



Ingeniería de microbiomas: oportunidades en entomología y agricultura

Lucio Navarro Escalante, PhD.
Disciplina de Entomología

SABEMOS
LO QUE HACEMOS

Cenicafé®
Centro Nacional de Investigaciones de Café


Federación Nacional de
Cafeteros de Colombia



Contenido



1. Introducción y conceptos sobre microbiomas:
 - Perspectiva histórica
 - Microbiomas y sus roles biológicos
 - Biología sintética
2. Herramientas moleculares:
 - Ingeniería genética
 - CRISPR
3. Oportunidades en Entomología
 - Paratransgénesis
 - smRNAi (RNA de interferencia mediada por simbiosis)
4. Oportunidades en plantas (cultivos)
 - Ejemplos en manipulación de endófitos
5. Avances en estudios y aprovechamiento de microbiomas en temas de café



Introducción y Conceptos

¿QUÉ ES EL MICROBIOMA DE UNA PLANTA?

El microbioma de una planta es el conjunto de **microorganismos** que viven sobre, dentro o alrededor de ella, junto con sus **genes**, **funciones** e **interacciones** con la planta y el ambiente.

MICROBIOMA =



¿DÓNDE VIVE?

El microbioma ocupa diferentes compartimentos vegetales.

RIZOSFERA

Microorganismos que viven en el suelo influenciado por las raíces.



ENDOSFERA

Microorganismos que viven dentro de los tejidos vegetales.



FILOSFERA

Microorganismos que habitan en la superficie de las hojas y tallos.



SEMILLAS

Microorganismos asociados o transmitidos a través de las semillas.



¿QUÉ FACTORES LO AFECTAN?



Clima



Tipo de suelo



Manejo agrícola (fertilización, plaguicidas, riego)



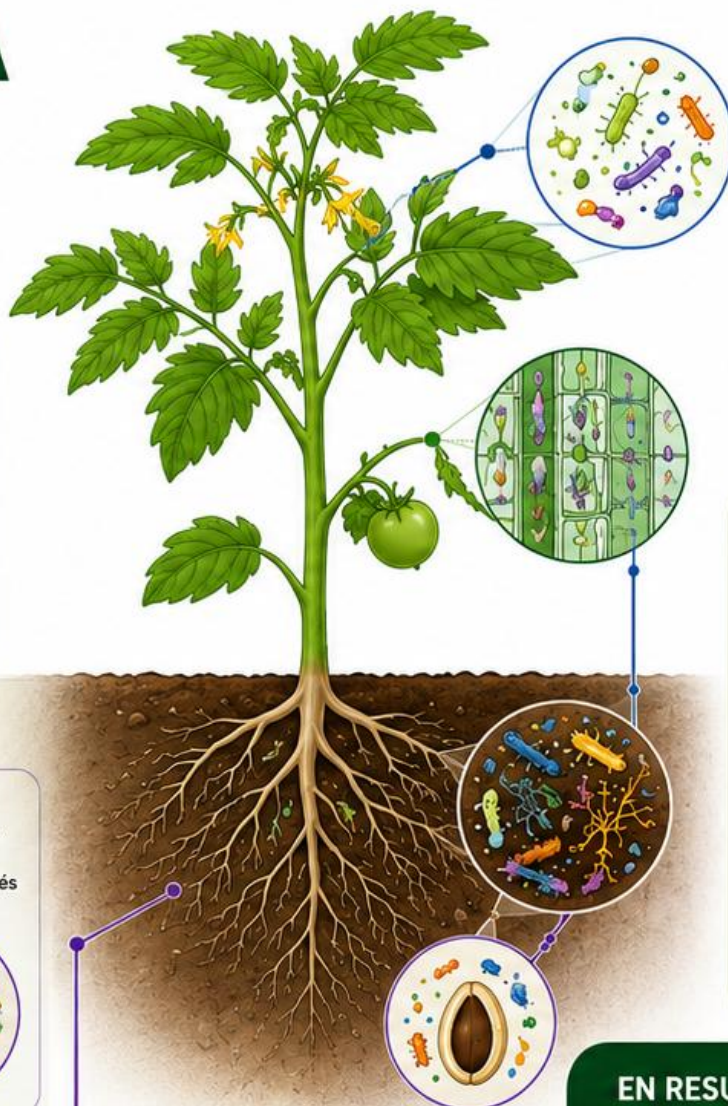
Genética de la planta



Etapas de desarrollo y estación



Ambiente circundante



¿QUIÉNES LO COMPONEN?



Bacterias

Los miembros más abundantes y diversos.



Hongos

Incluyen levaduras, mohos y hongos benéficos.



Arqueas

Presentes en muchos ambientes y funciones.



Virus

Incluye virus de bacterias (bacteriófagos) y de plantas.

¿QUÉ FUNCIONES Y BENEFICIOS APORTA?



Nutrición

Mobilización y adquisición de nutrientes (N, P, Fe, etc.).



Crecimiento

Producción de hormonas y compuestos que estimulan el desarrollo.



Protección

Supresión de patógenos y activación de defensas.



Producción de metabolitos

Síntesis de compuestos bioactivos y volátiles.



Tolerancia a estrés

Mejora resistencia a sequía, salinidad y temperaturas extremas.



Salud del suelo y del ecosistema

Participación en ciclos biogeoquímicos y mejora de la estructura del suelo.

EN RESUMEN



El microbioma es una capa funcional esencial que, en conjunto con el genoma de la planta y el ambiente, determina su salud, productividad y capacidad de adaptarse a los cambios.

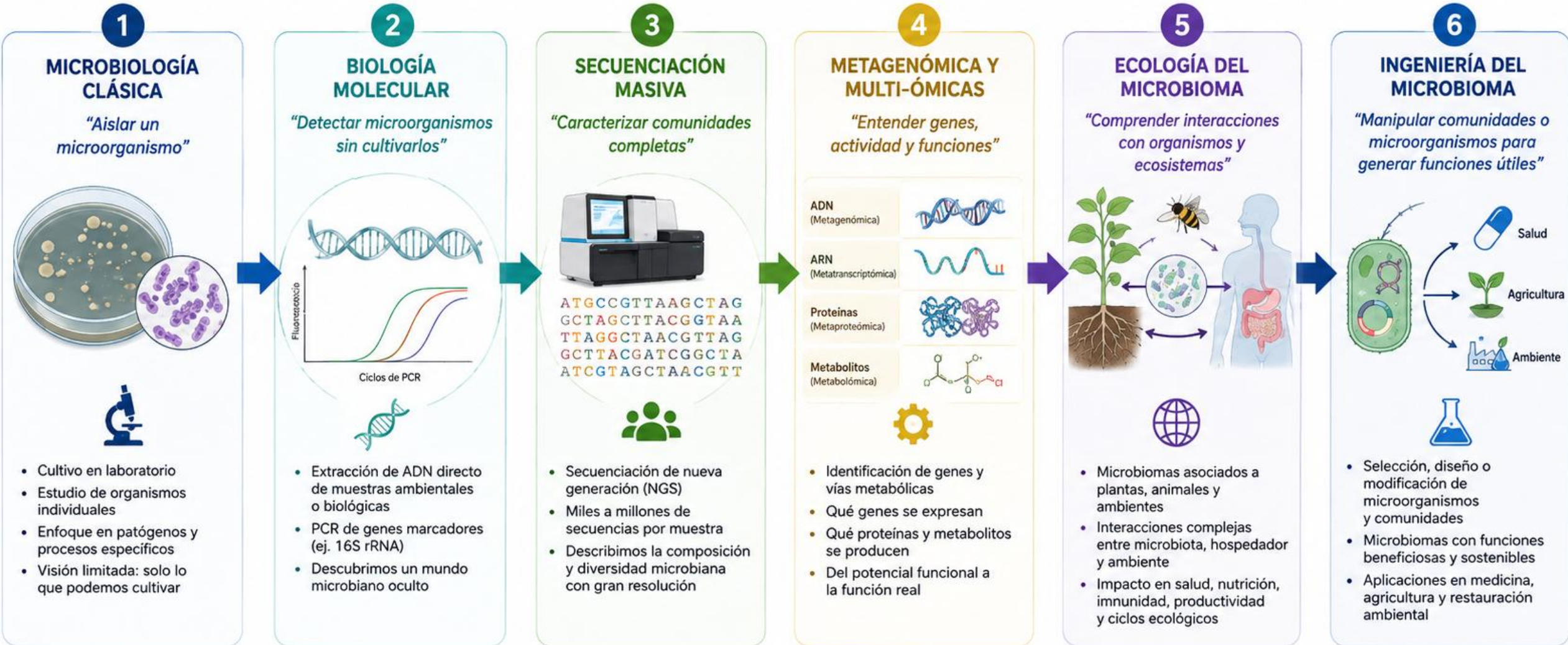
Genoma de la planta

Microbioma (genes y funciones microbianas)

SALUD Y PRODUCTIVIDAD DE LA PLANTA

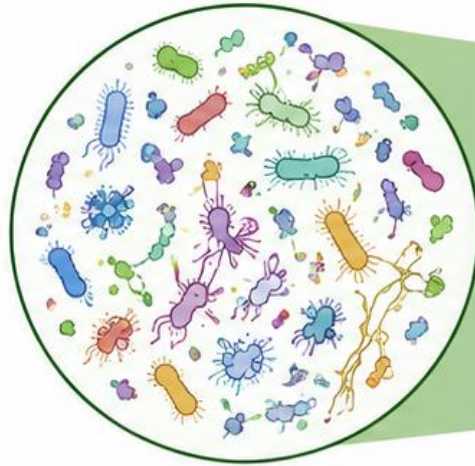
Ambiente (suelo, clima, organismos)

Desde microbiología clásica hasta la ingeniería de microbiomas y simbioses





Dimensiones en manipulación de simbiosis o microbiomas

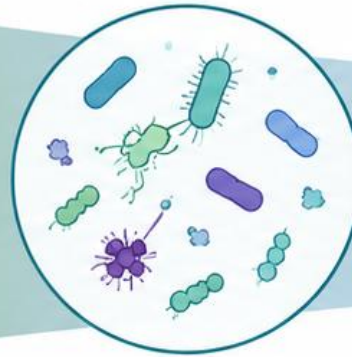


COMUNIDAD NATURAL DE MICROORGANISMOS

Alta diversidad y complejidad. Múltiples especies interactúan y realizan funciones en conjunto.



Intervención: modificar el ambiente o las condiciones para promover funciones deseadas en la comunidad.

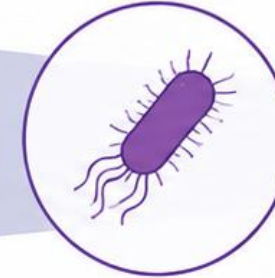


COMUNIDAD SINTÉTICA

Conjunto definido de especies seleccionadas o diseñadas para trabajar de manera coordinada en funciones específicas.



Intervención: diseñar, ensamblar o ajustar comunidades para optimizar funciones y estabilidad en el huésped.



UNA ESPECIE O CEPA

Manipulación de una especie o cepa específica para potenciar, introducir o apagar funciones clave.



Intervención: editar el genoma o regular genes para modificar características y funciones específicas.



A NIVEL GENÉTICO

Modificación precisa de genes o rutas metabólicas para obtener funciones deseadas.

MAYOR COMPLEJIDAD

NIVEL DE COMPLEJIDAD

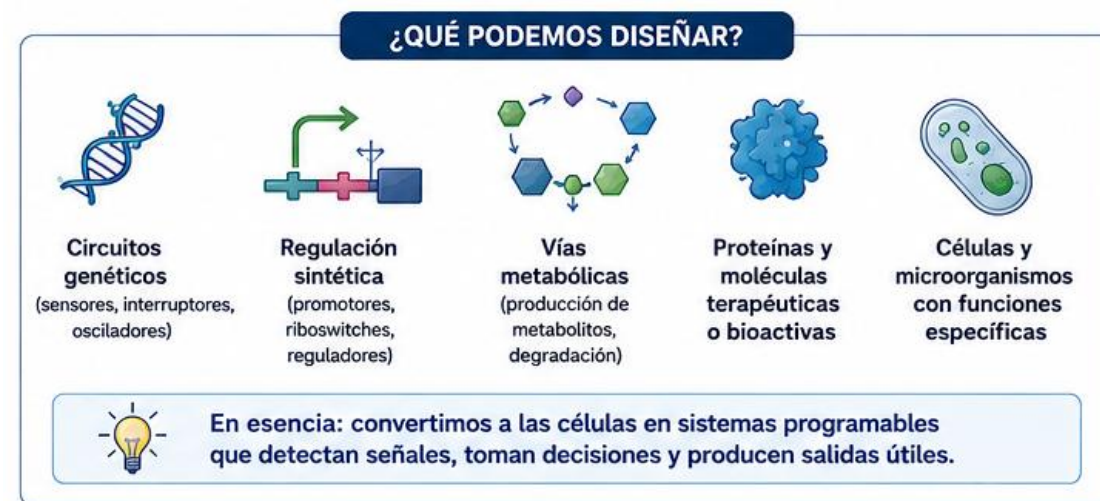
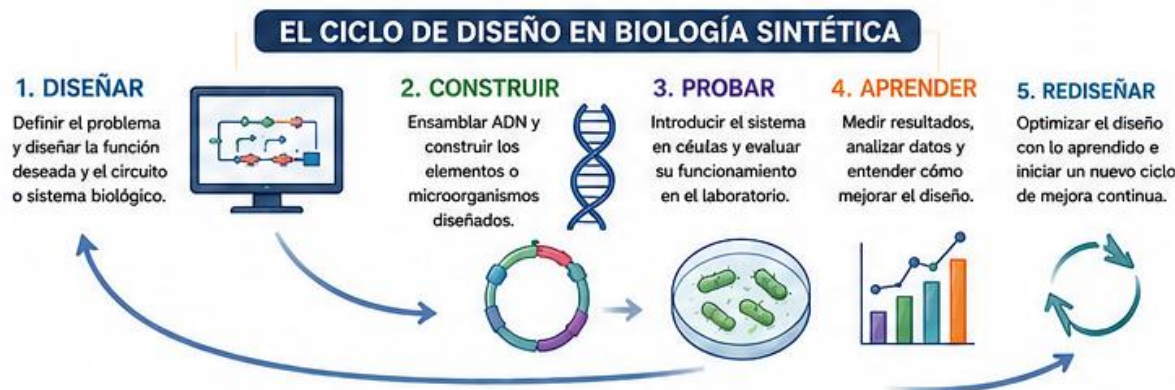
MENOR COMPLEJIDAD



Biología Sintética

“Diseñar vida para resolver problemas reales”

La biología sintética combina **biología, ingeniería y computación** para **diseñar y construir** sistemas biológicos con **funciones nuevas o mejoradas**

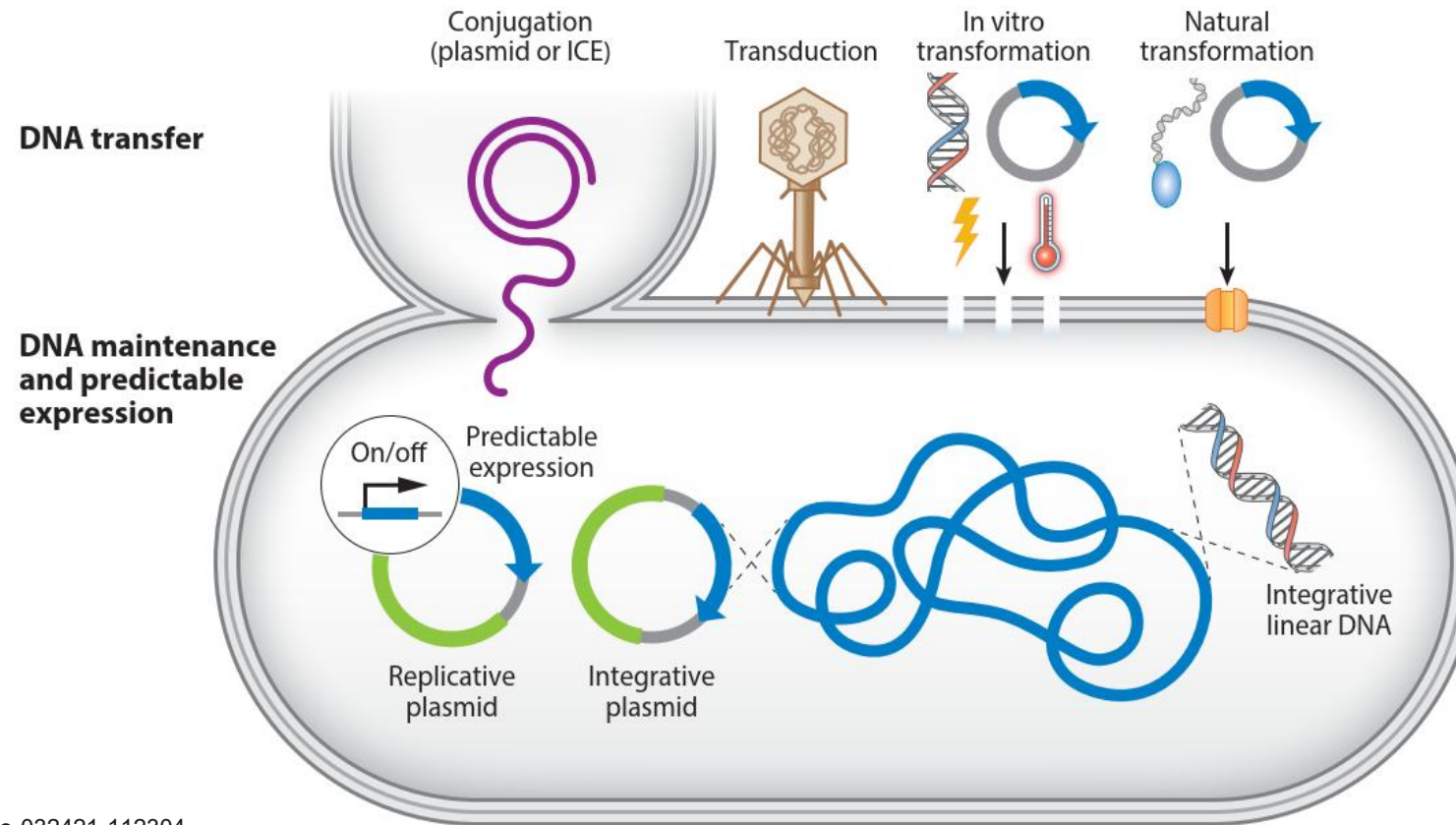




Herramientas moleculares en ingeniería de microbiomas



Herramientas de ingeniería genética en biología sintética



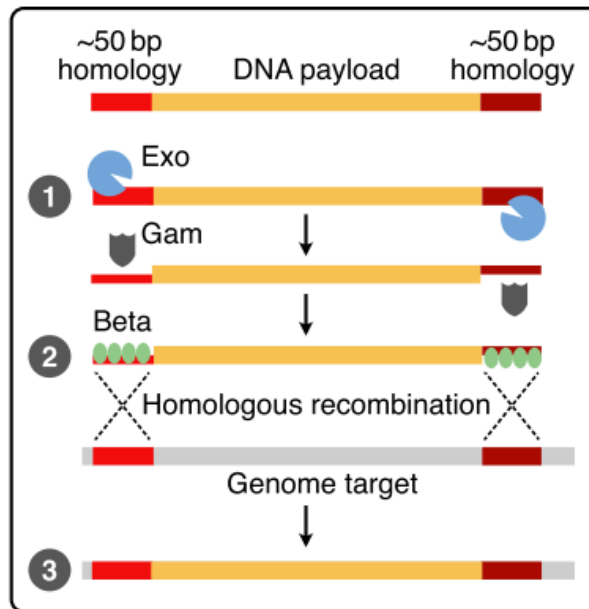
Fuente: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-032421-112304>



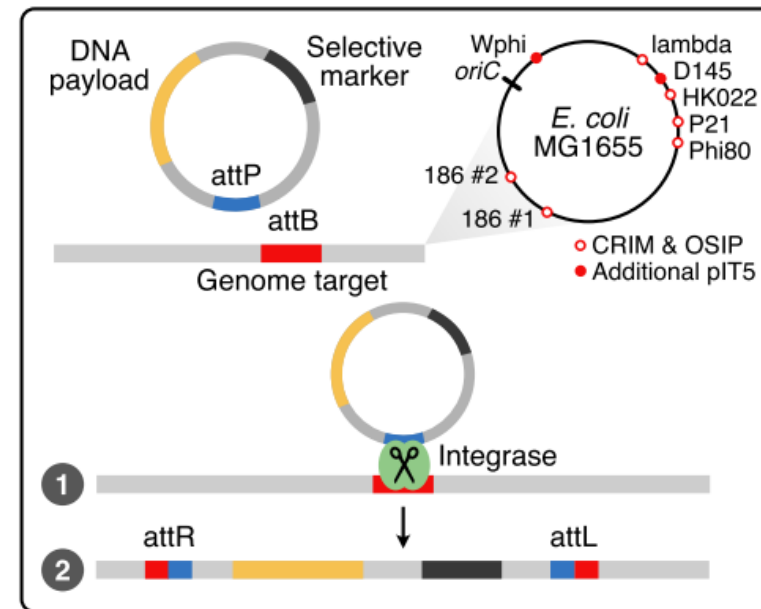
Herramientas de ingeniería genética en biología sintética



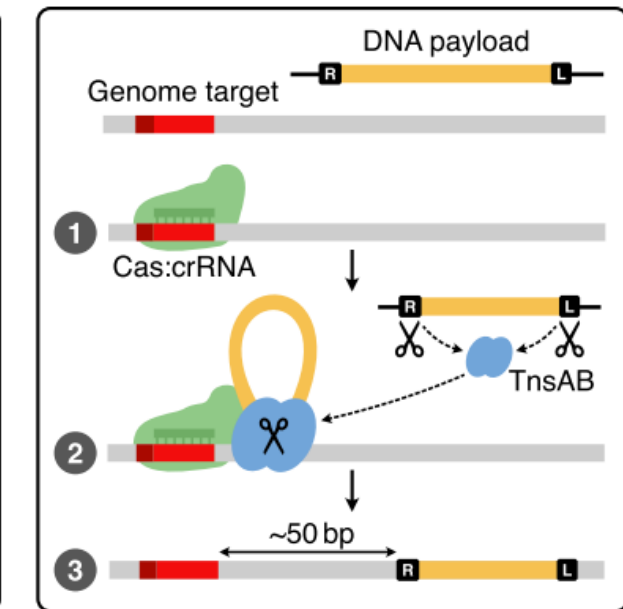
A Recombineering



B Phage integrase-based



C CRISPR-targeted transposon-based



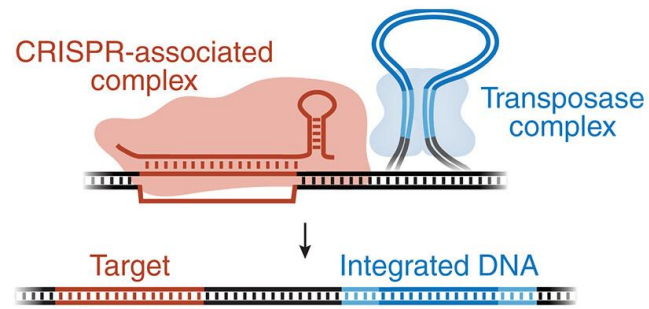
Fuente: <https://doi.org/10.1093/synbio/ysaf019>



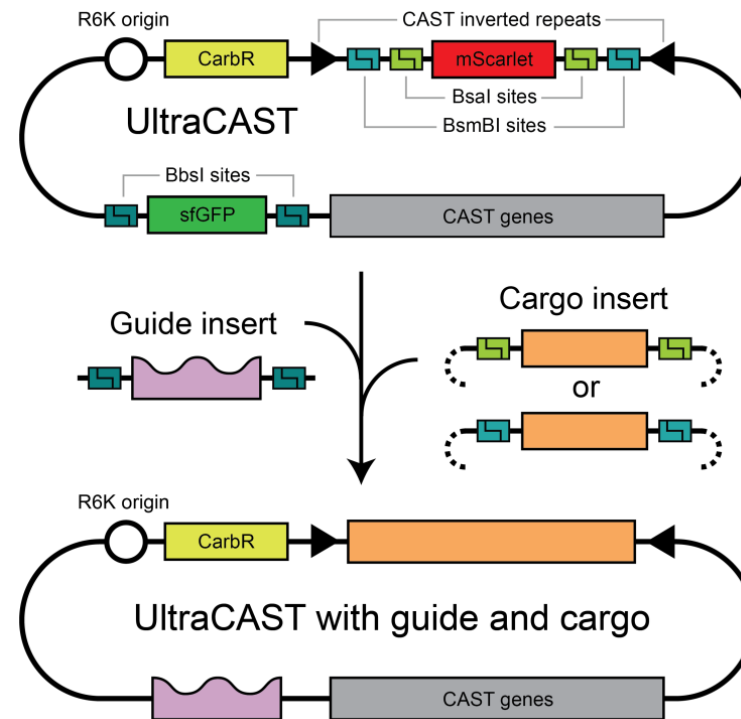
Herramientas de ingeniería genética en biología sintética



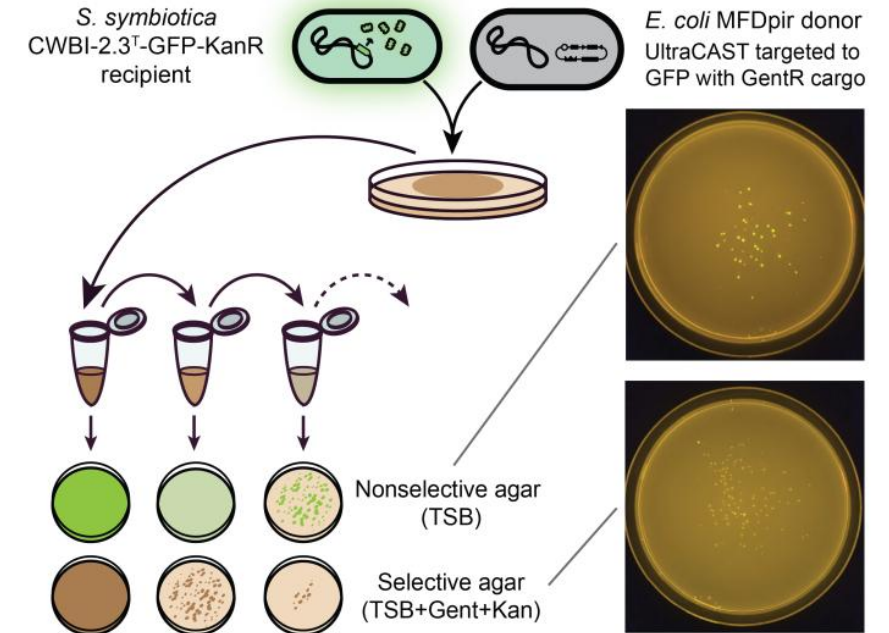
UltraCAST: Nueva herramienta basada en CRISPR para edición genética en bacterias y simbiontes



Fuente: <https://doi.org/10.1126/science.adt5199>



C Conjugation to deliver CAST mini-transposon



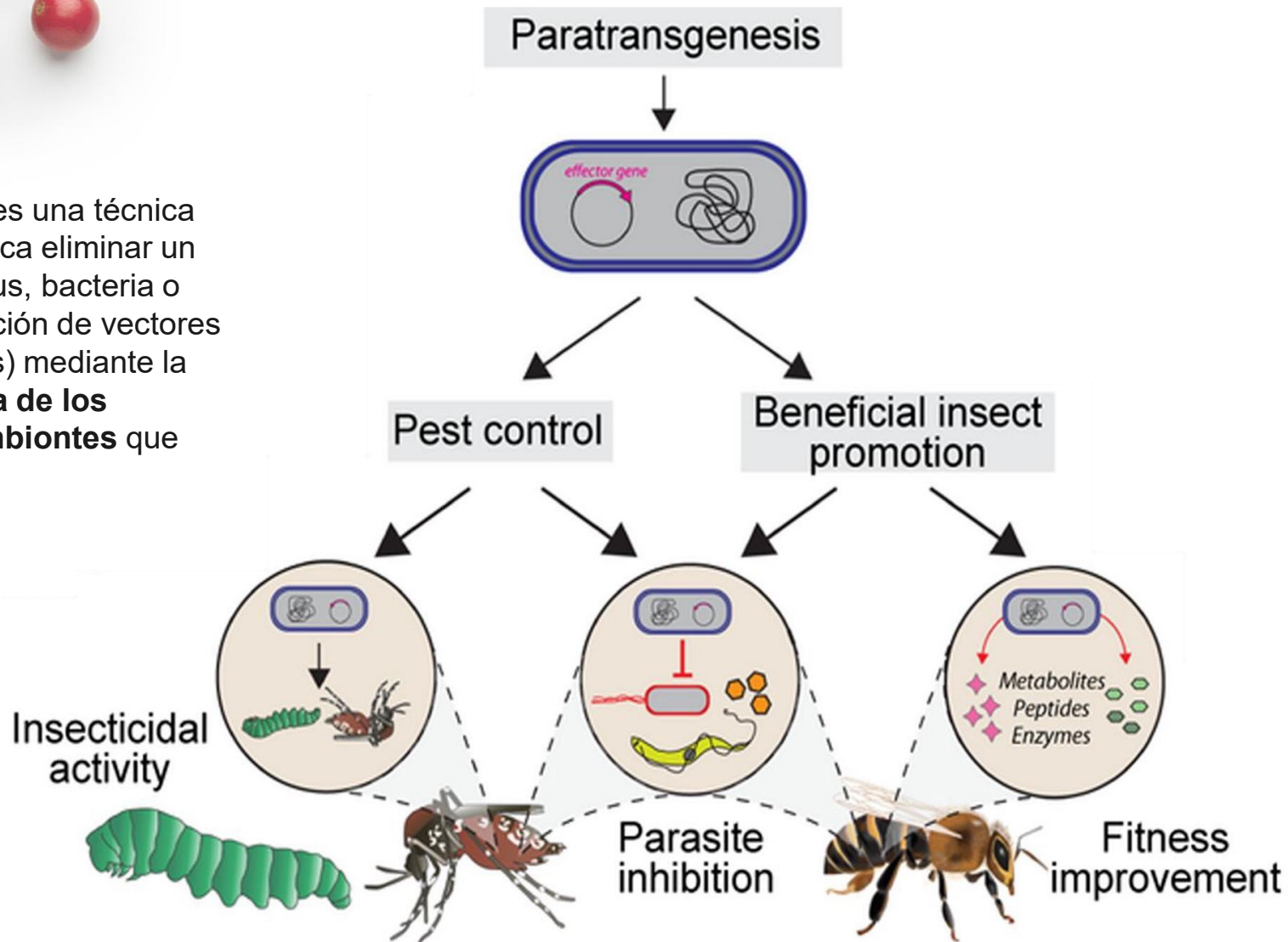
VanDieren & Barrick (2025). 10.17912/micropub.biology.001721



Oportunidades de la ingeniería de microbiomas o simbioses en entomología



La **paratransgénesis** es una técnica biotecnológica que busca eliminar un patógeno (como un virus, bacteria o parásito) de una población de vectores (generalmente insectos) mediante la **modificación genética de los microorganismos simbiotes** que viven dentro de ellos.

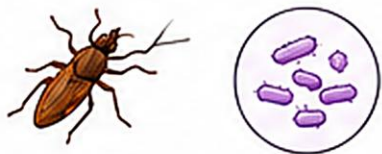


Modified from P. Engel & N. Moran. FEMS Microbiology Reviews, 37 (2013). <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>

Ejemplos de paratransgénesis clásica en insectos

1. Triatominos

(*Rhodnius prolixus*)



 **Patógeno transmitido:**
Trypanosoma cruzi

 **Simbionte utilizado:**
Rhodococcus rhodnii

 **Molécula producida:**
proteínas o péptidos antiparasitarios.

 **Resultado destacado:**
Reducción significativa del desarrollo del parásito en el intestino del insecto y menor transmisión.

2. Mosquitos *Anopheles*

(vectores de malaria)



 **Patógeno transmitido:**
Plasmodium spp.

 **Simbiontes utilizados:**
Asaia spp., *Serratia* spp.,
Pantoea spp., *Enterobacter* spp.

 **Moléculas producidas:**
péptidos antimicrobianos, efectores que bloquean el desarrollo del parásito.

 **Resultado destacado:**
Disminución del desarrollo de *Plasmodium* en el mosquito y reducción potencial de la transmisión de malaria.

3. Mosca tse-tse

(*Glossina* spp.)



 **Patógeno transmitido:**
Trypanosoma brucei
(causante de la tripanosomiasis africana).

 **Simbiontes utilizados:**
Sodalis glossinidius,
Wigglesworthia glossinidia.

 **Moléculas producidas:**
péptidos o ARN que interfieren con el parásito.

 **Resultado destacado:**
Reducción de la carga del parásito y bloqueo parcial de la transmisión.

4. Mosquitos *Aedes*

(vectores de dengue, Zika, chikungunya)



 **Patógenos transmitidos:**
virus del dengue, Zika, chikungunya, entre otros.

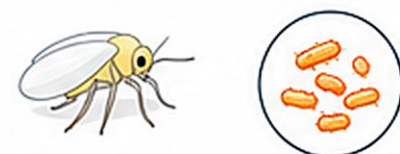
 **Simbiontes utilizados:**
Wolbachia, *Asaia* spp.,
Serratia spp.

 **Moléculas producidas:**
factores antivirales, moléculas que bloquean la replicación viral.

 **Resultado destacado:**
Disminución de la replicación viral y del potencial de transmisión.

5. Moscas blancas

(*Bemisia tabaci*)



 **Patógenos transmitidos:**
virus de plantas (e.g., TYLCV) y bacterias asociadas.

 **Simbiontes utilizados:**
Hamiltonella defensa,
Arsenophonus spp.

 **Moléculas producidas:**
ARN de interferencia (RNAi) para genes virales o del insecto.

 **Resultado destacado:**
Reducción de la adquisición o transmisión de virus.



Paratransgénesis en la abeja europea *Apis mellifera*



Desarrollo de estrategias para liberación de RNAi mediado por bacterias simbiotas (smRNAi)

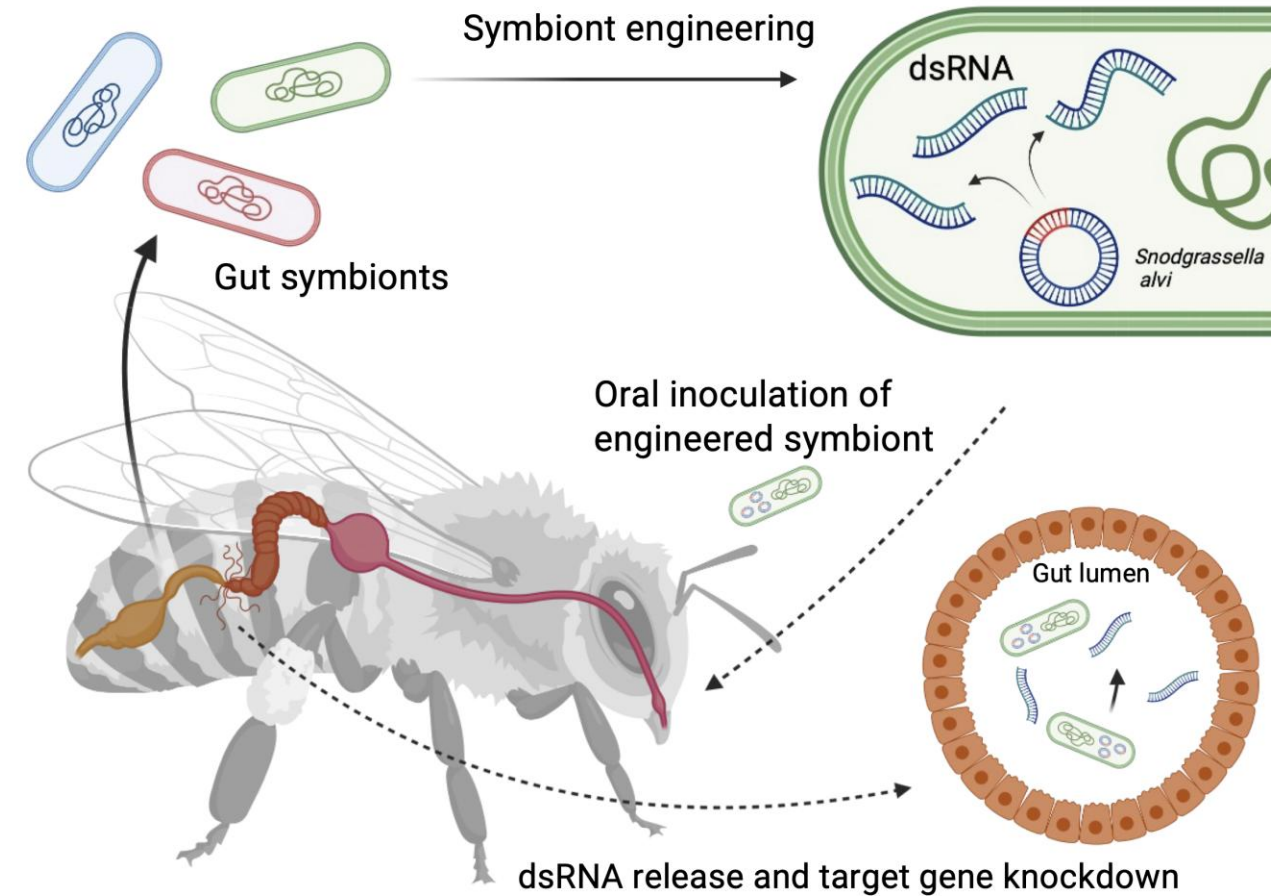
Protección de *Apis mellifera* contra patógenos y parásitos a través de smRNAi



Barrick Lab



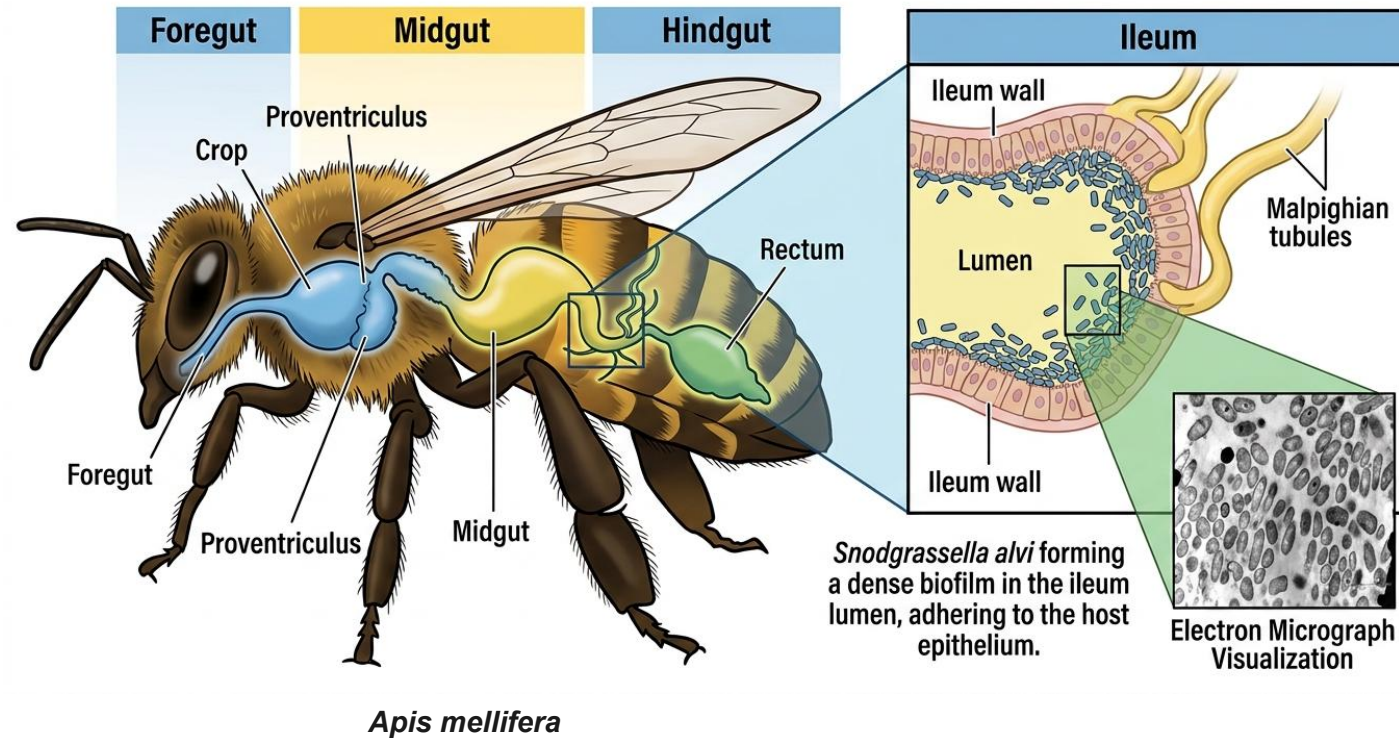
Moran Lab





Paratransgénesis en la abeja europea *Apis mellifera*

Snodgrassella alvi es una bacteria simbiote natural de *Apis mellifera*



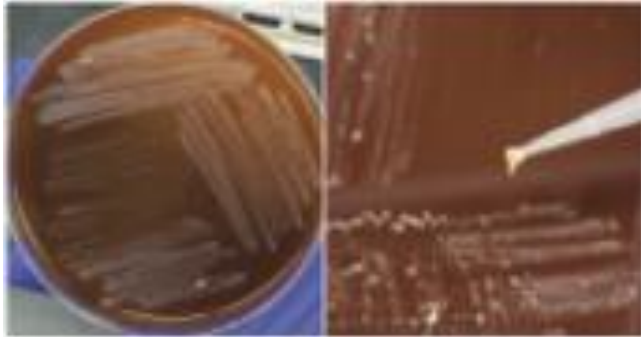


Snodgrassella alvi puede ser modificada y reinfectarse



Sean Leonard

S. alvi wkB2

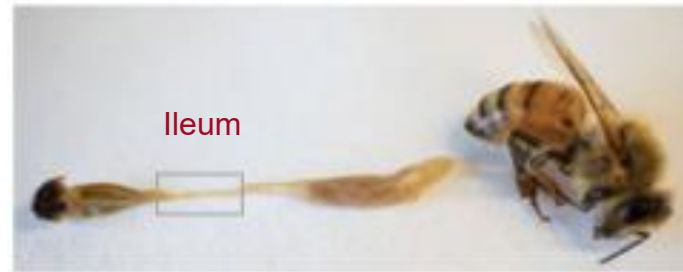


Colonización con *S. alvi*

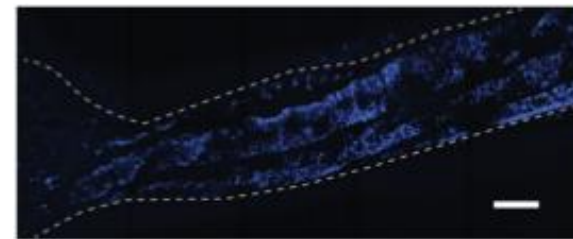


S. alvi coloniza el tracto digestivo de *Apis* y persiste por >15 days

A

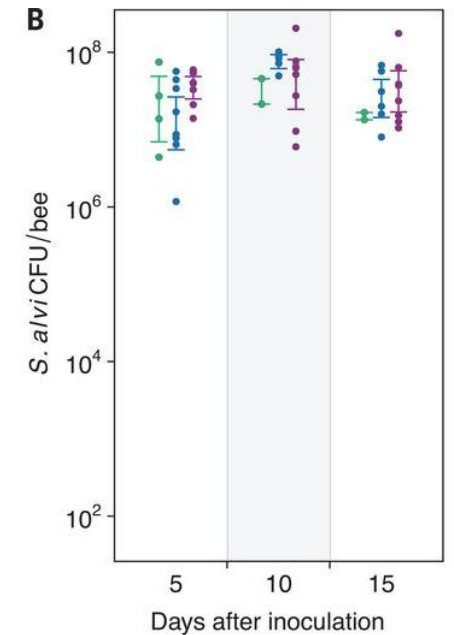


S. alvi control



S. alvi E2-Crimson

Persistencia de *S. alvi* modificada en el tracto





Protección de *Apis mellifera* a través de smRNAi



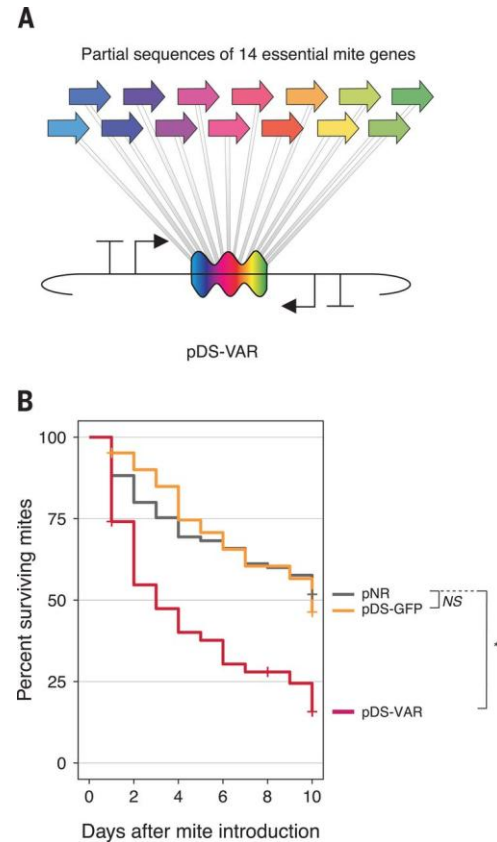
Sean Leonard

smRNAi protege a *Apis* del ácaro *Varroa* y del virus de las alas deformadas (DWV)

Varroa destructor



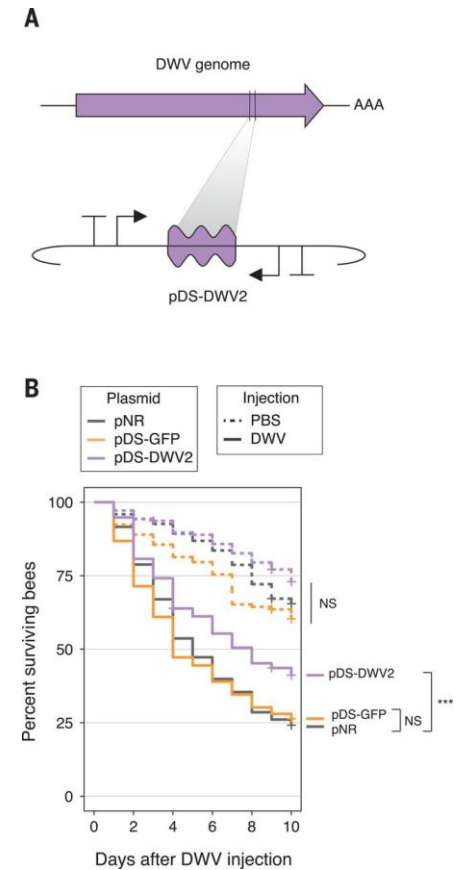
Jon Gascoyne/Flickr



Virus de las alas deformadas (DWV)



BeeMD photo collection



S. P. Leonard, et al. Science 367, (2020). <https://doi.org/10.1126/science.aax9039>



Biosensor para optimización de smRNAi



ACS
SyntheticBiology

pubs.acs.org/synbio

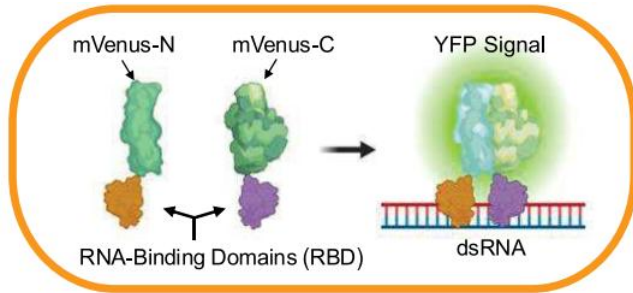
This article is licensed under CC-BY 4.0
Open Access
Letter

Genetic Biosensor for Optimizing Double-Stranded RNA Production by Bacteria

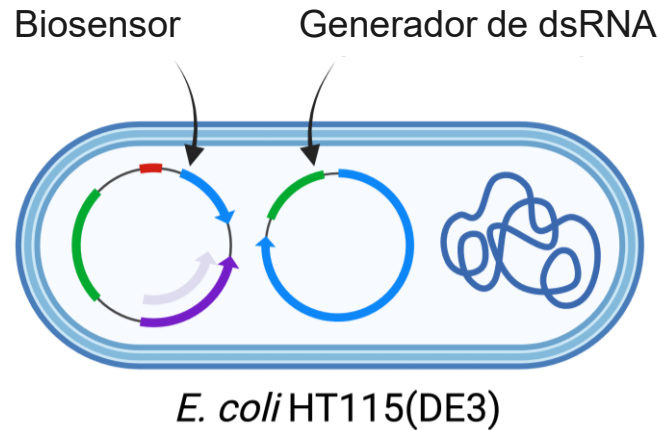
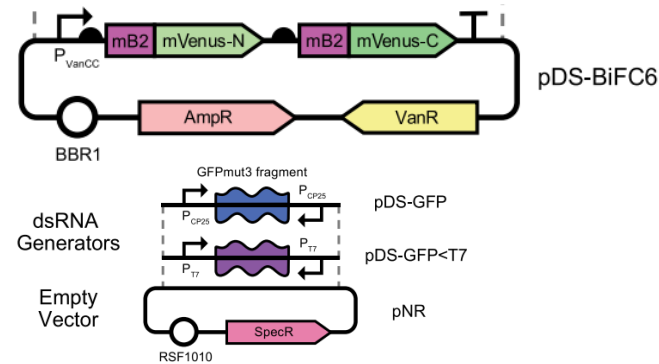
Lucio Navarro-Escalante,* Anthony J. VanDieren, and Jeffrey E. Barrick*

<https://doi.org/10.1021/acssynbio.6c00080>

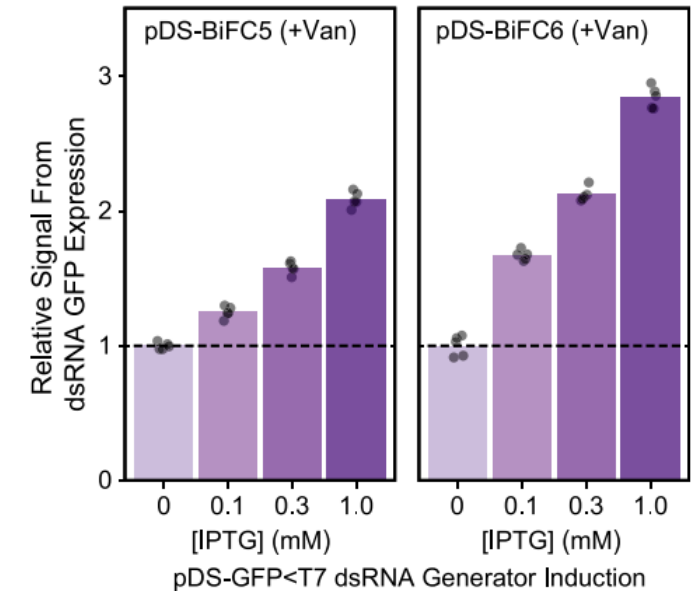
Diseño de biosensor genético basado en complementación molecular de YFP para detectar dsRNA



Proteína Amarilla Fluorescente (YFP): mVenus



Detección y cuantificación de dsRNA en HT115(DE3)



Navarro-Escalante et al. (2026). <https://doi.org/10.1021/acssynbio.6c00080>



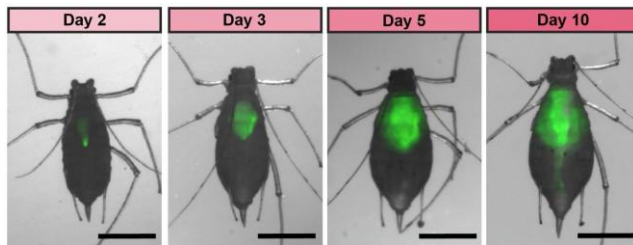
Biosensor para optimización de smRNAi



Pulgón verde de la alfalfa
(*Acyrtosiphon pisum*)

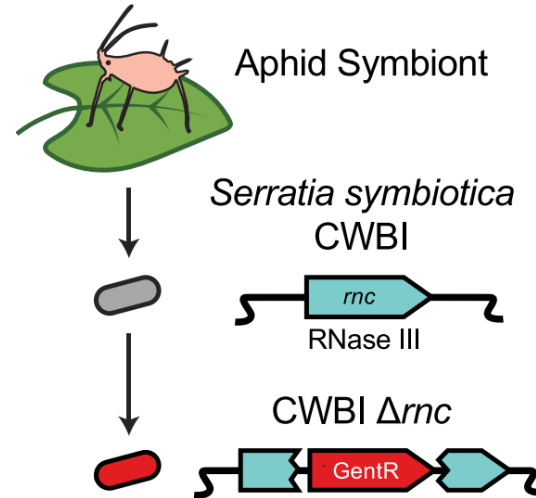


Bacteria simbiote *Serratia symbiotica* CWBI colonizando al pulgón verde

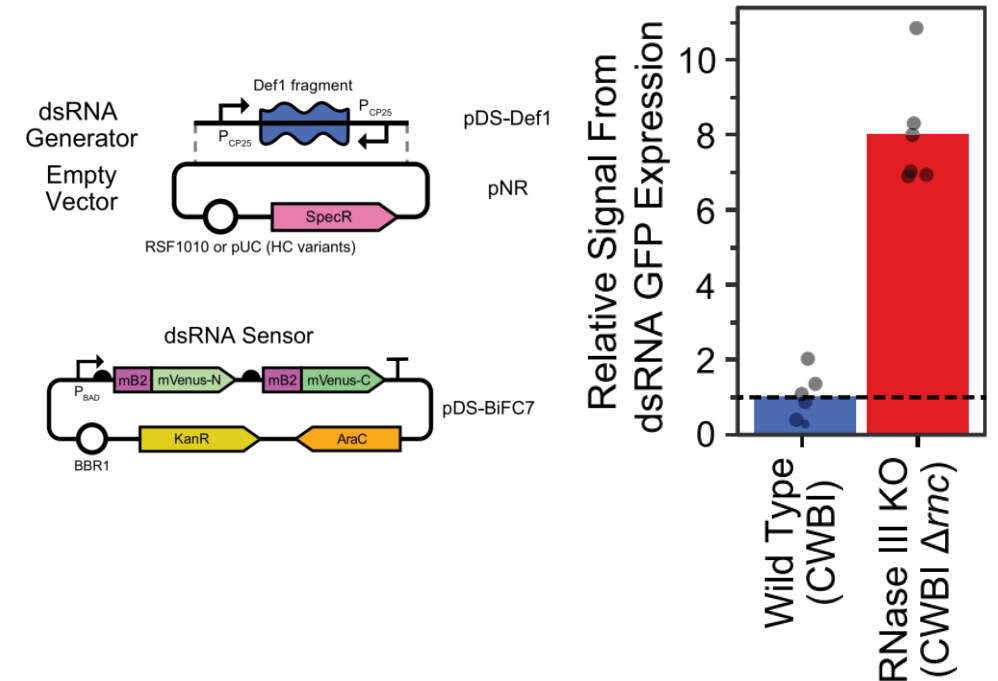


Elston KM, et al. 2021 . Appl Environ Microbiol 87.

Edición genética en *S. symbiotica* para incrementar producción de dsRNA



Cuantificación de dsRNA usando biosensor



Navarro-Escalante et al. (2026). <https://doi.org/10.1021/acssynbio.6c00080>



Oportunidades de la ingeniería de microbiomas o simbioses en cultivos

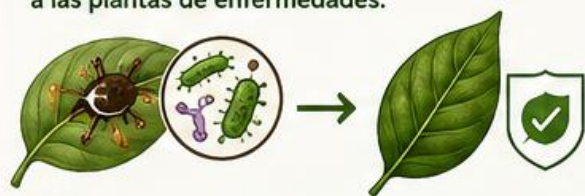


OPORTUNIDADES CLAVE



PROTECCIÓN DE CULTIVOS FRENTE A PATÓGENOS

Microbios y simbiontes benéficos que protegen a las plantas de enfermedades.



-  Competencia con patógenos por espacio y nutrientes
-  Producción de compuestos antimicrobianos y enzimas
-  Inducción de defensas naturales de la planta



Cultivos más sanos y con menor dependencia de agroquímicos



FIJACIÓN Y ASIMILACIÓN DE NUTRIENTES

Microorganismos que mejoran la disponibilidad y absorción de nutrientes esenciales.



-  Fijación biológica de nitrógeno (N)
-  Solubilización de fósforo (P) y potasio (K)
-  Mineralización y ciclado de nutrientes
-  Producción de sideróforos y fitohormonas



Mayor eficiencia nutricional y suelos más fértiles



TOLERANCIA AL ESTRÉS ABIÓTICO

Microbios y simbiontes que ayudan a las plantas a resistir condiciones ambientales adversas.



-  Mejora de la retención de agua y la estructura del suelo
-  Producción de osmoprotectores y antioxidantes
-  Modulación hormonal y regulación del estrés
-  Mejora del balance iónico y desintoxicación



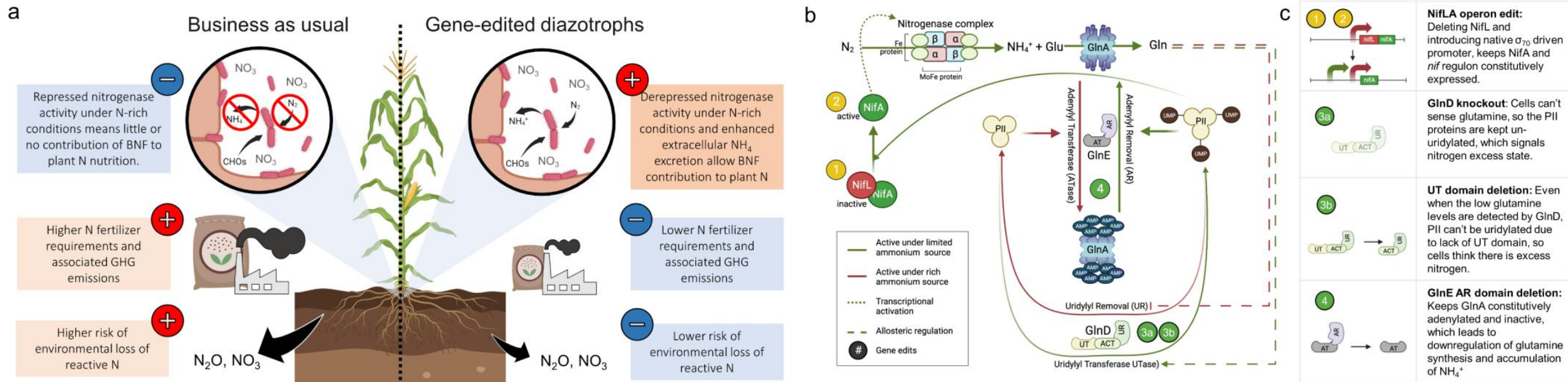
Cultivos más resilientes y estables ante el cambio climático



Simbiontes endófitos genéticamente modificados para incrementar fijación de nitrógeno



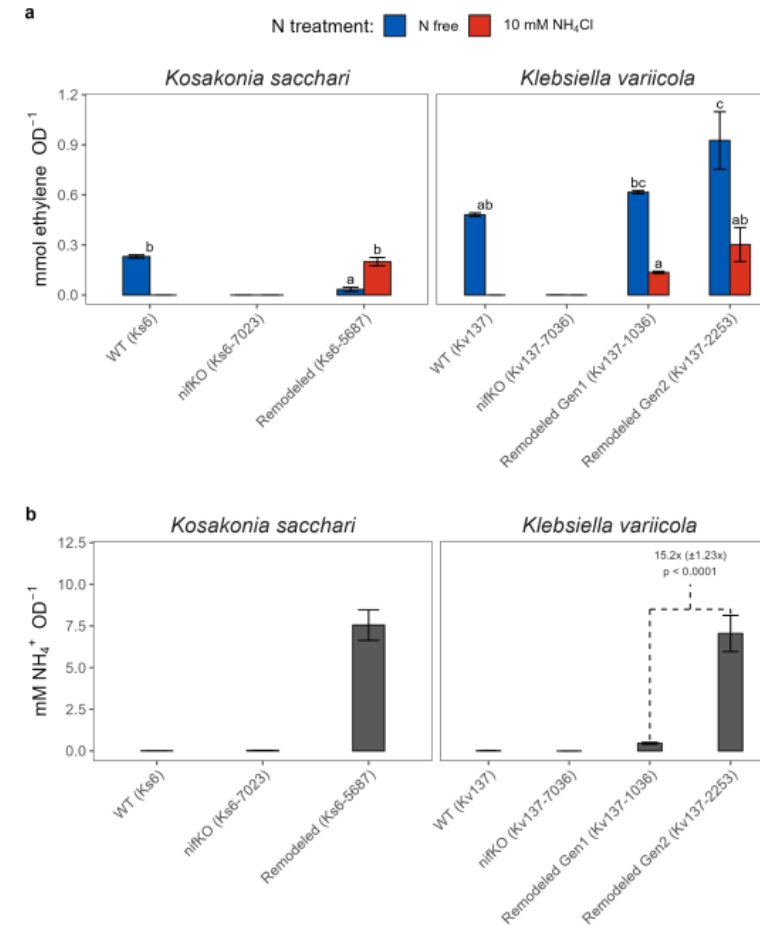
Las **bacterias diazotróficas** son microorganismos capaces de capturar el nitrógeno del aire (N_2) y transformarlo en amoníaco, un nutriente que las plantas pueden usar para crecer



Martinez-Feria et al. (2024). Nature Scientific Reports. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78243-3>



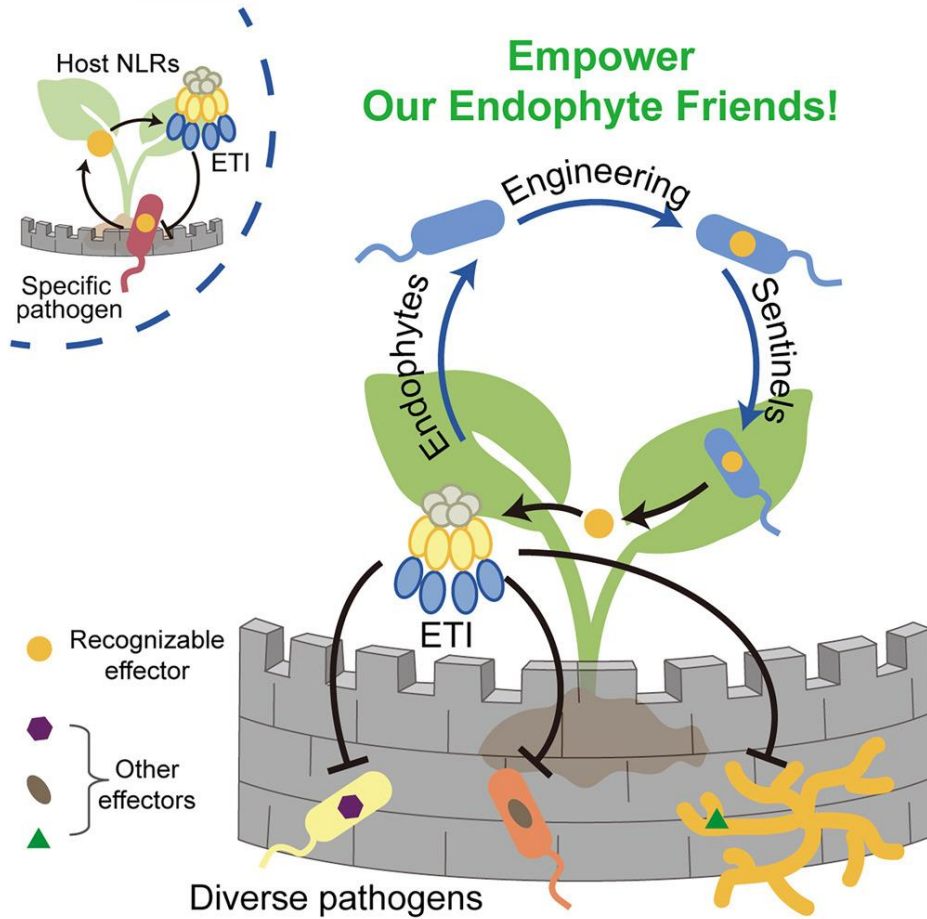
Simbiontes endófitos genéticamente modificados para incrementar fijación de nitrógeno



Martinez-Feria et al. (2024). Nature Scientific Reports. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78243-3>

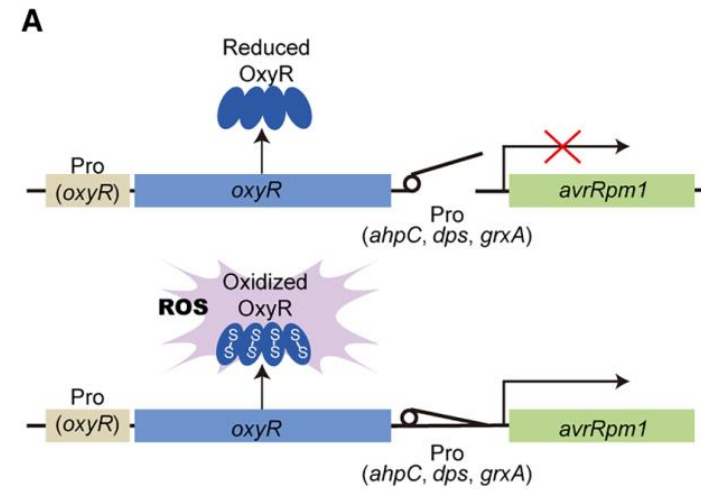


Simbiontes endófitos genéticamente modificados para protección contra patógenos

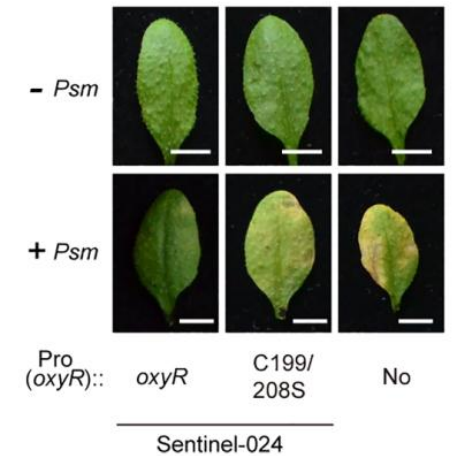


Sistema **Sentinel** expresa y libera proteínas efectoras que inducen respuestas de defensa en *Arabidopsis*

Cepa **Sentinel-024** (Gammaproteobacteria)



Detección de oxígeno reactivo (ROS) induce producción de efectores



Sentinel-024 induce respuestas tempranas de defensa (priming)

Hou et al. (2026). <https://doi.org/10.1016/j.chom.2025.09.017>



Qué avances tenemos en estudios de microbiomas y su ingeniería en temas de la caficultura?

Insectos

Composición y diversidad de microbiomas asociados a:

- Chinche de la chamusquina
- Cochinillas de las raíces
- Broca del café

Paratransgénesis (smRNAi):

- Broca del café

Planta de Café

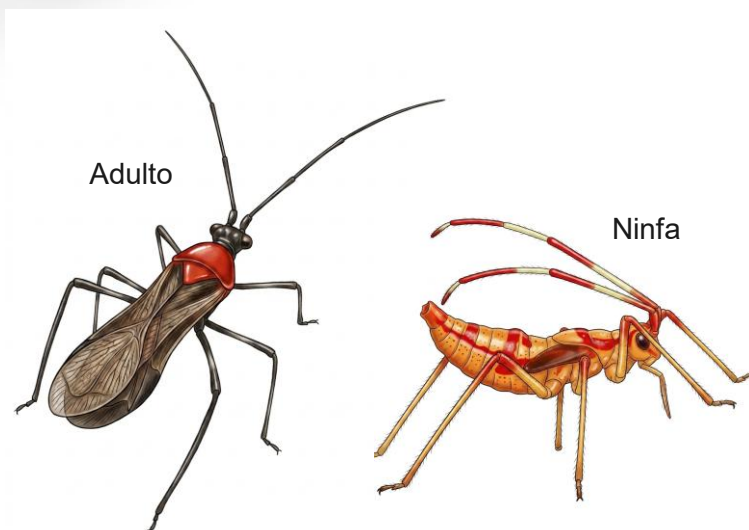
Composición y diversidad de microbiomas asociados a:

- Coffea arabica (diversos tejidos)
- Coffea canephora (diversos tejidos)

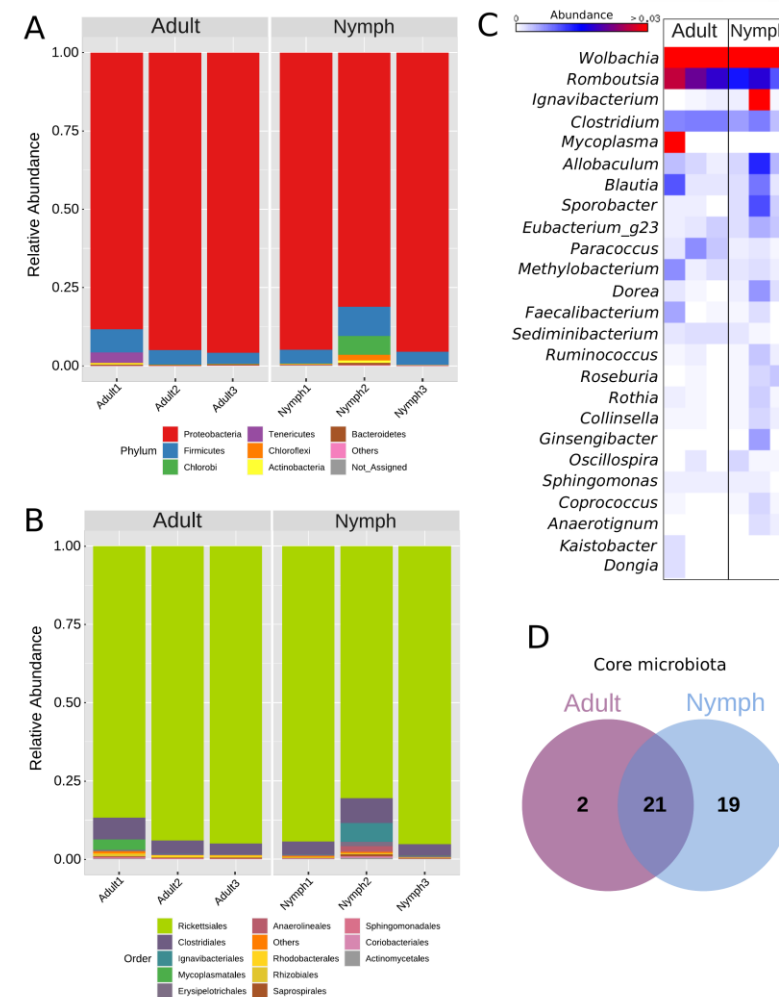
Identificación de bacterias promotoras de crecimiento y fijadoras de nitrógeno en rizósfera



Chamusquina del café (*Monalonion velezeangeli*)



Daños en planta de café por la alimentación del chinche de la chamusquina:





Cochinillas de las raíces



Puto barberi



Pseudococcus elisae



Dysmicoccus texensis



Cochinillas en raíces de café



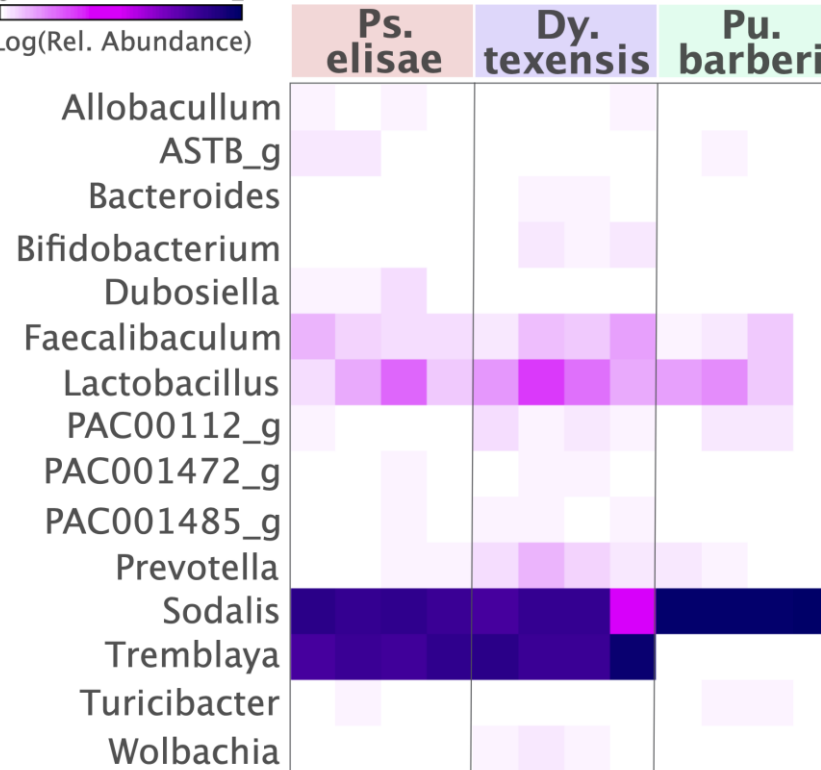
Quistes (hongo) protegiendo a cochinillas en raíces de café

A

Whole microbiota

0 2
Log(Rel. Abundance)

Genus



Navarro-Escalante, et al.(2026). En revision.



Broca del café



frontiers
in Microbiology

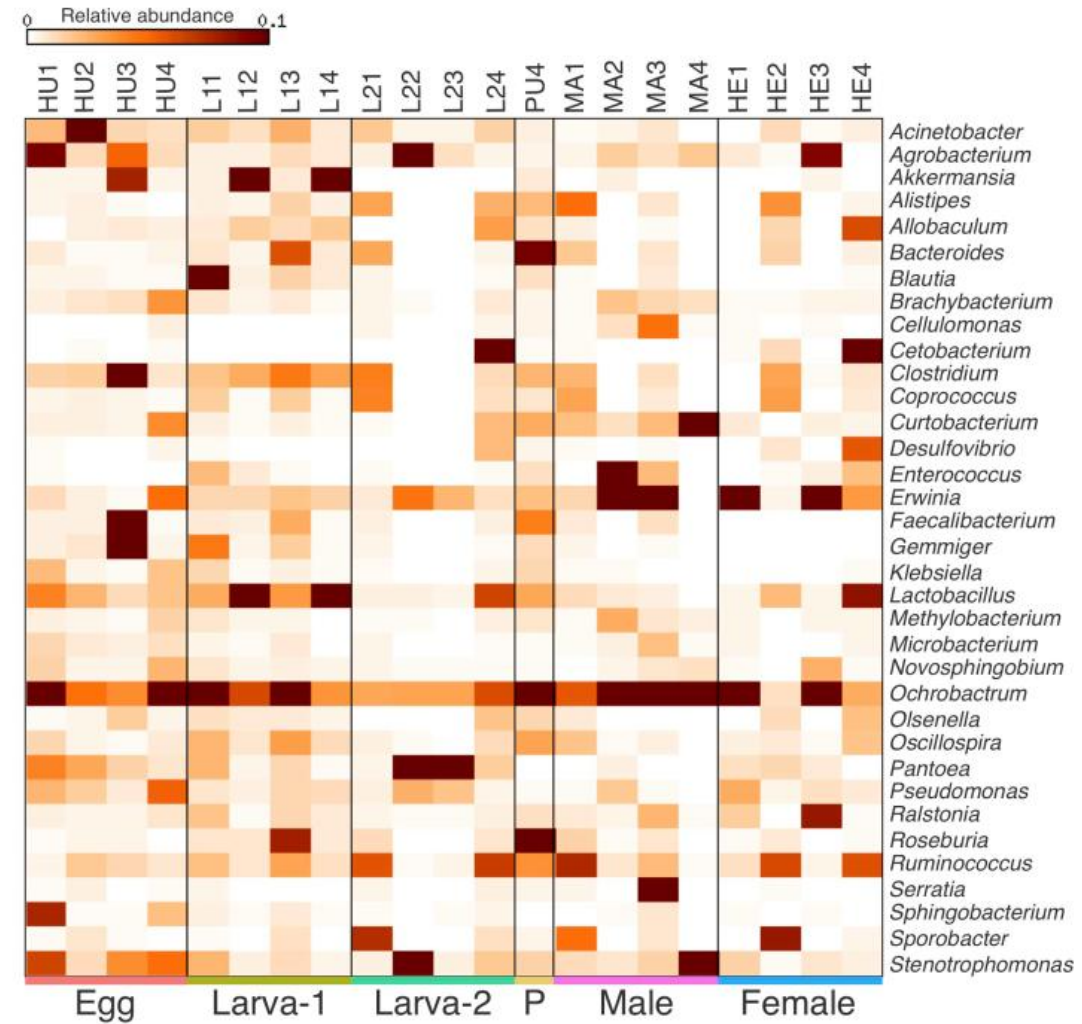
ORIGINAL RESEARCH
published: 01 July 2021
doi: 10.3389/fmicb.2021.639888

Structure and Dynamics of the Gut Bacterial Community Across the Developmental Stages of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*

Fernan Santiago Mejia-Alvarado^{1,2}, Thaura Ghneim-Herrera², Carmenza E. Góngora¹, Pablo Benavides¹ and Lucio Navarro-Escalante^{1*}

¹ Department of Entomology, National Coffee Research Center (Cenicafé), Manizales, Colombia, ² Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Icesi, Cali, Colombia

Broca del café (*Hypothenemus hampei*)

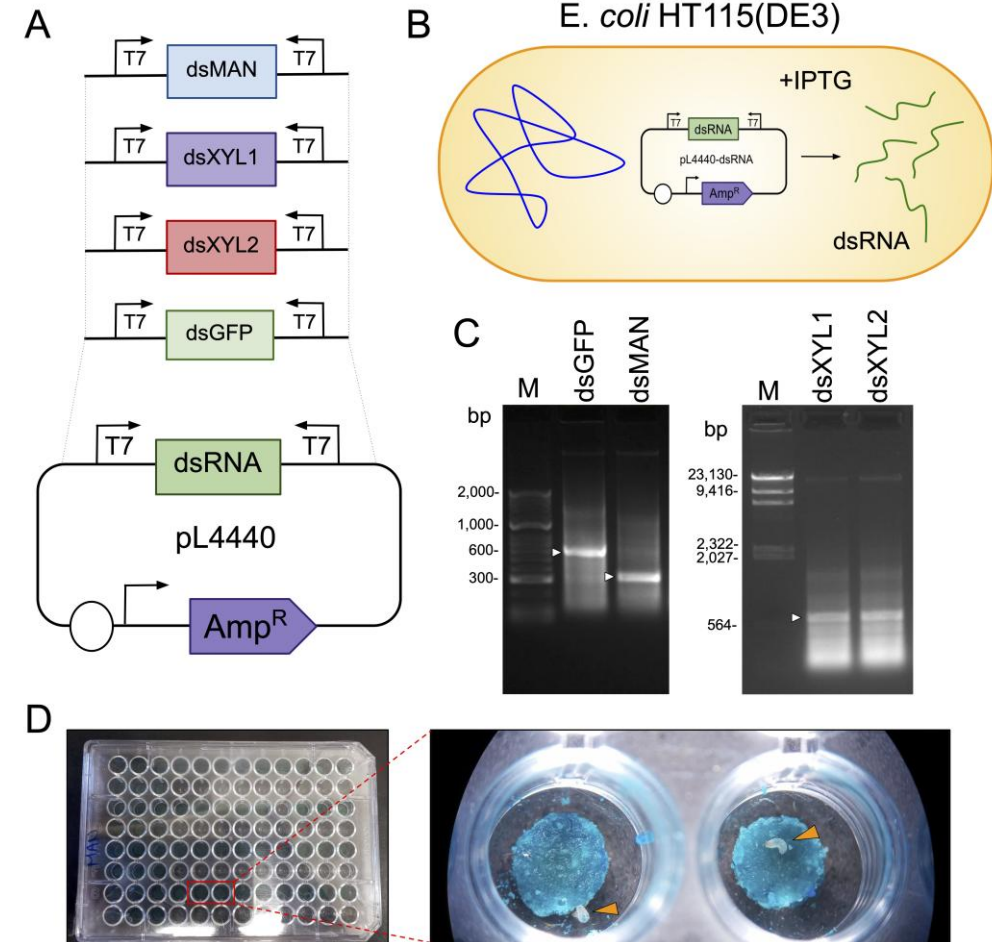
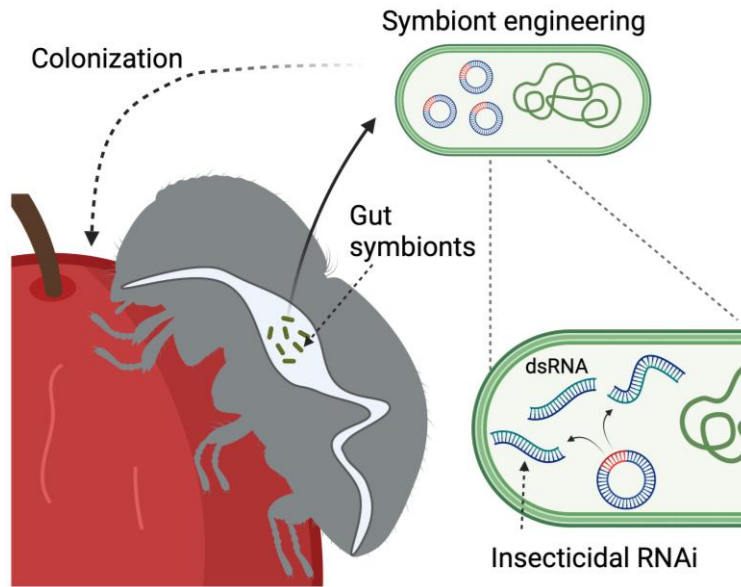




Paratransgénesis y smRNAi en broca



Prueba de concepto para el silenciamiento de genes de broca mediante smRNAi

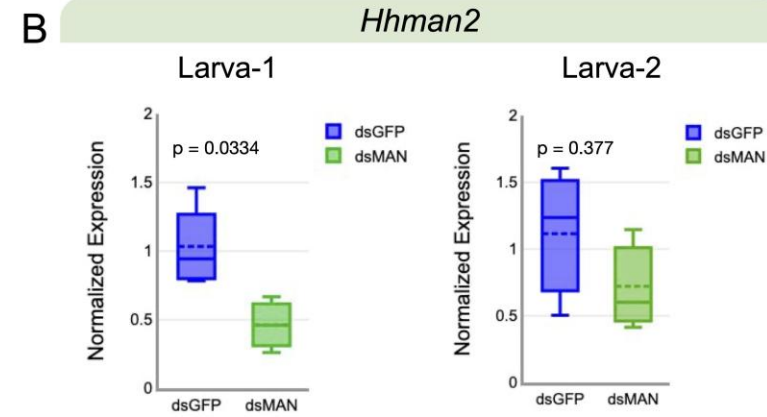
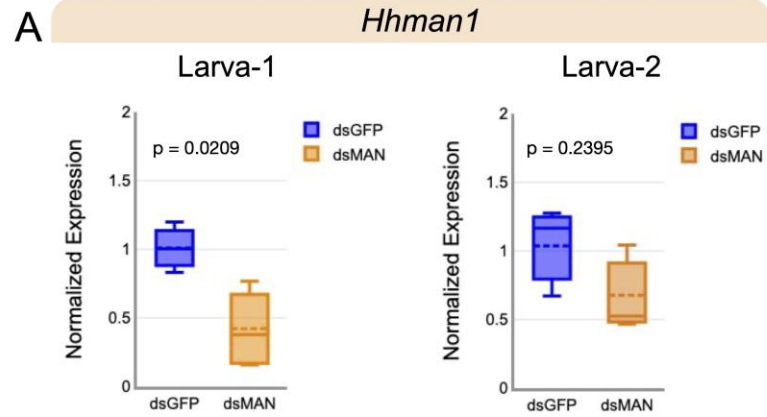




Paratransgénesis y smRNAi en broca



RNAi en broca a través de dsRNA liberado por bacterias (HT115)



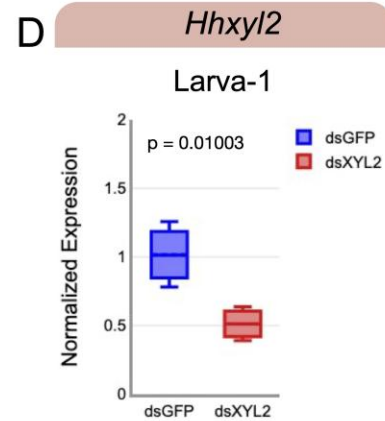
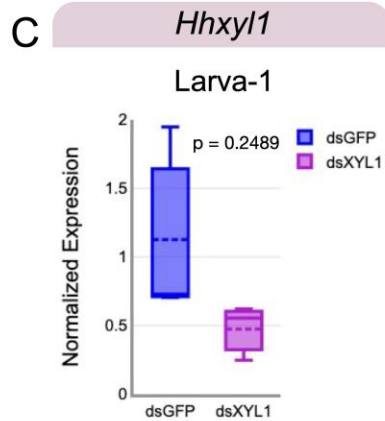
Genes blanco:

Mananasa 1 (*Hhman1*)

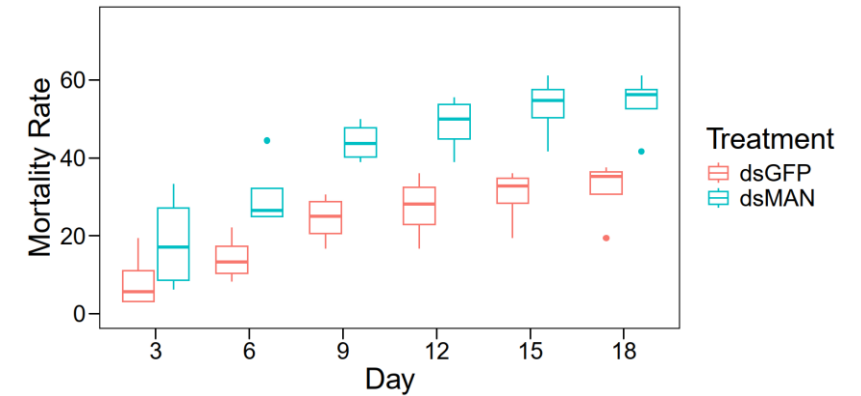
Mananasa 2 (*Hhman2*)

Xilanasa 1 (*Hhxl1*)

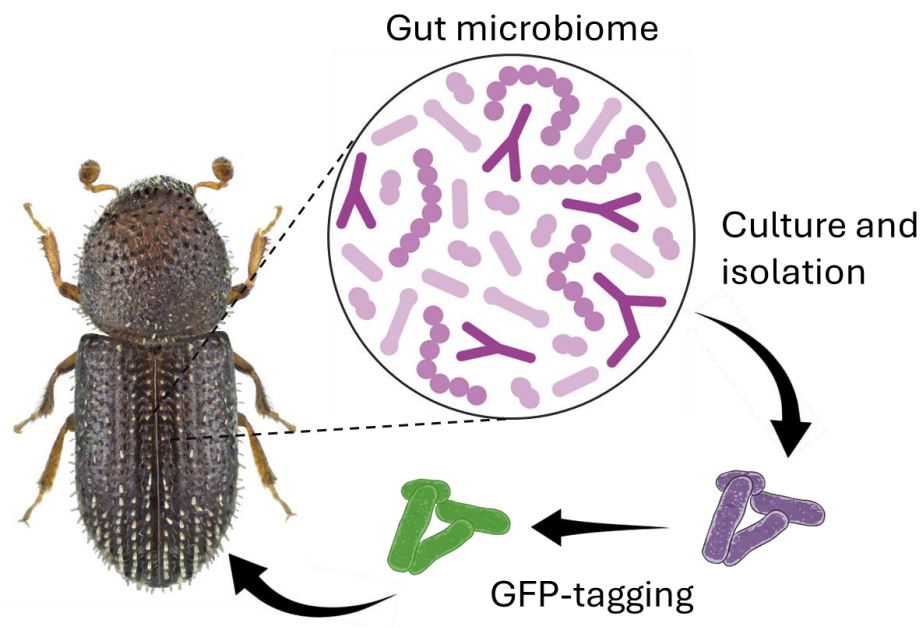
Xilanasa 2 (*Hhxl2*)



Evaluación de mortalidad en larvas de broca alimentadas con HT115 (dsMan)



Identificación de simbios de broca para aplicaciones en paratransgénesis

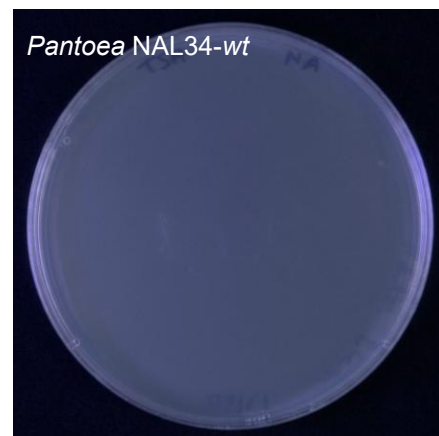
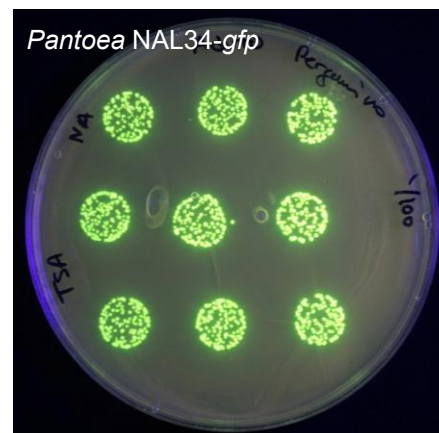


Simbios candidatos:

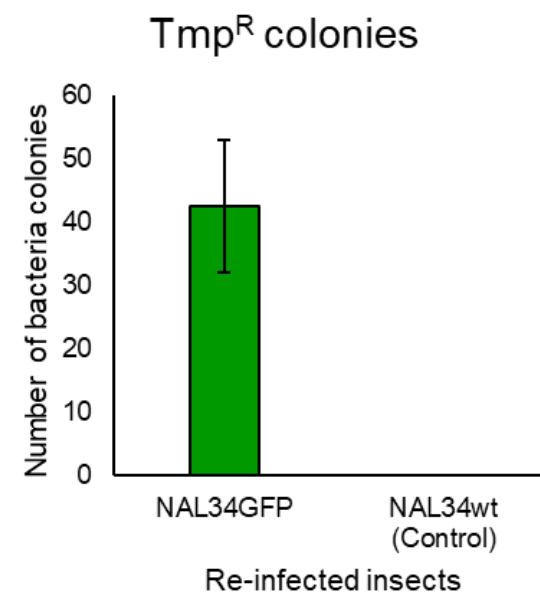
Pantoea sp.

Erwinia sp.

Pseudomonas sp.



Pantoea NAL34-gfp persiste en el tracto de la broca por al menos 10 días



Microbioma del café

Hojas:

Pantoea (más abundante)
Enterobacter
Pseudomonas
Bacillus

Tallo:

Bacillus
Pseudomonas
Cedecea

Raíz:

Bacillus (23 spp.) — más citado
Pseudomonas (9 spp.)
Burkholderia (7 spp.)
Enterobacter (4 spp.)
Paenibacillus (4 spp.)
Gluconacetobacter — fijador de N₂
Herbaspirillum, *Methylobacterium*

Semilla:

Bacillus — el más aislado
Enterobacter
Cedecea (alta frecuencia en endosfera)
Pseudomonas
Paenibacillus

Fruto (perispermo)

Leuconostoc pseudomesenteroides — dominante en *C. arabica* fresco
Bacterias lácticas (LAB): *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*
Bacterias acéticas (AAB): *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*
Enterobacter, *Erwinia*, *Pantoea*

Microbiota bacteriana núcleo de *Coffea arabica*:

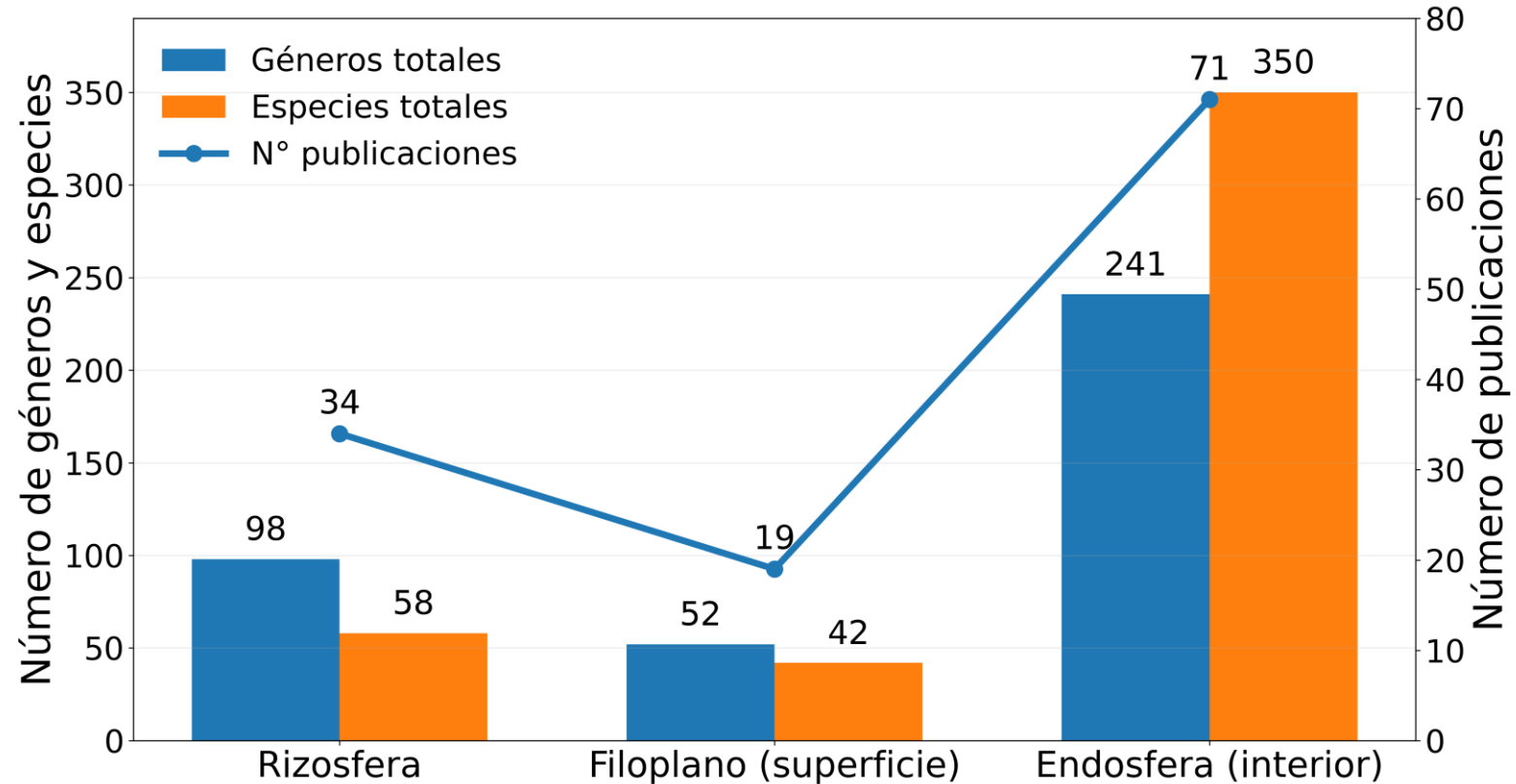
Bacillus
Citrobacter
Enterobacter
Pseudomonas
Serratia
Stenotrophomonas



Microbioma del café



Microbiota asociada al café: diversidad y publicaciones por compartimento





Microbioma del café



MECANISMO	MODO DE ACCIÓN / FUNCIÓN FISIOLÓGICA	BACTERIAS RELEVANTES EN CAFÉ
 1. REGULACIÓN HORMONAL Y ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO		
Producción de Auxinas (IAA)	Estimula elongación celular, desarrollo radicular (raíces secundarias/pelos) y respuesta gravitrópica.	<i>Azospirillum brasilense</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Pseudomonas</i>
Producción de Citoquininas	Regula la proliferación y división celular; retarda la senescencia foliar manteniendo área fotosintética.	<i>Methylobacterium spp.</i>
Producción de Giberelinas	Promueve elongación de tallos y entre-nudos, y estimula la germinación del embrión.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 231 µg/mL IAA + 2702 µg/mL GA
 2. MITIGACIÓN DE ESTRÉS ABIÓTICO		
ACC Deaminasa	Degrada precursor ACC → reduce síntesis de etileno por estrés → disminuye inhibición del crecimiento radicular y foliar.	<i>Pantoea RCa62</i> <i>Serratia</i> <i>Pseudomonas</i>
 3. BIOFERTILIZACIÓN Y NUTRICIÓN MINERAL		
Fijación Biológica de N₂	Convierte nitrógeno atmosférico inerte (N ₂) en amonio (NH ₄ ⁺), forma directamente asimilable por el café.	<i>Gluconacetobacter</i> <i>Burkholderia</i> <i>Azotobacter</i>
Solubilización de Fósforo	Libera P insoluble del suelo mediante secreción de ácidos orgánicos y enzimas (fosfatasas, fitasas).	<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Kocuria</i>
Producción de Sideróforos	Captura y quela hierro férrico (Fe ³⁺) insoluble, haciéndolo disponible para la planta y privando a fitopatógenos.	<i>Pseudomonas (pioverdina)</i> <i>Bacillus</i>



Oportunidades en Café



Protección contra patógenos



Protección contra insectos

Retos en café:

- Entender mecanismos de asociación planta-endófito.
- Entender roles funcionales de microorganismos endófitos.
- Identificar endófitos candidatos para desarrollo de estrategias de biotecnológicas (biología sintética).

N_2 (atmósfera)



NH_4^+

Fijación de nitrógeno
y asimilación de
nutrientes



Agradecimientos



Disciplina de Entomología - **Cenicafé**



International Centre for Genetic
Engineering and Biotechnology



Jeff Barrick Lab



Nancy Moran Lab



SABEMOS
LO QUE HACEMOS





Cenicafé
Centro Nacional de Investigaciones de Café



cenicafe.org



Cenicafé FNC



@cenicafe



cenicafé



CenicaféFNC



@cenicafefnc