



POTENCIAL DE REGENERACION VIA EMBRIOGENESIS SOMATICA DE DIFERENTES GENOTIPOS DE CACAO (*THEOBROMA CACAO*)

Ana Maria Henao, Adriana Gallego, Tatiana de la Hoz, Deisy Moreno, Aura I. Urrea T. y Lucia Atehortúa. Universidad de Antioquia (Instituto de Biología), Medellín. A.A 1226, anamariabiotech@gmail.com

Palabras clave: propagación masiva, embriogénesis secundaria, inmersión temporal.

Introducción. Un aspecto reiterante en la actualidad es la necesidad urgente del desarrollo de tecnologías innovadoras que le permitan al sector primario cacaotero producir constantemente material vegetal de alta calidad, para contribuir a la competitividad de las empresas chocolateras. La producción masiva de clones élite de cacao es fundamental para superar el déficit de material vegetal, uno de los problemas críticos en Colombia. En la búsqueda de estas alternativas, el presente trabajo se planteó propagar variedades élite de cacao vía embriogénesis somática en medios sólidos y líquidos, como método de regeneración con gran potencial de automatización.

Metodología. Material Vegetal: Pétalos y estaminodios de botones florales cerrados de las variedades comerciales de cacao ICS1, ICS60, ICS95, CCN51, TSH565. Se evaluó el protocolo de desinfección descrito por Gallego et al. (1), con algunos ajustes para lograr el establecimiento aséptico de los cultivos *in vitro*. Para la etapa de inducción y expresión de los embriones primarios se evaluaron los medios de cultivo sólidos reportados por Guiltinan et al. (2) y Fontanel et al. (3). Para la obtención de embriones secundarios se evaluó la metodología descrita por Guiltinan et al. (2). Se realizó además un ensayo preliminar del efecto del sistema de inmersión temporal (RITA) sobre la formación de embriones a partir de callos embriogénicos. Se evaluaron dos tiempos de inmersión (4 y 6 horas), dos tipos de explante y dos concentraciones de inóculo (1000 y 3000mg) en la variedad TSH565. **Análisis estadístico:** Se realizaron modelos lineales generalizados utilizando el programa R y el programa PRISM 5 para el desarrollo de las gráficas con sus respectivas desviaciones estándar.

Resultados. Se alcanzó un porcentaje de desinfección cercano al 100%, con modificaciones en los tiempos de inmersión en los biosidas (10-15min). Para el porcentaje de formación de embriones, se encontraron interacciones significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos excepto para la variedad CCN51. Los resultados confirman que existe dependencia del genotipo no solo para la respuesta embriogénica, sino también para la cantidad de embriones promedio obtenidos por explante.

Con relación a la producción de embriones secundarios por explante se logró en promedio entre 2 y 3 embriones por fragmento de embrión primario solo para las variedades TSH565, CCN51 e ICS60.

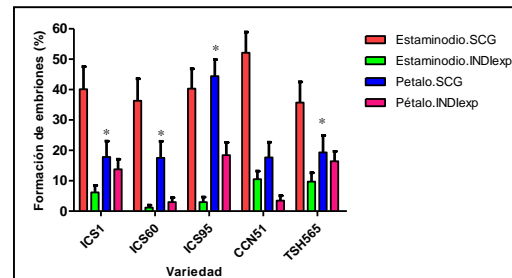


Fig. 1. Porcentaje de formación de embriones en los genotipos ICS1, ICS60, ICS95, CCN51, TSH565 por tratamiento.



Fig. 2. Embriones somáticos en estado globular y cotiledonar A) INDexp Est TSH565 B) INDexp Pet TSH565

En el ensayo con el medio líquido, inmersiones cada 4 horas de 1000mg de callo obtenido a partir de pétalo presentó los mejores resultados, 27% de formación de embriones.

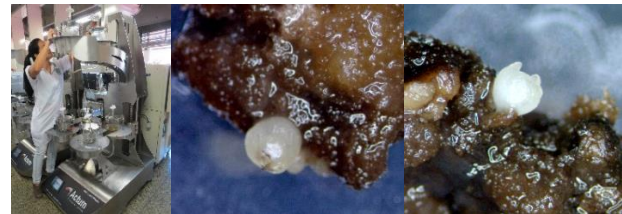


Fig. 3. Embriones en estado cotiledonar regenerados en los sistemas de inmersión temporal

Conclusiones. El genotipo TSH565 alcanzó el mayor número de embriones en estado cotiledonar en medio sólido, seguido de CCN51 e ICS60. El sistema de inmersión temporal presenta potencial de aplicación en el desarrollo de embriones somáticos del genotipo TSH565.

Agradecimiento. Ministerio de Agricultura, CENIREC, Corporación Formamos y Universidad de Antioquia.

Bibliografía.

- Gallego A, Urrea A, Atehortúa L. 2011. *Revista Colombiana de Biotecnología* 13:39-50.
- Guiltinan M, Young A, Miller C, Antunez G, Pishak S, Maximova S. 2003. *Cacao Tissue Culture Protocol Book*. PSU. USA. 19-26.
- Fontanel A, Gire S, Labbé G, Von-Rutte S, Petiard V. 2006. In vitro multiplication and plant regeneration of *Theobroma cacao* L. via stable embryogenic calli. *10th IAPTC Congress Plant Biotechnology*. Orlando, Junio 23-28, 18-19.