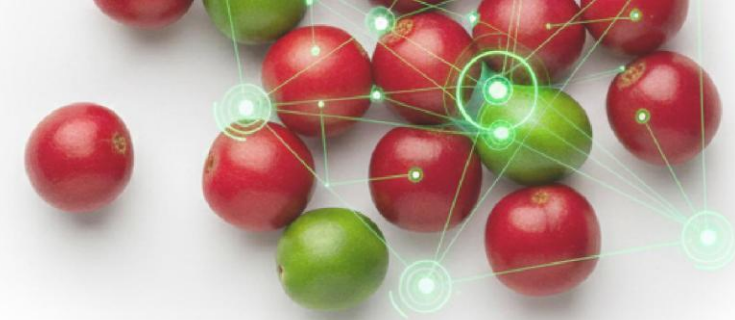




SABEMOS
LO QUE HACEMOS



Explorando genes para innovar la caficultura: el potencial de CRISPR

Paula A. Figueroa-Varela

Investigador Científico I
Mejoramiento Genético

Cenicafé[®]
Centro Nacional de Investigaciones de Café





Desafíos actuales de la caficultura

- Roya
- Broca
- Variabilidad climática
- Calidad sensorial
- Productividad

¿Cómo desarrollamos variedades capaces de responder a estos desafíos?



CONSUMO DE CAFÉ EN EL MUNDO

Millones de sacos 60-kg

104



2000

2008



2018



177



2024

FUENTE: OIC

200 *



2030

*PROYECCIÓN FNC

El consumo mundial de café crece a un ritmo del 2% anual (Datos ICO)

Mercados cafés de especialidad, diversos perfiles sensoriales y producción sostenible.

Bahamón, G. (2025, julio 16). *Más café, más consumidores... y más responsabilidad*. Diario La republica. <https://www.larepublica.co/analisis/german-bahamon-3587238/mas-cafe-mas-consumidores-y-mas-responsabilidad-4180957>

El mejoramiento genético ha sido exitoso en desarrollo de variedades

Cada nuevo desafío requiere comprender mejor la genética del café





Marcadores funcionales

Identificación temprana de plantas con alelos de interés mediante marcadores de ADN directamente asociados al gen funcional, acelerando el desarrollo de nuevas variedades.



Reduce tiempo: Selección en plántulas

Reduce costos: Menos ensayos fenotípicos prolongados

Aumenta eficiencia: Mayor precisión en la selección



La genómica del café a través del tiempo



2004–2010

Desarrollo de bibliotecas EST y primeros mapas genéticos



2003–2015

Transformación tejidos de café y plantas



2014

Primer genoma de *Coffea canephora* (Denoeud et al., 2014).

Primer genoma de referencia del género *Coffea*.



2017–2019

Primeros ensamblajes de *Coffea arabica* (Genome assembly Cara_1.0)

Se confirmó el origen híbrido de *C. arabica* y se identificaron los subgenomas derivados de *C. canephora* y *C. eugenoides*.



2021

Ensamblajes cromosómicos de alta calidad (Salojärvi et al., 2024), (Lyu et al., 2025)

Mayor continuidad y precisión del genoma, permitiendo localizar genes y regiones reguladoras con mayor exactitud.



2022–2024

Genomas pangenómicos y múltiples ensamblajes de variedades. (WCR, Salojärvi et al., 2024)

Identificación de variación estructural, genes ausentes/presentes y diversidad genética útil para el mejoramiento.



Actualidad

Genómica funcional y edición génica

Integración de transcriptómica, epigenómica, metabolómica y CRISPR para validar genes y acelerar el mejoramiento.



Coffea arabica

3 ensamblajes

Ensamblaje
cromosómico

Coffea arabica

Transcriptoma
17 tejidos

Coffea eugenioides

2 ensamblajes

Coffea liberica

1 ensamblaje

Coffea canephora

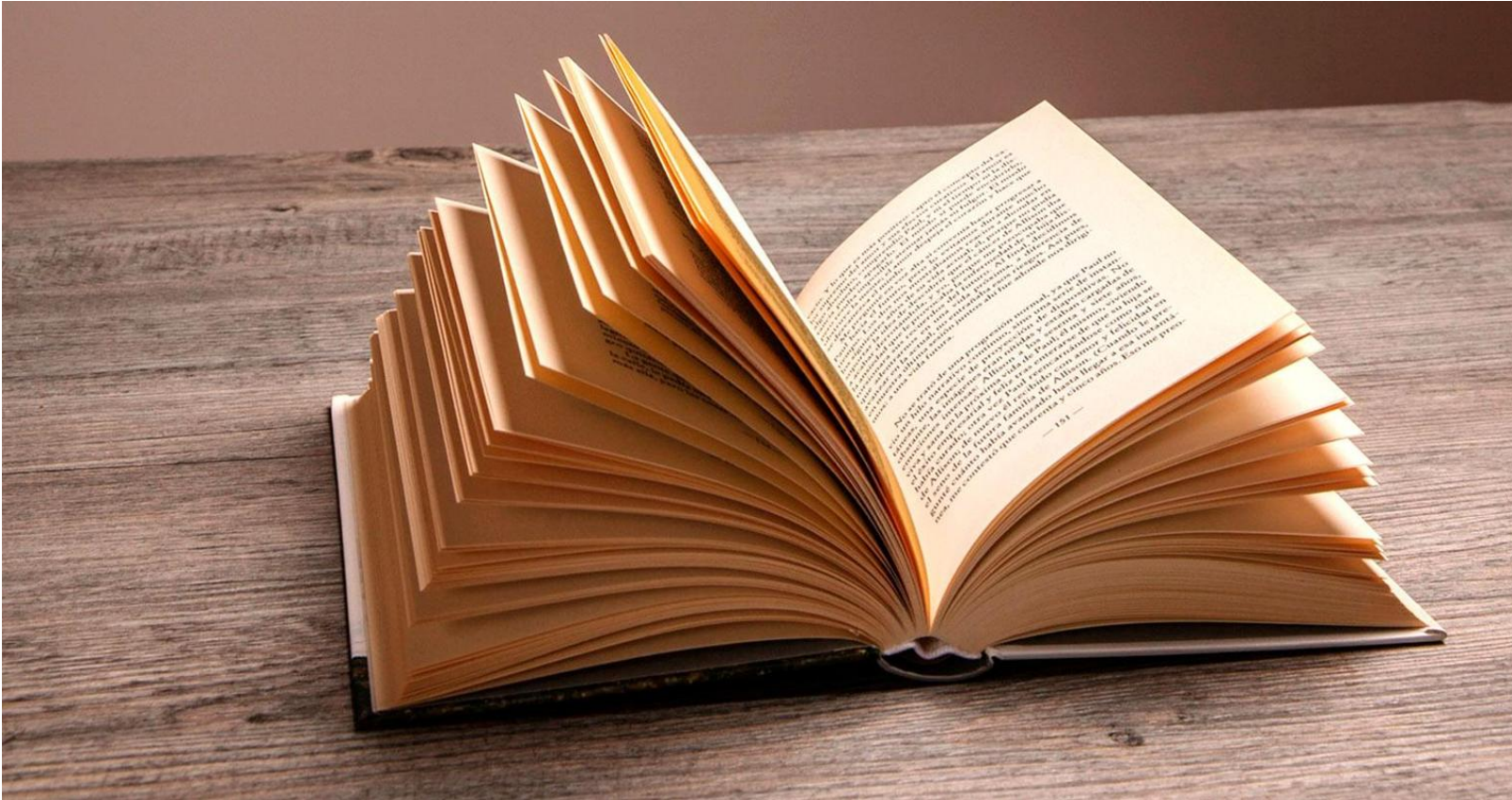
1 ensamblaje



¿Cuántos genes tiene *Coffea arabica*?

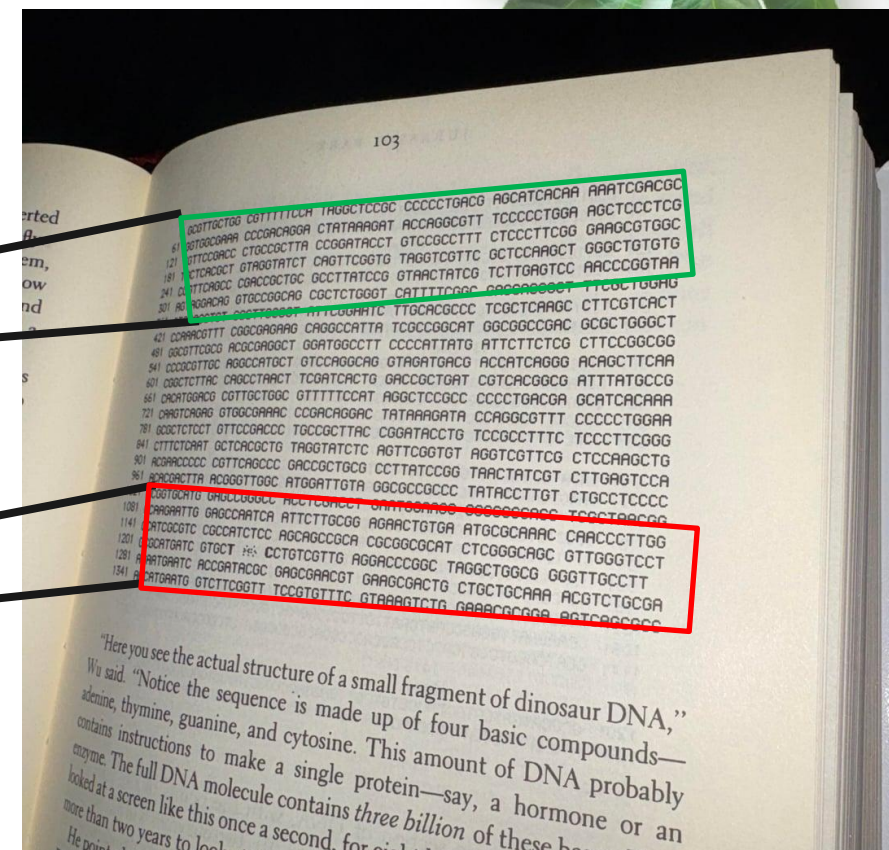


El tamaño del genoma



Tamaño 1.3 Gb

El genoma es el “Manual de instrucciones del café” y el manual tiene **1.300 millones de letras** (pares de bases)



Aprox. 70.000 genes o instrucciones específicas



¿Cuántos conocemos realmente?



Solo cerca del 38-40% tiene una categoría funcional clara asignada



Tener el genoma NO significa conocer la función de los genes

- ✓ Genoma
 - ✓ Transcriptomas
 - ✓ SNPs
 - ✓ QTL
 - ✓ Expresión génica
- Pero...

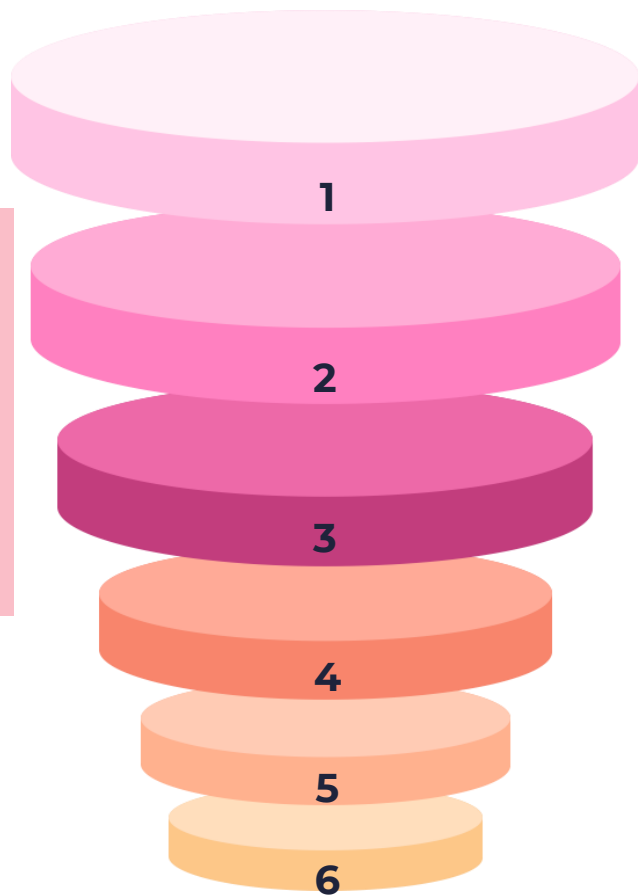


¿Qué hace cada gen?



¿Cómo encontramos un gen de interés?

Será este gen el responsable de la característica deseada?



Genoma
70.000 genes



Transcriptómica



GWAS / QTL



Genes diferencialmente expresados



10 genes candidatos



1 gen candidato

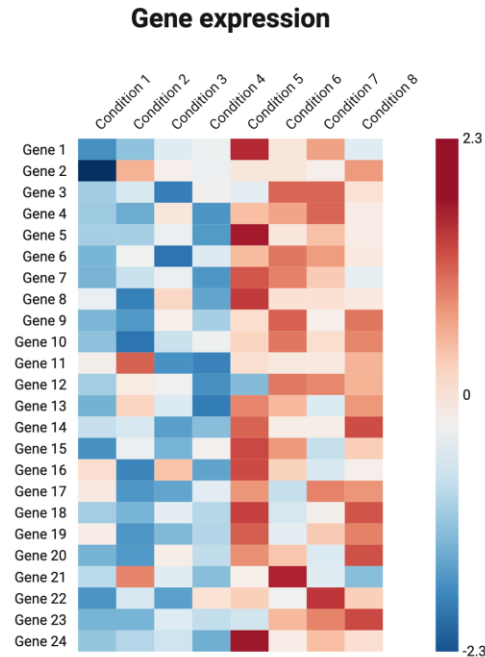




Correlación $\neq$ Función

El gen aumenta su expresión durante una infección por roya.

¿Eso significa que es responsable de la resistencia?

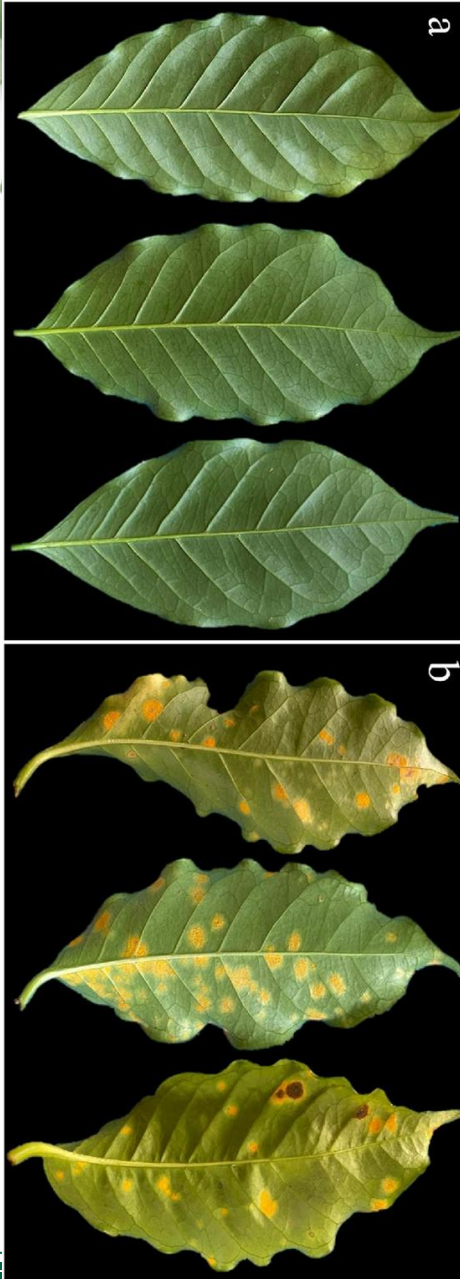
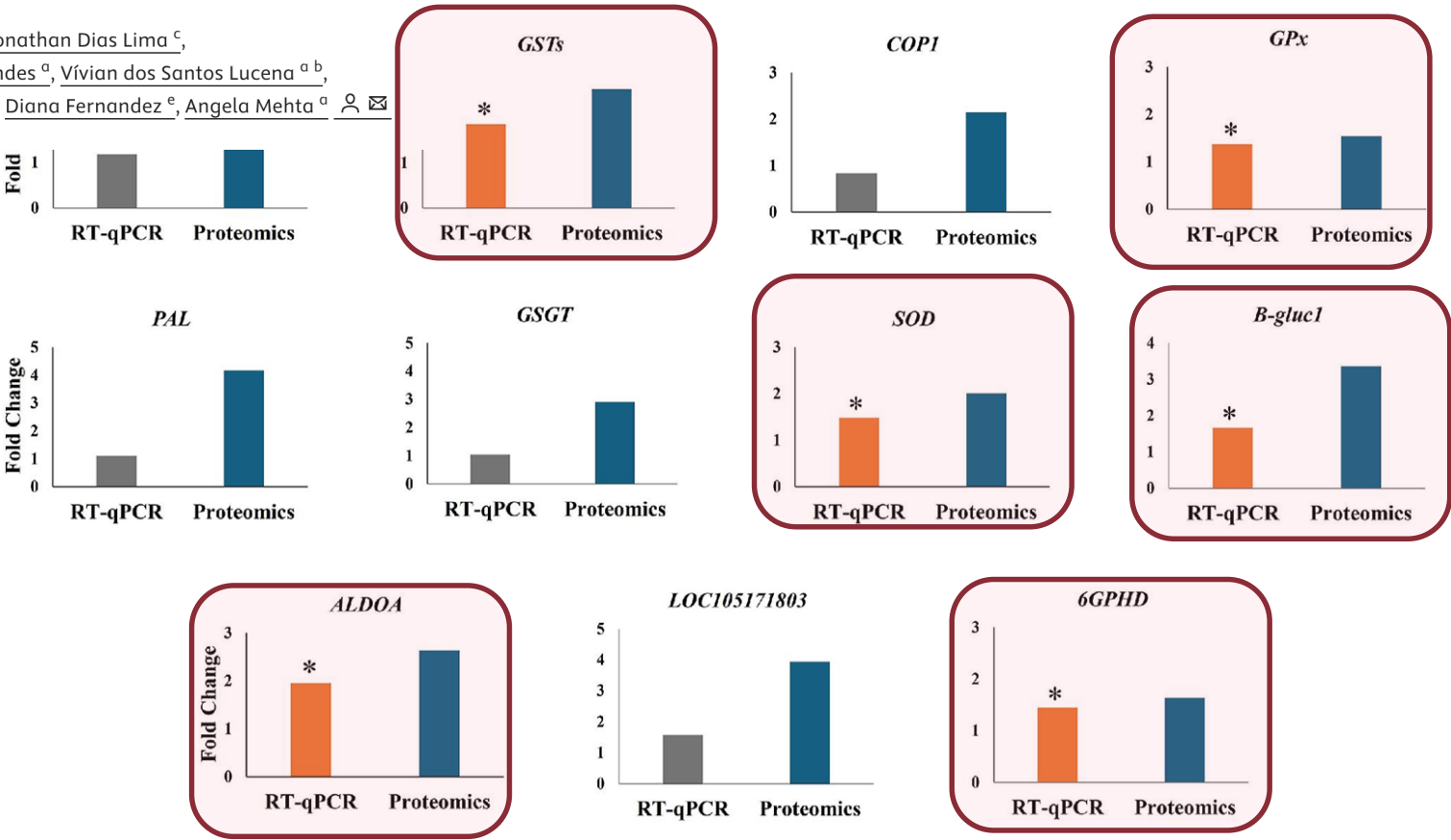


No necesariamente



Coffea arabica susceptibility genes identified by proteomic analysis during coffee-Hemileia vastatrix interaction

Ivonaldo Reis Santos ^{a b}, Milena da Mota Batista ^a, Jonathan Dias Lima ^c,
Daiane Gonzaga Ribeiro ^d, Pollyana da Nóbrega Mendes ^a, Vívian dos Santos Lucena ^{a b},
Érika Valeria Saliba Albuquerque ^a, Wagner Fontes ^d, Diana Fernandez ^e, Angela Mehta ^a

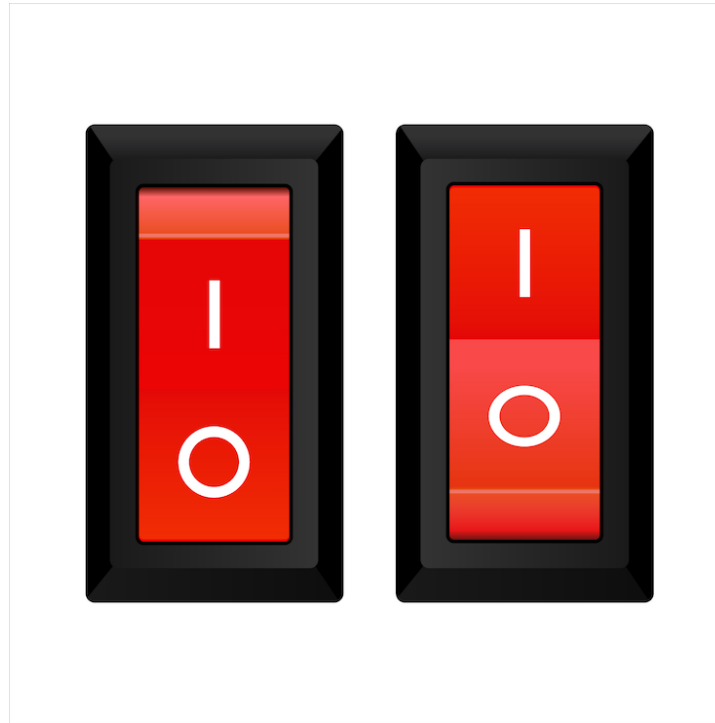




¿Cómo demostramos la función de un gen?

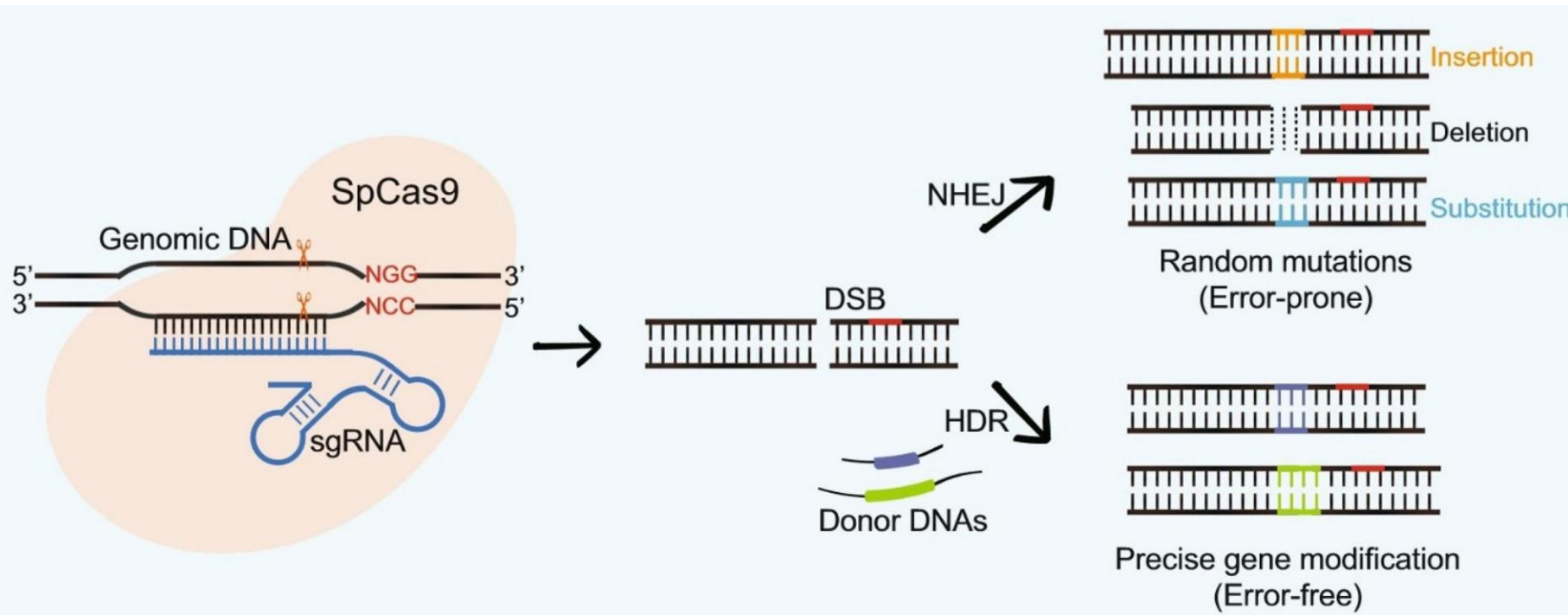


Necesitamos modificar únicamente ese gen y observar qué ocurre.





CRISPR/Cas9



Podemos editar un gen específico de manera dirigida y observar si el fenotipo cambia.

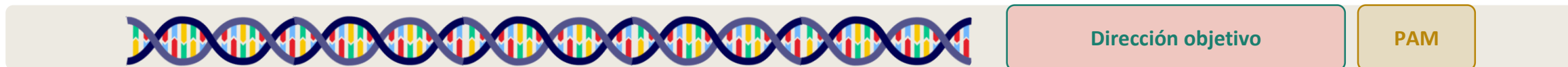
Wang, T., Zhang, H., & Zhu, H. (2019). CRISPR technology is revolutionizing the improvement of tomato and other fruit crops. *Horticulture Research*, 6(1), 77. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0159-x>



ARN guía + Cas9 — buscando la dirección exacta



Coincidencia exacta + PAM
confirmado



Corte de doble cadena



ARN guía

La dirección exacta que escribes
en el GPS: ~20 letras que definen
a dónde ir.



Cas9

El vehículo que ejecuta la ruta sin
la dirección, no sabe a dónde
dirigirse.



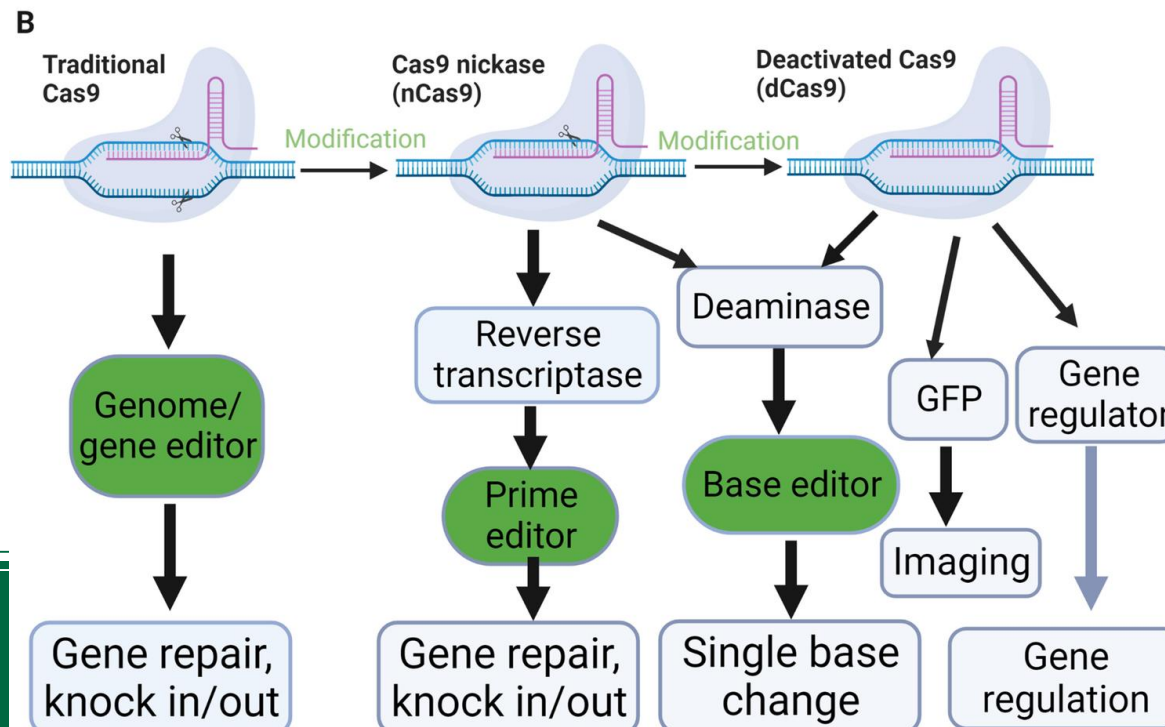
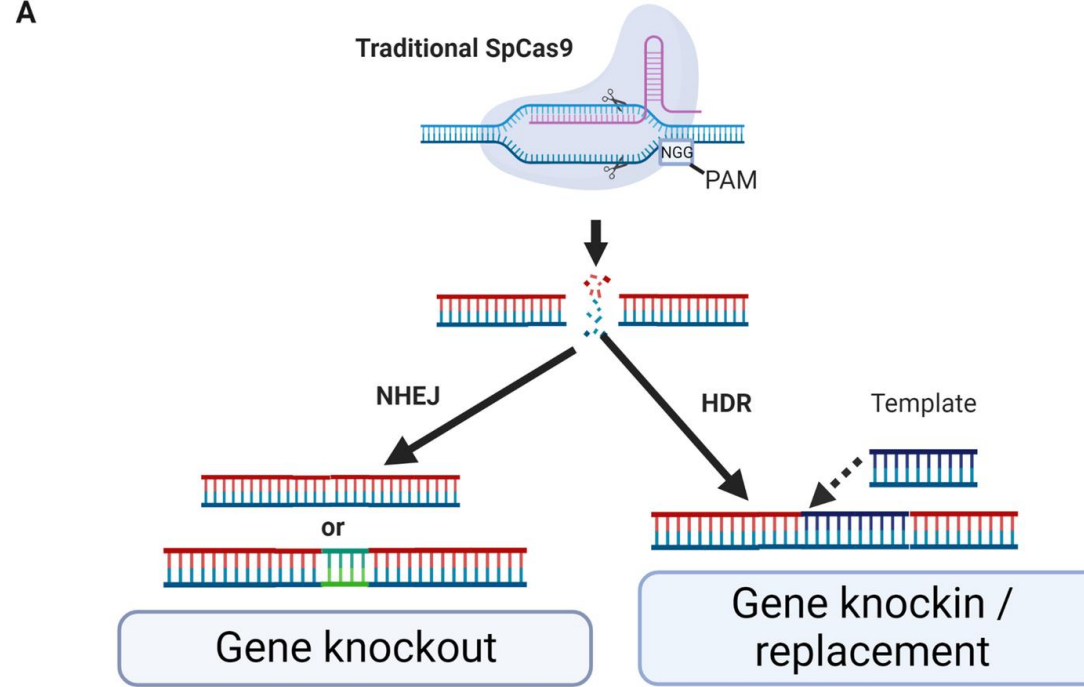
PAM

La señal que confirma la llegada.
Sin ella, Cas9 no corta aunque la
dirección coincida.



Corte

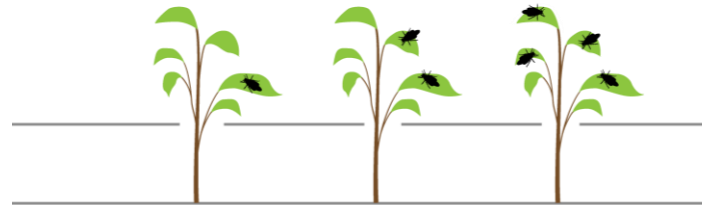
La acción final: Cas9 corta el ADN
justo en el destino ya confirmado.



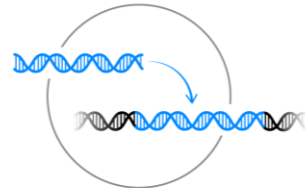
Lyu, H., Song, J., Yin, Y., Wang, M., Matsumoto, T., Annabhemoju, V., Meinhardt, L. W., Park, S., Lim, S., Zhang, D., & Yu, Q. (2025). A chromosome-level genome assembly of *Coffea arabica* L. var. 'Kona Typica.' *Scientific Data*, 12(1), 1314. <https://doi.org/10.1038/s41597-025-05658-6>



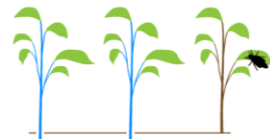
GMO vs CRISPR



3 Transgenic technologies



Insertion of large, foreign sequence at a random location in the genome

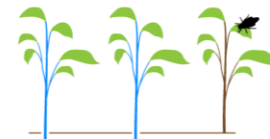


...CAATTGTAA...

4 CRISPR genome editing



Precise changes to DNA at specific locations in the genome



...ATTGCTATC...



Innovative Genomics Institute | C

Ronald, PC y Kliegman M. (2022) CRISPR en la agricultura. En ML Hochstrasser et al. (Eds.) CRISPRpedia. Berkeley: Innovative genomic Institute, Universidad de California, Berkeley.



¿Qué ha logrado CRISPR en otras especies?



CrossMark

Reassessment of the Four Yield-related Genes *Gn1a*, *DEP1*, *GS3*, and *IPA1* in Rice Using a CRISPR/Cas9 System

Meiru Li^{1,2†}, Xiaoxia Li^{3†}, Zejiao Zhou³, Pingzhi Wu^{1,2}, Maichun Fang^{1,2}, Xiaoping Pan^{1,2}, Qiupeng Lin³, Wanbin Luo³, Guojiang Wu^{1,2*} and Hongqing Li^{3*}

¹ Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, China, ² Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Botany, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, China, ³ Guangdong Provincial Key Lab of Biotechnology for Plant Development, South China Normal University, Guangzhou, China



- Numero de granos
- Arquitectura de panícula
- Tamaño de grano
- Arquitectura de la planta

Gn1a

DEP1

GS3

IPA1



HD5 *gn1a*^{G556D}



HD5 *gn1a*^{G556D}



HD5 *gn1a*^{G556D}

Gn1a: citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX2) → Degradar citoquininas

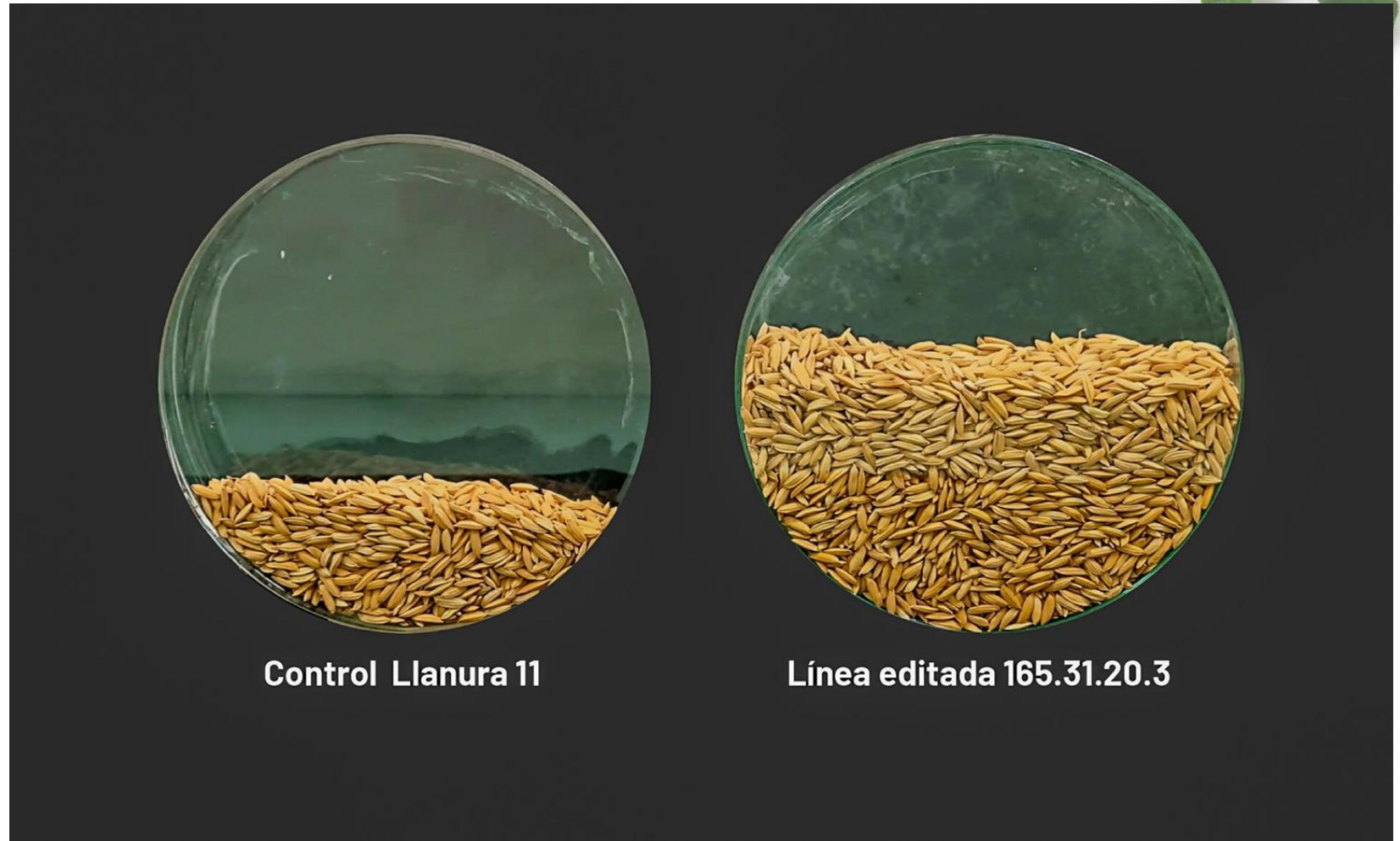
Citoquininas: Promueven división celular, formación ramas y flores

Más CKX2 → menos citoquininas → menos desarrollo del meristemo → menos flores → menos granos.



Arroz

Plataforma de edición genética





Mora

Semillas reducidas y blandas

Arbustos sin espinas y estructura compacta (mayor densidad de siembra)





Alimentos editados genéticamente



Waxy corn

Producción, alto contenido de almidón



Lechuga

No se oxida



GreenVenus™

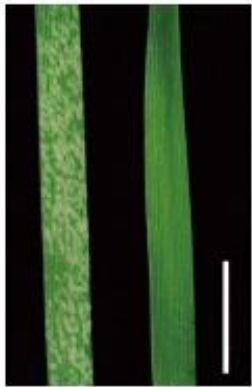
Competitor





Trigo

Resistencia
enfermedad
powdery mildew
(mildiú polvoroso)



KN199
T0-39 (KN199)



Mostaza verde

Conscious Greens
Más suave y menos
amarga





Banano

Retarda el proceso de oxidación y prolongar vida útil



Aceite soya

Calyno

Alto contenido de ácido oleico





Manzana

Arctic Apple

No oxidada

Conventional
Apple Variety



Arctic®
Apple Variety

Cultivo	Rasgo mejorado mediante CRISPR	Genes objetivo editados
 Arabidopsis thaliana	Resistencia a sequía Resistencia a salinidad Tolerancia a metales pesados	AtOST2 AtWRKY, AtWRKY4 Atoxp1
 Remolacha (<i>Beta vulgaris</i>)	Resistencia a virus del rizado severo	IR
 Brassica oleracea	Resistencia a virus del mosaico	CP
 Brassica napus	Resistencia a herbicidas	ALS
 Ají (<i>Capsicum frutescens</i>)	Resistencia a virus del enrollamiento de hoja	C1/C4, V1/V2
 Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)	Resistencia a virus del mosaico	ORF1a, ORF3a
 Soya (<i>Glycine max</i>)	Resistencia a salinidad	GmDrb2a, GmDrb2b
 Algodón (<i>Gossypium spp.</i>)	Resistencia a virus del enrollamiento y estrés térmico	Rep, GhPGF, GhCLA1
 Yuca (<i>Manihot esculenta</i>)	Reducción de cianuro	CYP79D1, CYP79D2
 Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	Resistencia a herbicidas	ALS
 Banano (<i>Musa sp.</i>)	Incremento de biomasa y calidad	Msfta1
 Banano (<i>Musa sp.</i>)	Resistencia a virus del estriado	ORF1-3



Cultivo

Arroz (*Oryza sativa*)

Rasgo mejorado mediante CRISPR

Genes objetivo editados



Resistencia a salinidad
Tolerancia a calor
Resistencia a herbicidas
Tolerancia a metales pesados
Resistencia a añublo bacteriano

OsDST, *OsSPL10*
OsPDS
OsTB1
OsARM1, *OsNramp5*,
OsLCT1, *OsHAK1*, *OsPRX2*
OsSWEET13

Resistencia a insectos (chicharrita, barrenador)
Resistencia a virus del enanismo amarillo

OsCYP71A1
LIR

Fríjol (*Phaseolus vulgaris*)

Tomate (*Solanum lycopersicum*)

Resistencia a oídio

SIMLO

Resistencia a tizón tardío
Resistencia a moho gris
Tolerancia a frío

miR482b, *miR482c*
SIPL
SICBF1

Resistencia a mancha bacteriana

SIJAZ2

Papa (*Solanum tuberosum*)

Resistencia a virus TYLCV
Resistencia a virus de la papa

IR, CP
P3, CI, Nib, CP

Trigo (*Triticum aestivum*)

Resistencia a virus del enanismo

MP/CP, Rep/RepA, LIR

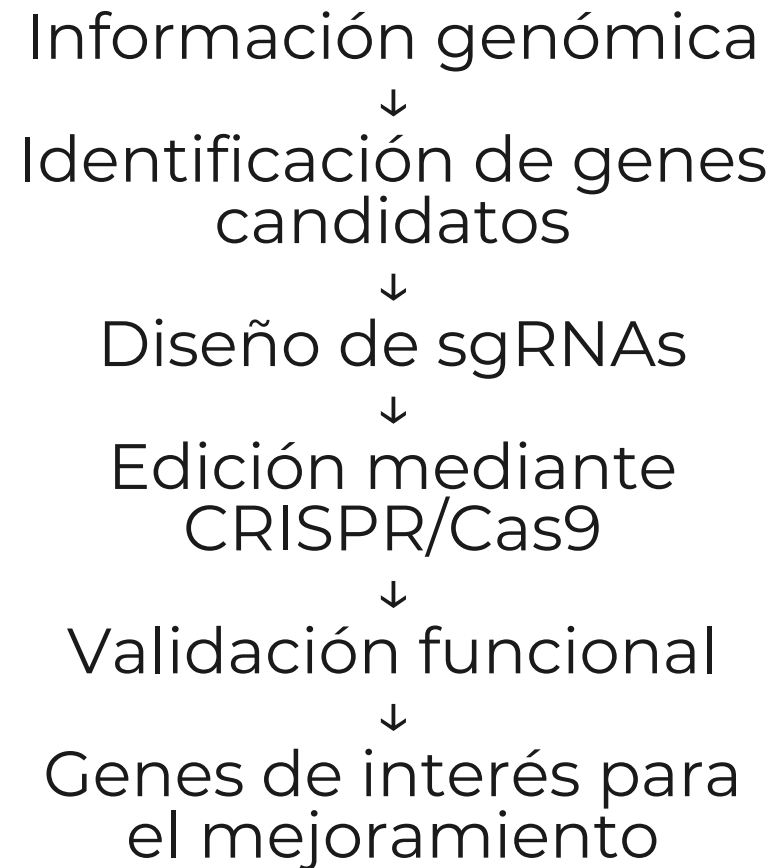




¿Qué podemos hacer en *Coffea arabica*?



¿Cómo podemos aprovechar esta tecnología para responder preguntas relevantes en el mejoramiento genético del café?





Silenciamiento de los genes Limoneno y Pineno en la planta de café asociados a los volátiles que atraen a la broca de café

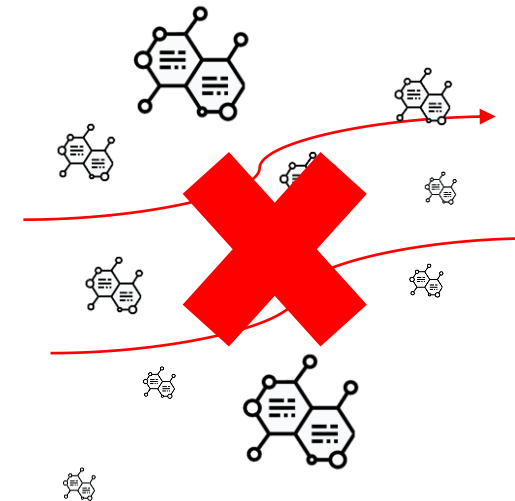


La biosíntesis de terpenos ha sido identificada como una de las principales rutas involucradas en la atracción de insectos.

- *Limonene synthase*
- α -*Pinene synthase*



C. arabica



Figuerroa-Varela, et al 2025



Selección de plantas



Identificación mutaciones por CRISPR/Cas9

A

HE985292.1	CTCAGGATTT	TAGTGTACCATGCACTAGAGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_33	CTCAGGATTT	TAGTGTACCATGCACTGGGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_35	CTCAGGATTT	TAGTGTACCATGCACTGGGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_43	CTCAGGATTT	AGTGCACCATGCACTAGAGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_44	CTCAGGATTT	AGTGCACCATGCACTGGGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_50	CTCAGGATTT	AGTGCACCATGCACTAGAGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_66	CTCAGGATTT	AGCGTACCATGCACTGGAGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC
Plant_88	CTCAGGATTT	AGTGCACCATGCGCTAGAGCTTCCCTG	AGGTGGAGAGCGCC

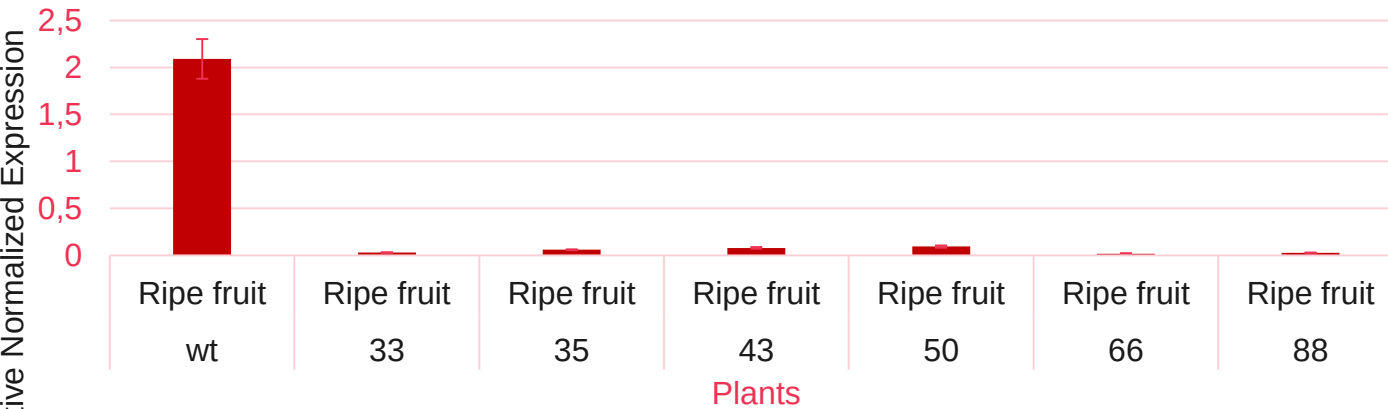
B

HE985292.1	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVYHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_33	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVYHALGLPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_35	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVYHALGLPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_43	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVHHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_44	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVHHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_50	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVHHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_66	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLAYHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE
Plant_88	REFTTKHLNNYLKENTDQNLRLVHHALELPLRWRAPRIEARWYIDAYE





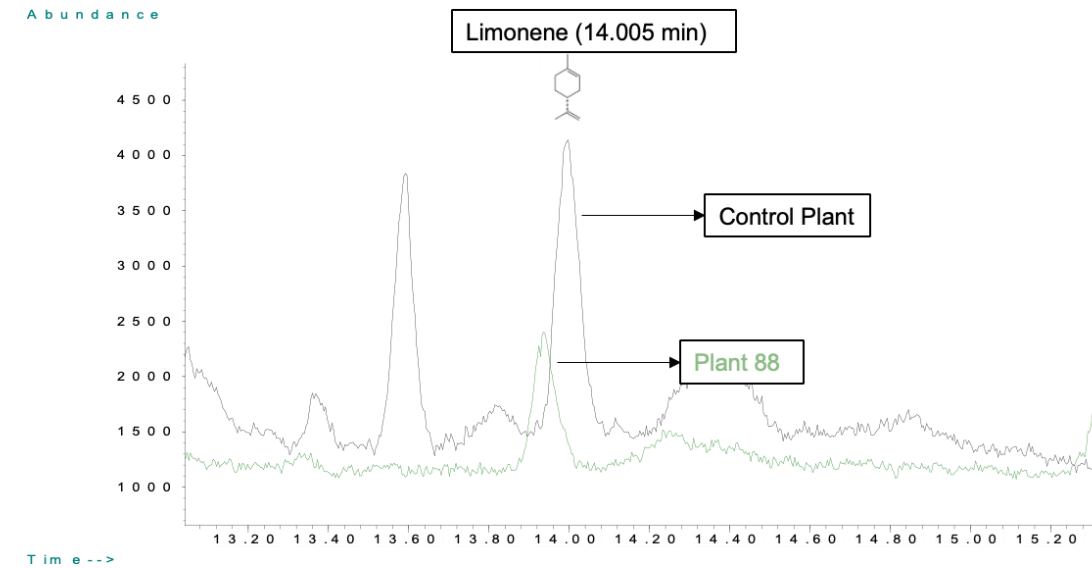
Level of expression of Limonene synthase in control plant (WT) and edited Plants (Crispr/Cas9-Alpha1) of ripe fruits



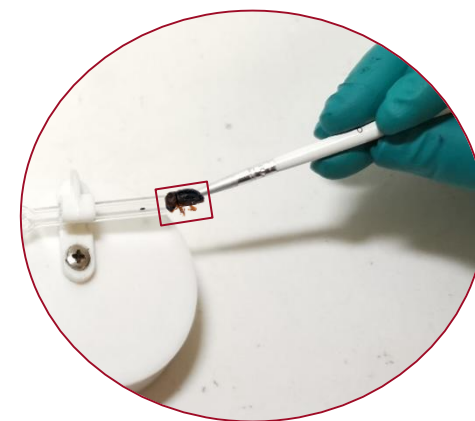
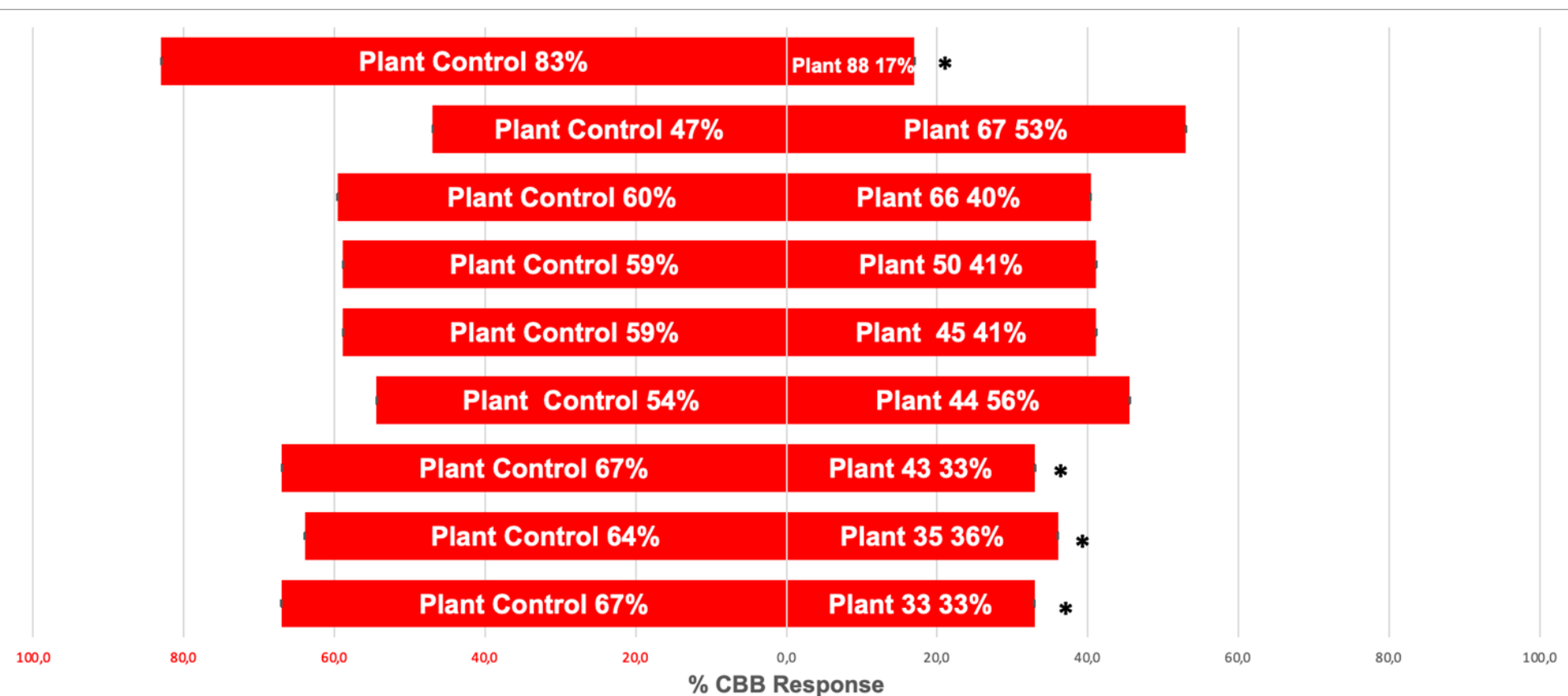
Disminución Expresión genética



Disminución emisión volátiles en las plantas



Evaluación de la broca a frutos maduros de planta control y editadas genéticamente



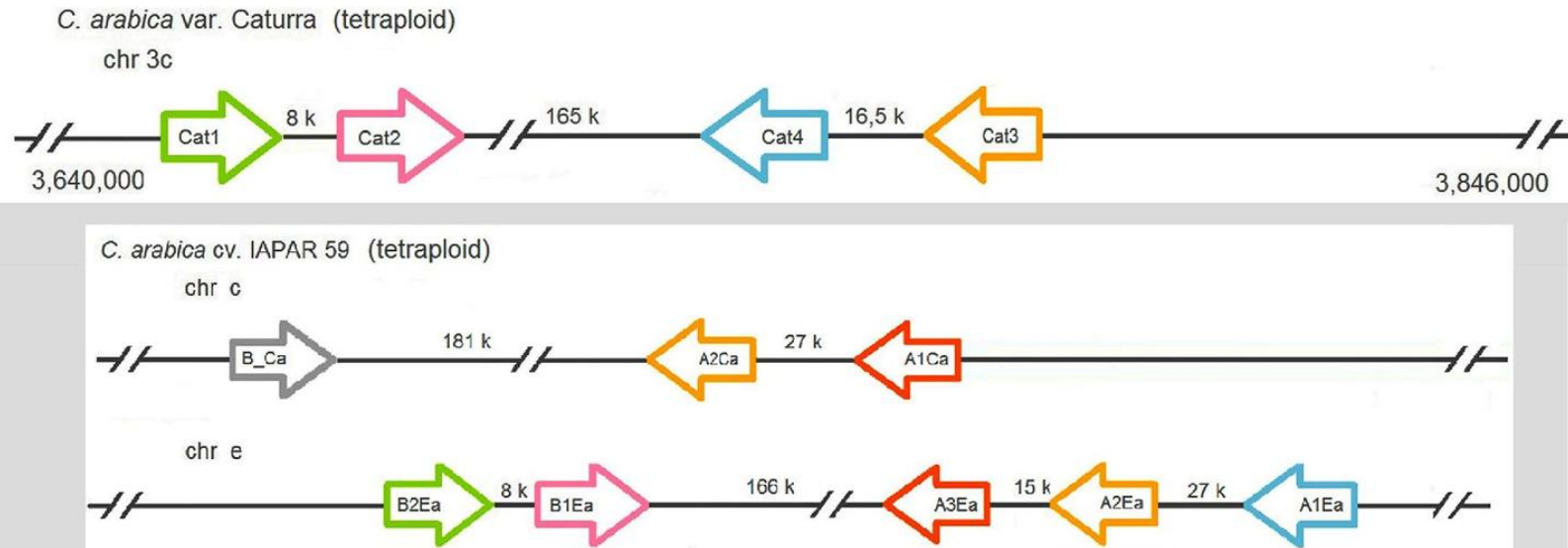
Control:Control=50:50



Se validó usando edición genética la función de los volátiles que atraen a la broca del café



Resistencia a Roya

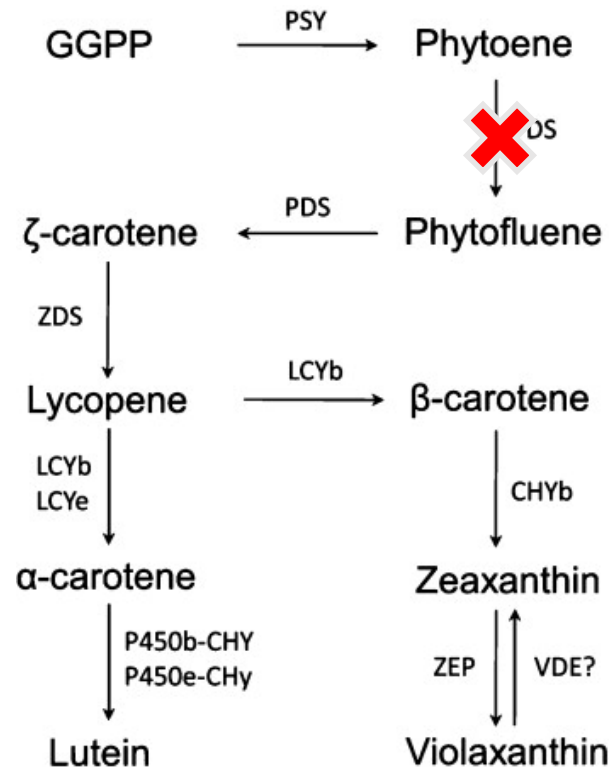


El locus SH3 de *Coffea arabica*, asociado a la resistencia contra la roya del café, está compuesto por una familia de genes de resistencia tipo CC-NBS-LRR (CNL). Dependiendo del cultivar y el análisis genómico utilizado, este locus contiene un grupo (*cluster*) de 5 a 8 variantes génicas

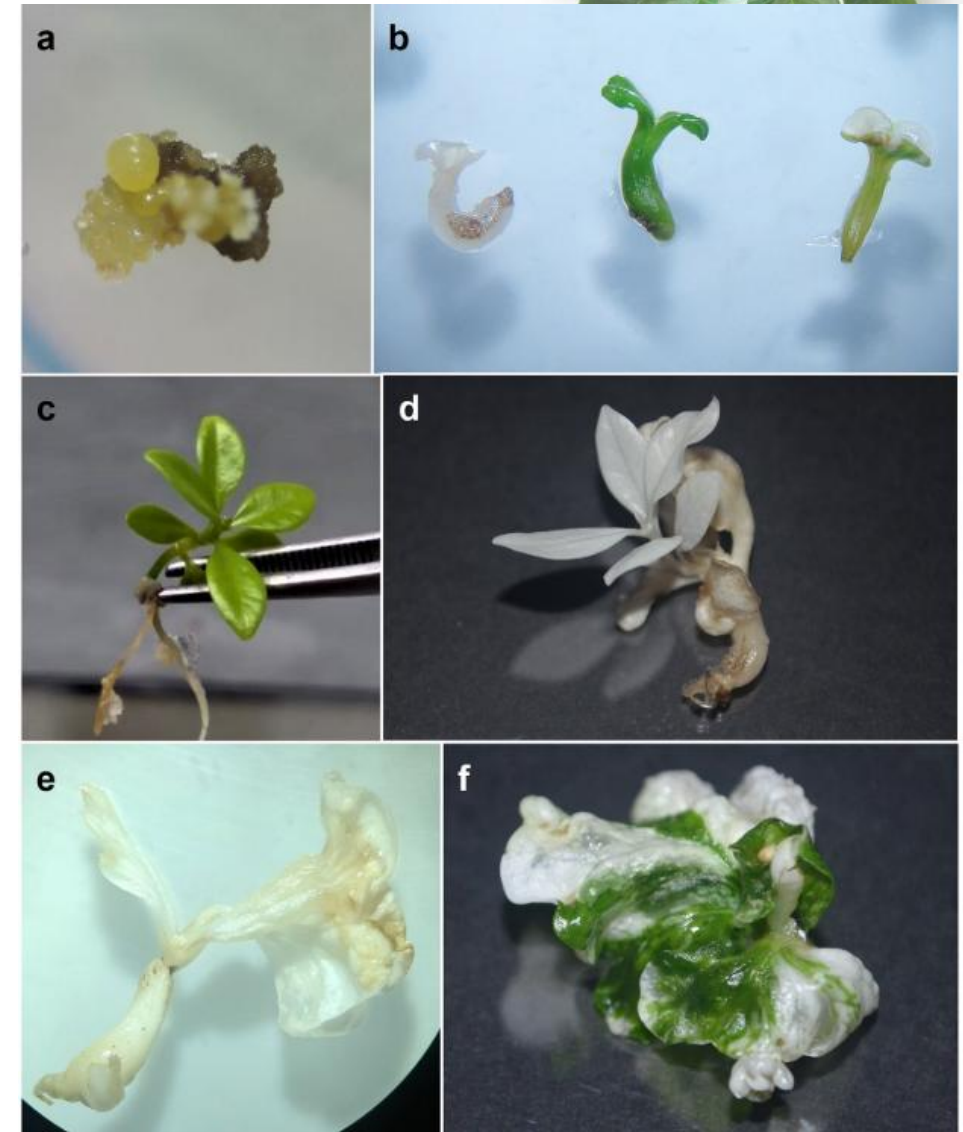
Angelo, P. C. da S., Sera, G. H., Shigueoka, L. H., & Caixeta, E. T. (2023). Rust resistance S3 loci in *Coffea* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 127(102111), 102111. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102111>



PDS gene



Casarin, T., Freitas, N. C., Pinto, R. T., Breitler, J., Rodrigues, L. a. Z., Marraccini, P., Etienne, H., Diniz, L. E. C., Andrade, A. C., & Paiva, L. V. (2022). Multiplex CRISPR/Cas9-mediated knockout of the phytoene desaturase gene in *Coffea canephora*. *Scientific Reports*, 12(1), 17270. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21566-w>





Cafeína

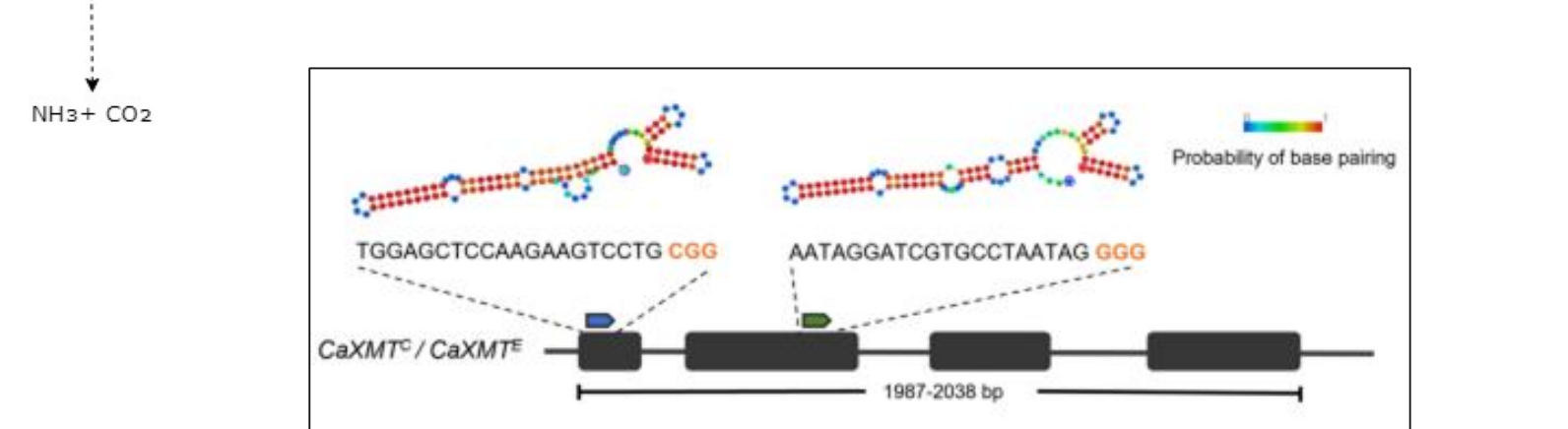
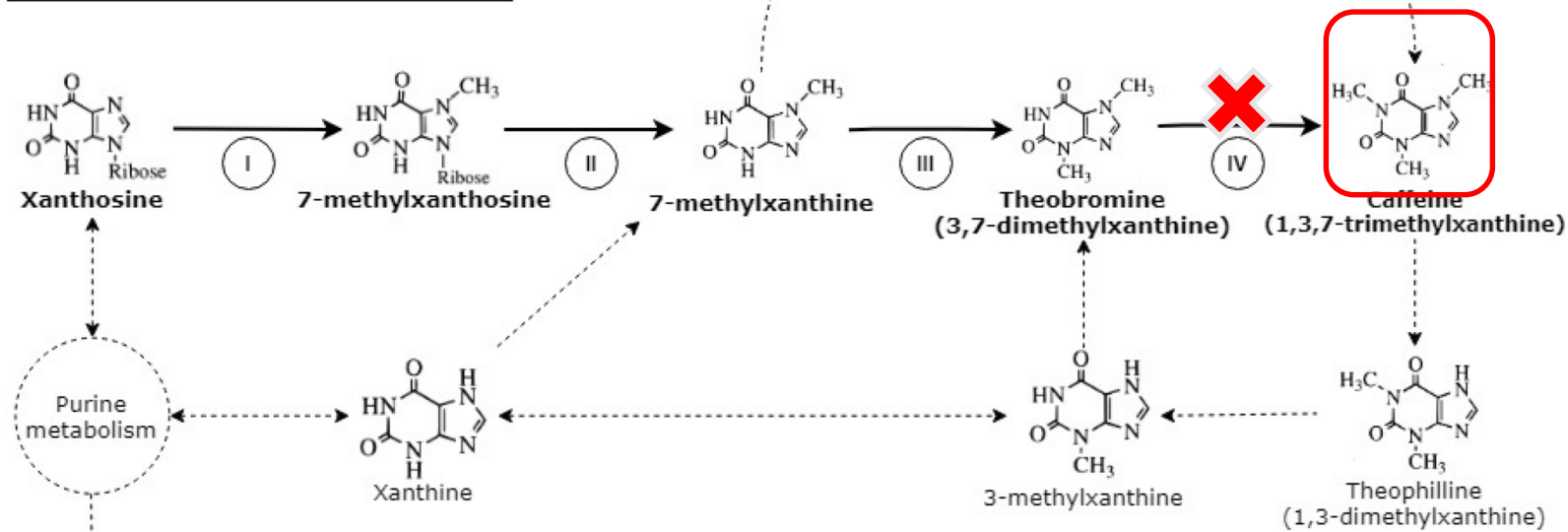
El proceso de descafeinización incrementa los costos de producción entre US\$1,20 y US\$1,80 por libra.

Se pierde entre el 10 % y el 12 % de la masa del grano durante el procesamiento.



Pietsch, A. (2017). Decaffeination—Process and quality. In *Elsevier eBooks* (pp. 225–243). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803520-7.00010-4>

I: XMT
II: Xanthosine nucleosidase or XMT
III: MXMT or DXMT
IV: DXMT
V: DXMT or absent
VI: MXMT or DXMT



Lucas Laflaquiere, Hervé Etienne, Thierry Joet et al. Development of efficient methods for protoplast-to-plant regeneration in coffee and successful CRISPR-Cas9 editing in protoplasts, 23 April 2026, PREPRINT (Version 1) available at Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-9347124/v1]

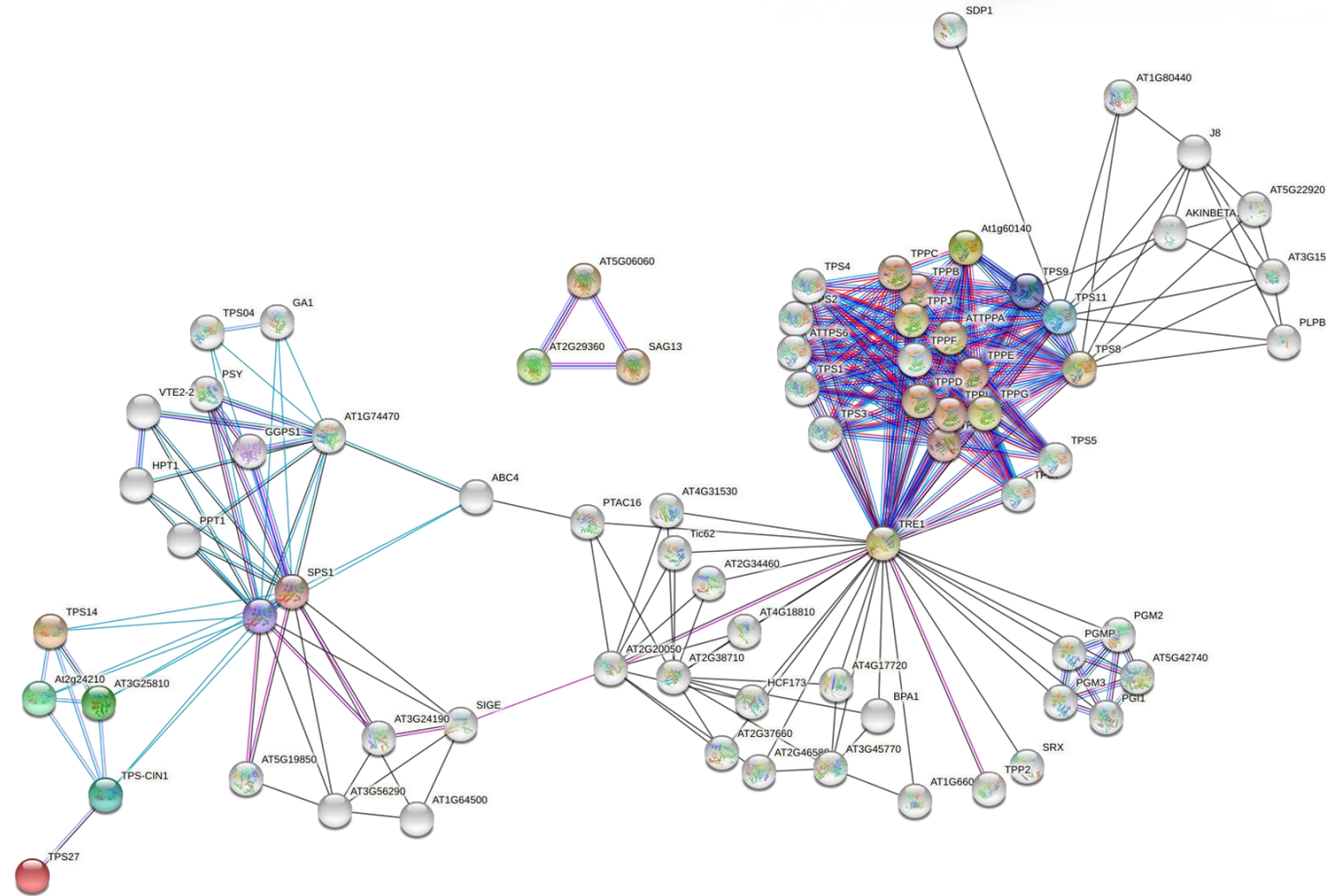




Retos

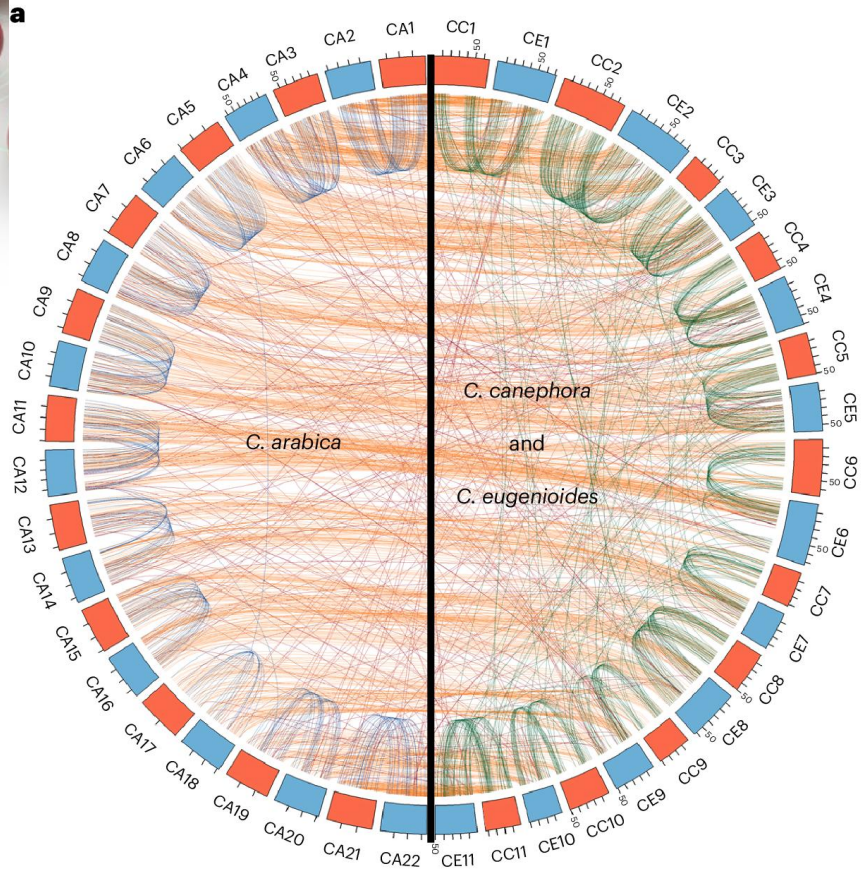


Identificar nuevos genes





- ? ¿Qué genes participan en la resistencia a roya?
- ? ¿Qué genes regulan la calidad sensorial?
- ? ¿Cómo responde el café al estrés hídrico?
- ? ¿Qué genes participan en la interacción con la broca?
- ? ¿Qué genes controlan el desarrollo del fruto?
- ? ¿Cómo podemos acelerar la validación funcional?



Salojärvi, J., Rambani, A., Yu, Z. et al. The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars. *Nat Genet* 56, 721–731 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41588-024-01695-w>

Optimizar estrategia edición (4 copias)



Cultivo tejidos



Comprender los genes hoy es diseñar las variedades del mañana.



Cenicafé
Centro Nacional de Investigaciones de Café



cenicafe.org



Cenicafé FNC



@cenicafe



cenicafé



CenicaféFNC



@cenicafefnc