

# INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCION.....	9
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	12
2.1. Antecedentes históricos del cultivo.....	12
2.1.1. Importancia económica de la caficultura...	12
2.2. Características botánicas y sistemáticas del cafeto.....	13
2.3. Modo de reproducción de cafetos.....	15
2.4. Breve reseña histórica del cultivo de tejidos....	16
2.4.1 Etapas en el desarrollo del cultivo <i>in vitro</i> .....	17
2.5. Cultivo <i>in vitro</i> del café.....	19
2.6. Reguladores del crecimiento de las plantas.....	25
2.6.1. Auxinas.....	26
2.6.1.1. Tipos de auxinas.....	26
2.6.2. Giberelinas.....	27
2.6.3. Citoquininas.....	27
2.6.3.1. Tipos de citoquininas.....	27
2.6.4. Otros reguladores del crecimiento.....	28
2.6.4.1. Acido Abscísico.....	28
2.6.4.2. Etileno.....	28
2.7. Morfogénesis <i>in vitro</i> .....	29
2.7.1. Organogénesis y embriogénesis.....	30
2.7.2. Control de la morfogénesis.....	32
2.7.2.1. Fuente del material vegetal.....	32
2.7.2.2. Reguladores del crecimiento.....	36
2.8. Embriogénesis somática.....	39
2.9. Utilización del polimorfismo bioquímico en el mejoramiento de plantas.....	44
2.9.1. Utilización de la técnica electroforética en el cultivo del cafeto.....	46
3. MATERIALES Y METODOS.....	49
3.1. Selección y manipulación del material vegetal.....	49
3.1.1. Selección del material genético.....	49
3.1.2. Selección del material vegetal en campo...	49
3.2. Composición básica de los medios de cultivo utilizados en este estudio.....	51
3.3. Experimentos desarrollados <i>in vitro</i> .....	51
Experimento I. Desinfección de los explantes de hojas de café.....	51
Experimento II. Control de la fenolización de los explantes.....	53
Experimento III. Efecto del fotoperíodo y la oscuridad en la formación de callos.....	55
Experimento IV: Efecto de la posición de la hoja en la rama sobre la formación de callos.....	55



Experimento V: Efecto de la posición del explante sobre el medio de cultivo.....	55
Experimento VI: Evaluación del 2,4-D combinado con BAP o kinetina sobre la formación de callos embriogénicos.....	56
Experimento VII: Evaluación del ANA y el AIB combinados con kinetina en la formación de embriones somáticos (ES) en cafeto.....	56
Experimento VIII: Respuesta al fotoperíodo y a la oscuridad en la inducción de E.S.....	59
Experimento IX: Asincronía en la embriogénesis somática.....	59
Experimento X: Efecto de diferentes combinaciones hormonales sobre el desarrollo de E.S.....	60
Experimento XI: Evaluación de las 7 variedades estudiadas en cuatro medios de cultivo.....	60
Experimento XII: Respuesta de E.S. y E.C. sobre un mismo medio de cultivo.....	62
3.4. Experimentos desarrollados post-in vitro.....	62
Experimento XIII: Estudio de adaptación de las vitroplántulas procedentes de E.S.....	62
Experimento XIV: Análisis electroforético de las vitroplántulas.....	64
3.5. Análisis estadístico.....	65
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	67
4.1. Experimentos desarrollados in vitro.....	67
Experimento I: Desinfección de los explantes de hojas de cafeto.....	67
Experimento II: Control de la fenolización de los explantes.....	67
Experimento III: Efecto del fotoperíodo y la oscuridad en la formación de callos.....	71
Experimento IV: Efecto de la posición de la hoja en la rama sobre la formación de callo embriogénico.....	75
Experimento V: Respuesta del explante de acuerdo a la posición de la hoja en el medio de cultivo.....	80
Experimento VI: Efecto del 2,4-D combinado con BAP o kinetina en la formación de callo embriogénico.....	82



Experimento VII: Efecto del ANA y el AIB combinados con kinetina en la formación de ES en callo de café (var. 9722).....	85
Experimento VIII: Respuesta al fotoperíodo y la oscuridad en la formación de embriones somáticos (E.S.)...	88
Experimento IX: Asincronía de la embriogénesis somática .....	95
Experimento X: Efecto de diferentes combinaciones hormonales en el desarrollo de E.S.....	98
Experimento XI: Respuesta de E.S. de las 7 variedades estudiadas en cuatro medios de cultivo.....	105
Experimento XII: Respuesta de ES y EC sobre un mismo medio de cultivo.....	105
4.2. Experimentos desarrollados post <i>in vitro</i> .....	113
Experimento XIII: Adaptación de las vitroplántulas de café a diferentes condiciones.....	113
Experimento XIV: Resultados electroforéticos de las vitroplántulas obtenidas.....	119
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	124

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

#### ANEXOS



## SINTESIS

El presente estudio fue realizado en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) con el objetivo de conocer la influencia de algunos factores sobre la inducción y desarrollo de la embriogénesis somática en el cafeto. Las variedades seleccionadas correspondieron a las especies Coffea arabica y Coffea canephora. La fuente de material vegetal lo constituyeron hojas de ramas ortotrópicas de plantas élites establecidas en campo.

Se estudió el efecto de la posición de la hoja en la rama; la posición del explante sobre el medio de cultivo: del fotoperíodo de 16 horas luz, así como de la oscuridad constante y la composición hormonal del medio de cultivo para la inducción del callo embriogénico y la formación de embriones somáticos (E.S.) Se evaluó además, el grado de asincronía en el proceso de embriogénesis somática y la respuesta de los E.S. frente a diferentes combinaciones hormonales para inducir su desarrollo.

Finalmente se analizó el comportamiento de las vitroplántulas bajo diferentes condiciones de adaptación a fin de lograr índices aceptables de supervivencia y desarrollo de las mismas.

La estabilidad genética fue monitoreada mediante el empleo de las técnicas electroforéticas y los tests de resistencia a la roya del cafeto (Hemileia vastatrix Berk).

De los resultados obtenidos se pudo concluir que es posible hacer una inducción eficiente de formación de callos cuando son utilizadas hojas del 3° y 4° nudos de ramas ortotrópicas en las arabicas, mientras que la Robusta (C. canephora) se extiende desde el 2° nudo. Los explantes deben ser colocados con el haz en contacto con el medio de cultivo y sometidos a oscuridad constante durante la fase de callo y diferenciación, mientras que la transferencia de los E.S. a fotoperíodo de 16 horas luz se debe hacer solo para su germinación y desarrollo en plántulas.

Resultaron más adecuados para inducir la callogénesis, los medios que contienen un balance BAP-2,4-D para todas las variedades estudiadas y en el caso de la var. Robusta resultó también adecuado el balance Kin-2,4-D. La diferenciación fue obtenida con mayor eficiencia en el balance ANA-Kin y aceptable en combinaciones de AIB-Kin.

El desarrollo de las plántulas fue menos exigente a la composición hormonal, respondiendo adecuadamente en una amplia gama de medios de cultivo, mientras que la supervivencia en umbráculo y vivero con control de la transpiración durante las primeras semanas (1-2), superó el 95 %.

Los análisis electroforéticos así como los tests de resistencia permitieron conocer la uniformidad genética del material propagado por embriogénesis somática en el cultivo del cafeto.