



Estandarización de una metodología de transformación genética de palma de aceite

María C. Rodríguez¹, F. Santiago Mejía-Alvarado¹, Rodrigo Ávila¹, Carmenza Montoya¹ y Hernán Mauricio Romero^{1,2}

¹Programa de Biología y Mejoramiento. Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma). Bogotá, Colombia

²Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. **Autor de correspondencia:** Hernán Mauricio Romero-hromero@cenipalma.org

Introducción

Una de las estrategias para superar las limitaciones del mejoramiento tradicional de cultivos es la inserción o edición de rasgos genéticos de interés mediante la ingeniería genética. En palma de aceite, la expresión transitoria de moléculas efectoras en tejidos y la introducción de genes de resistencia a herbicidas ha sido posible a través de biobalística. El objetivo de este trabajo fue generar una metodología de transformación estable de palma de aceite en Colombia.

Metodología

Se realizaron ensayos de transformación genética mediada por biobalística a partir de callos y embrioides de palma de aceite. El material fue generado en medios Murashige & Skoog con ANA, 2,4-D, sacarosa y agar. Los constructos pANIC5E::GFP y pANIC5E::RFP con el gen reportero *bar* fueron disparados en un Biolistic® PDS-1000/He según los parámetros establecidos en el POE de Cenipalma (Figura 1).

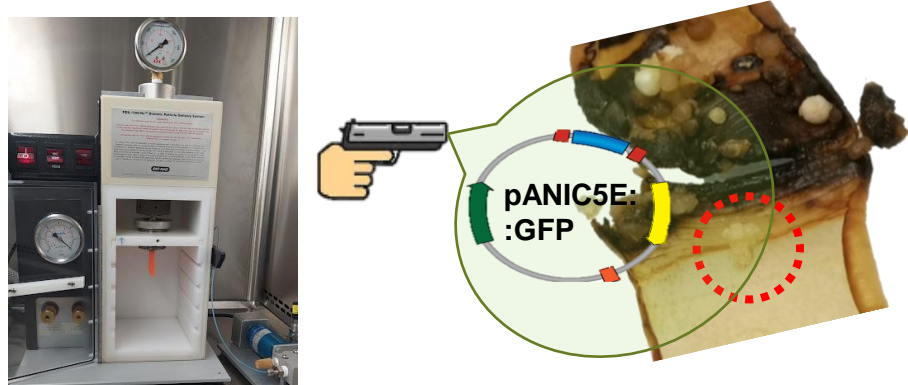


Figura 1. Esquema de inserción de constructos en callo/embriode mediante biobalística.

Para comprobar la transformación, se hizo tinción del tejido en buffer GUS con sustrato X-Gluc a las 48 horas posbombardeo. Los callos bombardeados fueron subcultivados cada 30 días en medio con las concentraciones del inductor (ANA) iniciales con adición de agente de selección BASTA (50mg/L) hasta regeneración.

3. Resultados y conclusiones

Se evidenció material de palma transformado exitosamente mediante la visualización de puntos azules en callos y embriones. No obstante, la eficiencia de la transformación genética puede depender del genotipo usado y las condiciones de bombardeo (Figura 2).

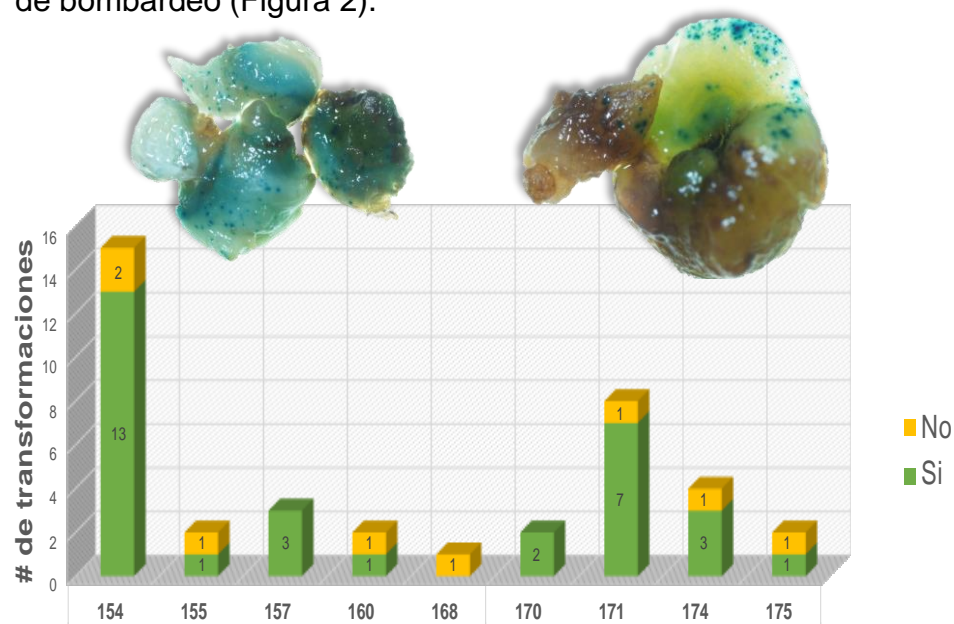


Figura 2. Tejido transformado con constructo pANIC5E::GFP, presencia de puntos azules indica inserción del plásmido (arriba). Eficiencias de transformación (abajo).

A la fecha, se continúa con el mantenimiento y seguimiento de cada uno de los callos y embrioides usados en el proceso de transformación genética de palma mediante biobalística. (Figura 3).



Figura 3. Material vegetal transformado en estado de plántula en selección con Basta.

La metodología de bombardeo puede ser una herramienta promisoría para la transformación de palma de aceite. A la fecha se cuenta con 69 colonias de material vegetal transformado que sigue en seguimiento.

Perspectivas

→ Se hace esencial continuar con ensayo de proliferación de calogénesis y comprobar por métodos moleculares la inserción del gen de interés.

→ Se deben explorar otros métodos de transformación mediados por *Agrobacterium* y PETG.

→ Explorar otros medios de cultivo que permitan mejorar la producción de callo.

Agradecimientos

Al Fondo de Fomento Palmero (FPP), administrado por FEDEPALMA por la financiación del proyecto de investigación.

A Laura Hernandez, auxiliar del Laboratorio de Biología Molecular.

Bibliografía

Parveez, G.K.A., Chowdhury, M.K.U., Saleh, N.M., 1998. Biological parameters affecting transient GUS gene expression in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) embryogenic calli via microprojectile bombardment. *Ind. Crops Prod.* 8, 17-27. Recuperado [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S09266690\(97\)00077-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S09266690(97)00077-0)

Parveez, G.K.A., & Bahariah, B., 2012. Biolistic-mediated production of transgenic oil palm. En *nwell, J.M., & Wetten, A.C. (Ed.), Transgenic Plants: Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols).* Humana Press.