

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria**  
**Ingeniería Agronómica**



Proyecto Especial de Graduación

**Evaluación de Picloram, BAP y Kinetina en la propagación *in vitro* de dos variedades de café (*Coffea arabica* L.) a partir de explantes foliares**

Estudiante

Arantxa Emit Bruña Landau

Asesores

María Alexandra Bravo, M.Sc.

Cinthya Martínez, MAE

Honduras, junio 2022

## **Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**CELIA O. TREJO RAMOS**

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros.....	4
Índice de Figuras .....	5
Resumen .....	6
Abstract.....	7
Introducción.....	8
Materiales y Métodos .....	11
Localización .....	11
Fuente de Material Vegetal .....	11
Variedad Lempira.....	12
Variedad Geisha .....	12
Preparación y Desinfección del Material Vegetal.....	12
Medio de Cultivo.....	13
Incubación.....	14
Variables Medidas.....	14
Presencia de Callo por Explante.....	14
Formación de Callo en Bordes y Nervadura .....	14
Diseño Experimental.....	15
Análisis Estadístico .....	15
Resultados y Discusión.....	16
Establecimiento de Explantes de Café – Variedad Lempira.....	16
Establecimiento de Explantes Foliares de Café - Variedad Geisha .....	19
Conclusiones .....	23
Recomendaciones.....	24
Referencias.....	25

## Índice de Cuadros

Cuadro 1. Medio de cultivo para el establecimiento in vitro de explantes foliares café ( <i>Coffea arabica</i> ).....	14
Cuadro 2. Escala de formación de callo en bordes y nervadura.....	15
Cuadro 3. Crecimiento callogénico en explantes foliares de café de la variedad Lempira. ....	17
Cuadro 4. Crecimiento callogénico en explantes foliares de café de la variedad Geisha. ....	20

## Índice de Figuras

Figura 1. Hoja proveniente de ramas plagiotrópicas de la planta. ....	11
Figura 2. Explantes de 1 cm <sup>2</sup> , establecidos con el haz de la hoja en contacto con el medio de cultivo. .....	13
Figura 3. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L. ....	18
Figura 4. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L. ....	18
Figura 5. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L. ....	19
Figura 6. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L. ....	21
Figura 7. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L. ....	21
Figura 8. Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L. ....	22

### Resumen

El café es uno de los productos agrícolas de mayor importancia a nivel mundial. Herramientas biotecnológicas como la embriogénesis somática ha permitido obtener cultivares tolerantes en un menor tiempo, en comparación con el método convencional. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento Picloram, Kinetina y 6-Bencilaminopurina en explantes foliares de café de la variedad Lempira y Geisha cultivados *in vitro*. Se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) al 50% de sales minerales y vitaminas de Yasuda, suplementado con reguladores de crecimiento. Los tratamientos consistieron en Picloram 0.5 mg/L; Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L; y Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L. Las variables evaluadas fueron presencia de callo por explante y formación de callos en bordes y nervaduras. Para ambas variedades se observó formación de estructuras callogénicas en todos los tratamientos. En la variedad Lempira el tratamiento Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L presentó la mayor formación de callos. Los tratamientos Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L lograron formación y desarrollo de callos en los explantes de la variedad Geisha.

*Palabras clave:* Auxinas, citoquininas, embriogénesis somática, estructuras callogénicas, Geisha, Lempira, reguladores de crecimiento.

### Abstract

Coffee is one of the most important agricultural products worldwide. Biotechnological tools how somatic embryogenesis has made it possible to obtain tolerant cultivars in less time, compared to the conventional method. The objective of this study is to evaluate the effect of the growth regulators Picloram, Kinetin, and 6-Benzylaminopurine in coffee leaf explants of the Lempira and Geisha varieties cultivated in vitro. Murashige and Skoog (MS) culture medium with 50% mineral salts and vitamins from Yasuda was used, supplemented with growth regulators. The treatments consisted of Picloram 0.5 mg/L; Picloram 0.5 mg/L + 6-Benzylaminopurine (BAP) 2 mg/L; and Picloram 0.5 mg/L + Kinetin 1.9 mg/L. The variables evaluated were the presence of callus per explant and the formation of calluses on the edges and ribs. For both varieties, the formation of callogenic structures was observed in all treatments. In the Lempira variety, Picloram 0.5 mg/L + Kinetin 1.9 mg/L treatment presented the highest callus formation. The treatments Picloram 0.5 mg/L + Kinetin 1.9 mg/L and Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L achieved callus formation and development in explants of the Geisha variety.

*Keywords:* Auxins, callogenic structures, cytokinins, Geisha, growth regulators, Lempira, somatic embryogenesis.

## Introducción

El cultivo de café (*Coffea arabica*) de la familia Rubiaceae, es un arbusto perenne que dependiendo de las condiciones puede alcanzar un ciclo de vida de 20 a 25 años. Su máximo pico de producción es a los 6 u 8 años, y durante los siguientes años su productividad disminuirá. Según Figueroa et al. (2015), el café tiene más de 6000 especies, siendo las especies de *arabica* y *robusta* las más importantes económicamente, representando el 99% de la producción mundial. El café es uno de los productos agrícolas de mayor importancia económica a nivel mundial, genera ingresos anuales mayores a USD \$15 mil millones para los países exportadores, y brinda una fuente de trabajo a más de 20 millones de personas en el mundo (SICA 2020). Algunos de los principales países productores de café son Brasil, Vietnam, Colombia, Indonesia y Honduras.

Generalmente la propagación del café se realiza utilizando semillas de plantaciones cafetaleras donde las plántulas obtenidas deben ser cuidadas hasta su trasplante a campo. El creciente desarrollo de enfermedades y plagas como la roya o la broca en los campos de producción ha incentivado la elaboración de ensayos de mejoramiento genético para la obtención de variedades resistentes. Es aquí cuando se hace necesario el uso de herramientas biotecnológicas como la propagación *in vitro*, donde conseguiremos individuos genéticamente idénticos a la planta madre, expresando así su resistencia y evitando problemas de variabilidad genética. Según Kumar et al. (2006), la propagación del café por técnicas de cultivo de tejidos sería una alternativa viable a los métodos tradicionales de propagación.

El cultivo *in vitro* consiste en tomar una porción de una planta (el ápice, una hoja o segmento de ella, segmento de tallo, meristemo, embrión, nudo, semilla, antera) y colocarla en un medio de cultivo estéril (usualmente gelificado, semisólido) donde se regenerará una o muchas plantas (INTAGRI 2021). Según Roca y Mroginski (1991), al comparar los procedimientos de propagación convencional con la micropropagación se obtienen los siguientes beneficios: tasas de multiplicación

elevadas, material vegetal de tamaño reducido que puede transportarse a largas distancias por menor costo y producción de material vegetal libre de enfermedades.

El cultivo de tejidos puede realizarse por distintas vías de regeneración como la brotación y proliferación de yemas, la organogénesis y la embriogénesis somática (Ruscitti et al. 2011). En el café puede ser por organogénesis o embriogénesis somática, siendo más común que se utilice la embriogénesis somática en vez de la organogénesis, esto se debe a que presenta ventajas como una mayor tasa de multiplicación a partir de distintos explantes.

La embriogénesis somática es un proceso biológico por el cual células somáticas desarrollan embriones semejantes a los embriones cigóticos, que luego son plantas genéticamente iguales a la planta madre (Sánchez et al. 2019). En el café, utilizando la embriogénesis somática se podría obtener cultivares tolerantes a enfermedades (soportan la presencia del patógeno sin causarle daño a la planta) en un menor tiempo, en comparación con el método convencional. Es posible la embriogénesis somática del café a partir de microesquejes, pero mediante explantes foliares resulta una mejor opción por su propagación rápida y en menor tiempo.

Dublin (1980), determinó la metodología de implementación de técnicas de embriogénesis somática a partir de explantes diversos como fragmentos de tallos ortótropos, de ramas plagiotropas, de hojas y de tegumentos de óvulos, concluyendo que las hojas abundantes y de fácil desinfección proporcionan los mejores explantes para la embriogénesis somática en el cafeto. El éxito de la regeneración a través de la embriogénesis somática está influenciado por varios factores, incluidas las condiciones fisiológicas de la planta y los tipos de formulación de medios utilizados (Ibrahim et al. 2013). La embriogénesis somática en el café depende en gran medida del genotipo utilizado.

Factores como el medio y los reguladores de crecimiento pueden afectar la embriogénesis somática del café. Los reguladores de crecimiento van a depender de la variedad del café. En *Coffea canephora* variedad robusta, solo con la presencia de la citocinina 6-bencilaminopurina (BAP) es

posible inducir embriogénesis somática (López et al. 2016). Por otro lado, para la obtención de un callo embriogénico en *Coffea arabica*, es necesaria la presencia de alguna auxina.

Los reguladores de crecimiento son cualquier compuesto orgánico natural o de síntesis que en pequeñas cantidades, promueva, inhiba o modifique cualitativamente el crecimiento y desarrollo de la planta de forma similar a como lo hacen las fitohormonas (Fichet 2021). La auxina utilizada en este estudio fue Picloram y como citoquininas se utilizó Kinetina y 6-Bencilaminopurina (BAP). El picloram es utilizado en la inducción a proliferación celular en material vegetal para cultivos *in vitro*, su uso común en agricultura es como herbicida de post emergencia (Cruz Muñoz 2019). La 6-bencilaminopurina (BAP) es utilizada para estimular la división celular y usada en la agricultura desde la germinación hasta la cosecha para formación de brotes y floración. La kinetina promueve la formación de callo mediante la división celular y también se enfoca en el crecimiento y tamaño celular.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento Picloram, Kinetina y 6-Bencilaminopurina en explantes foliares de café cultivados *in vitro*.

## Materiales y Métodos

### Localización

El proyecto de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. El laboratorio está ubicado en el Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, localizada en el km 30, carretera hacia Danlí, en el departamento de Francisco Morazán, Honduras.

### Fuente de Material Vegetal

Se obtuvieron los explantes foliares a partir de las hojas de cafetos de la variedad Lempira, que se encuentran en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. También se usaron hojas de cafetos de la variedad Geisha, con edad aproximada de 7 meses, estas hojas fueron donadas específicamente para este estudio. Se utilizaron hojas jóvenes de color verde oscuro, planas y sin daños físicos o enfermedades, provenientes de ramas plagiotrópicas (Figura 1). Al momento de recolectar la hoja de la planta madre, esta se tomó de la parte superior del segundo tercio de la planta en sentido basípeto.

### Figura 1

*Hoja proveniente de ramas plagiotrópicas de la planta.*



### **Variedad Lempira**

Según el (World Coffee Research 2022b), la variedad Lempira es de muy alto rendimiento, adaptada para zonas cálidas y suelos ácidos. El porte de la planta es bajo con un tamaño promedio del fruto y su potencial de calidad es bajo. La altitud óptima para su producción es de 900 a 1600 msnm. Si bien antes era considerada una variedad resistente a la roya, hoy en día es susceptible. Esto debido a la constante evolución de la roya (nuevas razas) y la degradación de la resistencia. De igual forma, es susceptible a la antracnosis y a los nematodos. Su primera cosecha es a partir del tercer año, la densidad de siembra es de 5000-6000 plantas/ha. Esta variedad se obtuvo del cruce entre el Híbrido de Timor y Caturra.

### **Variedad Geisha**

El World Coffee Research (2022a), define al Geisha como una variedad con una calidad de taza excepcionalmente alta a gran altura. El porte de la planta es alto con un tamaño promedio del fruto y un rendimiento en producción medio. La altitud óptima para su producción es mayor a los 1300 msnm. La variedad Geisha es tolerante a la roya del café, susceptible a la antracnosis y a los nematodos. Su primera cosecha es a partir de cuarto año y su densidad de siembra es de 3000-4000 plantas/ha.

### **Preparación y Desinfección del Material Vegetal**

Previo a la recolección de las hojas, a las plantas seleccionadas se les realizó una aplicación del fungicida sistémico Amistar (ingrediente activo azoxystrobina) (1 ml/L); también se aplicó Agry-Gent Plus (ingredientes activos de sulfato de gentamicina y clorhidrato de oxitetraciclina) (4 g/L) como bactericida sistémico y de contacto. Esto se hizo con el fin de disminuir el porcentaje de contaminación en laboratorio.

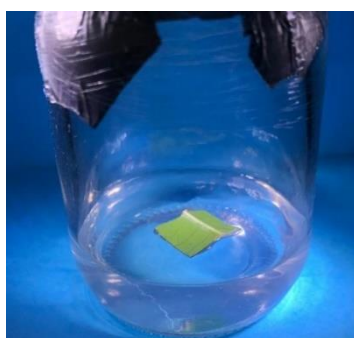
Las hojas recolectadas de la planta madre fueron lavadas con jabón comercial y luego se enjuagaron con agua potable. Posteriormente se cortaron los bordes de las hojas para proceder a

sumergirlas en una solución del fungicida sistémico Amistar (0.1 g/L), por 10 minutos. Luego se procedió a la desinfección del material vegetal.

En la desinfección se hizo una inmersión de las hojas en una solución de 2% de NaClO por 5 minutos, a esta solución se le agregaron 5 gotas de Tween 80, que sirve como emulsionante. Al finalizar el tiempo las hojas fueron enjuagadas con agua destilada estéril de 3 a 4 veces dentro de la cámara de flujo laminar. Los explantes fueron tomados de la parte media de la hoja, con un tamaño de 1 cm<sup>2</sup>. Estos explantes fueron establecidos con el haz de la hoja en contacto con el medio de cultivo (Figura 2).

### **Figura 2**

*Explantes de 1 cm<sup>2</sup>, establecidos con el haz de la hoja en contacto con el medio de cultivo.*



### **Medio de Cultivo**

Se utilizó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog) al 50% de sales minerales y vitaminas de Yasuda (Cuadro 1), suplementado con reguladores de crecimiento según el tratamiento a evaluar. El pH fue ajustado a 5.6 y para la solidificación de los medios se utilizó Phytigel 1.8 g/L. Los medios se esterilizaron en autoclave a 121°C, 1 kg/cm<sup>2</sup> de presión por 20 minutos.

**Cuadro 1**

*Medio de cultivo para el establecimiento in vitro de explantes foliares café (Coffea arabica).*

Componentes	1L
Macroelementos 50% MS (10X)	50.0 mL
Microelementos 50% MS (1000X)	0.5 mL
FeNaEDTA	50.0 mg
Inositol	0.1 g
Tiamina	1.0 mg
Ácido Nicotínico	1.0 mg
Piridoxina	1.0 mg
Cisteína	25.0 mg
Sacarosa	30.0 g

Los tratamientos consistieron en un testigo sin reguladores; Picloram 0.5 mg/L; Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L; y Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, según el estudio realizado por Santana et al. (2004).

**Incubación**

Los explantes se incubaron en total obscuridad a una temperatura de 22°C y 30% de humedad relativa.

**VARIABLES MEDIDAS**

Para ambas variables se observaron periódicamente los explantes y la toma de datos fue al día final del experimento.

***Presencia de Callo por Explante***

Se contaron los explantes que formaron callo.

***Formación de Callo en Bordes y Nervadura***

Se contó el número de bordes por explante que presentó formación de callo.

**Cuadro 2**

*Escala de formación de callo en bordes y nervadura.*

Descripción	Valor
1-2 bordes del explante con presencia de callo	1
3-4 bordes del explante con presencia de callo	2
Todos los bordes y nervadura con presencia de callo	3

**Diseño Experimental**

Se utilizó un diseño completo al azar con cuatro tratamientos, 75 repeticiones por tratamiento para la variedad Lempira y 50 repeticiones por tratamiento para la variedad Geisha.

**Análisis Estadístico**

A partir de un análisis visual comparativo se evaluaron las respuestas de los explantes a los distintos tratamientos. Se realizó un análisis de varianza y separación de media por el método de Duncan con probabilidad  $<0.05$ . El programa estadístico utilizado fue Infostat 2020.

## Resultados y Discusión

### Establecimiento de Explantes de Café – Variedad Lempira

En el establecimiento de explantes de café de la variedad Lempira, los tratamientos Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L, formaron callo en bordes y nervaduras de los explantes (Cuadro 2). El testigo no presentó reacción ni formación de callos. Los medios suplementados con Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L, no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero si con respecto al tratamiento Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L. Por consiguiente, el mejor tratamiento para la formación de callos en los bordes es el medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L. En el cultivo de café, el empleo de Picloram en conjunto con Kinetina no ha sido informado, pero su efecto ha sido evaluado en otros cultivos, obteniendo resultados favorables como Kaur y Kothari (2004), quienes observaron formación de callos al utilizar Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 0.5 y 1.0 mg/L en el cultivo de mijo kodo.

González et al. (2001), en su estudio de inducción de embriogénesis somática en *Coffea canephora* reportó, que los medios suplementados únicamente con Picloram (0.1, 0.5 y 1.0 mg/L) no inducen a la formación y desarrollo de callos. Caso contrario a nuestra investigación, donde se puede observar la formación de callos con el tratamiento Picloram 0.5 mg/L.

**Cuadro 3**

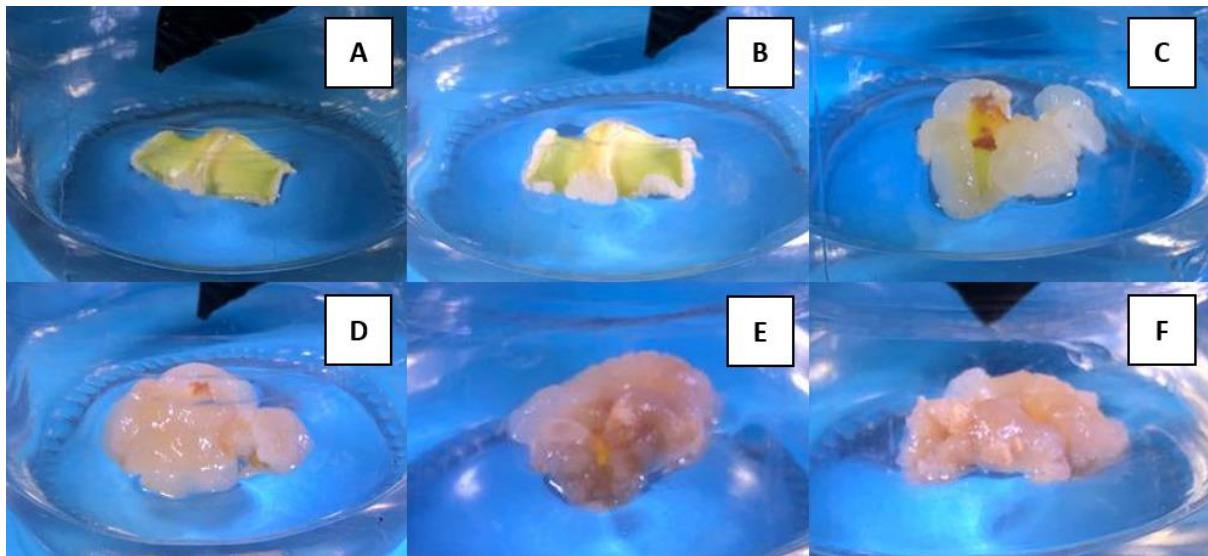
*Crecimiento callogénico en explantes foliares de café de la variedad Lempira.*

Tratamientos	Bordes con callo
Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L	2.55 <sup>a</sup>
Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L	2.31 <sup>b</sup>
Picloram 0.5 mg/L	2.11 <sup>b</sup>
Testigo	0
CV	2.22
P	0.0009
R <sup>2</sup>	0.10

Los explantes de la variedad Lempira establecidos en los medios suplementados con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L (Figura 3); Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L (Figura 4) y Picloram 0.5 mg/L (Figura 5), se comportaron de manera similar formando estructuras callogénicas. En el día 14 después de siembra es visible un leve encorvamiento en los explantes sembrados. A partir del día 26, las estructuras callogénicas comenzaron a formarse en los bordes de los explantes. En el día 43 después de siembra, esa masa callogénica aumentó su volumen formando callos compactos para los tres tratamientos. Para el día 62 después de siembra, la masa callogénica cubrió el explante por completo y a su vez formó callo en la nervadura del explante; para este día ya se puede observar un cambio en la coloración del callo, pasando de un blanco a un blanco-marrón; además, observamos como en el tratamiento Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L el callo se vuelve friable. Según Kaur y Kothari (2004), la combinación de Picloram y Kinetina es beneficiosa para la diferenciación de embriones somáticos y formación de callos compactos.

**Figura 3**

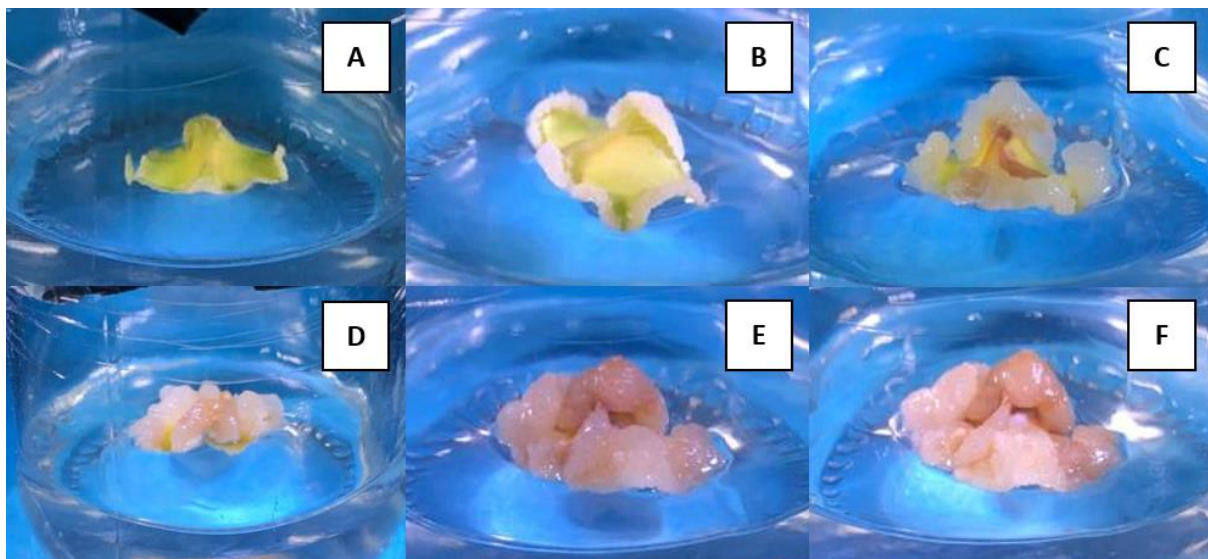
*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L.*



*Nota. A. Día 14. B. Día 26. C. Día 43. D. Día 62. E. Día 69. F. Día 79.*

**Figura 4**

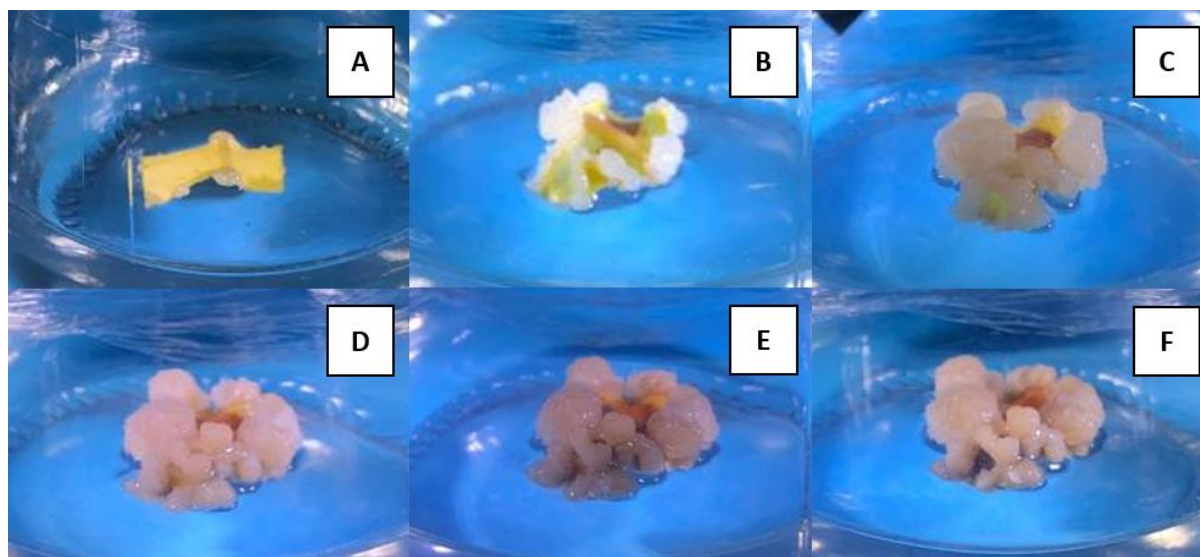
*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L.*



*Nota. A. Día 14. B. Día 26. C. Día 43. D. Día 62. E. Día 69. F. Día 79.*

**Figura 5**

*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Lempira, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L.*



*Nota.* A. Día 14. B. Día 26. C. Día 43. D. Día 62. E. Día 69. F. Día 79.

### **Establecimiento de Explantes Foliares de Café - Variedad Geisha**

El desarrollo de estructuras callogénicas en la variedad Geisha se observó en todos los tratamientos suplementados con reguladores de crecimiento, Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L. El testigo no presentó formación de callo (Cuadro 3). Entre los tratamientos suplementados con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L, no hubo diferencias significativas entre ellos. En cuanto al tratamiento Picloram 0.5 mg/L, sí presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos antes mencionados. Este resultado es contrario a los obtenidos por Cruz Muñoz (2019), el cual no presentó formación de callos en el medio suplementado con Picloram 0.1 mg/L. González et al. (2001), también reportan que el uso de Picloram en dosis de 0.1, 0.5 y 1.0 mg/L no favorece el inicio y desarrollo de callo en los explantes, y que es necesaria la adición de una citoquinina para el balance hormonal.

La formación de callos en bordes y nervaduras del explante de café, se presentó en los tratamientos Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L (Cuadro 3). Los medios suplementados con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L, no obtuvieron diferencias significativas entre ellos. El tratamiento Picloram 0.5 mg/L, presenta diferencias significativas en comparación con los tratamientos antes mencionados.

De acuerdo con estos resultados, los mejores tratamientos para inducir la formación y crecimiento de callos en los bordes de los explantes son Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L.

#### Cuadro 4

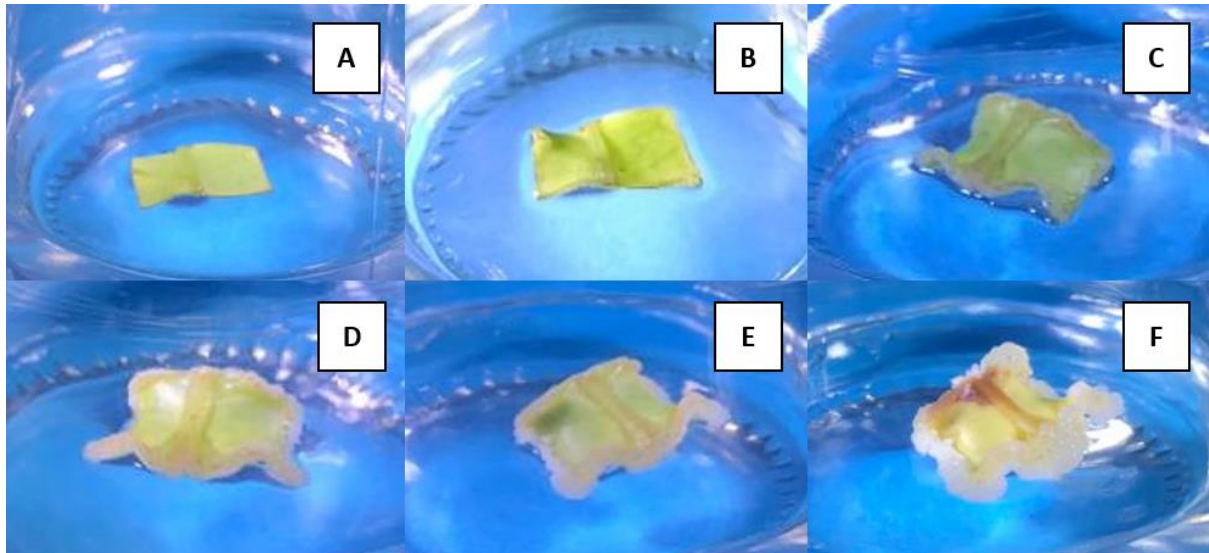
*Crecimiento callogénico en explantes foliares de café de la variedad Geisha.*

Tratamientos	Formación de callo (%)	Bordes con callo
Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L	100 <sup>a</sup>	2.39 <sup>a</sup>
Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L	100 <sup>a</sup>	2.19 <sup>a</sup>
Picloram 0.5 mg/L	78 <sup>b</sup>	1.65 <sup>b</sup>
Testigo	0	0
CV	13.09	3.14
P	0.0007	0.0025
R <sup>2</sup>	0.17	0.14

Los explantes establecidos de la variedad Geisha en los medios suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L (Figura 6); Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L (Figura 7) y Picloram 0.5 mg/L (Figura 8), formaron estructuras callogénicas compactas de color blanco. Los explantes comenzaron a presentar encorvamiento a partir del día 20 después de siembra. El día 27 después de siembra las estructuras callogénicas empezaron a ser visibles en los explantes. Del día 34 al 44 su masa callogénica incrementó su tamaño, además se observa en los tratamientos Picloram 0.5 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L la formación de callos en la nervadura.

**Figura 6**

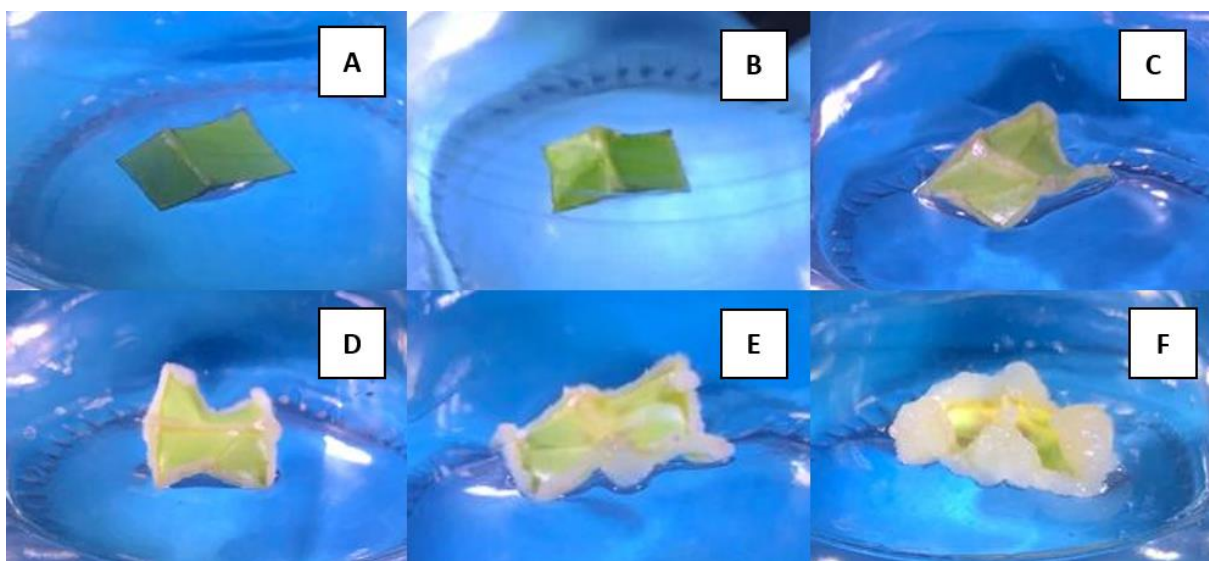
*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L.*



*Nota.* A. Día 8. B. Día 15. C. Día 20. D. Día 27. E. Día 34. F. Día 44.

**Figura 7**

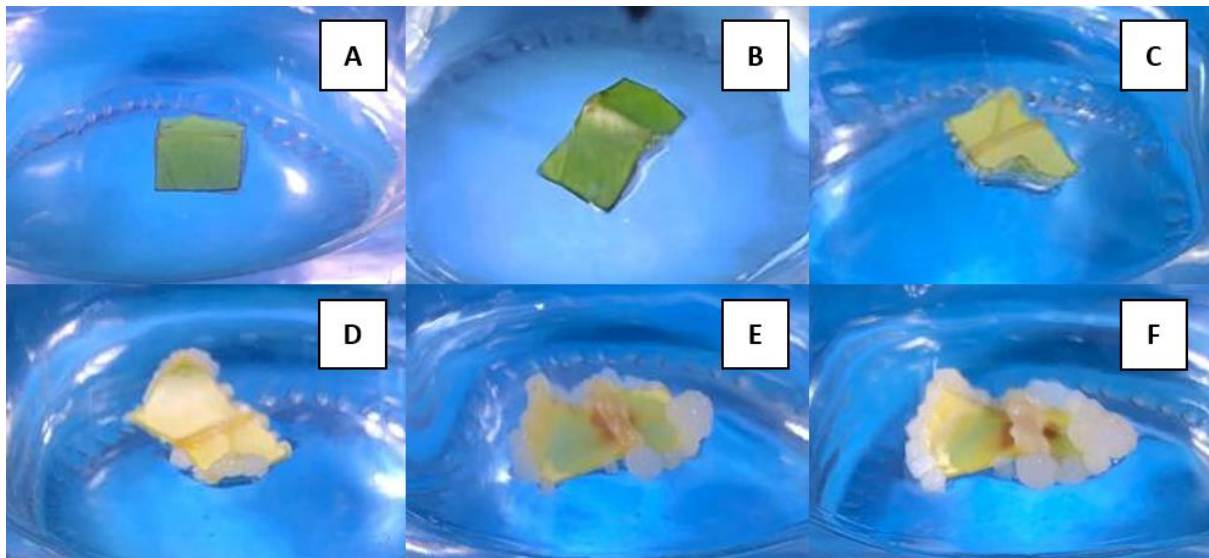
*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L + 6-Bencilaminopurina (BAP) 2 mg/L.*



*Nota.* A. Día 8. B. Día 15. C. Día 20. D. Día 27. E. Día 34. F. Día 44.

**Figura 8**

*Respuesta de los explantes foliares de café, variedad Geisha, al medio suplementado con Picloram 0.5 mg/L.*



*Nota.* A. Día 8. B. Día 15. C. Día 20. D. Día 27. E. Día 34. F. Día 44.

### **Conclusiones**

Los tratamientos Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L, indujeron a la formación y crecimiento de callos en los explantes, tanto en la variedad Lempira, como en la variedad Geisha.

La respuesta fue favorable en cuanto a la formación de callos en los bordes y nervaduras de los explantes en la variedad Lempira, con el tratamiento Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L.

En la variedad Geisha los tratamientos Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L y Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L, todos los explantes formaron callos.

### **Recomendaciones**

Continuar con las fases de embriogénesis somática a partir de las estructuras callogénicas obtenidas de ambas variedades.

Hacer pruebas con la suplementación de Picloram 0.5 mg/L + Kinetina 1.9 mg/L, Picloram 0.5 mg/L + BAP 2 mg/L y Picloram 0.5 mg/L, en otras variedades de café.

## Referencias

- Cruz Muñoz JF. nov. 2019. Efecto de fitohormonas en la callogénesis *in vitro* de café -variedad Obatá- [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 22 p; [consultado el 5 de jun. de 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/e6834fd3-9fec-442e-a4f9-4cec08b99fdf/content>.
- Dublin P. 1980. Multiplication vegetative *in vitro* de l'Arabusta. Agricultural Research for Development (CIRAD); [consultado 20/6/22]. 24(4):281–290. <https://agritrop.cirad.fr/454379/>.
- Fichet T. 2021. Fitohormonas y Reguladores del Crecimiento Vegetal. [sin lugar]: Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura; [consultado 20/6/22]. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/biosintesis-de-las-fitohormonas-y-reguladores-de-crecimiento>.
- Figuroa E, Pérez F, Godínez L. 2015. La producción y el consumo del café. España: ECORFAN- Spain. ISBN: 978-607-8324-49-1. spa; [consultado 20/6/22]. [https://www.ecorfan.org/spain/libros/LIBRO\\_CAFE.pdf](https://www.ecorfan.org/spain/libros/LIBRO_CAFE.pdf).
- González M, Santana N, López C. 2001. Efecto de la Composición del Medio de Cultivo y el Genotipo en la Inducción de la Embriogénesis Somática en Clones de *Coffea canephora p. var. robusta*. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA); [consultado el 2 de jun. de 2022]. 22(1):17–21. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193218206003>.
- Ibrahim M, Hartati R, Rubiyo R, Purwito A, Sudarsono S. 2013. Direct and Indirect Somatic Embryogenesis on Arabica Coffee (*Coffea arabica*). Indonesian Journal of Agricultural Science; [consultado el 10 de oct. de 2021]. 14(2):79–86. en. <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/ijas/article/view/1413>. doi:10.21082/ijas.v14n2.2013.p79-86.
- [INTAGRI] Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura. 2021. Cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetal. [sin lugar]: INTAGRI; [consultado el 10 de oct. de 2021]. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/cultivo-in-vitro-de-celulas-y-tejidos-vegetal>.
- Kaur P, Kothari SL. 2004. *In vitro* culture of Kodo Millet: Influence of 2,4-D and Picloram in combination with kinetin on callus initiation and regeneration. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 77(1):73–79. En;en. <https://link.springer.com/article/10.1023/B:TICU.0000016505.20448.44>. doi:10.1023/B:TICU.0000016505.20448.44.
- Kumar V, Madhava M, Ravishankar GA. 2006. Developments in coffee biotechnology *in vitro* plant propagation and crop improvement. Plant Cell Tiss Organ Cult. 87(1):49–65. En;en. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-006-9134-y>. doi:10.1007/s11240-006-9134-y.
- López P, Iracheta L, Ojeda MDC, Ducos JP. 2016. Medio de cultivo e inhibidores de etileno en la embriogénesis somática de café. Revista mexicana de ciencias agrícolas; [consultado el 30 de oct. de 2021]. 7(7). [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342016000701749&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342016000701749&script=sci_arttext).
- Roca WM, Mroginski LA, editores. 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. 151ª ed. Cali, Colombia: [sin editorial]. ISBN: 958-9183-15-8; [consultado el 10 de oct. de 2021].

- Ruscitti M, Beltrano J, Giménez D. 2011. Biotecnología Vegetal: Cultivo de Tejidos Vegetales. Curso de Fisiología Vegetal. 21 p; [consultado el 30 de oct. de 2021]. [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/76847/mod\\_resource/content/1/in%20vitro.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/76847/mod_resource/content/1/in%20vitro.pdf).
- Sánchez K, Cabrera R, Jiménez J. 2019. Inducción de embriogénesis somática a partir de explantes foliares en tres variedades de café. *Sci.agropecu*; [consultado el 30 de oct. de 2021]. 10(2):259–264. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.11>.
- Santana N, González ME, Valcárcel M, Canto-Flick A, Hernández MM, Fuentes FJ, Barahona F, Mijangos J, Loyola VM. 2004. Somatic embryogenesis: A valuable alternative for propagating selected robusta coffee (*Coffea canephora*) clones. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*. 40(1):95–101. En;en. <https://link.springer.com/article/10.1079/IVP2003486>.
- [SICA] Sistema de la Integración Centroamericana. [actualizado 2020]. Situación del Café en Centroamérica. La Libertad, El Salvador, Centroamérica: [sin editorial]; [consultado el 10 de oct. de 2021]. <https://www.sica.int/Iniciativas/cafe>.
- World Coffee Research. 2022a. Variedades de Café Arábica | Geisha (Panamá). [sin lugar]: [sin editorial]. <https://varieties.worldcoffeeresearch.org/es/varieties/geisha>.
- World Coffee Research. 2022b. Variedades de Café Arábica | Lempira. [sin lugar]: [sin editorial]. <https://varieties.worldcoffeeresearch.org/es/varieties/lempira>.