

PROPAGACIÓN DEL CACAO A PARTIR DE CÉLULAS DE LAS FLORES

Embriones obtenidos de Estaminodios
de la variedad CCN51





Embriones obtenidos de Estaminodios
de la variedad CCN51

Embriones obtenidos de pétalos
de la variedad TSH565

*Por: Aura Inés Urrea, Ana María Henao, Lucía Atehortua,
Grupo de Biotecnología Universidad de Antioquia.
Alejandro Gil Aguirre y Lucas Penagos Vélez, Compañía Nacional de Chocolates.*

Colombia no es competitiva en la industria cacaotera debido a que los cultivos tienen una muy baja productividad. El Grupo de Biotecnología de la Universidad de Antioquia evalúa la embriogénesis somática en variedades élite de cacao, con miras a enfrentar los retos de producción.



Selección en campo de los árboles de cacao donadores de botones florales



Flores, botones florales y mazorca de cacao en crecimiento



Plántulas desarrolladas a partir de embriones somáticos



Pétalos



Mazorca de cacao

La *embriogénesis somática* (ES) consiste en la formación de un embrión a partir de casi cualquier tipo de célula que conforman los tejidos de una planta, sin necesidad de la fusión del polen y el ovario en las flores de la planta como ocurre en la embriogénesis cigótica (EC), que es la que da origen a las semillas y dentro de esta se encuentra el embrión. Cuando la semilla germina se forma una planta completa. La ES no es un fenómeno artificial, en la naturaleza se le conoce con el nombre de embrión adventicia; ha sido estudiada en detalle, desarrollada inicialmente por Steward & Reinert en 1958 e implementada posteriormente para la propagación de diferentes especies vegetales.

¿Sabía que con la embriogénesis somática pueden obtenerse plantas completas a partir de una pequeña porción de una planta adulta?

La ES tiene como ventaja que pueden obtenerse muchos embriones a partir de una pequeña porción de cualquier parte de la planta (explante). Se pueden utilizar las hojas, tallo, pétalos, flores e incluso las raíces. Los explantes responden de manera diferente a los nutrientes, a la fuente de carbono (azúcar), a los reguladores de crecimiento de las plantas (cuáles y en qué concentración), así como a las condiciones de luz, temperatura y humedad relativa del cuarto de crecimiento. Por esto es necesario evaluar previamente todos estos parámetros con base en lo que se conoce de la planta y sus requerimientos en campo, así como lo encontrado en otras especies afines o cercanas; por ejemplo para el cacao, una especie cercana es el algodón y también el Copouazu (*Theobroma grandiflorum*).

Esta técnica es relativamente reciente y su aplicación ha permitido la propagación de especies vegetales que se requieren en cantidades mayores a las que se pueden lograr por métodos tradicionales, como la propagación por semillas (sexual) o por medio de esquejes, acodos e injertación (reproducción asexual).

El grupo de Biotecnología de la Universidad de Antioquia, liderado por la profesora Lucia Atehortua, en su interés por contribuir a la propagación masiva de especies de importancia económica, y en este caso particular del cacao, decidió evaluar la técnica de ES en variedades "élite" con el apoyo de la Compañía Nacional de Chocolates. Los proyectos

de investigación en este tema comenzaron en el año 2007, logrando resultados prometedores, contribuyendo además con la formación de estudiantes de pregrado y posgrado.

¿Por qué embriogénesis somática en cacao?

La baja productividad actual se debe principalmente a: variedades vegetales no aptas para el terreno, poco productivas y susceptibles a enfermedades, a plantaciones muy viejas, a la heterogeneidad de la semilla utilizada, falta de prácticas culturales correctas, procesos de cosecha y poscosecha poco tecnificados y a la falta de industrialización del cultivo. Aumentar la productividad con las áreas cultivadas actuales implica que deben reemplazarse 140 millones de plantas en producción, donde el valor por planta está entre 700 y 1400 pesos, lo que corresponde a un mercado de 65 millones de dólares. El Plan de Desarrollo Cacaotero 2012-2021 contempla un área sembrada de cacao para el año 2020 de 216.141 hectáreas, y rendimientos de 1,15

toneladas por hectárea, lo que implica triplicar los rendimientos actuales y establecer 60.000 nuevas hectáreas de área sembrada. Además, se estima que la mitad de los cultivos de cacao en el país están conformados por árboles híbridos poco productivos y con edades de hasta 50 años que deben ser reemplazados en el corto plazo, por tanto deben producirse más de 140 millones (60 M

nuevas + 80 M renovación) de plantas para cubrir los planes de expansión del gobierno nacional. Estas necesidades generan una gran oportunidad en la utilización de una tecnología como la ES.

¿En qué se basa esta alternativa?

Cualquier tejido o parte de las plantas, por pequeña que sea, tiene la capacidad de dar origen a una planta completa (lo que se conoce como totipotencialidad), si las condiciones de cultivo son las adecuadas. Se pueden establecer estas condiciones en el laboratorio para propagar un gran número de plantas en un espacio reducido, en cualquier época del año. Independiente de las condiciones ambientales, la producción de plantas utilizando ES es uniforme y se conservan los mismos caracteres de la planta de origen; además se puede conservar por largos periodos de tiempo -si se quiere- cualquier órgano, lo que facilita la propagación en el momento que se requiera.

La Embriogénesis Somática tiene como ventaja que pueden obtenerse muchos embriones a partir de una pequeña porción de cualquier parte de la planta (explante). Se pueden utilizar las hojas, tallo, pétalos, flores e incluso las raíces.



Visita Granja Yariquies de la Compañía Nacional de Chocolates en Barrancabermeja, Santander. Fabio Nelson Vega, Anggy Amaya, Tatiana de la Hoz



Fabio Nelson Vega, Agrónomo de la Compañía Nacional de Chocolates, colección de material vegetal



Proceso de adaptación ex vitro de plantas de cacao de la variedad TSH565 producidas en laboratorio



Plántulas de cacao producidas in vitro



Proceso de disección de los botones florales de cacao en el Laboratorio



Plantula de cacao regenerada in vitro con 6 meses invernadero

¿Cuáles son las etapas del proceso?

Selección del material: específicamente para cacao, el material vegetal que se utiliza en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Antioquia son botones florales de variedades “élite”. Este material proviene de la Granja La Nacional (Támesis, Antioquia) y la Granja Yariguíes (Barrancabermeja, Santander) de la Compañía Nacional de Chocolates.

Desinfección: una vez en el laboratorio, los botones florales son llevados a una cámara de flujo laminar para trabajar en condiciones asépticas; allí se inicia el proceso con la desinfección. Se utilizan diferentes sustancias desinfectantes como hipoclorito de sodio (blanqueador) y antibióticos con el fin de eliminar microorganismos que naturalmente están asociados a los tejidos de la planta pero que son un problema en los procesos de cultivo celular in vitro.

Inducción: para la inducción y formación de los embriones, los medios de cultivo utilizados contienen nutrientes, vitaminas, glucosa y reguladores de crecimiento vegetal que son determinantes en este proceso. Con la ayuda de pinzas y bisturí se toman los pétalos y los estaminodios y se siembran en el medio de cultivo sólido (gelificado).

Los embriones somáticos se forman a partir del callo originado en los pétalos y estaminodios. La producción de callo oscuro ha resultado ser indicativo de mayor potencial para la formación de embriones.

Maduración y conversión en plántulas: uno de los puntos críticos en la ES es lograr que los embriones alcancen la madurez necesaria para convertirse en plántulas. Cuando los embriones maduran, son individualizados y permanecen en cuartos de cultivo hasta alcanzar el desarrollo radicular (5 cm de longitud) y del tallo (7 hojas aproximadamente).

Embriogénesis somática y renovación de cultivos de cacao

Cuando se logra estandarizar el proceso completo descrito previamente, se pueden proponer programas de propagación masiva de variedades de interés comercial, especialmente en cultivos perennes de alto valor como el cacao.

Colombia tiene una productividad promedio de 450 kg/hectárea de cacao, pero los rendimientos de los cultivos pueden llegar hasta 3.000 kg/ha si se cultivan las mejores variedades. La baja productividad actual se debe principalmente a variedades vegetales no aptas para el terreno, poco productivas y susceptibles a enfermedades, a plantaciones muy viejas, a la heterogeneidad de la semilla utilizada, falta de prácticas culturales correctas, procesos de cosecha y poscosecha poco tecnificados y a la falta de industrialización del cultivo.

A partir de la identificación en un cultivo de plantas o individuos con características especiales (mayor número de frutos, vigor, tolerancia a las plagas etc), se puede aplicar la ES para lograr su propagación a escala. Por esta técnica también se pueden propagar variedades especiales introducidas al país. Esto no quiere decir que no se utilicen de forma combinada los otros métodos de propagación, pues no se cuenta actualmente con los protocolos estandarizados para todas las variedades cultivadas en nuestro país.

¿Qué falta en nuestro medio para poner a punto esta técnica?

Para implementar esta tecnología y llevar las plantas hasta campo, se deben propagar las variedades más productivas por zonas del país y probar la estabilidad genética de los materiales propagados. Se requiere además, establecer pruebas piloto en campo, comparando el desempeño agronómico de los materiales propagados por este método con los propagados por el método tradicional de injertación (el más utilizado tradicionalmente). Además del comportamiento agronómico de las especies mejoradas, se debe estudiar y conocer el comportamiento de dichas variedades en la cosecha y poscosecha; como también su comportamiento en la industria. El grupo de Biotecnología vegetal y la Compañía Nacional de Chocolates están comprometidos en esta tarea para saber si puede brindarle al país esta nueva estrategia y lograr así una mayor competitividad. ✕



Botones florales, fuente de pétalos y estaminodios para iniciar el proceso de ES.

GLOSARIO

Embrión: En botánica, un embrión es el rudimento de la planta adulta, en estado de vida latente o letargo, formado tras la fecundación de la óosfera (óvulo). La doble fecundación de las angiospermas da lugar al desarrollo del embrión y del endospermo, el tejido nutricional del embrión durante la germinación.

Cigoto: Célula resultante de la unión del gameto masculino (polen) con el gameto femenino (óvulo) en la reproducción sexual de las plantas. La fusión de los gametos va seguida de la fusión de los núcleos, con lo cual resulta que el núcleo del cigoto posee dos juegos completos de determinantes genéticos (cromosomas), cada uno de ellos procedente del núcleo de un gameto.

Estaminodios: Dícese del estambre atrofiado y estéril que queda reducido sólo al filamento. Es una flor masculina estéril.

Genotipo: Se refiere a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes.

Totipotencialidad: Término utilizado en biología para referirse a células que poseen la capacidad de dar origen a varios tipos celulares, incluso pudiendo una sola de estas células dar origen a millones de células, tejidos, órganos, hasta incluso embriones y plantas completas.

Cultivo in vitro: Conjunto heterogéneo de técnicas que presentan en común el hecho de que un explante, o sea, una parte separada del vegetal, tales como protoplastos, células, tejidos u órganos, se cultiva asépticamente en un medio artificial de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas.