



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
Y DE LA AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**TEMA: “Evaluación de la respuesta de tres genotipos
seleccionados de café robusta (*Coffea canephora* Pierre)
mediante embriogénesis somática indirecta y uso de Recipientes
de Inmersión Temporal Automatizados, RITA®”**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL GRADO DE:**

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR: SÁNCHEZ TIPÁN, DIANA AMPARO

DIRECTOR: MSC. JADÁN, MÓNICA
CODIRECTOR: ING.-MAT. ROMERO, PEDRO

SANGOLQUÍ, MARZO 2014

RESUMEN

La embriogénesis somática asociada con el uso de medios líquidos, ofrece múltiples ventajas para la propagación masiva y su uso conjunto con biorreactores permite automatizar el proceso. Sin embargo aunque estas técnicas están ampliamente descritas, es importante que sean validadas y ajustadas a los materiales genéticos de interés. La presente investigación tuvo como objetivo disponer de una metodología eficiente para la propagación masiva de genotipos de café robusta (*Coffea canephora* P.), mediante embriogénesis somática indirecta y Recipientes de Inmersión Temporal RITA. Se utilizaron tres genotipos de café robusta seleccionados por el INIAP (NP-2024, NP-2044 y NP-4024), que fueron evaluados mediante dos estudios. El primero evaluó varias combinaciones de 2,4-D más kinetina a efecto de conseguir altos niveles de inducción a callogénesis y embriogénesis y el segundo para adecuar el proceso de regeneración y germinación mediante empleo de biorreactores RITA utilizando un protocolo de propagación ya definido, que además sirvió como testigo. Los resultados mostraron que los genotipos fueron susceptibles de inducción, mostrando mejores respuestas a la combinación C1 (0.25 mg/l 2,4-D + 2.00 mg/l KIN) añadida al medio M1. Los genotipos lograron superar la fase de regeneración utilizando la combinación hormonal C1, a diferencia del genotipo NP-2044, que no produjo células embriogénicas para dicha combinación pero sí para el testigo (C6). Se registraron para cada tratamiento, un promedio de 2000 embriones somáticos regenerados y alrededor 400 embriones germinados. La propagación *in vitro* de café robusta tardó alrededor de 62 semanas hasta la obtención de embriones-germinados. El ANOVA mostró diferencias significativas entre los tratamientos analizados para ($p < 0.05$) señalando que la combinación fitohormonal utilizada así como el genotipo son factores que influyen fuertemente durante el proceso de propagación.

Palabras clave: Café robusta (*Coffea canephora* P.), suspensiones celulares, RITA (Recipiente de Inmersión Temporal Automatizado), micropropagación, embriogénesis somática.

ABSTRACT

Associated with the use of liquid media, somatic embryogenesis technology offers many advantages to the massive spread and their use with temporary immersion bioreactor, allows you to automate the process. Although the techniques are widely described, it is important that these have been validated and adjusted to the characteristics of the genetic materials of interest. Therefore, this research was developed with the aim of providing an efficient methodology for the mass propagation of breeder genotypes of robusta coffee (*Coffea canephora*. P), by indirect somatic embryogenesis and temporary immersion systems RITA. We used three breeder genotypes of robusta coffee, selected by INIAP (NP-2024, 2044-NP and NP-4024), which were evaluated through two studies. The first one, to test some combinations of 2, 4-D plus kinetin, to improve and ensure high levels of callogenesis and embryogenesis induction and; the second one to validate the regeneration and germination process using RITA bioreactor, using a propagation protocol already defined which also served as a control treatment. The results showed that the genotypes used were susceptible to callogenic and embryogenic induction, showing improved the best responses to the combination C1(0.25 mg/l 2,4-D) + 2.00 mg/l KIN) added to the medium M1. The three genotypes in study triggered the regeneration phase using the hormone combination C1, unlike NP-2044 genotype in combination with combination to the control (C6), which do not produced embryogenic cells and as a result the regeneration of embryos was impossible. Were recorded for each treatment, an average of 2000 regenerated somatic embryos and about 400 germinated embryos. In the present study, the in vitro cultivation of coffee took an average time of 62 weeks to obtain germinated somatic embryos. The ANOVA showed significant differences between treatments analyzed ($p < 0.05$) proving that both the combination and the genotype are factors that have strongly influence during propagation.

Key words: Robusta coffee, cell suspensions, RITA (temporary immersion system), micropropagation, somatic embryogenesis.