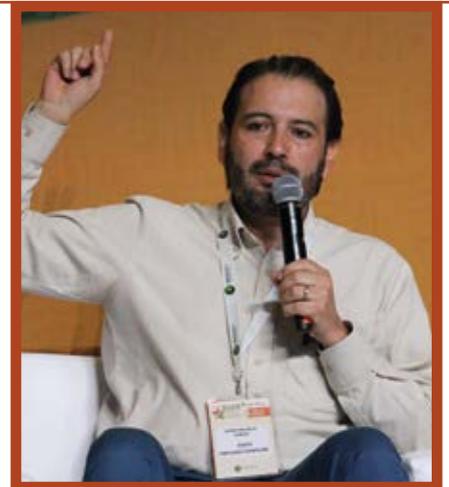


## Avances en el desarrollo de cultivares resistentes a la Pudrición del cogollo



**HERNÁN MAURICIO ROMERO ANGULO**

Coordinador del Programa de Biología y Mejoramiento - Cenipalma

### Introducción

La Pudrición del cogollo (PC) es la enfermedad más grave que se ha presentado hasta ahora en América Latina, ocasionando incluso el deterioro y la pérdida de plantaciones enteras (Martínez *et al.*, 2013). En Colombia, está distribuida en todas las zonas palmeras, y ha destruido cerca de 75.000 hectáreas en Tumaco, Puerto Wilches y el Departamento del Magdalena, y ha afectado económicamente a 60.000 hectáreas en los Llanos Orientales. El oomicete *Phytophthora palmivora* es el agente causante de las lesiones iniciales que originan la PC (Sarria *et al.*, 2008a; Sarria *et al.*, 2008b; Torres

*et al.*, 2016), y facilita la entrada de microorganismos como hongos y bacterias oportunistas que, al colonizar y descomponer los tejidos de la palma, pueden llegar hasta los tejidos meristemáticos y el cogollo, e incluso matarla (Vélez *et al.*, 2008). Así mismo, la enfermedad disminuye el área foliar y por tanto la capacidad fotosintética y de llenado del fruto, con lo que se reducen drásticamente los rendimientos del cultivo (Sarria *et al.*, 2015). Por lo tanto, desde la identificación de su agente causal, la investigación se ha centrado en su manejo, específicamente en las prácticas físicas y controles biológicos y químicos encaminados a disminuir la tasa de desarrollo de la enfermedad (Martínez, 2009).

Las condiciones de estrés biótico o abiótico, ocasionan una serie de alteraciones fisiológicas y bioquímicas determinantes de la capacidad de la planta para aclimatarse o recuperarse. Así, la resistencia o susceptibilidad de una planta a una enfermedad depende de un complejo intercambio de señales. La respuesta de defensa es iniciada por el reconocimiento de moléculas codificadas por el patógeno y la activación de factores de transcripción, que conduce a la inducción de genes relacionados con la resistencia de la planta (Díaz, 2012). Específicamente se generan moléculas secundarias de señalización, como el ácido salicílico, que puede ser trasladada a toda la planta, y que además puede protegerla contra patógenos diferentes al causante de la respuesta inicial (Camarena & De la Torre, 2007). Tales respuestas, son las claves que el grupo de Biología y Mejoramiento de Cenipalma, han aprovechado para explorar la resistencia a la enfermedad, específicamente a través de cuatro frentes de acción:

- Búsqueda de fuentes de resistencia a la PC en la colección biológica de *Elaeis guineensis* proveniente de Angola (Angola x Tester).
- Secuenciamiento y anotación del genoma completo de *P. palmivora* y desarrollo de un genoma de referencia.
- Interacción planta-patógeno *E. guineensis* – *P. palmivora*.
- Evaluación del uso de inductores de resistencia a la PC.

## Búsqueda de genotipos resistentes a la PC

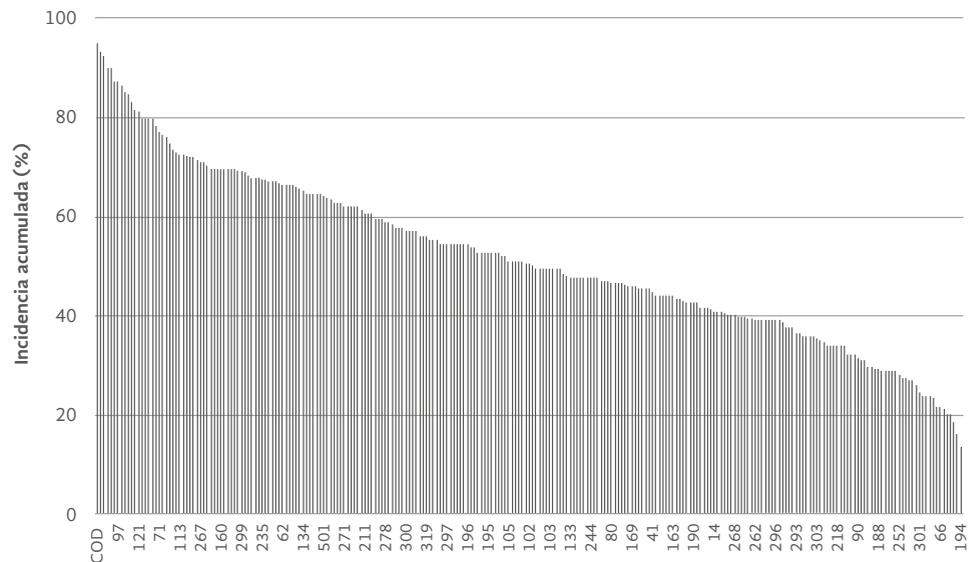
Dentro de *E. guineensis*, los cultivares con resistencia a la PC son limitados o simplemente no existen (al menos registrados ante el ICA), posiblemente debido a la estrecha base genética existente en los cultivares comerciales. Sin embargo, dada la importancia de la palma de aceite para la industria, la bioenergía, el consumo humano y animal, la búsqueda de accesiones con resistencia a la PC en la especie *E. guineensis* es una de las prioridades para la sostenibilidad a largo plazo del cultivo. Consecuentemente, Cenipalma cuenta con colecciones biológicas de *E. guineensis*

procedentes de Angola y Camerún, que presentan una diversidad genética mayor en comparación con los cultivares comerciales, y por lo tanto una gran probabilidad de fuentes de resistencia a la PC. Estas se están evaluando bajo condiciones semicontroladas de umbráculo (ambiente con alta humedad relativa) y de campo, en zonas con alta incidencia de la enfermedad. En umbráculo se valoraron 262 cruzamientos Angola x Tester y 40 cruzamientos Camerún x Tester, que se pudieron clasificar inicialmente por incidencia -que estuvo entre el 35 y 90 %-, y luego por severidad, separando cruzamientos susceptibles y resistentes. En las pruebas de campo, donde se evaluaron 242 cruzamientos Angola x Tester en una zona con alta presión de inóculo (incidencia acumulada > 50 %, 24 meses después de la siembra), se identificaron cruzamientos sobresalientes con baja incidencia, severidad (Figura 1) y proporción de palmas erradicadas. Sin embargo, el experimento está en progreso y muchos de estos cruzamientos promisorios podrían adquirir la enfermedad, por lo que únicamente al final, se seleccionarán los que serán incorporados en el programa de mejoramiento.

Por otro lado, el estudio de *E. oleifera* es fundamental para el mejoramiento de la especie, principalmente para la producción de híbridos interespecíficos, que en su gran mayoría son la única fuente conocida de resistencia a la PC. Así, en 2018 se incrementaron las colecciones de *E. oleifera*, a través de la colecta de semillas de palmas provenientes de 58 diferentes nichos, la mayoría ubicados sobre ambientes lacustres o zonas inundables. Pese a ello, mostraron altos contenidos de aceite y un perfil predominantemente insaturado de ácidos grasos. Además, se realizaron cruzamientos *E. oleifera* x *E. oleifera* (OxO) de palmas élite del Programa de Mejoramiento; es decir, procedentes de diferentes orígenes, con baja o nula incidencia de PC, alta tasa de extracción de aceite, elevados contenidos de aceite en mesocarpio, alta relación de mesocarpio en fruto y racimo, reducido cubrimiento de brácteas pedunculares, entre otras. Finalmente, se hicieron 51 cruzamientos híbridos entre oleíferas élites y pisíferas sobresalientes, que serán evaluados en pruebas de progenie en vigencias futuras.

Otra metodología de búsqueda de fuentes de resistencia a la PC, es el cultivo *in vitro* o producción de clones a partir de palmas “sobrevivientes” a la

**Figura 1.** Incidencia en 262 cruzamientos de *E. guineensis* Angola x Tester en condiciones de campo, 24 meses después de la siembra.



epidemia en Tumaco y Puerto Wilches. Actualmente, se tiene disponible material para ser aclimatado de los diferentes códigos de interés comercial, y de plantas de *E. guineensis* e híbridos interespecíficos con características de interés agronómico y aparente resistencia a la enfermedad. Estas palmas pueden ser empleadas para diferentes ensayos, así como para convenios con plantaciones, donde se disponga de áreas exclusivas para su evaluación en terreno. En el Campo Experimental Palmar de La Vizcaína, existen 286 clones (siembra 2015) con una incidencia actual del 0 %; y en la estación experimental La Providencia se tienen 322 clones de la siembra 2015 y 285 de la siembra 2016, con incidencia actual de 2 % y 0 % respectivamente. La expectativa consiste en valorarlos en campo en las diferentes zonas palmeras, y efectuar introducciones al proceso mediante metodologías alternativas, como la micropropagación a partir de inflorescencias.

## Secuenciamiento y anotación del genoma completo de *P. palmivora*

Se secuenció un total de 12 aislamientos de *Phytophthora palmivora* provenientes de las cuatro zonas palmeras colombianas, y se construyó un genoma de referencia para la especie. Este mostró una longitud total de 167.918.647 pares de base (bp), un tamaño estimado en 165.5 Mpb y 45.416 genes anotados.

Con tal genoma y estudios de expresión de genes del patógeno, se realizó la búsqueda de efectores o proteínas que usa el patógeno para evadir las defensas de la planta y manipular su metabolismo. Estos resultan claves para estudiar y entender los mecanismos de defensa de *E. guineensis* y la virulencia de los aislamientos de las diferentes zonas. Así, se identificaron alrededor de 800 posibles proteínas de virulencia, categorizadas según su función biológica, y las variantes alélicas de los 12 genomas de *P. palmivora*, encontrando 343 variantes en regiones codificantes. Con estos insumos, se están desarrollando ensayos para verificar la función de las proteínas *in vivo* y analizar cómo se activa o anula el sistema de defensa de la planta. Justamente, se hallaron 16 nuevos genes candidatos de efectores, y se procedió a estandarizar la transformación genética mediante bombardeo de partículas (biobalística), para lograr la expresión transitoria de estas proteínas en el tejido foliar de *E. guineensis*. Actualmente se está trabajando en la identificación de las respuestas de defensa en palmas contrastantes (aparentemente resistentes o susceptibles a la PC).

## Interacción planta-patógeno

Para entender los mecanismos de la interacción planta-patógeno, se generó un catálogo de genes y redes génicas tanto de *E. guineensis* como de *P. palmivora*,

en diferentes tiempos de infección. A partir de los resultados de la expresión génica, se evaluaron 50 genes para comprobar la relación entre los análisis bioinformáticos y las muestras biológicas. La validación permitió elaborar un *subset* de 15 genes, categorizados por sus funciones biológicas. Estos fueron probados en otros cultivares del género *Elaeis*, tanto de origen clonal como de semilla de *E. guineensis* provenientes de la colección Angola. Además, se encontraron diferencias de expresión de acuerdo con su nivel de resistencia o susceptibilidad. Los genes de resistencia en planta (expresados principalmente en la interacción con el cultivar resistente), se clasificaron funcionalmente en familias de genes de homeostasis, receptores, factores de transcripción, hormonas, genes de la pared celular, genes de resistencia y fenilpropanoides. De esta manera, tal información es una herramienta molecular para la categorización de cultivares en cuanto a su resistencia o susceptibilidad a la PC.

Por otro lado, con base en la información del genoma de *E. guineensis*, *P. palmivora* y la interacción planta - patógeno, se está avanzando en la búsqueda de marcadores moleculares asociados a la resistencia a la PC. Mediante la técnica de GBS (Genotyping by sequencing), hasta el momento, se han logrado identificar 1.610 SNPs o polimorfismos de un solo nucleótido asociados a la resistencia, y se valorará en una población de 1.000 palmas de diferentes orígenes.

## Evaluación del uso de inductores de resistencia

Los resultados del proyecto “Manejo de la Pudrición del cogollo en palma de aceite mediante la inducción de respuestas fisiológicas y bioquímicas de tolerancia”, cofinanciado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y el Fondo de Fomento (finalizado en diciembre de 2011), indicaron que plantas de *E. guineensis* tratadas con el inductor de resistencia, ácido 2,6-dicloro-isonicotínico (INA), análogo del ácido salicílico, en fase de vivero y en los primeros meses en sitio definitivo, presentaron una elevada resistencia a la PC. En comparación con el tratamiento testigo u otros inductores (ácido salicílico, BTH, BABA y Ethrel), las palmas permanecieron sanas por más de dos años, en una zona de alta presión de inóculo (Tumaco). Por ello, la aplicación de INA desde la fase de

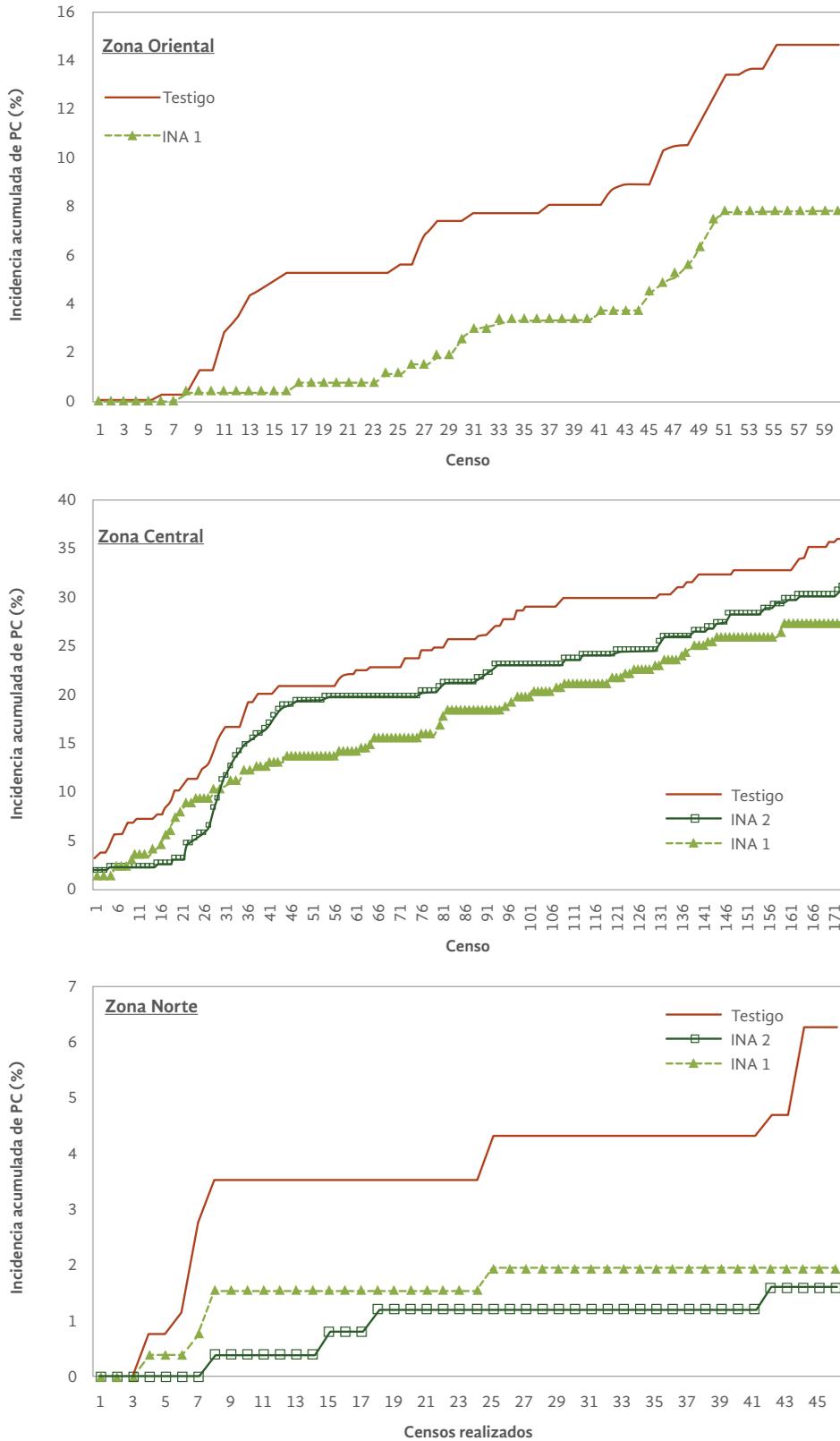
vivero, se presentó como una alternativa de prevención, que retardaría la diseminación de la enfermedad al activar los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que naturalmente tienen las plantas, para la defensa contra un eventual ataque de patógenos y/o plagas. Precisamente, se establecieron, parcelas de validación a escala semicomercial en las cuatro zonas palmeras. Los resultados indican que el INA, correctamente solubilizado y aplicado, activa la resistencia sistémica adquirida de las palmas, pues aquellas que no fueron tratadas, presentaron una incidencia acumulada significativamente mayor (Figura 2). Hasta el momento, aunque se continúa con la validación de los procesos de preparación y aplicación, el INA tiene un potencial real como solución segura, práctica y rápida a la PC, que se sigue evaluando.

## Consideraciones finales

A través de diferentes estrategias fisiológicas, bioquímicas, moleculares y/o de fitomejoramiento, asociadas con la interacción agroecológica planta-patógeno, el grupo de Biología y Mejoramiento de Cenipalma, ha centrado sus esfuerzos en la búsqueda de una metodología para el manejo integral de la PC, la enfermedad más limitante del cultivo en Colombia. Tal desafío se ha abordado teniendo en cuenta los factores del triángulo de la enfermedad: ambiente, patógeno y hospedero. Se resalta que el manejo de la interacción entre estos últimos, permitiría en el mediano a largo plazo, una resistencia a la PC más duradera. Precisamente, el trabajo se ha focalizado en las características biológicas tanto del patógeno como de la planta, que limitan o impiden la penetración, desarrollo y reproducción de *P. palmivora*, o favorecen el crecimiento y producción a pesar de la enfermedad (resistencia). Incluso conducen a efectos graves (incluyendo la muerte) como consecuencia del estrés causado por el patógeno (susceptibilidad). La meta es entonces, contar con una amplia gama de cultivares con características genotípicas y fenotípicas promisorias, principalmente resistencia a PC, y que respondan a las necesidades del sector palmicultor colombiano.

Por ello, todo este conocimiento ha sido publicado, y se encuentra a disposición del sector y las partes interesadas:

**Figura 2.** Incidencia actual acumulada de PC en parcelas establecidas en las zonas Oriental, Central y Norte, para el manejo de la enfermedad mediante la aplicación de inductores de resistencia.



- Biochemical and physiological responses of oil palm to bud rot caused by *Phytophthora palmivora*. 2013. *Plant Physiology & Biochemistry*/70/ 246-251
- Desarrollo de materiales genéticos resistentes a la Pudrición del cogollo (PC). 2013. *Palmas*/34/2/ 95-108. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/10852/11776>
- Assessment of tolerance to bud rot in oil palm under field conditions. 2014. *European Journal of Plant Pathology*/DOI 10.1007/s10658.
- Response of six sources of oil palm planting materials from Malaysia planted in the Eastern plains of Colombia to Bud Rot. 2014. *Journal of Oil Palm Research*/26/1/ 73-83.
- Response of various oil palm materials (*Elaeis guineensis* and *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis* interspecific hybrids) to bud rot disease in the southwestern oil palm-growing area of Colombia. 2016. *Agronomía Colombiana*/34/1/ 74-81.
- Transformación genética de *Phytophthora palmivora*: una herramienta útil para la cuantificación y seguimiento histológico de la Pudrición del cogollo en palma de aceite. 2016. *Ceniavances* 183. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/ceniavances/article/view/11720/11711>
- Plant responses to pathogen attack: molecular basis of qualitative resistance. 2017. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*/70/2/ 8225-8235.
- Identificación de estructuras de infección de *Phytophthora palmivora* en hojas de clones de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). 2018. *Palmas*/39/1/ 120-130. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/12404/12315>

## Referencias

- Camarena, G. & De la Torre, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 157-162.
- Díaz, L. (2012). Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 257 – 267.
- Martínez, G. (2009). Identificación temprana y manejo integrado de la Pudrición del cogollo. *Palmas*, 30(2): 63–77.
- Martínez, G., Arango, M., Torres, G., Sarria, G., Vélez, D., Rodríguez, J. & Guest, D. (2013). Avances en la investigación sobre las dos enfermedades más importantes en la palma de aceite en Colombia: la Pudrición del cogollo y la Marchitez letal. *Palmas*, 34, 39–47.
- Sarria, G., Torres, G., Aya, H., Ariza, J., Rodríguez, J., Vélez, D. & Martínez, G. (2008a). *Phytophthora* sp., es el responsable de las lesiones iniciales de la Pudrición del cogollo en la palma de aceite en Colombia. *Palmas*, 29 (edición especial), 31-41.

- Sarria, G., Torres, G., Vélez, D., Rodríguez, J., Noreña, C., ... & Varón, F. (2008b). Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora palmivora* agente causal de las lesiones iniciales de la Pudrición del cogollo (PC) en palma de aceite en Colombia. *Fitopatología colombiana*, 32(2), 39-44.
- Sarria, G., Martínez, G., Varón, F., Drent, A. & Guest, D. (2015). Histopathological studies of the process of *Phytophthora palmivora* infection in oil palm. *European Journal of Plant Pathology*. doi: 10.1007/s10658-015-0810-9
- Torres, G., Sarria, G., Martínez, G., Varón, F., Drenth, A. & Guest, D.I. (2016). Bud rot caused by *Phytophthora palmivora*: A destructive emerging disease of oil palm. *Phytopathology*, 106(4), 320-329.
- Vélez, D., Noreña, C., Sarria, G., Torres, G. Varón, F. & Martínez, G. (2008). Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora*, el responsable de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite. *Fitopatología Colombiana*, 32(2), 45-50.