



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA AGRONOMICA**

TESIS DE GRADO

“Evaluación de la Capacidad de Multiplicación in vitro vía embriogénesis somática de 22 clones de cacao (*Theobroma cacao* L) Tipo Nacional”

Autor

Victoria Mariuxi Cedeño Quinto

Director

Ing. Agr. Alfonso Vasco Medina

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2004

VII. RESUMEN

Debido a las dificultades para la multiplicación vegetativa del cacao a través de las metodologías convencionales, se planteo el presente estudio el mismo que fue conducido en el laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicada en el Km. 5½ vía Quevedo-El Empalme, teniendo como objetivo conocer las respuestas de un grupo de genotipos a la metodología de propagación mediante el cultivo de tejidos *in vitro* vía embriogénesis somática. Se utilizaron 20 genotipos seleccionados de cacao tipo Nacional y dos genotipos internacionales (IMC 67 y SCA 6), se utilizó la metodología de multiplicación propuesta por Li, *et al* (1998), modificada por Maximova *et al* (2000) utilizando como explantes iniciales bases de pétalos y estaminoides de las flores de cacao de los genotipos seleccionados.

Durante el proceso de multiplicación se registraron una serie de variables que permitieron determinar la capacidad de respuesta de los diferentes genotipos a la metodología de multiplicación. Los niveles de contaminación mostraron diferencias en función de la época de siembras durante el año y el tipo de explante utilizado. En la fase de inducción no se registraron diferencias significativas en los niveles de calogénesis los mismos que en todos los casos fueron superiores al 90%. La reactividad embriogénica primaria se considero como la capacidad de los explantes para producir embriones presento diferencias altamente significativas entre los tipos de explantes utilizados; observándose una marcada superioridad de las bases de pétalos con porcentajes que varían entre 0 a 75.9% en función del genotipo utilizado. Por su parte los estaminoides solo alcanzaron porcentajes 0 al 13%. La frecuencia embriogénica por explante oscila entre de 0 a 19 embriones/explante en bases de pétalos mientras que en estaminoides se alcanzo un máximo de 3 embriones/explante.

La embriogénesis somática secundaria fue iniciada con 21 de los 22 genotipos en estudio en el caso de los explantes provenientes de bases de pétalos obteniendo una

capacidad embriogénica que osciló 0 a 66%; mientras que en estaminoides se inició el proceso solo en 9 de los 22 genotipos los cuales alcanzaron porcentajes de explantes embriogénicos entre 0 al 23%. La frecuencia de embriones por explante durante la embriogénesis secundaria de los embriones de los explantes provenientes de bases de pétalos oscilan entre 2 a 10 embriones/explante; mientras que en estaminoides fue de 1 a 3 embriones/explante. Los porcentajes de germinación de los embriones en todos los casos fueron superiores al 50% tanto a nivel de los embriones provenientes de bases de pétalos como en estaminoides. El proceso de conversión a plántulas fue efectuado con embriones secundarios de genotipos en el caso de bases de pétalos obteniendo porcentaje de conversión 16.3 al 100% y en estaminoides 18.2 a 78.6%. Una vez que las plántulas de cacao alcanzaron un desarrollo de 4 a 5 hojas funcionales, estas fueron trasladadas al invernadero para el proceso de aclimatación en donde se obtuvieron porcentajes de prendimiento desde 9.1 al 100% en bases de pétalos y de 46.2 al 100% en aquellas provenientes de estaminoides. De acuerdo a los resultados obtenidos durante el proceso se puede concluir que los genotipos de cacao Nacional como los testigos internacionales estudiados presentan potencial para ser multiplicados *in vitro* vía embriogénesis somática, pero las respuestas diferenciales observadas obedecen al carácter genético de los materiales.

SUMMARY

Known difficulties for the vegetative propagation of cocoa clones prompted to carry out the present study to find out of response of a series of National cocoa genotypes and two Forasteros (IMC 67 and SCA 6), to a method of in vitro methodology propagation via somatic embryogenesis. The study was conducted in the laboratory and shade house of the Biotechnology laboratory of the Pichilingue tropical Research Station of the National Institute of Agricultural Research of Ecuador INIAP , located at 5.5 Km South of Quevedo, Ecuador. Twenty National genotypes and two Forasteros were used. The multiplication method followed those proposed by Li et al (1998) modified by Maximova(2000) using petal bases and staminoids from cocoa flowers as initial explants of the selected genotypes .

During the multiplication process a series of variables allowed to measure the response of the genotypes and types of explants. Contamination levels showed differences related to time of the year and type of explants used plating out. Level of callus formation during the phase of induction did not presented significant differences reaching values of more than 90% in all cases. The primary embryogenetic frequency per explants varied between 0 to 19 embryos/explants for petal bases while with staminoids only a maximum of 3 embryos/explants was reached.

The secondary embryogenesis started in 21 of the 22 genotypes, those from petal bases showed an embryogenetic capacity of 0 to 66%; from staminoids only 9 out of 22 genotypes started the process and the embryogenetic capacity varied from 0 to 23%. Frequency of embryos/explants from petal bases oscillates between 2 to 10, while same variable from staminoids varied only from one to the three embryos/explants. All embryos reached more that 50% germination in all cases and the corresponding conversion process to plants was undertaken with those secondary embryos; from petal bases the conversion values varied from 16 to 100% and from staminoids were 18 to 79%. Once the plantlets reached the stage of 4 to 5 functional leaves, they were transplanted to the shade house for adaptation; in this case 9 to a

hundred successes was obtained from those derived from petal bases and 46 to 100% from staminoids. The results obtained in this study showed that there is good potential to multiply National cacao via somatic embryogenesis particularly with explants taken from the petal bases, however it seems necessary to establish the response of each genotype to the process and make the corresponding adjustments.