

CONCLUSIONES

El protocolo desarrollado en el laboratorio de biotecnología de la Estación Experimental Litoral Sur del INIAP permitió obtener clones de cuatro genotipos de café (dos híbridos tipo arábigo y dos clones tipo robusta), seleccionados por el equipo técnico de la ESPAMMFL, por sus características superiores de rendimiento y resistencia a enfermedades como la roya (*Hemileia vastatrix* L).

La tecnología generada, es de utilidad para los programas de mejoramiento genético de este cultivo en el Ecuador y países caficultores, debido a que, al mismo tiempo que permite clonar a gran escala genotipos seleccionados, amplía la posibilidad de implementar técnicas avanzadas de ingeniería genética como la edición génica para el mejoramiento genético de este cultivo.

LITERATURA CITADA

Aguilar ME, Wang X-y, Escalona M, Yan L and Huang L-f (2022) Somatic embryogenesis of Arabica coffee in temporary immersion culture: Advances, limitations, and perspectives for mass propagation of selected genotypes. *Front. Plant Sci.* 13:994578. doi: 10.3389/fpls.2022.994578

De Fera, M., Jiménez, E., Barbón, R., Capote, A., Chávez, M., and Quiala, E. (2003). Effect of dissolved oxygen concentration on differentiation of somatic embryos of *Coffea arabica* cv. Catimor 9722. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 72, 1–6. doi: 10.1023/A:1021202305692

Aguilar, M. E., Ortiz, J. L., Mesén, F., Jiménez, L. D., and Altmann, F. (2018). "Cafe arabica (Coffee arabica L.)," in *Step wise protocols for somatic embryogenesis of important woody plants*. Eds. S. Jain and P. Gupta (Gewerbstrasse, C: Springer [Switzerland]), 39–62. doi: 10.1007/978-3-319-79087-9-3

Söndahl, M. R., and Sharp, W. R. (1977). High frequency induction of somatic embryos in cultured leaf explants of *Coffea arabica* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 81, 395–408. doi: 10.1016/S0044-328X(77)80175-X

Van Boxtel, J., and Berthouly, M. (1996). High frequency somatic embryogenesis from coffee leaves. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 44, 7–17. doi: 10.1007/BF00045907

Zamarripa, A., Ducos, J. P., Bollon, H., Dufour, M., and Pétiard, V. (1991). Production of coffee somatic embryos in liquid medium: effects of inoculation density and renewal of the medium. *Café Cacao.* 35, 233–244.

Autores: Bertin Osorio, Elisa Quiala, Inés Tapay, Gerardo Martínez, Cristian Zambrano, Paúl Vélez, Luis Duicela, William Chilán, Noely Ruíz, Saúl Mestanza y James Quiroz.

Colaboradores: Lupercio Beltrán y Mónica Puga.

Como citar esta publicación: Osorio B., Quiala E., Tapay I., Martínez G., Zambrano C., Velez P., Duicela L., Chilán W., Ruiz N, Mestanza S. y Quiroz J (2024) Embriogénesis somática a partir de segmentos de la hoja de café (*Coffea spp.*). Plegable No. 501

2024

Todos los derechos reservados sobre las imágenes de este documento, las cuales constituyen propiedad del INIAP

INIAP
1800 247600

ATENCIÓN AL CIUDADANO

Embriogénesis
somática a partir de
segmentos de la hoja
de café (*Coffea spp.*)

INIAP implementa herramienta que
permite clonar y multiplicar a gran
escala cuatro genotipos de café a
partir de segmentos de la hoja

Plegable No. 501

Embriogénesis somática a partir de segmentos de la hoja de café (Coffea sp.)

INTRODUCCIÓN

El INIAP y la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (ESPAMMFL) evalúan en conjunto, la respuesta en campo de genotipos de café obtenidos a partir del cruzamiento de variedades resistentes a la roya como Catimor (Caturra x Híbrido de Timor), Cavimor (Catuai x Catimor) y Sarchimor (Villa Sarchí x Híbrido de Timor) con variedades arábicas puras (Caturra, Pache y Bourbon) e híbridos de tipo robusta procedentes de la región amazónica. Eso con el objetivo de identificar y seleccionar individuos que reúnan las características de alta producción por planta, morfológicamente de porte bajo y con tolerancia o resistencia a la roya.

Estos híbridos deben multiplicarse de manera clonal para su cultivo y evaluación en diferentes zonas productoras del Ecuador, con el objetivo de validar la alta productividad y nivel de resistencia a la roya (*Hemileia vastatrix* L).

En cafeto los métodos convencionales de propagación como esquejes o semillas, pueden perder rápidamente su viabilidad, en cambio, las técnicas biotecnológicas como la embriogénesis somática, permiten la micropropagación masiva de genotipos deseables en menos tiempo (Gatica et al., 2007). Esta técnica, es un método de regeneración eficiente en café, que mediante la aplicación de reguladores de crecimiento en un medio de cultivo nutritivo, se logra una tasa de multiplicación elevada, formando embriones a partir de células somáticas (directa), o requiriendo una fase de callo previa (indirecta), permitiendo la propagación clonal (Söndahl and Sharp, 1977; Zamarripa et al., 1991; Van Boxtel and Berthouly, 1996; De Fera et al., 2003; Aguilar et al., 2022).

Este trabajo se realizó con el objetivo de desarrollar un protocolo de propagación clonal in vitro vía embriogénesis somática a partir de segmentos foliares de cuatro genotipos de café seleccionados por su rendimiento y resistencia a roya.

METODOLOGÍA

Selección de plantas donadoras

El proceso de regeneración de plantas mediante embriogénesis somática en café inicia con la selección en campo de genotipos con características superiores en cuanto a rendimiento y resistencia a roya. Se selecciona hojas sanas y jóvenes de ramas ortotrópicas en activo crecimiento y se trasladan al laboratorio. A esto le sigue la fase de formación de callos (FC) in vitro.



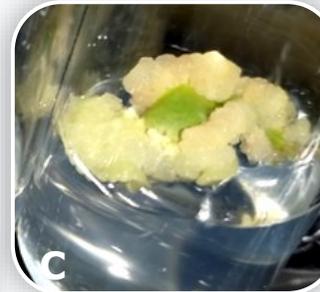
Formación de callos a partir de la hoja



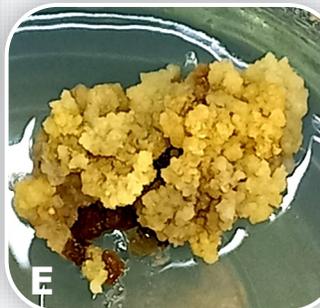
Las hojas se desinfectan con hipoclorito de sodio al 1% por 20 min y con ayuda de pinzas y tijeras en condiciones estériles, la lamina foliar se divide en fragmentos de 1 cm². Estos se siembran en un medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) con auxinas y citoquininas en proporción 1:4 y se cultivan en oscuridad y 28±2 °C de temperatura para la formación de callos.

Diferenciación de callos embriogénicos

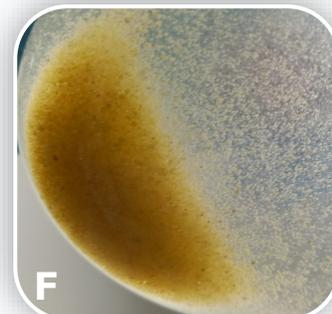
A los 60 días, los callos que se forman por los bordes del explante (Foto C) se separan del segmento y se transfieren a un medio de cultivo MS con citoquininas para la diferenciación y formación de los embriones somáticos (ES).



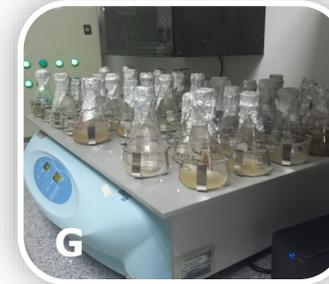
ESBF: se forman menor cantidad ES en estado avanzado de desarrollo (Foto. D).



ESAF: Se caracteriza por incontables ES en estado temprano de desarrollo (Fig. E), los cuales se inoculan en erlenmeyers con medio de cultivo MS líquido con auxina y se cultivan en oscuridad y agitación constante (100 rpm) para formar suspensiones celulares embriogénicas (SCE)

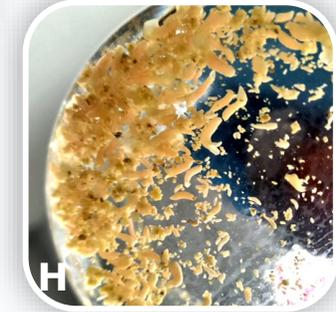


Multiplicación y diferenciación de SCE



Cada semana se renueva el 40% del medio de cultivo y cada 45 días se subdividen en nuevos erlenmeyers y se mantienen en las mismas condiciones de oscuridad y agitación para la multiplicación (Foto G).

La formación de los ES se puede lograr también en medio de cultivo líquido en agitación para ello se inoculan 0.5 g de masa fresca de agregados celulares de la SCE en medio de cultivo MS que contiene citoquinina y a los 45 se observa la formación de ES de color blanco en estado de torpedo (Foto H).



Regeneración de plantas



A los 30 días los ES germinados se transfieren a medio de cultivo fresco de igual composición y permanecen en las mismas condiciones de cultivos hasta la formación de plantas completas con hojas verdaderas (Foto H). Después de 4 meses de iniciada la germinación las plantas están listas para la transferencia al invernadero.

Los ES se transfieren a medio de cultivo MS con 0.22 mg L⁻¹ de citoquinina y condiciones de luz para la germinación. Estos se alargan y se tornan de color verde y a los 30 días se puede observar la emergencia de las hojas cotiledonales y de las raíces (Foto I).



En esta fase del proceso se encuentra la metodología estandarizada por el INIAP para cuatro genotipos de café ecuatorianos.