

*Multiplicación semicomercial de
materiales élite de café
a través de embriogénesis
somática : Beneficios y Riesgos*

N. Vásquez, A. Pereira.

PROGRAMA MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL CAFÉ ARABICA (1992)

PROMECAFE

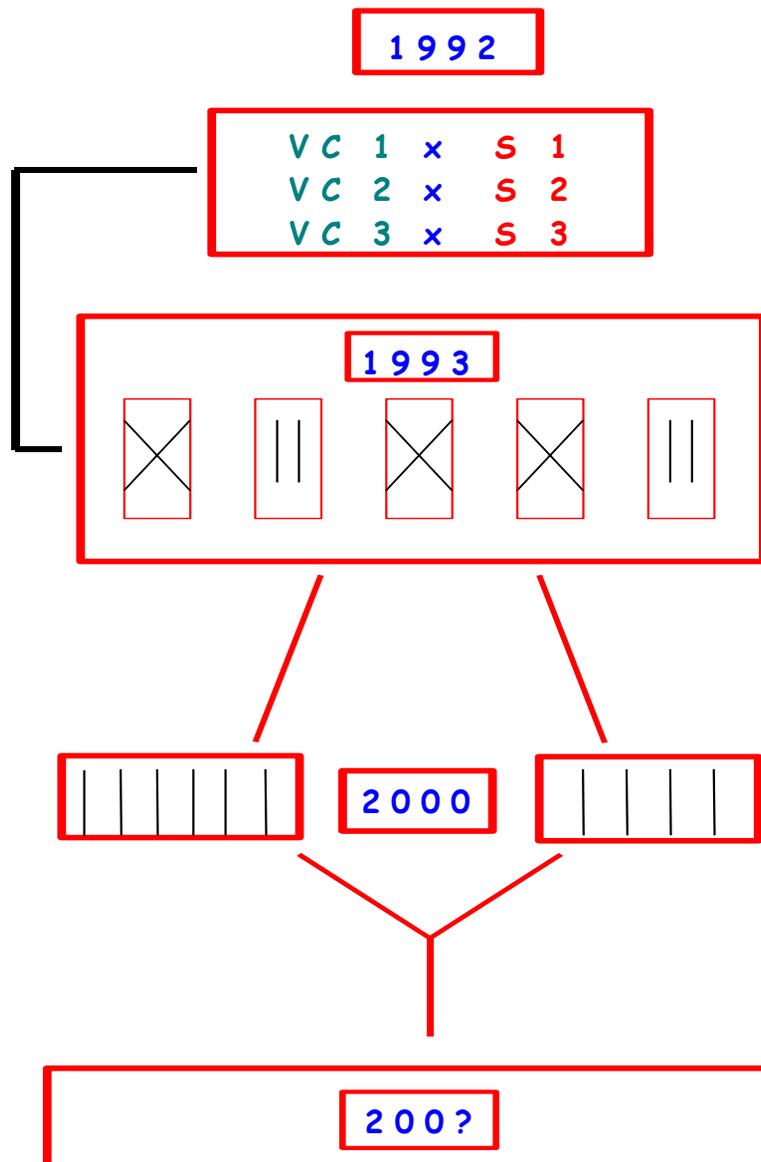
CATIE



CIRAD

Basado en la hibridación de las mejores variedades locales con las de orígenes silvestres de Etiopía y Sudán disponibles en el germoplasma del CATIE

Creación y liberación de híbridos F1



Polinización controlada

VC = Variedad comercial
(Caturra, Catuaí, Catimor)
S = Silvestres (Etiopes)

Prueba de F1 en varios ensayos:

- Producción,
- Resist. a enfermedades y plagas.
- Características de los frutos,
- Calidad de la bebida.

- Multiplicación semicomercial de los mejores individuos.
- Prueba de ensayos agronómicos regionales.
- Pruebas de catación

Obtención y liberación de nueva(s) variedad(es) (ICAFE)

Materiales seleccionados: 20 híbridos

Características:

- Una productividad que supera en más de 30% al CR- 95 y al Caturra
- Mejor calidad de taza
- Mejor adaptabilidad
- Resistencia durable a la roya y a los nemátodos *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne exigua* para la mayoría de los candidatos.



Reproducción



Semilla No!

Capacitar para evitar que los productores lo hagan.

Reproducción asexual o vegetativa

Propagación clonal:

Propagar una planta asexualmente por injerto, estacas enraizadas, cultivo de tejido, o semillas apomícticas. Generar una planta completa a partir de una simple célula.

Estacas o injertos



**Poca disponibilidad de material vegetal,
baja eficiencia, alto costo de mano de obra**

Propagación in vitro

Cultivo in vitro

Cultivo de tejidos

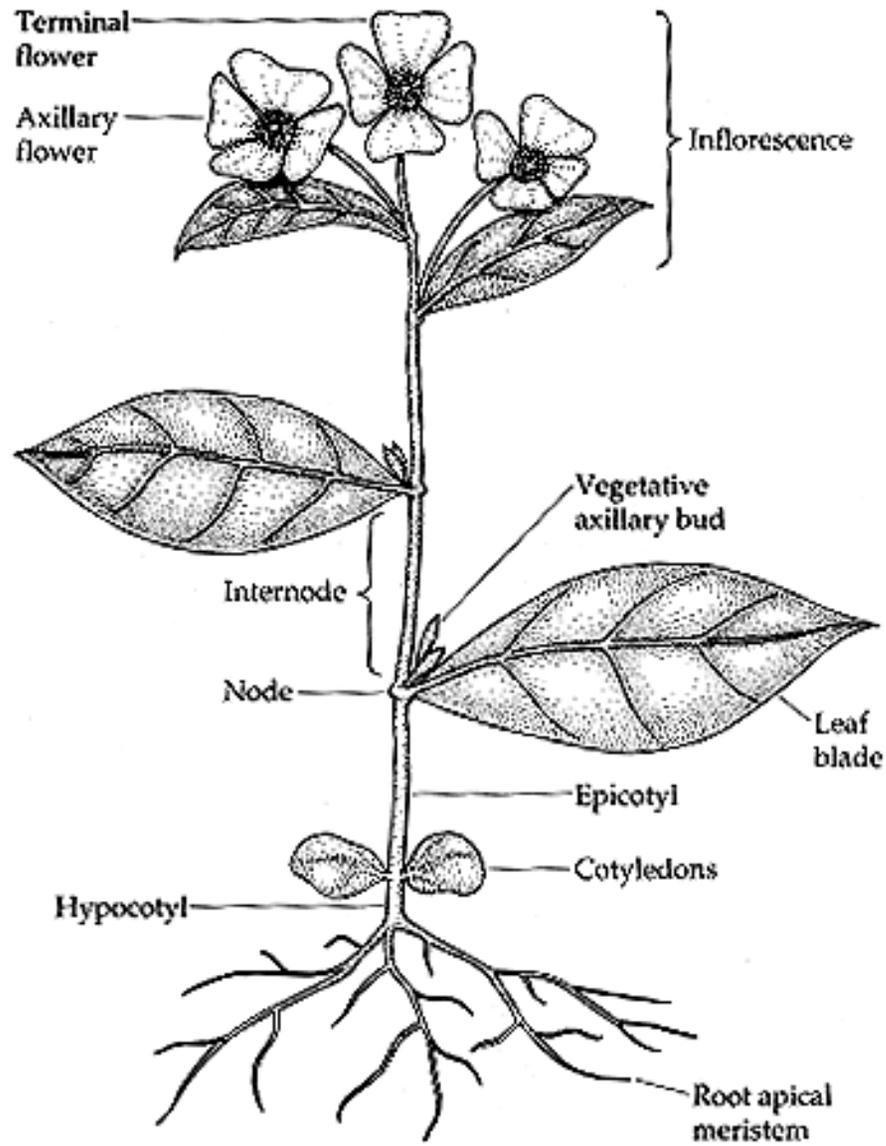
Micropropagación

Cultivo de tejidos



" Cultivo de partes de una planta (semillas, hoja, tallo, hipocotilo, cotiledones, partes florales, etc), sobre un medio nutritivo, bajo condiciones estériles "

La parte de la planta usada se conoce como explante y puede ser el tallo, la hoja, el meristemos apical del vástago, las yemas axilares, partes florales, raíz, o células de la planta.

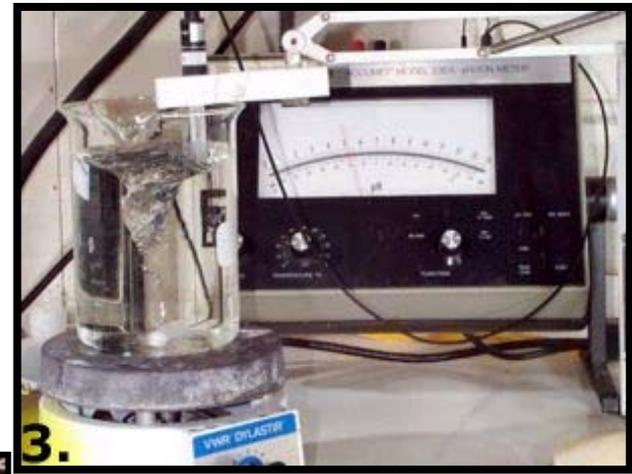


Se requiere:

Un espacio de uso común, materiales y equipo de uso general.

Pilas, áreas de drenaje, alacenas, áreas para trabajo aséptico. Se requiere además cuartos de crecimiento con condiciones de luz y temperatura controlados





Características

Condiciones ambientales optimizadas (luz, temperatura, nutrientes).

Material libre de patógenos (hongos, bacterias, nemátodos, ácaros, etc).

Materiales infectados con virus también pueden ser limpiados a través de termoterapia y cultivo de meristemos.

Fundamentación

Totipotencia

"Todas las células de la planta tienen el mismo contenido genético, pero su potencialidad no se manifiesta siempre. Existen mecanismos de activación y represión de genes que determinan las características que se manifiestan"

Haberlandt, 1902

El cultivo de tejidos empieza con la selección del cultivo a ser propagado.

La parte de la planta a utilizar depende del tipo de cultivo.

La selección de la planta madre es muy importante; debe ser sana y con crecimiento vigoroso.



Usos del cultivo de tejidos

- ☐ Propósitos científicos e investigación básica**
- ☐ Micropropagación**
- ☐ Producción de plantas libres de patógenos**
- ☐ Mejoramiento genético (producción de plantas haploides)**
- ☐ Producción de semilla sintética**
- ☐ Puede utilizarse el cultivo de embriones para semillas que presentan dificultad de germinación.**
- ☐ Conservación de germoplasma**
- ☐ Producción de metabolitos secundarios**
- ☐ Ingeniería genética**

Propagación in vitro

Microestacas

Embriogénesis somática directa

Embriogénesis somática indirecta

PROPAGACIÓN POR MICROESTACAS

Ventaja

- La propagación es totalmente conforme a la planta madre

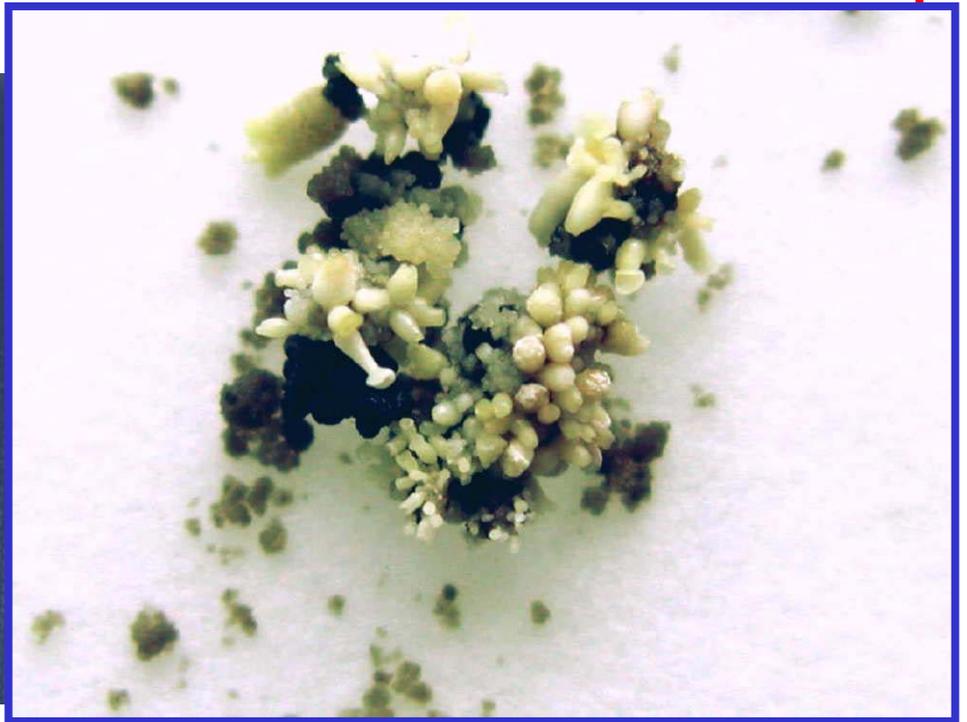
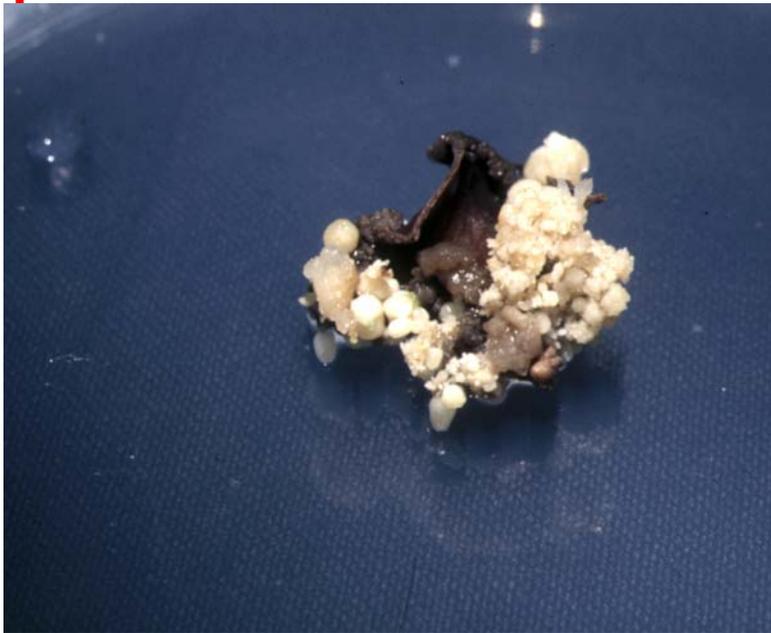
Desventajas

- Es una metodología costosa debido a que requiere una manipulación muy pesada.
- Ofrece tasas de multiplicación muy limitadas.



EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA DIRECTA

⇒ De baja frecuencia



EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA INDIRECTA



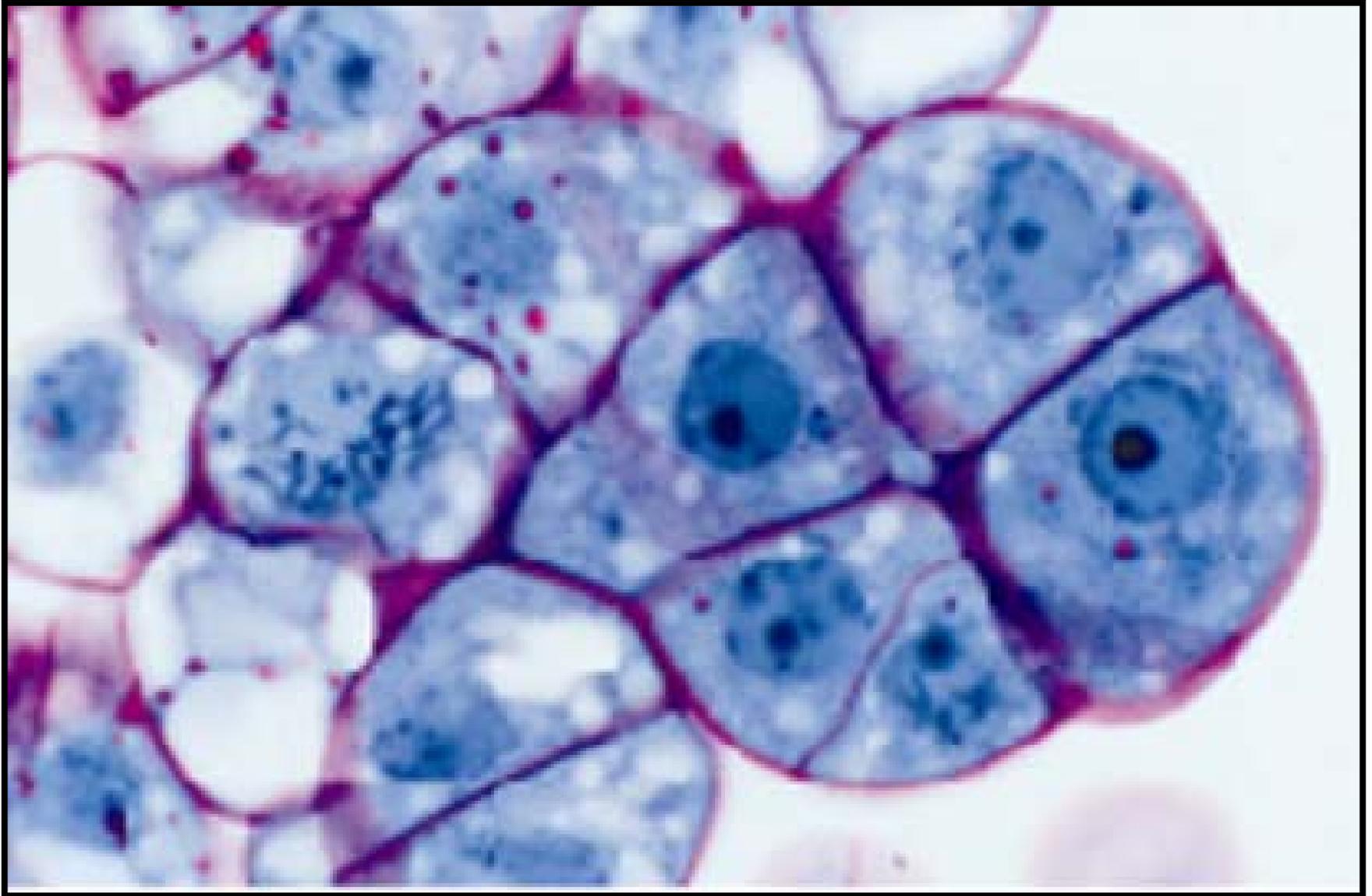
➔ **De alta frecuencia:** es la que ofrece mejores posibilidades de multiplicación, ya que se produce un mayor número de individuos en un tiempo relativamente corto. Es además menos cara que las otras ya que si se maneja correctamente, no requiere el uso de mucha mano de obra, ni grandes espacios en el laboratorio.

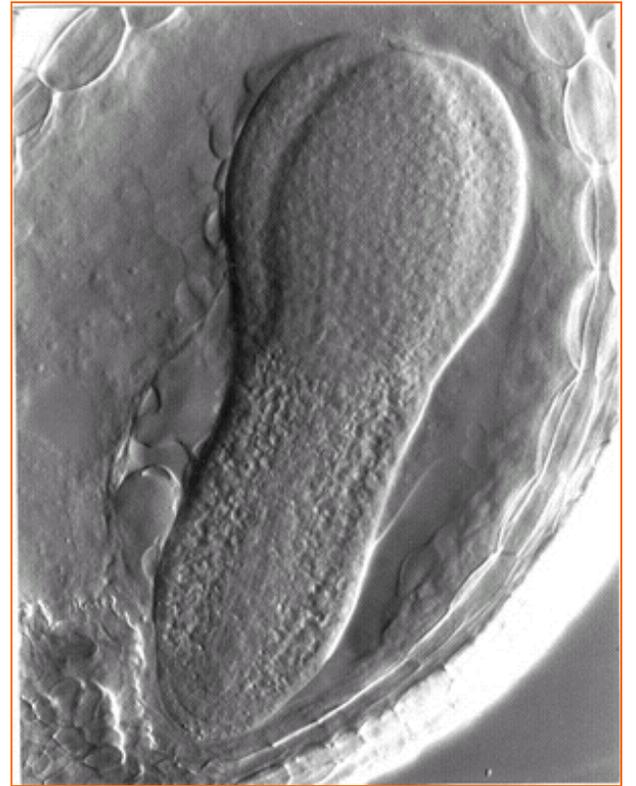
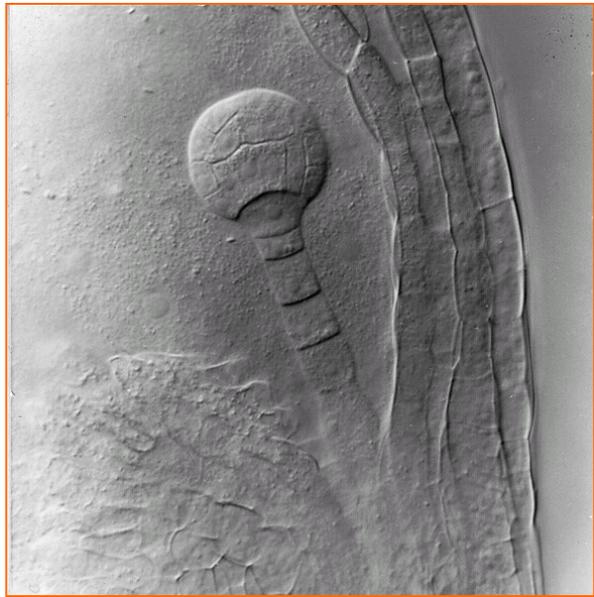
1. Callogénesis: Se utiliza como explante un segmento de hoja joven el cual después de la desinfección se coloca en un medio de cultivo durante un mes, bajo condiciones de oscuridad y a 27°C. Luego se transfiere a un medio de inducción de la embriogénesis y se coloca bajo luz indirecta hasta la aparición del callo embriogénico de alta frecuencia.



2. Regeneración: El callo embriogénico es puesto en suspensión celular con el fin de multiplicarlo. Posteriormente se coloca en bioreactores de inmersión temporal RITA[®]. (con medio de cultivo líquido) para la formación de embriones somáticos, y su desarrollo hasta la conversión en planta.



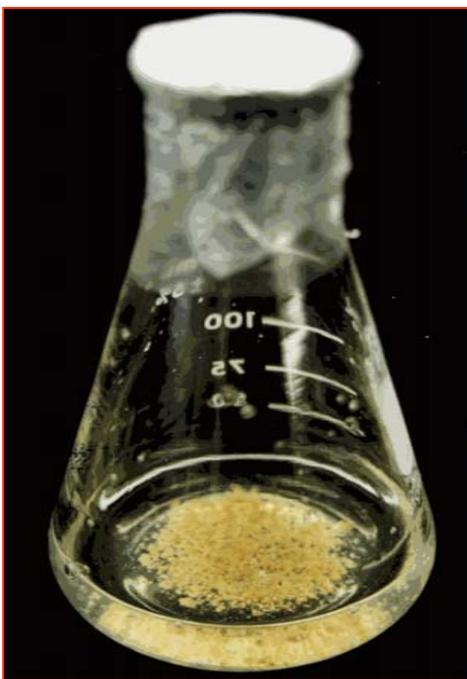




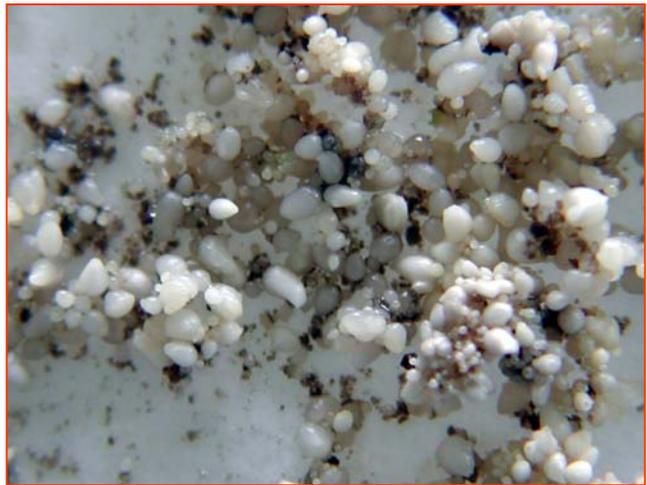
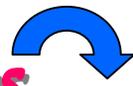
Suspensiones celulares



Callo embriogénico



*Regeneración
embriones somáticos*



Bioreactores





3. Siembra: Después de la germinación en el bioreactor, los embriones somáticos en el estado "torpedo cotiledonar" son sembrados directamente en bandejas plásticas rectangulares con un sustrato hortícola (1:1:1 tierra, arena de río, *Sphagnun*). La aclimatación se hace en el invernadero a una alta humedad y baja luminosidad durante 4 semanas, posteriormente se trasladan a un vivero bajo techo, y cuando las plantas alcanzan los 5cm se pasan a bolsas de vivero.

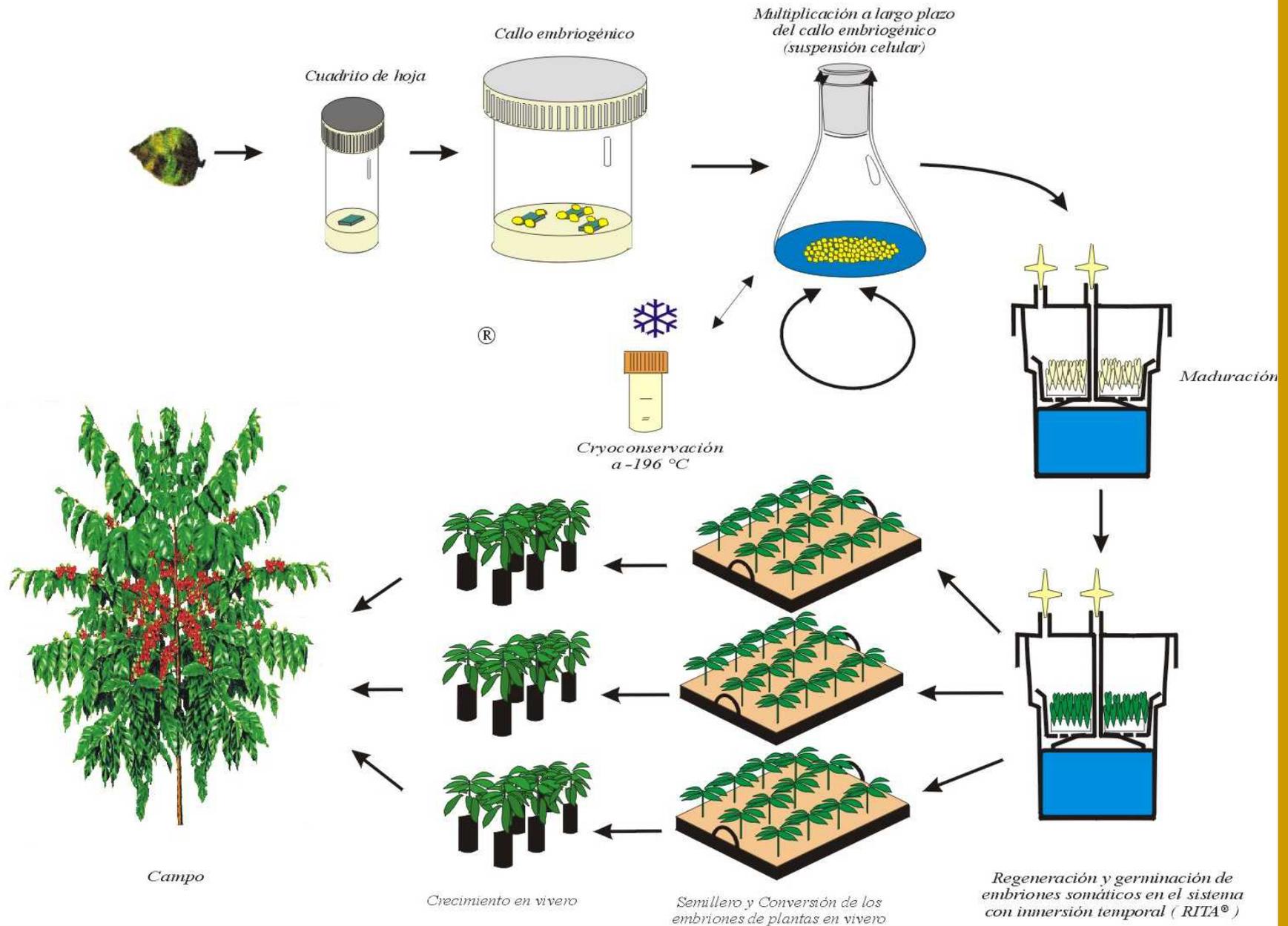








Embriogénesis somática del café Producción masal en medio líquido





Principales resultados

1. Existe una metodología confiable para una reproducción semicomercial de los híbridos preseleccionados.
2. Se maneja muy bien el establecimiento y multiplicación de suspensiones celulares así como la y regeneración de embriones.
3. Se maneja muy bien el uso de bioreactores.
4. Están bien establecidas las condiciones de aclimatación en vivero y campo.

Algunas malformaciones in vitro



RIESGOS

- Medios de cultivo llevan 2-4D (auxina, induce variación somaclonal)
- Debe cuidarse el # de subcultivos.
- Debe controlarse la calidad de las plantas madre (Disminuir riesgo de VS). No se recomienda multiplicar plantas obtenidas por cultivo *in vitro*.
- Edad de la suspensión celular, a mayor edad más riesgo de V.S.
- Capacidad de regeneración del material.

RIESGOS

- Poca capacidad de los bioreactores actuales.
- Malformación en bioreactor.
- Vitrificación.
- Proceso de aclimatación en vivero.
- Una vez liberados cualquiera los puede multiplicar!!
Se perdería cualquier posibilidad de darles seguimiento.
- No se van a quedar solo en CA.

Recomendaciones

- Seguir trabajando con el protocolo de multiplicación para hacerlo más eficiente.
- Iniciar rápidamente una campaña educativa en relación con los materiales y la forma de multiplicación.
- Brindar capacitación a diferente nivel (Juntas Directivas Institutos del café, Ministerios, Ingenieros, Técnicos, Productores, etc. para que se conozca sobre el manejo de los materiales (Importancia no reproducirlos por semilla).

- En caso de ser liberados debe haber un control por parte de los Institutos del Café de dónde van a ser sembrados y qué cuidados van a darse para no utilizarlos como semilla.
- Se puede hacer folletos para distribuir entre compradores y personas interesadas.
- Publicación en principales medios de información. Estandarizar a nivel de la región el tipo de información que se dará.

- Definir los controles que se ejercerán sobre los mismos.
- Definir las recomendaciones de manejo en campo.
- Definir condiciones para que puedan ser una opción para pequeños productores.
- Definir quién o quienes harán la multiplicación *in vitro*, tomando en consideración que habría que entregarles las plantas madre.
- Definir los términos bajo los cuales se hará esta multiplicación y entrega de materiales.

DE COSTA RICA
The Authentic Taste of Café



Muchas
gracias!