

GUÍA TÉCNICA DE MICROPROPAGACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)

PROYECTO:

"Ampliación y Mejoramiento de los Servicios de Apoyo al Desarrollo Productivo de la Cadena del Cacao a los Productores en la Región San Martín".



San Martín
GOBIERNO REGIONAL
DIRECCIÓN REGIONAL DE AGRICULTURA



Instituto Nacional de Innovación Agraria



GUÍA TÉCNICA DE MICROPROPAGACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2020-05835

© Dirección Regional de Agricultura San Martín
Jr. Ángel Delgado Morey S/N - Tarapoto, San Martín
www.drasam.gob.pe

Todos los derechos reservados

Autores:

Mar Asunción Gárate Navarro¹
Henri Delgado Haya²

Coordinador Proyecto Cacao:

Leonardo Hidalgo Vigil

Editado por:

¹Gobierno Regional de San Martín, Dirección Regional de Agricultura San Martín,
Proyecto Cacao, Tarapoto, San Martín, Perú.

²Estación Experimental Agraria El Porvenir-SM - Dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología.
Km 14.5 Carretera Marginal Sur Fernando B. Terry,
Distrito de Juan Guerra, Provincia y Región San Martín.

Fotografía:

Dirección Regional de Agricultura San Martín

1a. Edición - Setiembre 2020

Tiraje: 1,000 ejemplares

Diseño e Impresión:

Industria Gráfica Creat
De Robert Lenin Chafloque Pinedo
estudiograficocreat@gmail.com
Jr. Ulises Reategui N° 810 - Tarapoto

Impreso en Perú / Printed in Peru

La Dirección Regional de Agricultura San Martín - DRASAM, fomenta la reproducción y difusión de los datos incluidos en el presente producto informativo. Su uso para fines no comerciales se autorizará de forma gratuita previa solicitud. La reproducción para la reventa u otros fines comerciales, incluidos fines educativos, podría estar sujeta al pago de derechos o tarifas. Las solicitudes de autorización para reproducir o difundir material de cuyos derechos de autor sea titular la Dirección Regional de Agricultura San Martín - DRASAM y toda consulta relativa a derechos y licencias deberán dirigirse por correo electrónico a drasamsm2015@gmail.com, o por escrito al Área de Imagen Institucional.

INDICE

PRESENTACIÓN
INTRODUCCIÓN
EQUIPAMIENTO

I. MICROPROPAGACIÓN DE CACAO

- 1.1 Cultivo de Tejidos Vegetales
- 1.2 Embriogénesis somática en cacao

II. PROTOCOLO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

- 2.1 Preparación de soluciones stock
- 2.2 Preparación de medios de cultivo

III. PROTOCOLO DE SELECCIÓN, COLECTA Y PREPARACIÓN DE MATERIAL VEGETAL

- 3.1 Selección de Plantas Madre
- 3.2 Colecta del material vegetal
- 3.3 Preparación del material vegetal

IV. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y ESTABLECIMIENTO IN VITRO

- 4.1 Disección y extracción de explantes
- 4.2 Establecimiento *in vitro*

V. PROTOCOLO DE INDUCCIÓN A LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA DE CACAO

- 5.1 Medio de Inducción - Crecimiento de Callos Primarios (PCG)
- 5.2 Medio de Crecimiento de Callos Secundarios (SCG)
- 5.3 Medio de Desarrollo de Embriones (ED)
- 5.4 Medio de Crecimiento Primario de Embriones (PEC)

VI. PROTOCOLO DE SIEMBRA IN VITRO DE EMBRIONES CIGÓTICOS

- 6.1 Colecta y Traslado de mazorcas
- 6.2 Extracción y Selección de almendras
- 6.3 Desinfección del material vegetal
- 6.4 Extracción y siembra *in vitro* de embriones cigóticos

VII. PROTOCOLO DE ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE CACAO

VIII. ANEXOS

IX. GLOSARIO

X. LITERATURA CITADA

06
07
08
09
09
09
10
10
10
11
11
12
12
13
13
13
14
14
14
15
15
16
16
16
17
17
17
18
22
23

Agradecimiento

Al Gobierno Regional de San Martín, a través de la Dirección Regional de Agricultura San Martín – DRASAM.

A Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA, a través de la Estación Experimental Agraria El Porvenir San Martín.

Al equipo técnico del Proyecto “Ampliación y Mejoramiento de los Servicios de Apoyo al Desarrollo Productivo de la Cadena del Cacao a los Productores en la Región San Martín”.

Al equipo técnico del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la EEA El Porvenir San Martín.



Presentación

Alrededor del mundo, los productores de cacao, necesitan de plantas que conserven características de alta productividad, tolerancia a enfermedades, buenas propiedades organolépticas, entre otros atributos; por lo tanto, surge la necesidad de optimizar diferentes técnicas de propagación que permitan la obtención de plantas con características élites, con la finalidad de reemplazar plantas enfermas o improductivas en campo y completar el número óptimo de plantas por hectárea. La presente “Guía Técnica de Micropropagación de cacao (*Theobroma cacao* L.)”, ha sido elaborada en el marco del proyecto “Ampliación y Mejoramiento de los Servicios de Apoyo al Desarrollo Productivo de la Cadena del Cacao a los Productores en la Región San Martín”, promovido por la Dirección Regional de Agricultura San Martín en alianza con la Estación Experimental Agraria El Porvenir San Martín.

La presente publicación en una guía que describe los procedimientos de establecimiento y multiplicación *in vitro* de cacao, utilizando la técnica de embriogénesis somática a partir de estaminoides; el cual representa un documento de ayuda a la optimización de procedimientos de propagación clonal de esta especie de alto valor en nuestra región. Consideramos importante la presente guía, el cual será de ayuda a los diferentes trabajos sobre propagación asexual de cacao, que buscan complementarse y validarse, con la finalidad de proveer material vegetal de cacao de alto valor genético, y puedan estar disponibles a los productores en términos de calidad y cantidad.



Introducción

Dentro de los métodos de propagación asexual más utilizados y reconocidos, está el enraizamiento de ramillas, injertos, acodos aéreos y las técnicas de cultivo *in vitro* por medio de la embriogénesis somática (Chanatásig 2004), los cuales nos permiten multiplicar clones de cacao con características sobresalientes, seleccionados por su alto potencial productivo, resistencia a plagas y enfermedades, y sus características de compatibilidad interclonal. Además, permite aprovechar el material vegetativo de la planta madre al máximo posible.

La presente guía tiene como finalidad, generar un documento de ayuda, que muestre en forma clara y de manera secuencial, los procedimientos necesarios para la expresión de la embriogénesis somática, a partir de explantes florales de cacao. El documento detalla los protocolos de preparación de medios de cultivo, protocolo de extracción y establecimiento *in vitro*, protocolo de inducción a la embriogénesis somática de cacao y protocolo de siembra *in vitro* de embriones cigóticos.



EQUIPAMIENTO

- ◆ **Reactivos:**
Sales minerales y vitaminas DKW Driver & Kuniyuki 1984, WPM Woody Plant Medium 1981. Vitaminas Gamborg o B5 y DKW.
- ◆ **Equipos:**
Autoclave eléctrica a 121°C, Cabina de flujo laminar horizontal, potenciómetro, estereomicroscopio.
- ◆ **Instalaciones:**
El laboratorio de cultivo de tejidos vegetales, debe tener implementadas todas las áreas, para el óptimo desarrollo de los procesos, equipado con sistema de iluminación y aire acondicionado para control de temperatura.
- ◆ **Materiales:**
 - * Materiales de vidrio, metal, polipropileno.
 - * Personal técnico capacitado.
- ◆ **CONDICIONES DE CULTIVO**

Cada procedimiento descrito, muestra sus condiciones de cultivo, en consideraciones generales, el ambiente de incubación debe presentar condiciones de temperatura de 24 ± 2°C, fotoperiodo de 16/8 (luz/oscuridad) graduable y cámara oscura.



I. MICROPROPAGACIÓN DE CACAO

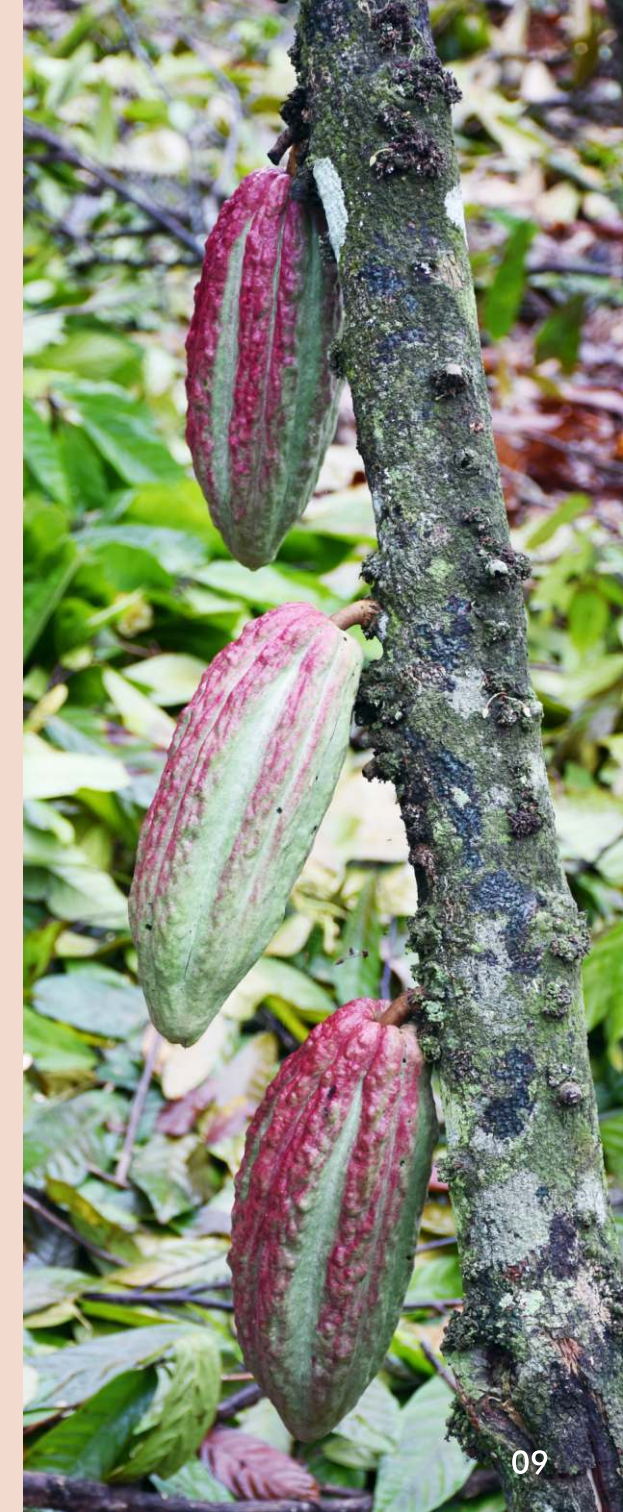
1.1 Cultivo de Tejidos Vegetales.

El cultivo de tejidos vegetales, es el cultivo de plantas en un medio libre de microorganismos, enriquecido con soluciones nutritivas y hormonas vegetales, que provocan el crecimiento de raíces, tallos y hojas a partir de un fragmento de una planta. La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un recipiente de vidrio en un ambiente artificial.

1.2 Embriogénesis somática en cacao.

La técnica de embriogénesis somática, es una de las más utilizadas; es el procedimiento por medio del cual se obtienen embriones sin la intervención de células gaméticas, y presentan una morfología y un desarrollo similar a los embriones sexuales obtenidos por la fecundación, pero a diferencia de éstos, presentan una constitución genética idéntica a la de la planta de origen (mencionado por Mata, 2006).

Para el desarrollo de embriones somáticos a partir de estaminoides (explanse floral) de cacao, se sigue la siguiente metodología:



II. PROTOCOLO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

2.1 Preparación de soluciones stock.

Se utiliza soluciones macro y micro minerales a los que llamaremos soluciones stock, según Driver&Kuniyuki 1984 (DKW), así mismo soluciones stock a base de sales minerales Lloyd & McCown 1981 (WPM) (Ver Anexo 1), los cuales se utilizan para preparar los medios de cultivo. (Ver Anexo 1)

Las sales minerales son pesadas (Imagen 1), de acuerdo a los requerimientos de concentración y volumen, y se disuelven en agua destilada estéril. Se rotulan (Imagen 2) y almacenan en refrigeración a 4°C.



Imagen 1. Pesado de Reactivos



Imagen 2. Soluciones stock

2.2 Preparación de medios de cultivo

Para los diferentes medios de cultivo se utiliza el protocolo de Gultinan & Maximova (2010), con modificaciones descritas en las tablas de composición de los medios de cultivo (Ver Anexo 2), teniendo al medio de cultivo para Crecimiento Primario de Callos (PCG) para la etapa de inducción a la embriogénesis somática; medio de cultivo para Crecimiento Secundario de Callos (SCG), para multiplicación de callos; medio de cultivo para Desarrollo de Embriones (ED) y medio para Crecimiento primario de embriones (PEC); en los cuales se utiliza las soluciones stock preparados (Imagen 3). Todos los medios de cultivo son suplementados con vitaminas y hormonas, ajustando el pH a 5.7-5.8, según el tipo de medio, éstos a su vez se esterilizan en autoclave a una temperatura de 121°C, 15 lb de presión por 15-20 minutos, finalmente son dispensados en placas petri o tubos de prueba (Imagen 4).



Imagen 3. Preparación de medio de cultivo



Imagen 4. Dispensado de medio de cultivo

III. PROTOCOLO DE SELECCIÓN, COLECTA Y PREPARACIÓN DE MATERIAL VEGETAL

3.1 Selección de Plantas Madre

Se seleccionan plantas adultas de cacao, sanas y en época de floración, de clones élites que conserven sus características de alta productividad, tolerancia a las principales enfermedades, precocidad, y que tengan atributos de fineza; los árboles de cacao pueden estar ubicados en campo (Imagen 5) o en vivero (Imagen 6), así mismo deben estar ubicadas cerca al laboratorio.



Imagen 5. Plantas de cacao en campo



Imagen 6. Plantas de cacao en vivero

3.2 Colecta del material vegetal

Se colectan botones florales de 4-5 mm de longitud entre las 7-8 horas de la mañana (a más horas puede darse la apertura de flores), se aíslan los botones florales de la planta madre con pinzas (Imagen 7) y se colocan en frascos con agua destilada (Imagen 8); dependiendo de la distancia puede utilizarse un recipiente con hielo para mantener los frascos, y trasladar lo más pronto posible a laboratorio.



Imagen 7. Colecta de botones florales



Imagen 8. Botones florales de cacao

3.3 Preparación del material vegetal

En laboratorio, se realiza el tratamiento de esterilización superficial de los botones florales, iniciándose en un enjuague con agua destilada estéril para eliminar impurezas traídas de campo (Imagen 9).

En cámara de flujo laminar, se realiza una inmersión en alcohol al 70% por 1 minuto, seguido de la inmersión en Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 1% + 2 gotas de Tween 80 por cada 100 ml de solución desinfectante, durante 15 minutos, en agitación lenta y constante; los restos del desinfectante se eliminan en tres enjuagues con agua destilada estéril. Se decanta toda el agua, dejando solo a los botones (Imagen 10).



Imagen 9. Enjuague de botones florales



Imagen 10. Botones florales esterilizados

IV. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y ESTABLECIMIENTO IN VITRO

4.1 Disección y extracción de explantes

Los botones florales se colocan en placas petri estériles; se realiza un corte transversal al botón (Imagen 11), y se presiona suavemente la parte superior de los sépalos con la pinza, para lograr la liberación de los estaminoides (Imagen 12).



Imagen 11. Disección de botones florales



Imagen 12. Extracción de estaminoides

4.2 Establecimiento *in vitro*

Los estaminoides de una flor de cacao se colocan en tubos de prueba de 25 x 150 mm (Imagen 13) o en placas petri de 15 x 100 mm, en la superficie del medio de cultivo de inducción. (Imagen 14).



Imagen 13. Siembra de estaminoides



Imagen 14. Estaminoides en contacto con el medio de cultivo

V. PROTOCOLO DE INDUCCIÓN A LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA DE CACAO

Para el proceso de Inducción a la Embriogénesis somática de cacao, se sigue la metodología de Guiltinan & Maximova (2010), modificado:

Subcultivo de explantes y Condiciones de Cultivo.

5.1 Medio de Inducción - Crecimiento de Callos Primarios (PCG)

Colocar los explantes (estaminoides, Imagen 15.1) en la superficie del medio de inducción para la formación de callos primarios, los explantes permanecen en este medio durante 20 días. Incubar los explantes en oscuridad total. En este medio de cultivo se observa un hinchamiento de la base de los estaminoides (Imagen 15.2). Ver Anexo 2.1.



Imagen 15.1. Estaminoides de cacao



Imagen 15.2 Estaminoides con abultamiento en la base

5.2 Medio de Crecimiento de Callos Secundarios (SCG)

Después de 20 días en el medio de cultivo PCG, transferir al segundo medio de cultivo para el crecimiento de callos secundarios. Incubar los explantes en oscuridad total. En el medio SCG hay un crecimiento de callos secundario, sobre la superficie del estaminoide (Imagen 16). Ver Anexo 2.2.



Imagen 16. Formación de Callos Secundarios en estaminoides de cacao.

5.3 Medio de Desarrollo de Embriones (ED)

Después de 20 días en el medio SCG, realizar la transferencia de los explantes a este medio de cultivo para el desarrollo de los embriones. Ver Anexo 2.3.

En este tipo de medio de cultivo se realiza varios subcultivos a los callos (Imagen 17.1) hasta la expresión de los embriones somáticos (Imagen 17.2), realizando un cambio de medio cada 20 días.



Imagen 17.1. Callos cubren completamente el estaminoide



Imagen 17.2 Embriones somáticos de cacao, a partir de callos.

5.4 Medio de Crecimiento Primario de Embriones (PEC)

Luego de la expresión de embriones en el medio ED, y cuando se encuentren en estado cotiledonar (Imagen 18.1 y 18.2), realizar la transferencia de los embriones a este medio de cultivo para su desarrollo. Ver Anexo 2.4.

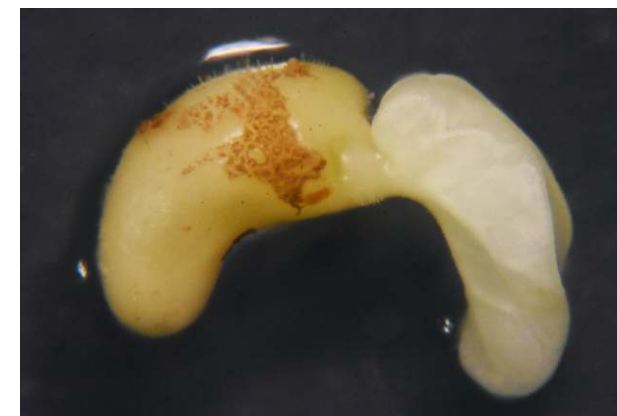


Imagen 18.1. y 18.2 Embriones somáticos de cacao en fase cotiledonar.

VI. PROTOCOLO DE SIEMBRA *IN VITRO* DE EMBRIONES CIGÓTICOS

Con fines de proveer de material vegetal para ensayos a nivel *in vitro* y aclimatación, se puede obtener plántulas de cacao germinadas a partir de embriones cigóticos, teniendo en cuenta el siguiente proceso:

6.1 Colecta y Traslado de mazorcas.

En Campo:

- Realizar el corte con una tijera de podar, a 1 cm de la unión con la rama.
- Colectar mazorcas de cacao semi maduras (aproximadamente de 5 meses de edad). Imagen 19.
- Colocar la mazorca colectada en bolsas de papel, previamente rotuladas.



Imagen 19. Mazorca de cacao semi madura.

6.2 Extracción y Selección de almendras.

- Hacer un corte transversal a la mazorca para extraer las almendras.
- Seleccionar las almendras de la zona media de la mazorca, con la finalidad de tener semillas de tamaño uniforme.
- Retirar el mucílago junto a la testa de las almendras con una hoja de bisturí N° 10, realizando un corte superficial, longitudinal a la semilla. (Imagen 20).
- *Como alternativa, puede utilizarse aserrín estéril para retirar el mucílago y la testa.
- Colocar las semillas en un recipiente y enjuagar 1 vez con agua destilada estéril, trasladar el material vegetal a sala de siembra.



Imagen 20. Semillas de cacao sin testa

6.3 Desinfección del material vegetal.

- En cámara de flujo laminar hacer una inmersión en ETOH 70 % por 1 minuto a las semillas de cacao.
- Desinfectar con Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 1.5 % por 15 minutos. (Imagen 21).
- Enjuagar con agua destilada estéril por 3 veces.
- Decantar el agua de enjuague, quedando solo las semillas en el frasco de lavado.



Imagen 21. Desinfección de las semillas

6.4 Extracción y siembra *in vitro* de embriones cigóticos.

- Con ayuda de una pinza y bisturí N° 10, realizar tres cortes laterales a la semilla, levantar suavemente los cotiledones seccionados para extraer el embrión. (Imagen 22).
- Sembrar 1 ó 2 embriones por frasco conteniendo medio de cultivo para germinación.
- Los embriones deben ser incubados a 25°C y HR: 46 % y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

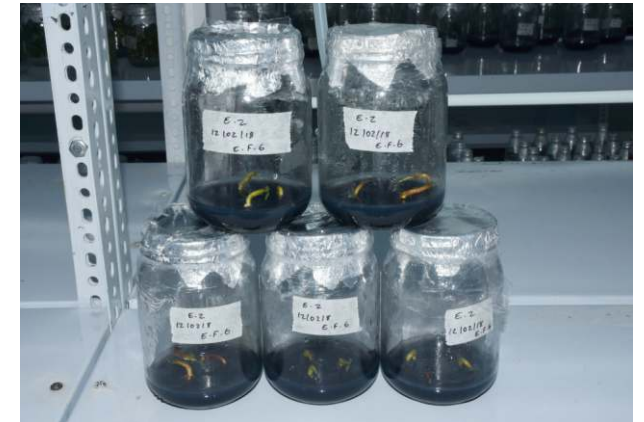


Imagen 22. Extracción de embrión cigótico

VII. PROTOCOLO DE ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE CACAO

- Realizar esta etapa en ambiente de invernadero, cercano al laboratorio de propagación *in vitro*, con sistema de aspersión instalado.
- Colocar frascos con plántulas *in vitro* a vivero 4 días antes de su aclimatación.
- Extraer las plántulas contenidas en los frascos de cultivo *in vitro*.

- Lavar las raíces para eliminar restos del agar.
- Hacer una inmersión a las plantas en solución fungicida Benomyl (1 g L⁻¹) durante 10 minutos, dejar secar en papel toalla.
- Preparar un sustrato 1:1 (premix + perlita), esterilizar en autoclave a 121°C, 15 libras de presión por 30 minutos.
- Trasladar el sustrato frío en bandejas almacigueras y colocar una planta por tubete.
- Cubrir con plástico transparente durante 15 días para evitar deshidratación, brindar 70% de sombra, después de ello sacar el plástico para que reciba un poco más de luz.
- Aplicar fertilizante 11-8-6 (NPK) en el agua de riego cada 2 días.
- A los 30 días hacer el trasplante de bandejas almacigueras o comunitarias a bolsas almacigueras de 1 Kg, hasta que estén listas para su siembra en campo definitivo.

Nota: El sustrato para aclimatar también puede ser esterilizado por método de solarización o tratamiento químico.

VIII. ANEXOS

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES STOCK Y MEDIOS DE CULTIVO

La composición de los medios de cultivo fueron reazlizados según Guiltinan & Maximova, 2010. American Cocoa Research Institute - College of Agricultural Sciences, 2010. Cacao Tissue Culture Protocol Book. Pennsylvania State University. Version 2.1 4-32pp. Con modificaciones en las concentraciones hormonales.

1. FORMULACIONES DE SOLUCIONES STOCK

1.1 Solución de Stock Macronutrientes DKW A y B (10 X)

Reactivos	1,000 ml
Solución A	
NH ₄ NO ₃	14,160
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	19,690

Solución B

CaCl ₂ ·2H ₂ O	1,490
K ₂ SO ₄	15,590
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,400
KH ₂ PO ₄	2,650

1.2 Solución de Stock de Micronutrientes DKW (100 X)

Reactivos	Cantidad g l ⁻¹	
	500 ml	1,000 ml
Zn SO ₄ · 6 H ₂ O	0,850	1,700
MnSO ₄ · H ₂ O	1,670	3,340
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,013	0,025
H ₃ BO ₃	0,240	0,480
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,020	0,039
FeSO ₄ · 7H ₂ O	1,690	3,380
Na-EDTA	2,270	4,540

1.3 Solución de stock de vitaminas DKW (1000 X)

Reactivos	50 ml	100 ml
Myo-Inositol	5 g	10 g
Thiamina-HCL	0.1 g	0.2 g
Ácido Nicotínico	0.05 g	0.1 g
Glycina	0.1 g	0.2 g

1.4 Solución de stock de vitaminas B5 o Gamborg (1000 X)

Reactivos	Cantidad	
	50 ml	100 ml
Myo-Inositol	5 g	10 mg
Ácido Nicotínico	50 mg	100 mg
Pyridoxina	50 mg	100 mg
Thiamina	500 mg	1000 mg

2. FORMULACIONES DE MEDIOS DE CULTIVO

Nota:

Las soluciones Macro DKW A, Macro DKW B, Micro DKW, Vitaminas deben ser almacenadas a 4° C y cambiarlas cada 30 días.

2.1 Medio de Crecimiento Primario de Callos (PCG)

Reactivos	Cantidad (litros)	
	500 ml	1,000 ml
Macro DKW A (10X)	50 ml	100 ml
Macro DKW B (10X)	50 ml	100 ml
Micro DKW (100X)	5 ml	10 ml
Vitaminas DKW (1000X)	0.5 ml	1 ml
Glucose	10 ml	20 ml
Glutamina	125 ml	250 ml
Myo-Inositol	50 ml	100 ml
2,4-D (solución stock 1mg/ml)	1 ml	2 ml
TDZ (solución stock mg/ml)	2,5 µl	5 µl
pH 5.8 (KOH – 1M)		
Agar Agar	4.25 g	8.5 g
Esterilizar en Autoclave	15 min.	15 min.

2.2 Medio de Crecimiento Secundario de Callos (SCG)

Reactivos	Cantidad (litros)	
	500 ml	1,000 ml
Sales minerales Lloyd&McCown - WPM		
Stock WPM, A, B, C, D, E, H	10 ml	20 ml
Stock Micro WPM, F, G	2.5 ml	5 ml
Vitaminas B5 (1000 X)	0.5 ml	1 ml
Glucose	10 g	20 g
2,4 – D (stock 1mg/ml)	1 ml	2 ml
Kinetina (stock 1 mg/ml)	0.075 ml	0.15 ml
pH 5.7 (KOH – 1M)		
Agar Agar	4.25 g	8.5 g
Esterilizar en Autoclave	15 min.	15 min.

2.3 Medio para Desarrollo de embriones (ED)

Reactivos	Cantidad (litros)	
	500 ml	1,000 ml
Macro DKW A (10X)	50 ml	100 ml
Macro DKW B (10X)	50 ml	100 ml
Micro DKW (100X)	5 ml	10 ml
Vitaminas DKW (1000X)	0.5 ml	1 ml
Sacarosa	15 g	30 g
Glucosa	0.5 g	1g
pH 5.7 (KOH – 1M)		
Agar Agar	4.25 g	8.5 g
Autoclavar	15 min.	15 min.

*Medio de Cultivo Modificado

2.4 Medio Primario de Conversión de Embriones - Plántulas (PEC)

Reactivos	Cantidad (litros)	
	500 ml	1,000 ml
Macro DKW A	50 ml	100 ml
Macro DKW B	50 ml	100 ml
Micro DKW	5 ml	10 ml
Vitaminas DKW	0.5 ml	1 ml
KNO3	150 mg	300 mg
Glucose	10 g	20 g
Sacarosa	5 g	10 g
Agar Agar	4.25 g	8.5 g
Aminoácidos	0.5 ml	1 ml
pH	5,8	5,8
Autoclavar	15 min.	15 min.

GLOSARIO

BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

Aplicación de la ciencia y la tecnología a las plantas, sus partes, productos y modelos, con el fin de acelerar sus procesos fisiológicos.

EXPLANTE

Es cualquier parte de un organismo vivo, como las células, los tejidos, o los órganos, que son transferidos a un medio artificial para cultivo.

CALLO

Células vegetales en un proceso de indiferenciación, en constante división celular.

IN VITRO

Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo u otro frasco, en un ambiente controlado fuera de microorganismos.

PROPAGACIÓN

Es la multiplicación de plantas por medios vegetativos (asexuales).

PROTOCOLO

Es conocido como un procedimiento estándar de operaciones, una lista de instrucciones para realizar un experimento.

LITERATURA CITADA

Aguilar, M. 1990. Obtención de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) a partir del microinjerto de embriones somáticos. Tesis M.Sc. Turrialba, CR. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 131 p.

Arvelo SM, González LD, Maroto AS, Delgado LT y Montoya LP. Manual técnico del cultivo de cacao: Prácticas Latinoamericanas. 2017. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José, C.R.: IICA, 2017.

Chanatásig, C. 2004. Inducción de la embriogénesis somática en clones superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.), con resistencia a enfermedades fungosas. Tesis M.Sc. Turrialba, CR. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 86 p.

Driver J.A. & Kuniyuki A.H. (1984) In vitro propagation of paradox walnut rootstock. HortScience 19: 507-509.

Gamboa, J. 2015. "Comportamiento en vivero de cuatro clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre diferentes patrones en Satipo" Lima-Perú.

Gárate MA y Arévalo E. 2017. "Induction of Somatic Embryogenesis from Cocoa Farmer Field Collection of ICT - Peru", International Annals of Science, vol. 2, no. 1, pp. 6-11. doi: 10.21467/ias.2.1.6-11.

Gárate MA., Arévalo E., Correa do BomfimCosta, L., & da Costa-Silva, D. 2017. Pro-embryonic Somatic Structure of Three Cacao Genotypes (*Theobroma Cacao* L.) Using Staminodes. International Annals Of Science, 2(1), 28-32. doi: <https://doi.org/10.21467/ias.2.1.28-32>.

Guiltinan, M.J., Maximova, S.N. 2010. College of Agricultural Sciences. Integrated System for Vegetative Propagation of Cacao. Protocol Book. Pennsylvania State University. Version 2.1 4-24pp.

Lloyd G and Mc Cown B. 1981. Woody Plant Medium: A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. HortScience, 16: 453. 1981

Mata QA. 2006. Establecimiento de un sistema de propagación vegetativa de genotipos superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) por medio de ramillas en el CATIE. Cartago, Costa Rica. Repositorio Institucional de Tecnológico de Costa Rica.



San Martín
GOBIERNO REGIONAL
DIRECCIÓN REGIONAL DE AGRICULTURA



Instituto Nacional de Innovación Agraria



Proyecto Cacao

