Resultados de la tinción de raíces primarias con Hematoxilina

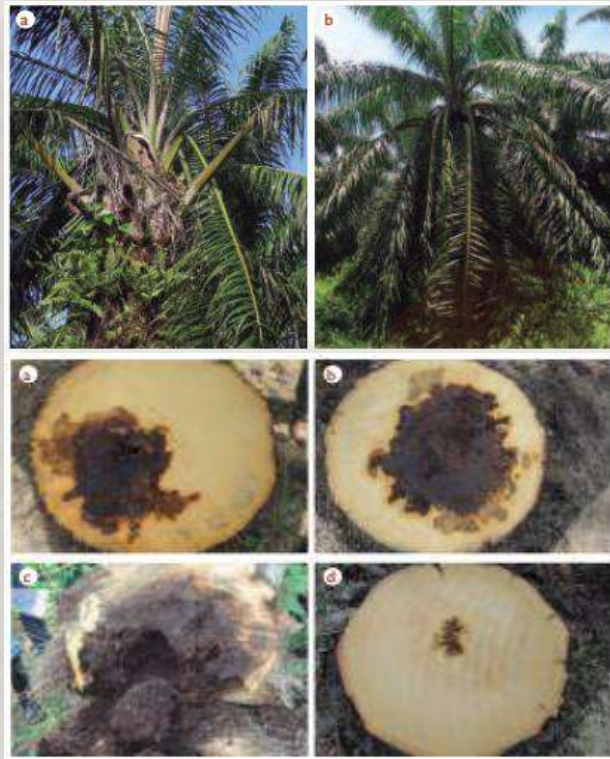
Mecanismo externo



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

Determinación del agente causal de la Pudrición Basal del Estípite

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.



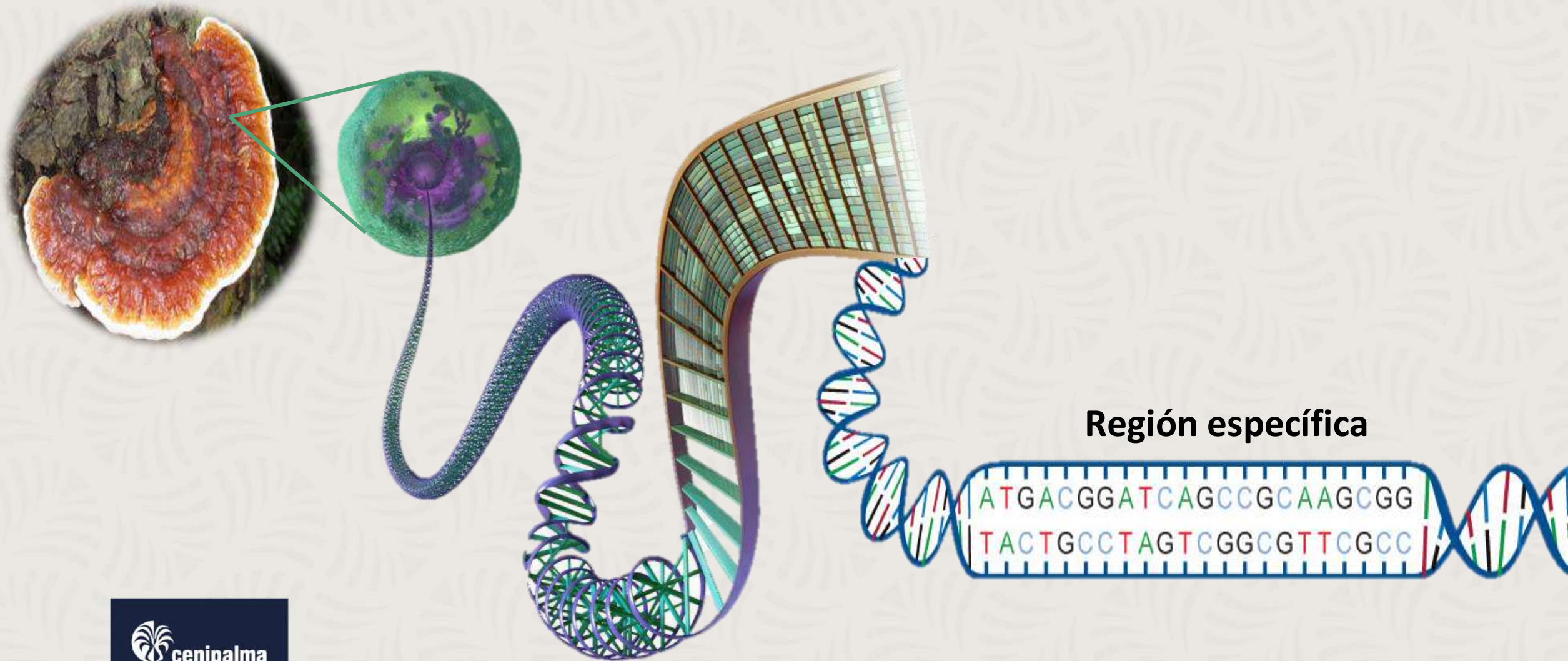
Mestizo et al. (2015)



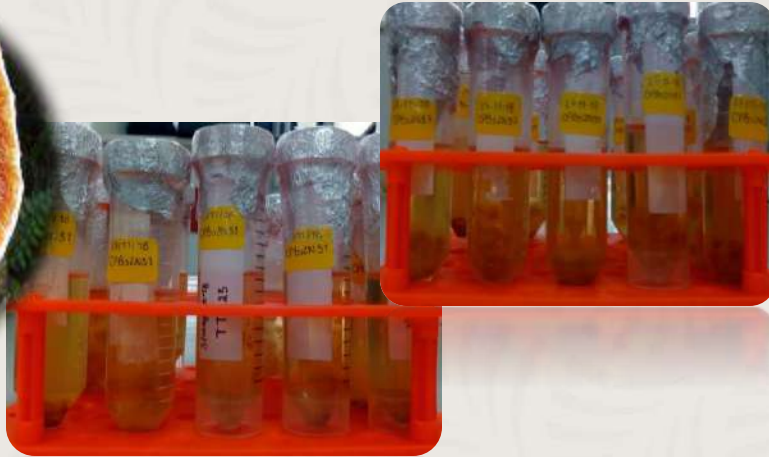
Rakib et al. (2014)

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.

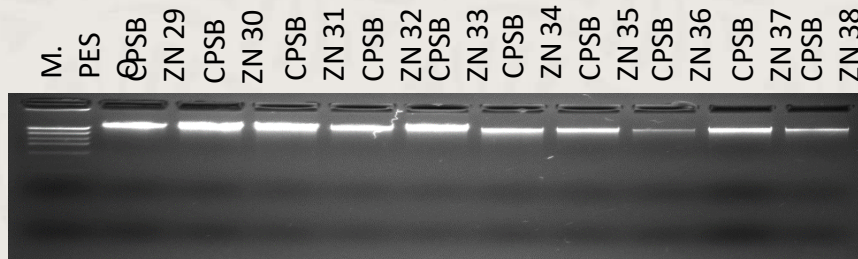
¿Qué se hace desde la biología molecular para identificar un patógeno?



Metodología



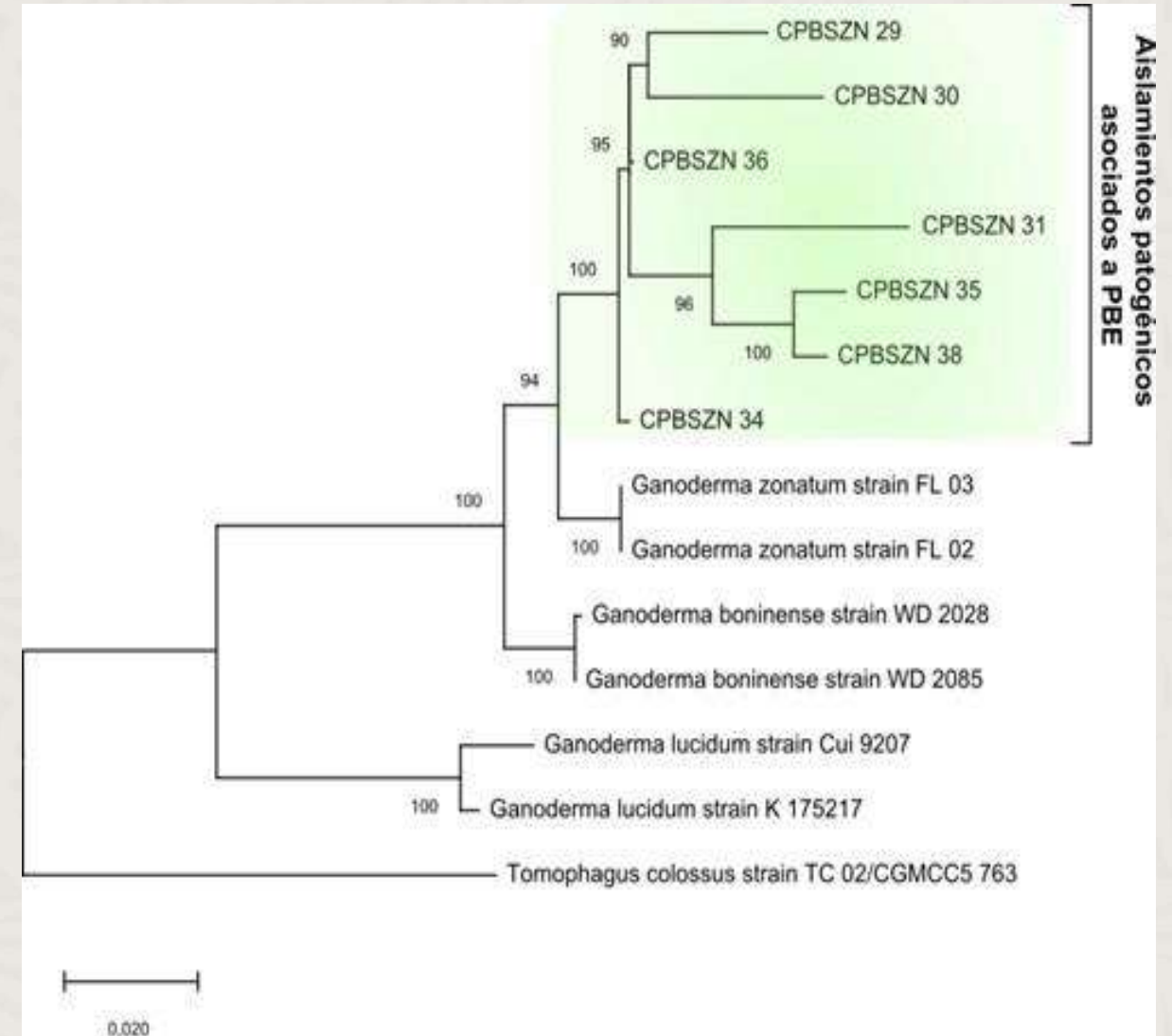
ADN del patógeno



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>

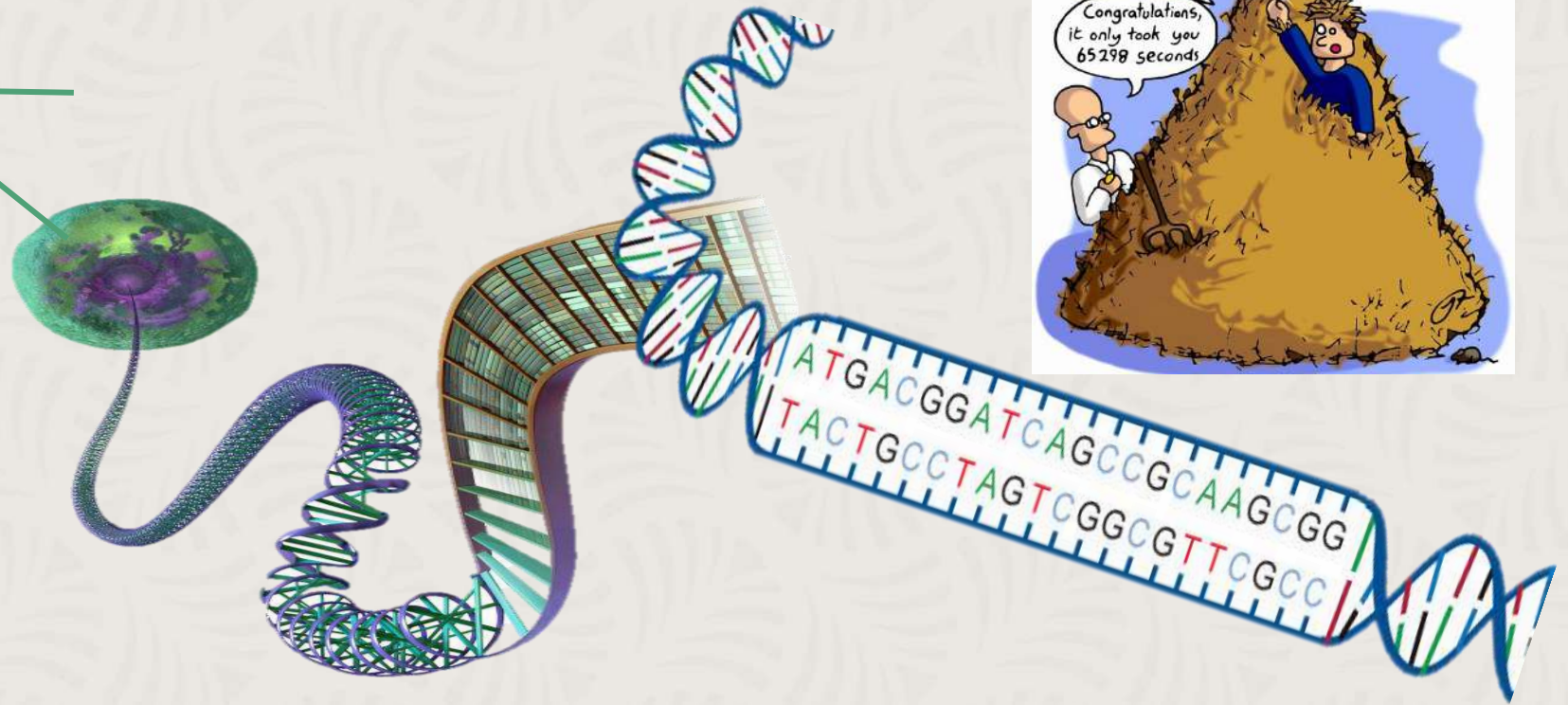


Resultado



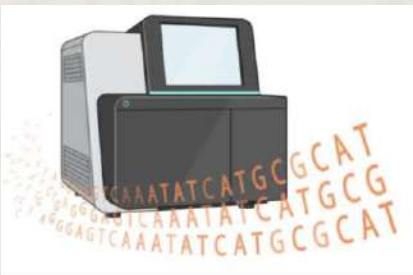
Árbol filogenético de los aislamientos asociados a PBE basada en los datos de una combinación las regiones de ITS, rpb2 y tef1 α . Los números sobre los nodos representan los valores de bootstrap. La topología y valores se derivan del análisis de máxima verosimilitud.

Determinación del agente causal de la Marchitez Letal (ML)



Metodología

Palma con Marchitez zona central



Secuenciación para identificación de microorganismos

Validación en laboratorio

Corrección de datos S.A. de C.V.									
Resumen de datos									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
161	162	163	164	165	166	167	168	169	170
171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186	187	188	189	190
191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
211	212	213	214	215	216	217	218	219	220
221	222	223	224	225	226	227	228	229	230
231	232	233	234	235	236	237	238	239	240
241	242	243	244	245	246	247	248	249	250
251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
261	262	263	264	265	266	267	268	269	270
271	272	273	274	275	276	277	278	279	280
281	282	283	284	285	286	287	288	289	290
291	292	293	294	295	296	297	298	299	300
301	302	303	304	305	306	307	308	309	310
311	312	313	314	315	316	317	318	319	320
321	322	323	324	325	326	327	328	329	330
331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350
351	352	353	354	355	356	357	358	359	360
361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380
381	382	383	384	385	386	387	388	389	390
391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410
411	412	413	414	415	416	417	418	419	420
421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440
441	442	443	444	445	446	447	448	449	450
451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470
471	472	473	474	475	476	477	478	479	480
481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
491	492	493	494	495	496	497	498	499	500
501	502	503	504	505	506	507	508	509	510
511	512	513	514	515	516	517	518	519	520
521	522	523	524	525	526	527	528	529	530
531	532	533	534	535	536	537	538	539	540
541	542	543	544	545	546	547	548	549	550
551	552	553	554	555	556	557	558	559	560
561	562	563	564	565	566	567	568	569	570
571	572	573	574	575	576	577	578	579	580
581	582	583	584	585	586	587	588	589	590
591	592	593	594	595	596	597	598	599	600
601	602	603	604	605	606	607	608	609	610
611	612	613	614	615	616	617	618	619	620
621	622	623	624	625	626	627	628	629	630
631	632	633	634	635	636	637	638	639	640
641	642	643	644	645	646	647	648	649	650
651	652	653	654	655	656	657	658	659	660
661	662	663	664	665	666	667	668	669	670
671	672	673	674	675	676	677	678	679	680
681	682	683	684	685	686	687	688	689	690
691	692	693	694	695	696	697	698	699	700
701	702	703	704	705	706	707	708	709	710
711	712	713	714	715	716	717	718	719	720
721	722	723	724	725	726	727	728	729	730
731	732	733	734	735	736	737	738	739	740
741	742	743	744	745	746	747	748	749	750
751	752	753	754	755	756	757	758	759	760
761	762	763	764	765	766	767	768	769	770
771	772	773	774	775	776	777	778	779	780
781	782	783	784	785	786	787	788	789	790
791	792	793	794	795	796	797	798	799	800
801	802	803	804	805	806	807	808	809	810
811	812	813	814	815	816	817	818	819	820
821	822	823	824	825	826	827	828	829	830
831	832	833	834	835	836	837	838	839	840
841	842	843	844	845	846	847	848	849	850
851	852	853	854	855	856	857	858	859	860
861	862	863	864	865	866	867	868	869	870
871	872	873	874	875	876	877	878	879	880
881	882	883	884	885	886	887	888	889	890
891	892	893	894	895	896	897	898	899	900
901	902	903	904	905	906	907	908	909	910
911	912	913	914	915	916	917	918	919	920
921	922	923	924	925	926	927	928	929	930
931	932	933	934	935	936	937	938	939	940
941	942	943	944	945	946	947	948	949	950
951	952	953	954	955	956	957	958	959	960
961	962	963	964	965	966	967	968	969	970
971	972	973	974	975	976	977	978	979	980
981	982	983	984	985	986	987	988	989	990
991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000

xcennsk

dkdnfjgikf

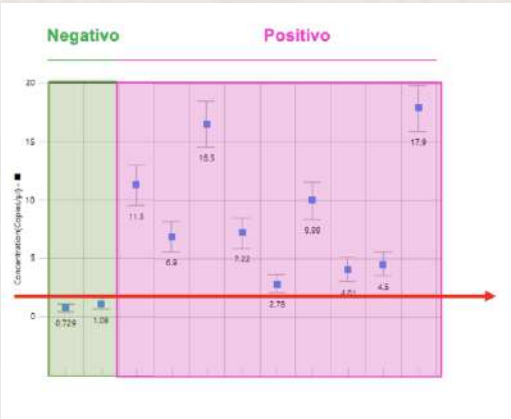
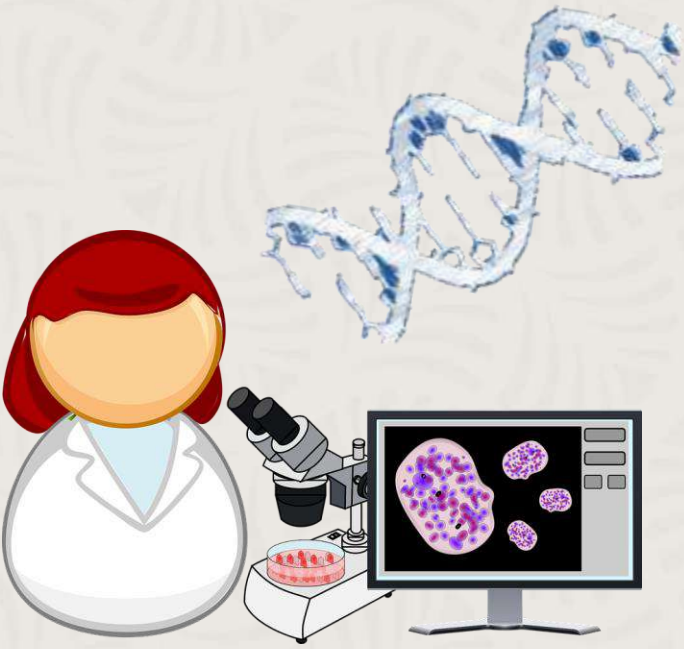
kdnmdos

pemcidso

Lista de microorganismos presentes en todas las muestras con ML

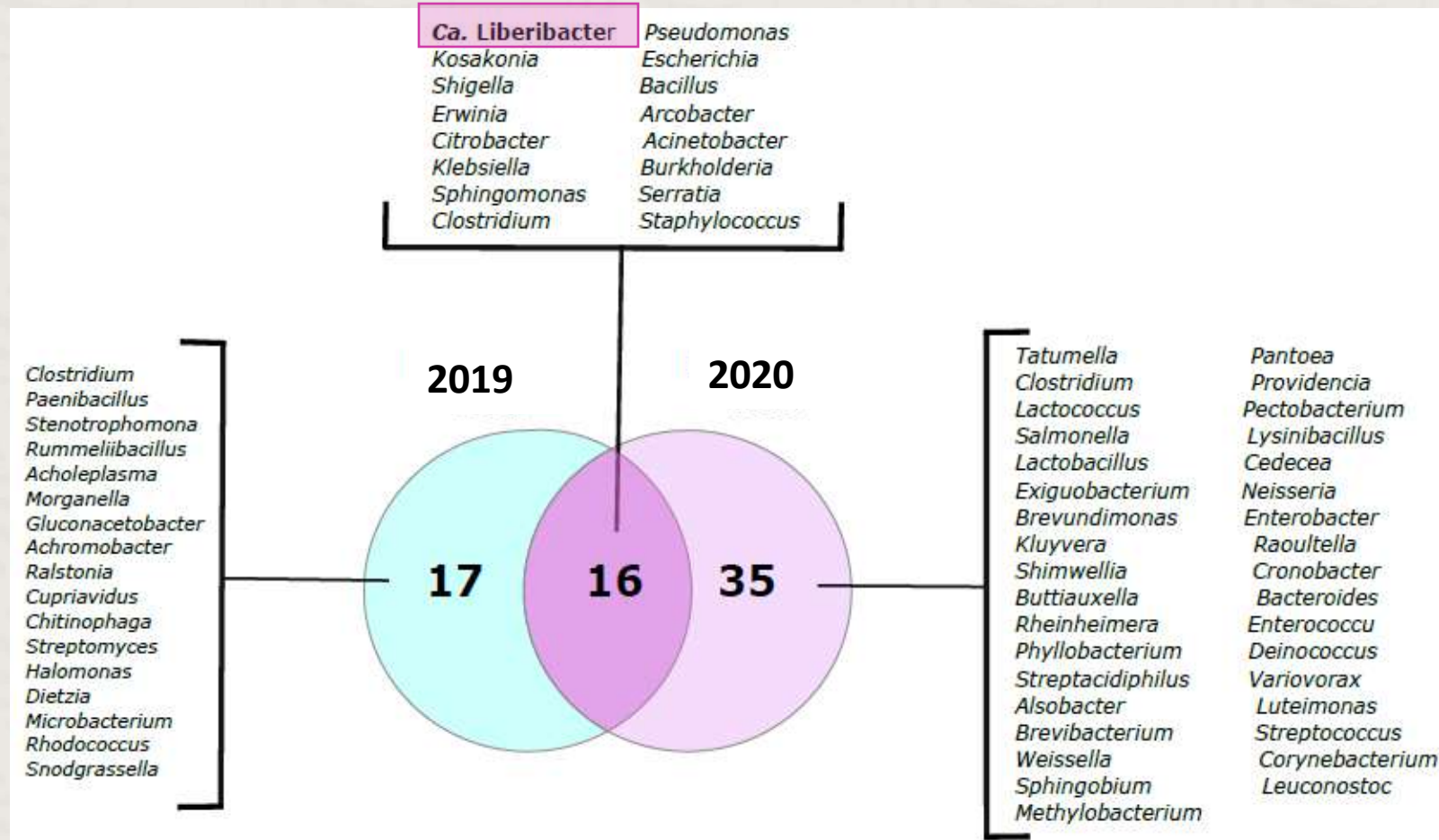


Comparación bases de datos



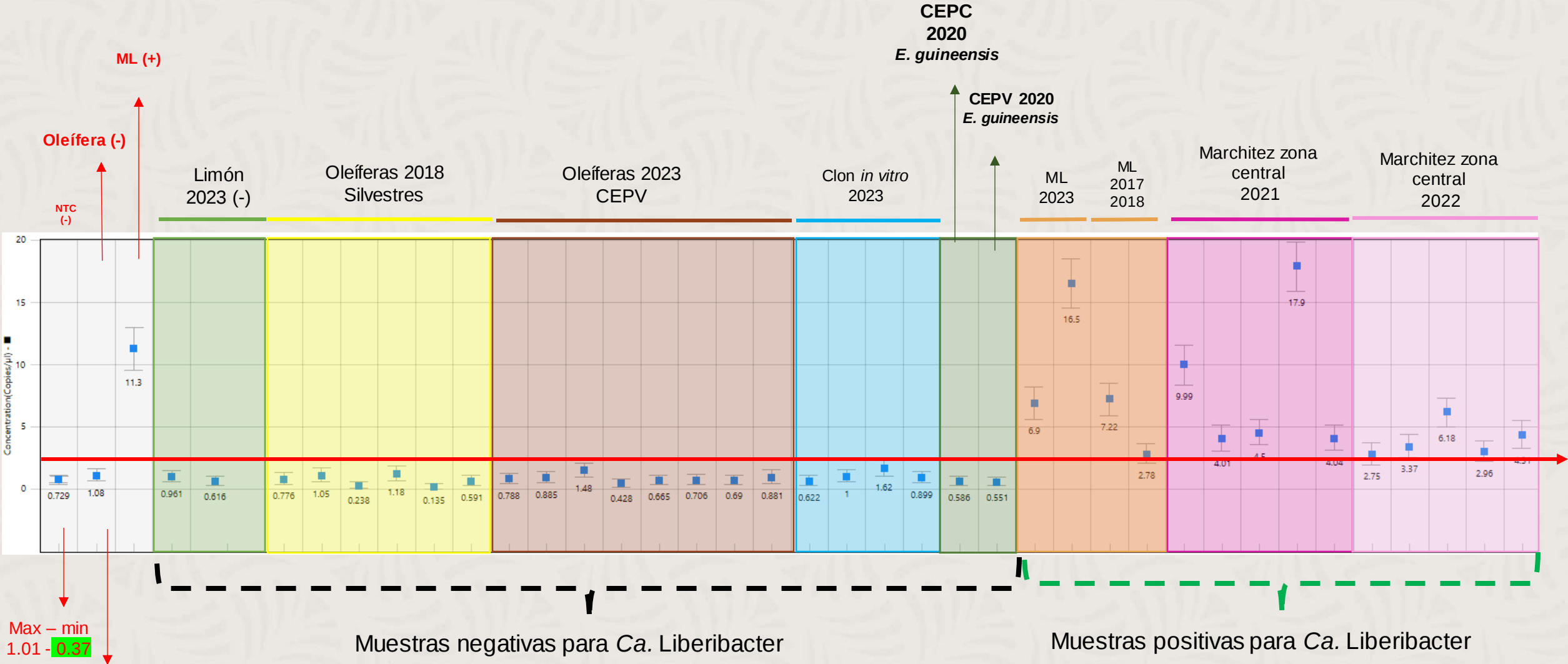
PCR digital

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**

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

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*

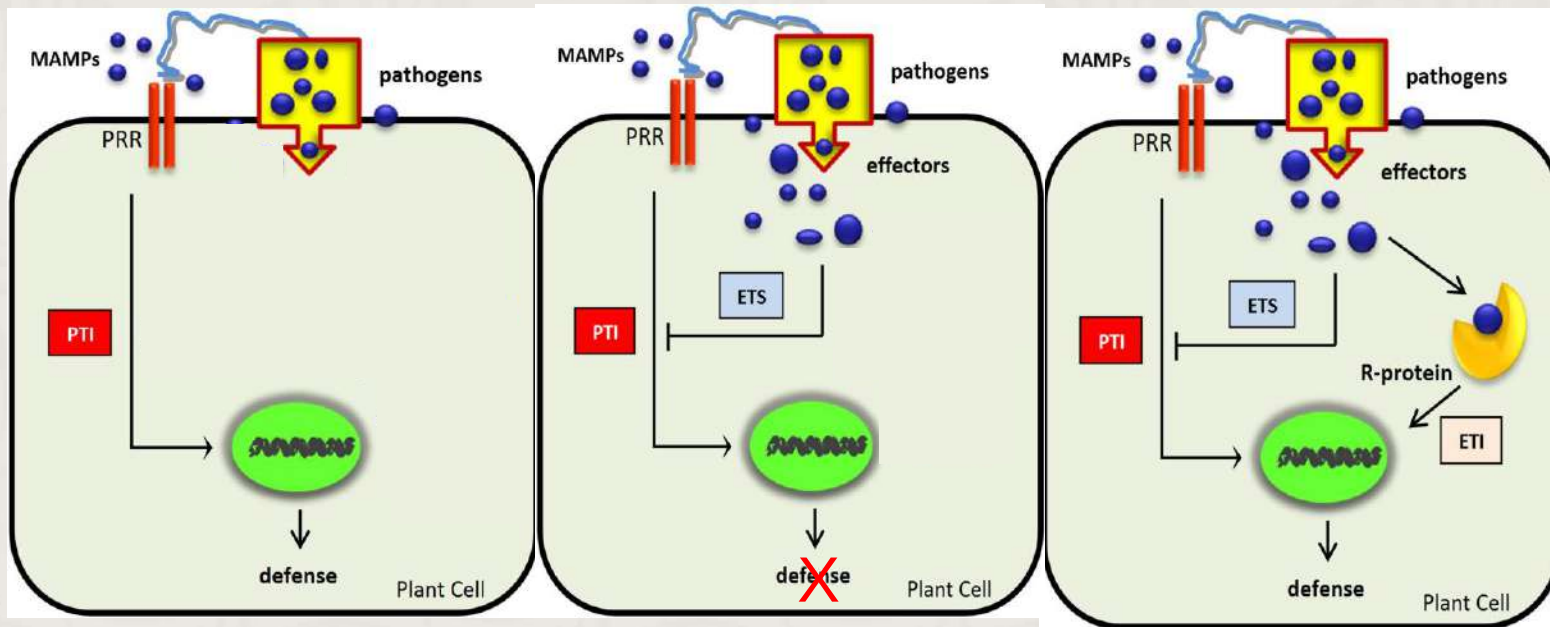
03

Transformación de callos y embrioides de palma de aceite

04

Diagnóstico de patógenos de palma de aceite

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



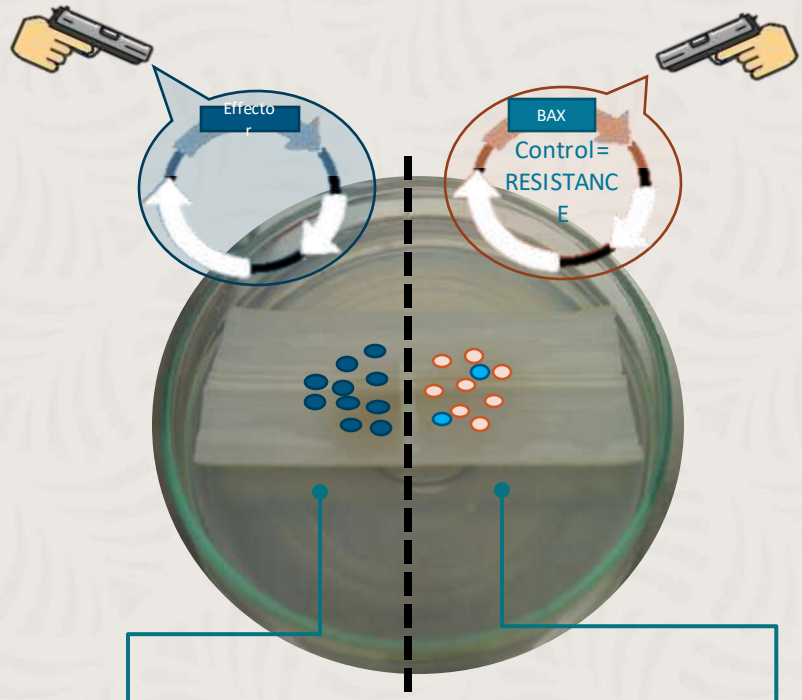
HR = respuesta hipersensible
Muerte celular programada



P. palmivora

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

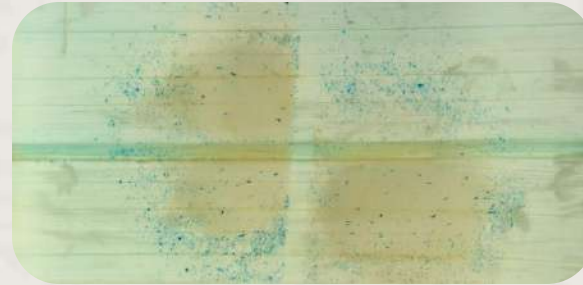
Evaluación transitoria de proteínas de virulencia en tejido de palma de aceite



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

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

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



BAX vs EV
Cód. **48-Susceptible**



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



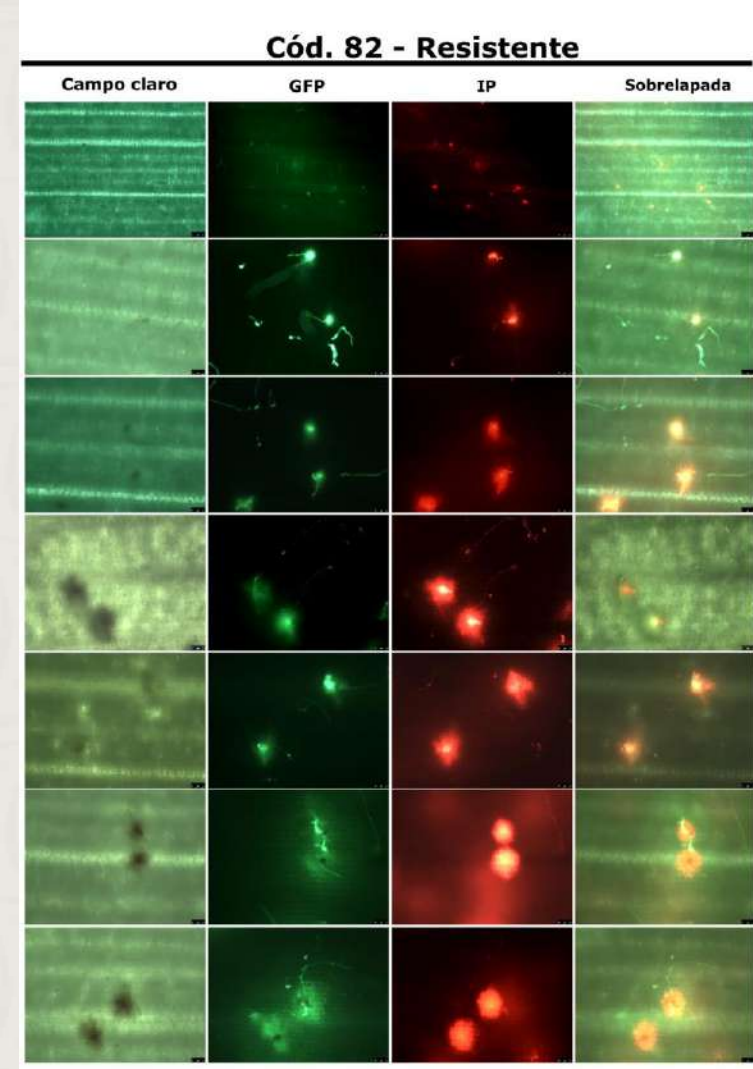
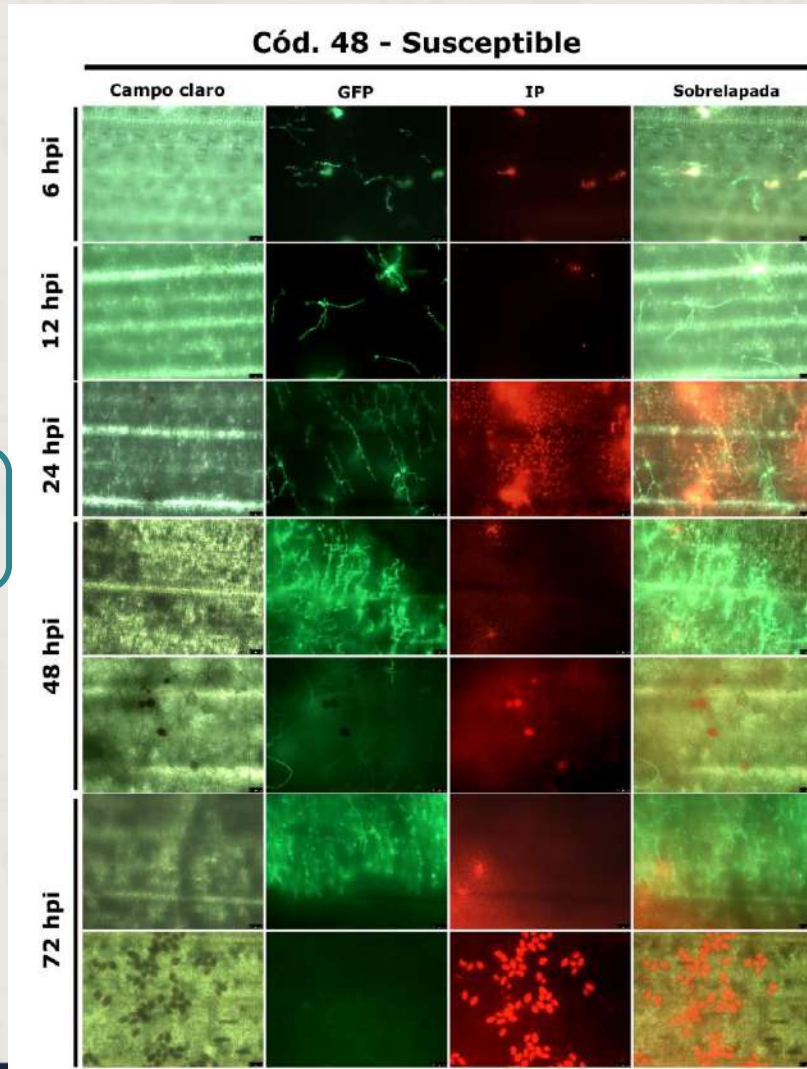
BAX vs EV
Cód. **82-Resistente**



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

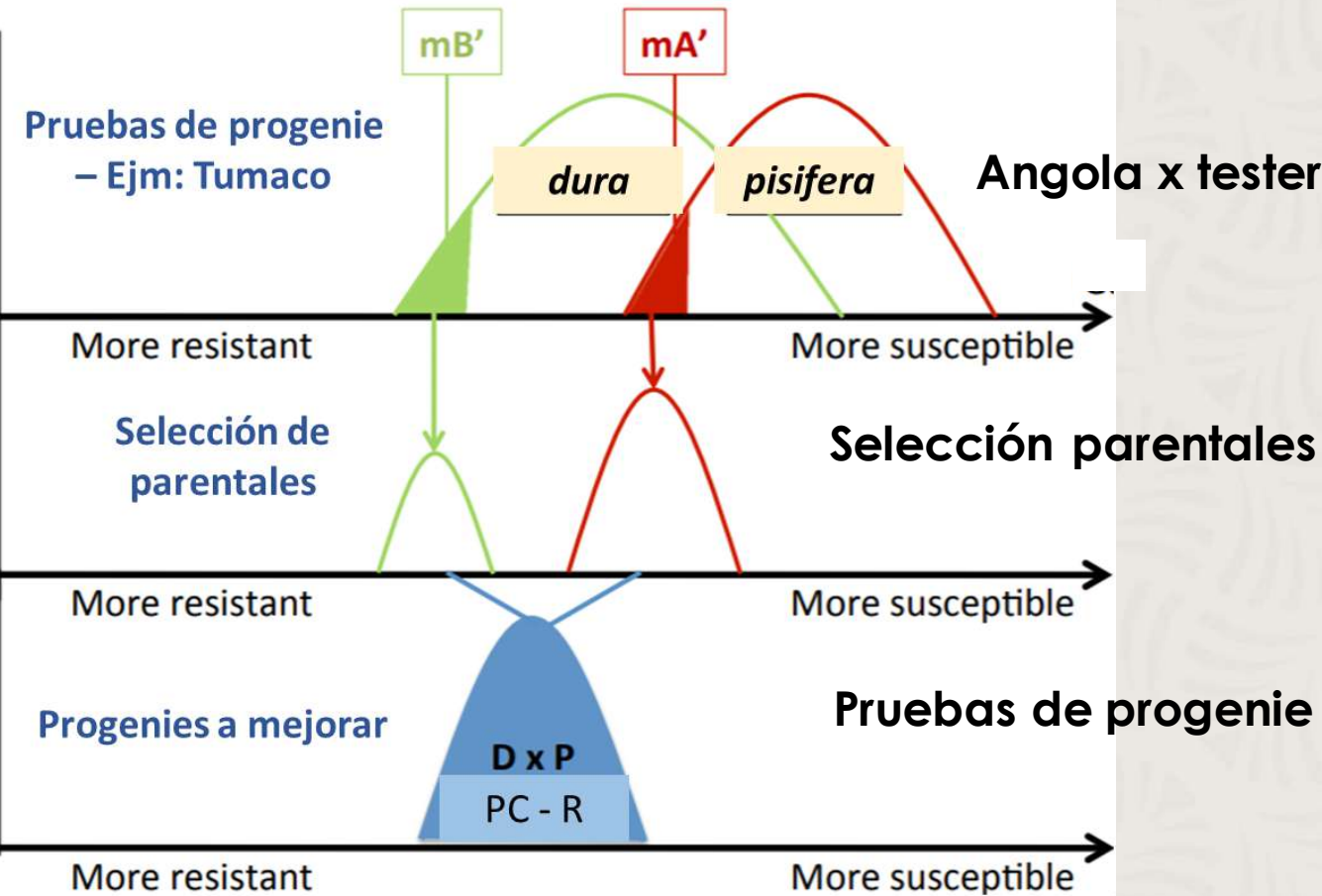
Evaluación de progenies de *E. guineensis* mediante *P. palmivora* transformada genéticamente

Microscopía de
fluorescencia



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

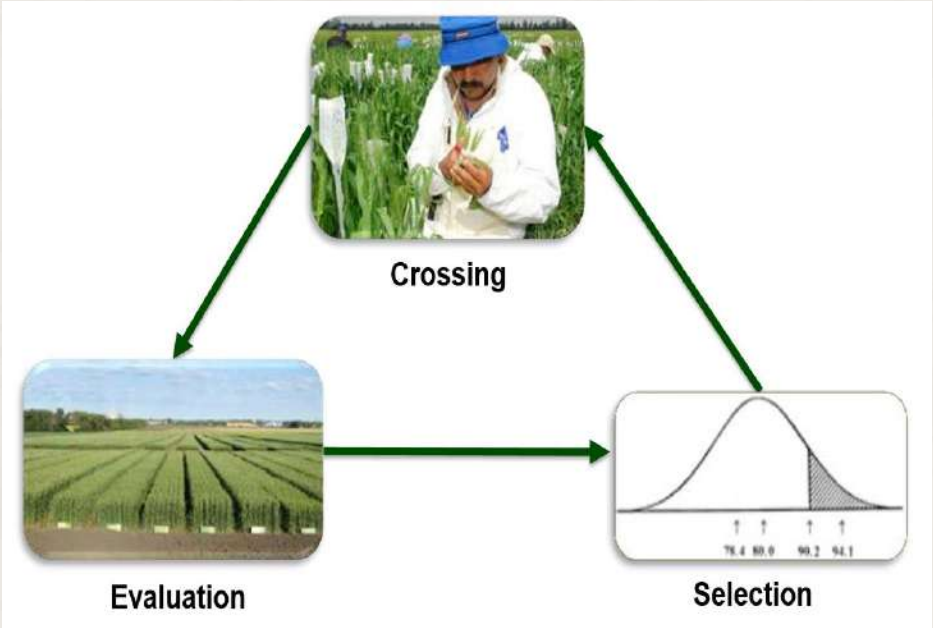
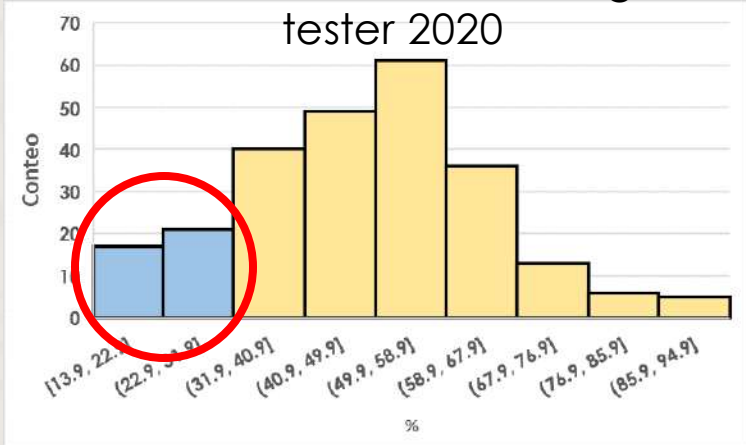
Identificación de genotipos resistentes con apoyo de la Biotecnología



Adaptado de Durand-Gasselín, 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. DOEARPA-E–Advanced Plant Phenotyping Workshop

A man wearing a cap, a light-colored shirt, and boots is leading a mule on a dirt path. The background is a lush tropical forest with many palm trees. A semi-transparent white box is overlaid on the image, containing the word "Gracias" in orange text. To the left of this box is a solid orange rectangle.

Gracias