



ASD IN A NUTSHELL



Participación de ASD en el "Primer Congreso Regional de Palma de Aceite" celebrado en la ciudad de Tela, Honduras

La industria palmera de Honduras celebró su primer congreso regional sobre la palma aceitera y ASD tuvo la oportunidad de participar con un 'stand' y con una charla sobre sus variedades.

En un esfuerzo digno de reconocimiento, el gremio palmero de Honduras celebró su "Primer Congreso Regional de Palma de Aceite" en la ciudad de Tela, Honduras entre el 6 y el 8 de julio pasado.

La organización del evento fue excelente y tuvo una numerosa participación de palmicultores y profesionales relacionados con la agroindustria de la palma aceitera provenientes del país anfitrión, otros países centroamericanos, Méjico, Colombia y República Dominicana.

ASD tuvo la oportunidad de exhibir sus productos en un 'stand' y participó con una conferencia dada por el Ing. Amancio Alvarado, director del programa de mejoramiento genético de la palma aceitera de ASD. Su charla, "Variedades de palma aceitera para la costa atlántica de Honduras", tuvo como objetivo presentar las fortalezas únicas de ASD para ofrecer una gama de variedades con el potencial de adaptarse con éxito a las condiciones de la costa Atlántica de Honduras.

La palmicultura de Honduras pasa por un periodo de zozobra dada la amenaza de la enfermedad del anillo rojo, y las bajas productividades, asociadas a la siembra de variedades que no se han adaptado a las condiciones locales.



Vista del stand de ASD en el "Primer congreso regional de palma de aceite en Tela, Honduras.



El Ing. Amancio Alvarado, director del programa de mejoramiento de la palma aceitera de ASD durante su presentación en el "Primer Congreso Regional de Palma de Aceite" celebrado en la ciudad de Tela, Honduras entre el 6 y el 8 de julio pasado.

Progresos en nuestro programa de biología molecular: análisis molecular de genotipos tolerantes a la pudrición del cogollo (PC)

ASD mantiene un programa de búsqueda de una alternativa genética para el flagelo de la condición de la pudrición del cogollo (PC) en América tropical y se está apoyando en las herramientas de la biología molecular en este esfuerzo.

ASD cuenta con un moderno laboratorio de biología molecular, en donde se trabaja activamente en varios campos para aprovechar las fortalezas de estas herramientas para 'marcar' y proteger sus genotipos más valiosos (variedades y clones).

Un objetivo importante del programa de mejoramiento genético de ASD es buscar una alternativa genética al problema de la PC en América tropical. Un avance importante en esta dirección fue cuando se logró asociar la tolerancia a esta condición con la tolerancia expresada por algunos genotipos al estrés abiótico, particularmente al déficit hídrico y bajas temperaturas. Estas características fueron encontradas en algunos cruces que utilizaron como madres a palmas seleccionadas en tierras altas y relativamente secas en África del este.

El trabajo incluyó el análisis con marcadores microsatélites en una variedad tolerante a la pudrición del cogollo (Bamenda x Ekona) y otra variedad estándar de mayor susceptibilidad (Deli x Nigeria). Durante el estudio, se muestrearon palmas de aproximadamente cuatro años de edad de cada variedad, separadas en tres categorías: sanas, enfermas y recuperadas.

El ADN se extrajo siguiendo los procedimientos de rutina establecidos en nuestro laboratorio de biología molecular y posteriormente se realizó una amplificación por PCR usando *imprimadores* para la detección de los *microsatélites* (secuencias simples repetidas con alto nivel de polimorfismo). Los fragmentos amplificados fueron separados por el secuenciador ABI 3130.

La matriz de datos generada por los microsatélites se usó en un análisis estadístico multivariado, que mostró la separación entre las variedades. Además, dentro de cada variedad, se observó una leve separación de los individuos susceptibles dentro de cada grupo (sanas, enfermas y recuperadas).



El moderno laboratorio de biología molecular de ASD en la localidad de Coto, Costa Rica

Estos resultados muestran un indicio de que el grado de polimorfismo en cada *imprimador* fue el adecuado, ya que separó dentro de una misma población individuos con características fenotípicas diferentes (tolerancia y susceptibilidad). La información obtenida hasta ahora es un buen comienzo para una investigación más exhaustiva para conocer el perfil genético de los padres y tratar de detectar un perfil genético para el carácter de tolerancia a PC.

Huella genética (fingerprinting) de clones

ASD utiliza las herramientas de la biología molecular para la protección, registro y certificación de la legitimidad de sus variedades y clones.

La identificación genética de genotipos particulares de palma aceitera debe basarse en un procedimiento reproducible y confiable; particularmente si se pretende utilizar como un mecanismo de protección del derecho de propiedad del germoplasma, mediante la certificación de la legitimidad de una variedad o de un clon.

Uno de los productos de nuestra investigación es el desarrollo de una metodología que utiliza marcadores *microsatélites* para generar la huella genética (*fingerprinting*) de los clones más populares de ASD (Tornado, Titán, Sunrise, Prince, Sabre, Endurance). El fingerprinting se generó en dos ocasiones, en las cuales los resultados se repitieron en dos laboratorios de biología molecular independientes (la Universidad de Costa Rica y el propio de ASD en la localidad de Coto).

Se usaron un total de 17 *imprimadores* para la detección de las secuencias simples repetidas (SSRs) en el genoma del género *Elaeis* sp. Los *microsatélites* se seleccionaron por la facilidad de la interpretación de los alelos amplificados, la presencia de polimorfismo en evaluaciones previas y también por la reproducibilidad de los resultados.

Marcadores asociados a la producción de ácidos grasos

El personal del laboratorio de biología molecular de ASD está estudiando algunos genes de la ruta biosintética de los ácidos grasos con el objetivo de identificar marcadores intragénicos que puedan usarse para seleccionar genotipos con mayor cantidad y/o calidad de aceite.

Las herramientas de la biología molecular pueden utilizarse para identificar genotipos que tengan el potencial de producir una mayor cantidad de aceite, y/o aceite de mejor calidad. En este caso se estudian algunos genes de la ruta biosintética de los ácidos grasos.

Con la ayuda de herramientas bioinformáticas y utilizando las bases de datos de genes de *Elaeis*, se diseñaron imprimadores para estudiar seis genes relacionados con la síntesis de ácidos grasos en ambas especies de palma aceitera (*E. oleifera* y *E. guineensis*). Debido a que este tipo de marcadores no se había utilizado

Los estimadores de la probabilidad de identidad (PI) y la probabilidad de exclusión (PE) se usaron para determinar la idoneidad del sistema de marcadores *microsatélite*. La PI expresa la probabilidad de encontrar dos individuos con el mismo genotipo para un determinado locus.

El estimado de la combinación de las probabilidades fue de $3,47 \times 10^{-13}$, lo que significa que la posibilidad de encontrar dos individuos con el mismo genotipo es un evento con probabilidad cercana a cero. El poder de exclusión combinado para los 17 loci fue $> 99,99\%$, lo que indica que el conjunto de loci evaluados fue apropiada para el análisis de parentesco entre clones, la verificación de contaminación entre clones y para evaluar la legitimidad de los clones y también de cruces controlados.

El proceso de validación resultó en la generación de dos huellas genéticas idénticas y con alta probabilidad de discriminar entre clones, por lo cual se puede concluir que el protocolo para la identificación molecular de genotipos de palma aceitera es confiable y reproducible, aún cuando sea ejecutado en laboratorios diferentes.

anteriormente, fue necesaria una fase de optimización para conocer las condiciones idóneas en el funcionamiento de los marcadores. Esta fase inicial ya fue completada y se extrajo el ARN para generar el ASD de frutos después de transcurridas 15 semanas de la polinización, a partir de dos palmas (*oleifera* de origen Manaos, Brasil y una palma Deli, sembradas en el 2003).

Sobre este ADN copia se aplicarán varios imprimadores que detectan regiones para diferentes genes de ácidos grasos, y posteriormente se secuenciarán estas regiones con el objetivo de encontrar diferencias en las secuencias de ambas especies y así generar marcadores intragénicos, que puedan ser usados como método para seleccionar genotipos que heredan mayor cantidad y/o calidad de aceite.



Representantes de la compañía Biopalma visitan ASD

En el mes de julio pasado ASD recibió la visita de varios distinguidos científicos de la compañía Biopalma de Brasil.

La compañía Biopalma está desarrollando un agresivo programa de siembra de palma aceitera en el estado de Pará en Brasil y ASD Costa Rica ha participado activamente en este proyecto suministrando sus materiales de siembra y entrenando al personal de campo, a través de sus cursos internacionales sobre el cultivo de la palma aceitera.

Como parte del proceso de reconocimiento de las fortalezas de ASD, que soportan la confianza de Biopalma para hacernos su principal proveedor de semillas, recibimos la visita de varios distinguidos científicos de esta compañía como una aproximación para el futuro desarrollo de proyectos conjuntos de producción de variedades y clones de palma aceitera en Brasil.



Grupo de científicos de la compañía Biopalma (Brasil) durante su visita a las instalaciones de ASD en la localidad de Coto. Walter Maccheroni, Hamilton Jordao, Danilo Valerio Barbasso y Veridiana de Oliveira Frota.