



Federación Nacional de  
Cafeteros de Colombia

Subgerencia General Técnica

División de Investigación y Experimentación

Centro Nacional de Investigaciones de Café

ISSN - 0180 - 0178

# Cenicafé

## AVANCES TÉCNICOS

NUMERO 141  
Abril de 1989

## INVESTIGACIONES EN BIOTECNOLOGIA VEGETAL

La Federación Nacional de Cafeteros de Colombia inició investigaciones sobre el cultivo "in vitro" del café en el año de 1977 en el LIQC (Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café y Productos Naturales) y, tres años más tarde, en CENICAFE (Centro Nacional de Investigaciones de Café).

Los primeros proyectos de investigación fueron aquellos tendientes a la definición de métodos que permitieran estudiar a nivel celular y bajo condiciones controladas, los mecanismos de defensa del cafeto contra la roya (5).

Posteriormente la Federación continuó apoyando las investigaciones tanto en el LIQC como en CENICAFE, con recursos y personal propios, lo cual permitió la ampliación de los objetivos hacia la obtención de plantas mejoradas.

De las investigaciones desarrolladas y en progreso, se pueden destacar los resultados obtenidos en cuanto al desarrollo de técnicas para la propagación "in vitro" de varias especies del género *Coffea*; la regeneración de plantas por embriogénesis somática, su adaptación, cultivo y evaluación bajo condiciones de campo; el aislamiento y cultivo de protoplastos, tanto de tejido del mesófilo como a partir de células en suspensión y la propagación de híbridos interespecíficos, a través del rescate de embriones (13,11).

---

Más recientemente, a partir de 1987, se han estudiado y adaptado nuevas técnicas tales como el cultivo de anteras y la embriogénesis somática directa.

CENICAFE ha adaptado y desarrollado una tecnología básica para el cultivo de tejidos en café la cual se está aplicando esencialmente con propósitos genéticos. Algunos de estos trabajos, como el cultivo de embriones, con resultados evidentes en el aumento del número y la obtención de nuevas combinaciones genéticas a partir de plantas híbridas recuperadas de cruzamientos interespecíficos.

El objetivo primordial es obtener por todos los medios, nuevas combinaciones genéticas, útiles en el programa de fitomejoramiento tales como: plantas de C. arabica con nuevos genes de resistencia a enfermedades, plagas o condiciones ambientales adversas.

A continuación se describe el estado actual de investigación y desarrollo de las distintas técnicas biotecnológicas en CENICAFE:

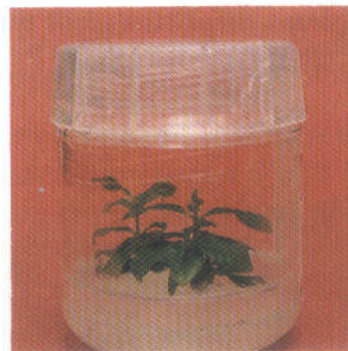
## PROPAGACION POR MICROESTACAS

Las microestacas son trozos de tallo con un nudo en los cuales se induce “in vitro” el desarrollo de yemas que producen brotes, los cuales se subdividen.

En CENICAFE se ha logrado el desarrollo de brotes desde los ocho días después de sembrada la microestaca. De un mismo nudo sucesivamente se han obtenido numerosos brotes ortotrópicos. Se ha superado el número reportado en la literatura (máximo 12). En algunos casos se han obtenido hasta 25 brotes de un mismo nudo (microestaca). Además cada brote se puede subdividir obteniéndose en varios subcultivos numerosas plantas a partir de una estaca (8).



*Microestaca con brotes*



*Cultivo de brotes subdivididos  
provenientes de una microestaca*

Esta técnica ofrece las siguientes ventajas:

- Reproducción genética idéntica de la planta original.
- Tasa de multiplicación alta en relación con la producción de estacas en condiciones de enraizador.
- Utilización de materiales excedentes (hojas y meristemas terminales) para la conservación y propagación “in vitro”.
- Asepsia, que puede facilitar el intercambio internacional.
- Permite conservar germoplasma.

En CENICAFE se está utilizando este sistema de propagación para multiplicar materiales valiosos y promisorios de origen híbrido.

### CULTIVO DE MERISTEMAS

Los meristemas son los puntos de crecimiento de la planta (yemas) los cuales pueden extraerse y cultivarse “in vitro”. En café se utilizan para propagación, las yemas ortotrópicas.

En CENICAFE se estandarizó esta técnica para materiales de C. arabica provenientes del campo y se pretende iniciar, con su aplicación, la conservación “in vitro” de germoplasma valioso genéticamente y de algunas especies y variedades de la colección de germoplasma de CENICAFE. Las plantas propagadas por este método tienen crecimiento lento y estabilidad genética (1,7).



*Meristema recién sembrado*



*Plántula proveniente de un meristema*

## CULTIVO DE EMBRIONES

Es una técnica básica en hibridación interespecífica en café, mediante la cual se pueden aumentar las posibilidades de introducir características de las especies diploides a las variedades cultivadas de la especie *C. arabica*. Muchas semillas de origen híbrido interespecífico no se desarrollan (mueren), debido a la incompatibilidad en el endospermo. Al aislar y cultivar "in vitro" los embriones inmaduros éstos pueden dar origen a nuevos híbridos.

En CENICAFE se ha logrado durante los años 88-89, cultivar "in vitro" más de 3.800 embriones híbridos entre las especies diploides, *C. canephora*, *C. liberica*, *C. stenophylla* y *C. racemosa* y la especie *C. arabica*, aumentando el número de combinaciones híbridas y obtenido algunas nuevas plantas, lo que es imposible por métodos convencionales.

La técnica permite, además, llevar a cabo estudios de nutrición y estudios físicos y ambientales ya que las plántulas responden rápidamente a cambios físicos y químicos muy leves en el medio (6)



*Embriones inmaduros recién sembrados*



*Embriones germinando*

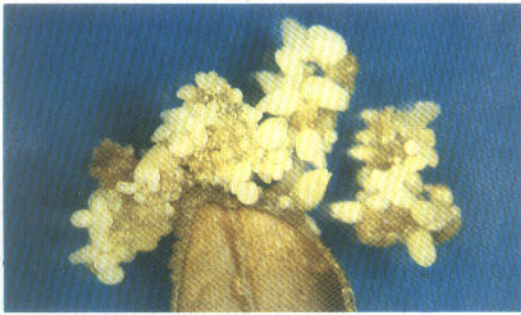


*Plántulas provenientes de embriones de híbridos*

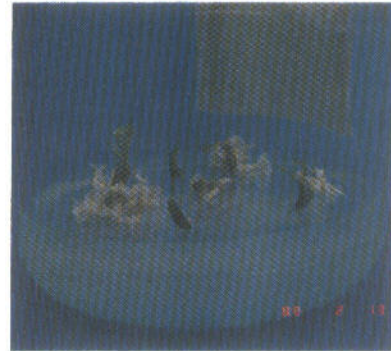
## EMBRIOGENESIS SOMÁTICA DIRECTA

Esta técnica consiste en obtener embriones directamente a partir de tejido somático como hojas, tallos y raíces. Las características genéticas de los embriones somáticos son diferentes a las de los embriones cigóticos o de semillas.

Mediante la embriogénesis a partir del trozo de tejido ( explante ) inicial, hay mayor probabilidad de obtener plantas genéticamente idénticas a la original. Esta técnica puede usarse en la propagación clonal de materiales de importancia genética.



*Trozo de hoja con numerosos embriones*



*Embriones en desarrollo con nuevos embriones*

Los primeros embriones somáticos obtenidos directamente del trozo de tejido se observan 10 semanas después de sembrado el explante. Es posible obtener numerosos embriones somáticos directos de tejidos de plantas híbridas (7).

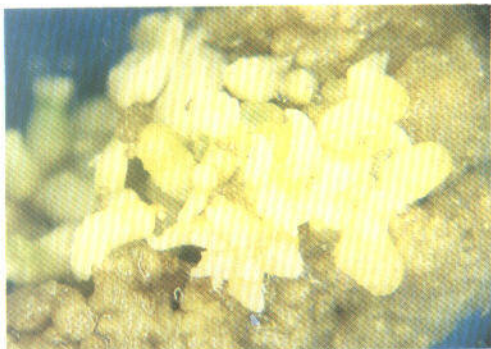
Una hoja posee entre 30 y 50 cm<sup>2</sup> y cada cm<sup>2</sup> de hoja produce 120 embriones “in vitro” en 100 días. Algunos embriones somáticos pueden ser nuevas combinaciones genéticas (variantes somaclonales).

La embriogénesis somática se está utilizando con el propósito de obtener nuevas combinaciones genéticas de origen interespecífico y como sistema probable de multiplicación masiva de plantas sobresalientes.

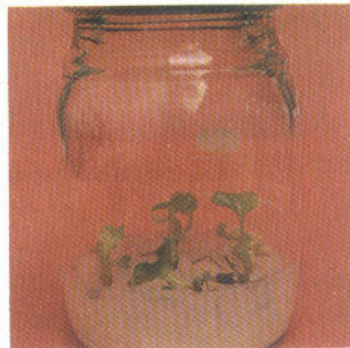
## **CULTIVO DE ANTERAS**

Mediante el cultivo de anteras “in vitro” se puede inducir la transformación de los granos de polen inmaduros en embriones, originándose así plantas haploides (con la mitad de las características genéticas del padre). Al duplicarse natural o artificialmente el juego cromosómico se origina una planta completamente homocigótica (con dos juegos de cromosomas idénticos), en una sola generación.

En mejoramiento genético esta técnica permite la producción de combinaciones híbridas homocigóticas en corto tiempo. Es decir, se pueden obtener plantas híbridas que no segregan y se pueden propagar por semilla en pocas generaciones (12).



*Embriones desarrollados en los callos originados en las anteras cultivadas "in vitro"*



*Plántulas obtenidas de los embriones*

Se determinó el estado óptimo de desarrollo del botón floral para el cultivo de anteras y se hicieron las variaciones del medio de cultivo. Actualmente se tienen más de 400 plántulas y de 2.000 embriones provenientes de anteras de híbridos interespecíficos cultivados "in vitro" y probablemente haploides; éstas, después de su duplicación, se seleccionarán para detectar las combinaciones híbridas deseables (8).

## **CULTIVO DE TEJIDOS DE OTRAS ESPECIES DE LA ZONA CAFETERA**

Adicionalmente, se han llevado a cabo investigaciones con especies distintas al café tales como: plátano (Musa sp.) (10), naranja (Citrus sinensis) (5), pitahaya (Hilocereus sp.) (5) y piña (Ananas comosus), con resultados que permiten el desarrollo de futuras investigaciones en micropropagación, limpieza de material de siembra y, eventualmente, el mejoramiento genético.

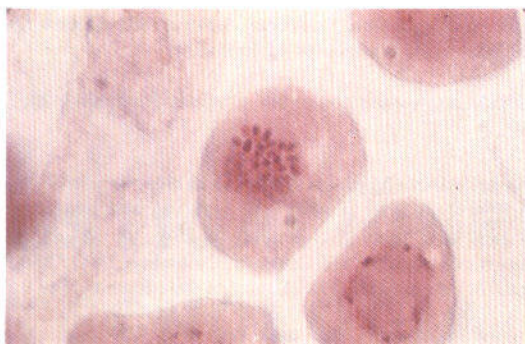


*Proliferación de yemas "in vitro"*

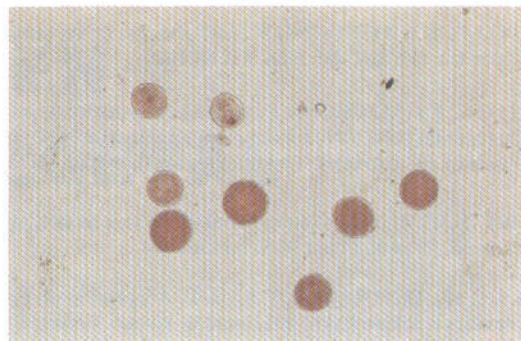
Se han llevado a cabo en CENICAFE estudios sobre el desarrollo de todas las yemas del cormo del plátano y se plantaron "in vitro", encontrándose que todas las yemas son susceptibles de su cultivo con altas tasas de propagación. Se estableció así una metodología adecuada y eficiente para la propagación de variedades de plátano.

## CITOLOGIA

Complementariamente, CENICAFE está desarrollando observaciones y análisis de células y tejidos del cafeto al microscopio, con el objetivo de conocer las características de las células, de los tejidos y de las plántulas que se producen "in vitro", y con el propósito de aumentar el conocimiento básico de la planta de café y sus partes. Para tal efecto se están adelantando estudios cromosómicos de anteras, granos de polen y raíces (9, 2, 3 y 4).



*Cromosomas de C. arabica*



*Granos de polen de C. arabica*

CENICAFE trabaja actualmente en el cultivo de células y tejidos de café como una tecnología básica con aplicaciones genéticas, para facilitar aumentar y obtener nuevas combinaciones y variantes genéticas y propagar masivamente materiales valiosos, especialmente de origen híbrido, facilitando la obtención de nuevas variedades. En un futuro se pretende ingresar a la etapa de la utilización de la ingeniería genética en café, con el propósito de introducir a nuestras variedades los genes que éstas requieran y no existan, o sea imposible incorporarlos a partir de las especies diploides, tanto por los sistemas convencionales de cruzamiento, como mediante las técnicas de cultivo "in vitro" ya mencionadas. Por su parte, en el LIQC se continúan las investigaciones utilizando cultivos de células en suspensión orientadas a la selección "in vitro", estudios sobre fitoalexinas, cultivos haploides, aislamiento y regeneración de plantas de café a partir de protoplastos.

Las investigaciones realizadas coordinadamente por los dos laboratorios, constituyen la base de programas de investigación en Biotecnología Vegetal de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

## BIBLIOGRAFIA

1. APONTE DE L., M.E.; PIZZINI, W.R.; RODRIGUEZ, J. Cultivo de meristemas de café. *Cenicafé /Colombia/ 32(3):106-111. 1981. Esp.*
2. ARCILA P., M.I. Estudio morfológico del desarrollo del embrión en café. *Cenicafé /Colombia/ 38(1-4):77-93. 1987. Esp.*
3. ARCILA P., M.I.; OROZCO C., F.J. Descripción histológica del embrión de café. *Cenicafé /Colombia/ 38(1-4): 79-93. 1987. Esp.*
4. ARCILA P., M.I.; OROZCO C., F.J. Estudio morfológico del desarrollo del embrión de café. *Cenicafé /Colombia/ 38(1-4):62-78. 1987. Chinchiná (Colombia), CENICAFE, 1987. 5 Refs. Esp.*
5. CADENA G., G.; PEÑA DE, M. Actividades de investigación en Biotecnología de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. In: SEMINARIO Internacional sobre Políticas y Experiencias en Sectores Económicos de Tecnología Avanzada en América Latina y Colombia. Manizales /Colombia/ 9-12 de octubre. 1988 Chinchiná (Colombia), CENICAFE, 1988. 6 p. Esp.
6. LONDOÑO R., L.C.; OROZCO C., F.J. El cultivo "in vitro" de células y tejidos del café. *Cenicafé /Colombia/ 37(4):135-146. 1986. 37 Refs. Esp. (Nota Técnica).*
7. LONDOÑO R., L.C.; OROZCO C., F.J. Métodos de propagación de cafetos mediante cultivo "in vitro". *Cenicafé /Colombia/ 37(4):119-133. 1986. 13 Refs. Esp.*
8. LONDOÑO R., L.C.; OROZCO C., F.J. Avances recientes en cultivo de tejidos en café. Concurso Técnico 1988 Alberto Machado; Encuentro de Ingenieros Agrónomos, 5. Melgar /Colombia/ agosto 12-15. 1988. Resúmenes. 11 Refs. Esp.
9. OROZCO C., F.J.; CASSALETT D., C. Estudio cromatográfico de un híbrido interespecífico en café. *Cenicafé /Colombia/ 25(3):65-77. 1974. 22 Refs. Esp.*
10. OROZCO C., F.J.; LONDOÑO R., L.C. Estudio de las yemas del cormo del plátano *Musa* sp. AAB y su cultivo "in vitro". *Cenicafé / Colombia/ 37(3):75-86. 1986. 9 Refs. Esp.*
11. OROZCO C., F.J.; SCHIEDER, O. Aislamiento y cultivo de protoplastos a partir de hojas de café. *Cenicafé /Colombia/ 33(4):129-136. 1982. También en: SIMPOSIO sobre ferrugens do cafeeiro. Oeiras /Portugal/ 7-20 de outubro. 1983. Sumarios das comunicações. P. 60. Esp. También en: Turrialba (Costa Rica), 34(4):534-536. 1984.*
12. PACHETTI DE, P. 1982. Cultivo "in vitro" de anteras de *Coffea arabica* variedad Caturra. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Bogotá. (Tesis M.S. Biología) 64 p.
13. PEÑA DE, M.; BUITRAGO DE S., H. L. Adaptación de plantas de *Coffee arabica* var. "Mundo Novo" obtenidas por embriogénesis somática a cultivo bajo condiciones de campo. *Cenicafé /Colombia/ 35(3):66-76. 1984. Esp.*

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por esta institución. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la entidad.



Una publicación de la Sección de Divulgación Científica