

Evaluación de la Embriogénesis Somática en genotipos salvadoreños de cacao (*Theobroma cacao* L.)

Evaluation of Somatic Embryogenesis in salvadoran cocoa (*Theobroma cacao* L.) genotypes

Dora Antonia Villeda-Castillo¹, Julio César Ortiz-Pavón^{1,2}

- 1 Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador
2 ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9758-1910>



ACCESO ABIERTO

REVISTA AGROCIENCIA

Facultad de Ciencias Agronómicas
Universidad de El Salvador

ISSN 2522-6509
Enero-Junio 2026
Año X, Número 29
pp.11-18

DOI:
[10.66778/RA.a10n29.02](https://doi.org/10.66778/RA.a10n29.02)

Correspondencia:
dora.villeda@ues.edu.sv

Presentado:
28 de enero de 2026

Revisado:
26 de febrero de 2026

Aceptado:
29 de mayo de 2026

Este es un artículo de acceso abierto bajo licencia CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



RESUMEN

La presente investigación se realizó durante los meses de abril de 2018 a marzo de 2019, en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada en el departamento de San Salvador, con el objetivo de determinar el potencial embriogénico de los cacaos criollos de El Salvador. La metodología utilizada consistió en evaluar las condiciones óptimas para establecer embriones somáticos primarios en cuatro genotipos y un clon internacional de interés para los investigadores (THS-539, CPS1-23, Rojo, Amarillo y Verde). Fueron evaluados dos protocolos, dos condiciones ambientales y dos tipos de explantes. Para los cinco genotipos en estudio, los mayores valores de inducción a formación de callo embriogénico se representarán en los medios que contenían 2,4D -TDZ como balance hormonal y glucosa como fuente de carbono. Los estaminodios presentaron una mejor formación de callo, sin embargo, en los pétalos se obtuvo un mayor número de embriones somáticos y un mejor desarrollo de estos. La combinación Kinetina-2,4 D favorece la Embriogénesis Somática de baja frecuencia para genotipo Verde. Los resultados mostraron una alta dependencia del genotipo, por lo cual las condiciones ambientales, los balances hormonales y la frecuencia embriogénica son diferentes para cada uno de los clones, siendo TSH-539, verde amarillo y CPS1-23 los que presentaron mejor comportamiento, y Rojo mostró una menor respuesta en los tratamientos evaluados.

Palabras claves: Embriones somáticos, callos, estaminodios, cultivo *in vitro*.

ABSTRACT

This research was conducted between April 2018 and March 2019 at the Biotechnology Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences at the University of El Salvador, located in the department of San Salvador, with the aim of evaluating the somatic embryogenic potential of promising native cocoa genotypes from El Salvador. The methodology used consisted of evaluating the optimal conditions for establishing primary somatic embryos in four genotypes and an international clone of interest to the researchers (THS-539, CPS1-23, Red, Yellow, and Green). Two protocols, two environmental conditions, and two types of explants were evaluated. For the five genotypes under study, the highest values of induction to embryogenic callus formation occurred in media containing 2,4D-TDZ as a hormonal balance and glucose as a carbon source. Stamens show better callus formation, however, petals yield a greater number of somatic embryos and better development of the same. The Kinetin-2,4 D combination favors low-frequency somatic embryogenesis for the green genotype. The results showed a high dependence on genotype, which is why environmental conditions, hormonal balances, and embryogenic frequency are different for each of the clones, with TSH-539, green-yellow, and CPS1-23 showing the best performance, and red showing a lower response.

Keywords: Somatic embryos, calluses, stamens, *in vitro* culture.

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo originario del trópico húmedo mesoamericano, continúa manteniendo enorme importancia económica a nivel mundial. Un promedio de tres millones de toneladas de cacao se produce anualmente, utilizándose un aproximado del 90 % como materia prima para la elaboración del chocolate. De este cultivo depende la subsistencia de muchos pequeños agricultores para los que genera trabajo (Mejía y Palencia, 2000).

En el 2012, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) planteó en el Primer Seminario Taller Internacional del cultivo de cacao: El rescate del denominado cacao fino y de aroma, debido a la importancia de este cultivo durante la época prehispánica y colonial en El Salvador. Actualmente existen dos principales zonas productoras de cacao y están ubicadas en los departamentos de Sonsonate y Usulután, este cultivo se ha venido propagando sin una visión de mejoramiento genético, por lo que en las dos zonas cacaoteras del país, se mantienen plantaciones muy viejas con un manejo tecnológico bajo, y con influencia de enfermedades como moniliasis que afectan seriamente la producción, siendo estos materiales no deseables agrónomicamente. Además, la práctica más común es la utilización de semilla para la propagación, lo que presenta un alto nivel de segregación y baja producción (Castañeda et al., 2015).

Lo anterior obligó a buscar otros sistemas de propagación que garanticen la estabilidad genética de las plantaciones con características conocidas. La propagación “*in vitro*”, o cultivo de tejidos, consiste en utilizar pequeños órganos o piezas de tejido de una planta (denominados explantes), que bajo condiciones asépticas en un medio nutritivo adecuado y en un ambiente controlado; puedan expresar un nuevo individuo, este tipo de propagación puede ser una alternativa para superar estos problemas (Villalobos y Aguilar, 1991).

Desde la década de los 70, se ha trabajado con embriogénesis somática en cacao, se han utilizado diferentes tipos de explantes (florales y foliares), genotipos y mezclas de medios de cultivo para lograr regenerar clones que mantengan las características en el tiempo (Esan, 1977; Aguilar, 1990; López-Báez et al., 2000).

En la actualidad, el empleo de la embriogénesis somática (ES) para la propagación clonal de plantas de cacao es de gran importancia (Yang y Zhang, 2010). Este es un proceso en el que una estructura bipolar parecida a un embrión cigótico se desarrolla a partir de un tejido somático, sin conexión vascular con el tejido original (Zahid et al., 2013). Las células atraviesan por una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que dan como resultado la formación de embriones somáticos y la regeneración de nuevas plantas (Komamine et al., 2005). Por eso la presente investigación justifica el uso del potencial embriogénico de los cacaos criollos de El Salvador, como una metodología de micropropagación de individuos con características genéticas superiores.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó durante los meses de abril de 2018 a marzo de 2019, en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada en el departamento de San Salvador a 700 msnm, con coordenadas geográficas de 13°41'24" latitud norte, 89°11'24.01" longitud oeste.

Actividad 1. Selección de genotipos promisorios

Los experimentos se realizaron con cinco genotipos de interés para los investigadores: CPS1-23, Rojo, Amarillo, Verde y el clon internacional TSH-539 escogidos por sus características de productividad, adaptabilidad y tolerancia a enfermedades. Los primeros cuatro materiales corresponden a un germoplasma propagado por semilla, el quinto material tiene su pedigrí reportado como ICS 1 x SCA 6 (Perea et al., 2013).

Los materiales seleccionados forman parte del Banco de Germoplasma de Cacao de la Facultad de Ciencias Agronómicas ubicado al costado oeste de la Facultad en el Campus Universitario en San Salvador a 700 msnm, con coordenadas geográficas de 13°41'24" latitud norte, 89°11'24.01" longitud oeste.

Actividad 2. Establecimiento del protocolo de desinfección

Se realizaron diversas pruebas preliminares para el establecimiento del protocolo definitivo de desinfección de los explantes. A continuación, se describe el procedimiento final de desinfección de botones florales utilizado en la investigación.

Selección de botones florales

Se colectaron los botones florales de los genotipos seleccionados antes de las 9:00 a. m. en frascos de plástico tipo tubos Falcon que contenían 25 mL de suero sin colorante con el fin de mantener hidratados y protegidos los botones florales. Los botones florales que se utilizaron consistieron en aquellos con un desarrollo de 4-5 mm de longitud, completamente cerrados, con una apariencia hinchada, sin manchas ni ataque de insectos o enfermedades (Figura 1).

Desinfección superficial de los botones florales

Posterior a su recolección, los botones florales se llevaron al Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas y en el Área de Cultivo de Tejidos Vegetales se procedió a su desinfección. Para ello, en la cámara de flujo laminar se decantó el suero y se lavaron tres veces con agua desmineralizada estéril. Los botones florales se transfirieron a una solución con fungicida comercial (Azoxystrobin) (0.1g/250 ml) durante 30 minutos en agitación manual constante y se enjuagaron con agua destilada estéril. Después, se lavaron con una solución de 5 % de hipoclorito de calcio (CaOCl, 5g/100 mL) con agitaciones manuales constantes durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo, los botones florales se lavaron tres veces con agua destilada estéril).

Figura 1

Colecta de botones florales de cinco genotipos a evaluar



Actividad 3. Establecimiento de los protocolos de embriogénesis somática

Se utilizaron los protocolos publicados por García et al. (2018) y Guillou et al. (2018) (tabla 1). Los pasos que se realizaron en la presente investigación basados en los protocolos mencionados fueron los siguientes:

Establecimiento de los medios de inducción y crecimiento de callo

El medio de inducción a callo (PCG) se estableció como se señala en la tabla 1.

Seguido del periodo inicial de la inducción de callo a partir de los explantes, se determinó utilizar el medio de crecimiento de callo secundario (SCG). Éste se llamó SCG1 al descrito por García et al. (2018) y SSG2 al publicado por Guillou et al. (2018) (Tabla 2)

Establecimiento de los medios de expresión y desarrollo de embriones

Posterior a la inducción de callo a partir de los explantes, se determinó utilizar el medio de expresión (CC2) propuesto por Guillou et al. (2018) y el medio de desarrollo de embriones (ED4) descrito por García et al. (2018) (Tabla 3).

Establecimiento de los medios de desarrollo secundario de embriones

Los embriones formados en los medios descritos anteriormente se subcultivaron en medios de desarrollo secundario de embriones denominado ED3 por García et al. (2018) (Tabla 4) y en el medio CC2. Cabe resaltar que el medio CC2 propuesto por Guillou et al. (2018) para esta etapa debería contener el regulador de crecimiento 2,4,5-T (1mg/L),

Tabla 1

Composición del medio de inducción de callo (PCG) modificado a partir de García et al. (2018) y Guillou et al. (2018)

Componentes	Cantidad (mg/L)
Macronutrientes DKW	100 %
Micronutrientes DKW	100 %
Vitaminas	
Inositol	200
Tiamina	0.2-2.0
Ácido nicotínico	1.0
Aminoácidos	
Glicina	2.0
Triptófano	1.0
Glutamina	250
Reguladores de crecimiento	
2,4-D	2.0
TDZ	0.005
Otros (g/L)	
Glucosa	20
Fitagel	2.5
pH	5.6-5.8

Tabla 2

Composición del medio de crecimiento de callo secundario (SCG) modificado a partir de García et al. (2018) (SCG1) y Guillou et al. (2018) (SCG2)

Componentes	mg/L	
	SCG1 García et al. (2018)	SCG2 Guillou et al. (2018)
Macronutrientes	WPM (100%)	WPM (100%)
Micronutrientes	WPM (100%)	WPM (100%)
Vitaminas		
Inositol	100	100
Tiamina	10	10
Ácido Nicotínico	1	1
Piridoxina	1	1
Aminoácidos		
Glicina	---	2
Reguladores de crecimiento		
2,4-D	2	2
BA	0.05	--
Kinetina	---	0.25
Otros (g/L)		
Leche de coco	---	50mL
Glucosa	20	20
Fitagel	2.2	3
pH	5.8	5.6

Tabla 3

Composición del medio de expresión (CC2) modificado a partir de Guillou et al. (2018) y medio de desarrollo de embriones (ED4) modificado de García et al. (2018)

Componentes	mg/L	
	ED4 García et al. (2018)	CC2 Guillou et al. (2018)
Macronutrientes	DKW (100%)	MS (100%)
Micronutrientes	DKW (100%)	DKW (100%)
Vitaminas		
Inositol	100	100
Tiamina	2	2
Ácido Nicotínico	1	1
Piridoxina	1	1
Aminoácidos		
Glicina	2	2
Lisina	---	0.4
Leucina	---	0.4
Arginina	---	0.4
Triptófano	---	0.2
Reguladores de crecimiento		
Adenina	---	0.025
Otros (g/L)		
Glucosa	40	30
Fitagel	2	3
pH	5.8	5.6

Tabla 4

Composición del medio de desarrollo secundario de embriones (ED3) modificado de García et al. (2018)

Componentes	mg/L
	García et al. (2018)
Macronutrientes	DKW (100%)
Micronutrientes	DKW (100%)
Vitaminas	
Inositol	100
Tiamina	2
Ácido Nicotínico	1
Piridoxina	1
Aminoácidos	
Glicina	2
Lisina	---
Leucina	---
Arginina	---
Triptófano	---
Reguladores de crecimiento	
Adenina	---
Otros (g/L)	
Glucosa	30
Fitagel	2
pH	5.8

pero que debido a la ausencia de este reactivo en el Laboratorio se decidió seguir utilizando el medio CC2).

Actividad 4: Establecimiento de ensayos

Se realizaron diferentes ensayos para la evaluación del potencial embriogénico de los genotipos de cacao salvadoreño.

Disección y siembra de explantes

En la cámara de flujo laminar y mediante el uso de pinzas y bisturís estériles se disectó un tercio de la longitud de los botones florales para exponer los órganos internos como los estaminodios y los pétalos (Figura 2).

Se diseccionaron los cinco pétalos (específicamente la base de los pétalos) y se transfirieron separadamente en placas de Petri de 100x15 mm que contenían 30 mL de medio PCG (medio de inducción de callo).

La siembra se realizó asegurando un buen contacto del explante con el medio y con una distribución uniforme de 25 estaminodios o 25 pétalos por placa de Petri.

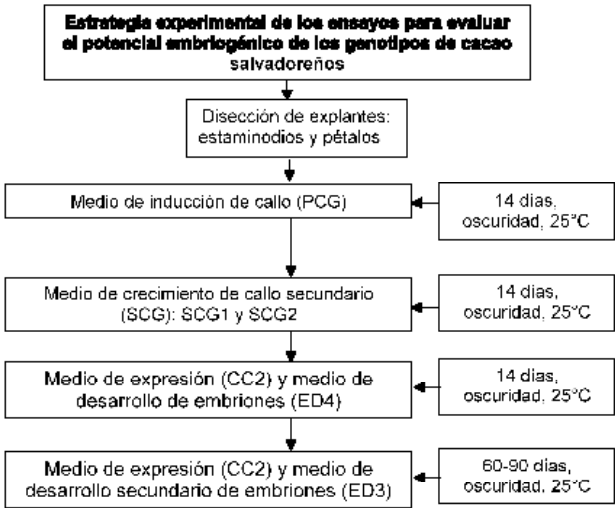
Posteriormente, se les colocó doble capa de plástico PlasticWrap para sellarlas e identificarlas. Las placas se dejaron en completa oscuridad a una temperatura de 25 °C durante 14 días.

Actividad 5: Evaluación preliminar de la embriogénesis somática

Los embriones somáticos producidos fueron evaluados mediante la observación y descripción del número de embriones por callo, color, tamaño, tipo de callo productor de embriones y las diferencias de los callos originados a partir de estaminodios y pétalos.

Figura 2

Estrategia experimental de los ensayos desarrollados para evaluar el potencial embriogénico de los genotipos de cacao salvadoreños



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Etapa 1, el objetivo es inducir en los explantes la expresión embriogénica, la cual se comprueba con la formación de callos embriogénicos en la etapa siguiente.

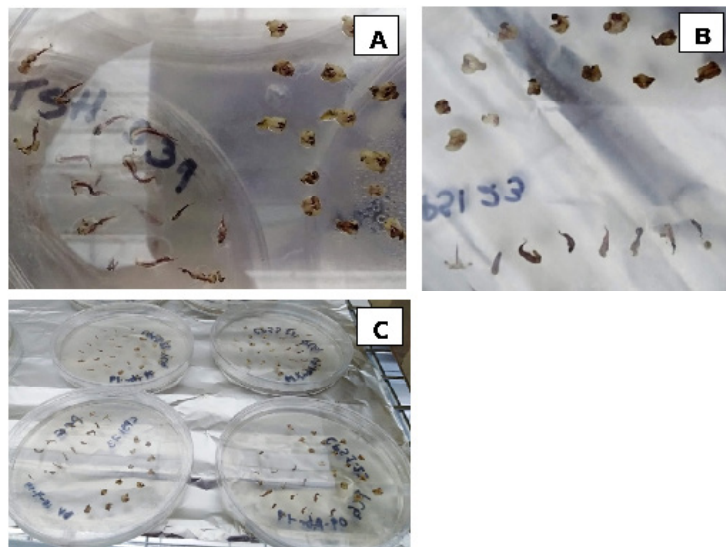
Los explantes cultivados en los medios PCG incrementaron dos veces su tamaño original y posteriormente sobre su superficie se formó un callo compacto blanco de forma granular, después de 14 días en el cultivo (Figura 3), la cual se comprueba con la formación de callos embriogénicos en la etapa siguiente. Varios autores afirman que las diferencias en la respuesta callogénica y embriogénica en cacao dependen del genotipo, las condiciones de cultivo y el tipo de explante (López Báez et al., 2001; Maximova et al., 2002; Chantásig, 2004). Con base en los estudios de García et al., (2018), mencionan que las bajas concentraciones de TDZ usadas en esta etapa afectan positivamente el crecimiento del callo, la frecuencia de embriogénesis y el número de embriones somáticos producidos por cada explante sensible.

Las variables evaluadas en el ensayo fueron determinadas a partir de botones florales inmaduros en medios de inducción de callo (Figura 3). El Genotipo Verde (E) presentó cualitativamente la mayor formación de callo, de consistencia friable y color amarillo crema y el de menor resultado fue el genotipo Rojo (D) con una coloración rojiza debido a la presencia de antocianinas la consistencia es friable; los genotipos CPS1-23 y TSH-539 presentaron un comportamiento intermedio y consistencia seca y color blanquecino. El clon TSH-539, presentó mayor tamaño de callo y diferencias en tamaño en los medio SCG1 y SCG2 mientras que los demás genotipos mostraron menor crecimiento en el mismo medio (Figura 4).

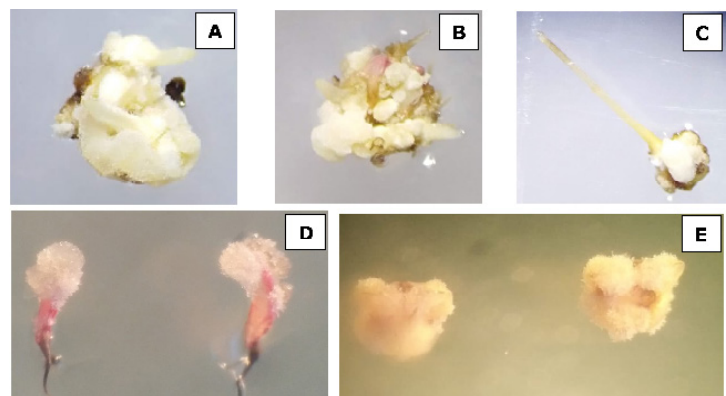
Li et al. (1998), reportaron que durante los explantes permanecieron en el medio de cultivo SCG, observaron al final del subcultivo estructuras similares a embriones somáticos en etapa globular en la superficie del callo; aunque no llegaron a desarrollarse.

Figura 3

nducción de formación de callo en medios PCG después de 14 días en completa oscuridad a 25 °C. A: Estaminodios y pétalos del clon TSH-539; B: Estaminodios y pétalos del material CPS1-23; C: Placas Petri con medios PCG conteniendo explantes de los genotipos Rojo, Amarillo y Verde-21

**Figura 4**

Crecimiento de callo secundario en medios SCG a los 14 días de cultivo. Callos formados a partir de pétalos de TSH-539 en medio SCG1 (A) y SCG2 (B). (C) Callo y raíz a partir de pétalos de CPS1-23 en medio SCG1. Inicio de formación de callo a partir de estaminodios (D) y pétalos (E) siete días después de iniciado el cultivo

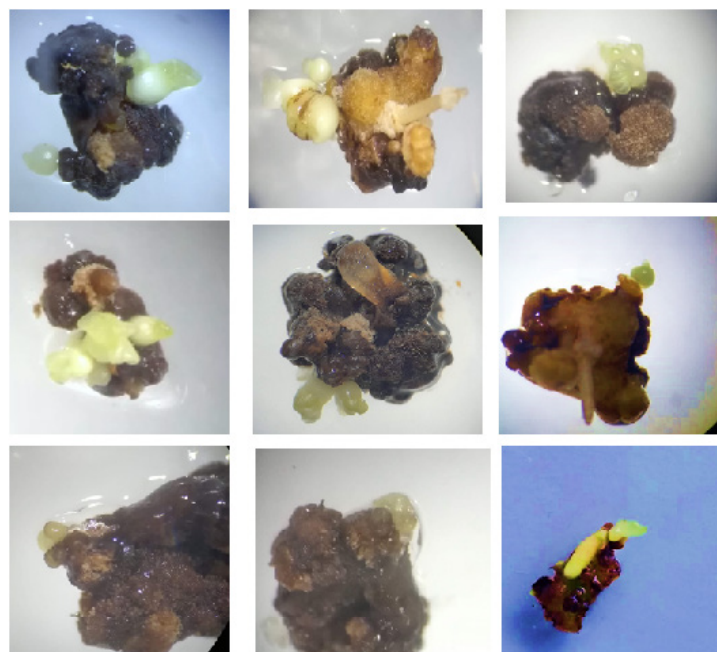


En general se observa que para todos los genotipos el mejor medio fue el SCG-1, que contenía TDZ y glucosa, favoreciendo el crecimiento y apariencia del callo friable; mientras que en el medio SCG-2, siempre favoreció, pero fue menor el crecimiento. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Guiltinan et al. (2000), ellos confirman que usar bajas concentraciones de TDZ al medio de cultivo (0.005mg-1 mg/L) favorece la formación y la apariencia del callo friable a partir de explantes florales de cacao.

En la Etapa 2, se busca el desarrollo de callo embriogénico y la formación de embriones en estado globular, pero en diferentes grados según el genotipo. Respuesta embriogénica en dos genotipos nacionales de cacao presentes en el banco de germoplasma de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador (Figura 5).

Figura 5

Respuesta positiva a la embriogénesis somática en callos regenerados de pétalos de dos genotipos: TSH 539 y accesión verde-21



Se observó que todos los genotipos presentan un alto índice de fenoles, este proceso de fenolización afecta los tejidos vegetales in vitro, El cultivo en completa oscuridad puede ayudar a controlar el proceso de oxidación de fenoles, es por ello por lo que estos genotipos tienen más contenido fenólico que muestran mejores respuestas cuando son sometidos a oscuridad total (García et al., 2018).

Otra condición que se observó en el medio de cultivo con el Clon TSH-539 fue una necrosis no sincronizada que se mantuvo durante todo el subcultivo. Los estaminodios no experimentaron esta necrosis y continuaron su crecimiento sin la formación de embriones somáticos. Cuando se realizó el segundo subcultivo de los explantes para la formación de embriones, se observó la presencia de estos en los pétalos y estaminodios del Clon TSH-539 y la accesión verde en diferentes etapas de desarrollo globular (figura 5), corazón y torpeda. Así lo menciona Díaz-López et al., (2015) en estudios similares.

En cuanto al medio de cultivo se afirma que el medio con balance hormonal de 2,4-D dio mejor resultado dependiendo del genotipo en condiciones de oscuridad; comparado con el medio con balance hormonal Kinetina y 2,4-D para la variable en estudio. Al respecto Taiz y Zeiger (1998), menciona que la respuesta de los tejidos a la adición externa de reguladores de crecimiento, puede deberse a la interacción con los contenidos endógenos de otros reguladores presentes en el tejido vegetal.

Resultados similares obtuvo Guiltinan et al. (2000), en cuanto observaron en algunos callos la presencia de raíces, embriones cuyas partes radical y apical no se desarrollaron normalmente, así como la ocurrencia de embriogénesis secundaria en uno de los embriones somáticos primarios.

Según Guillou et al. (2018), plantean que el potencial embriogénico se da en diferentes periodos de un ciclo de multiplicación contando el número

de embriones producidos después de cuatro semanas de su transferencia al medio de expresión CC2. En este estudio cuando los callos de pétalo fueron subcultivados cada 14 días en el medio CC2 que contenía la auxina adenina 0.25 mg-1, el número total de embriones somáticos fue de 27, después de 28 días fueron 40 embriones de los dos genotipos estudiados.

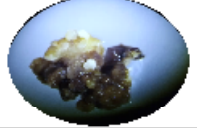
Es importante destacar que los estaminodios no experimentaron necrosis y continuaron su crecimiento y conservaron su coloración amarillo crema en la mayoría de los genotipos en estudio, pero sin la formación de embriones somáticos (Tabla 5).

Después de realizar el segundo subcultivo para la formación de embriones y transferirlos al medio CC2, por 14 días en oscuridad, se observó la presencia de estos en pétalos y estaminodios en algunos genotipos; después de 28 días fueron transferidos al medio ED3 y ED4 para su desarrollo. La mayor cantidad de embriones por explante se obtuvo con ED3 utilizando glucosa como fuente de energía. En general se produjeron callos rizogénicos cuando fueron cultivados en ED4 (Li et al., 1998; Maximova et al., 2002 y Guillou et al., 2018) reportan similares resultados.

Los estaminodios siempre mostraron mejor formación de callo que los pétalos, esto puede deberse a la naturaleza de las células que los conforman; el cojinete floral donde los estaminodios se encuentran fundidos en la base con los estambres y cerca de la zona meristemática floral, su parte basal es un área pequeña menor que la de los pétalos,

Tabla 5

Respuesta a la inducción de embriones a partir de callos de cinco genotipos de cacao y dos tipos de explante. Los datos fueron colectados entre 70-80 días después de iniciado el cultivo en medios CC2 y ED3

Genotipos de cacao evaluados	Tipo de explante	
	Pétalo	Estaminodio
CPS1-23		
Rojo		
Verde-21		
Amarillo		
TSH-539		

a medida que las células se alejan de la zona meristemática adquieren gradualmente un estado de diferenciación (Pérez-Núñez, 2006).

Al momento de la siembra, en el medio de cultivo la mayor parte de la superficie del estaminodio queda en contacto con el medio debido a su estructura recta y alargada, a diferencia de los pétalos que tienen una curva en forma de cuello de cisne entre la capucha y la lígula, que dificulta un mayor contacto con el medio. Por lo anterior, los estaminodios pueden ser un tejido más apto para la formación de callo, producido por una división mitótica temprana y la dediferenciación de las células somáticas. (Urrea et al., 2011).

García et al. (2018), identificaron dos tipos de embriones somáticos: el tipo I permanecen latentes o sin raíces son lentos o no se producen; los de tipo II son de color blanco, con un eje embrionario definido, su color verde es rápido y las hojas se producen de dos a tres semanas; lo que contrasta con los hallazgos de esta investigación.

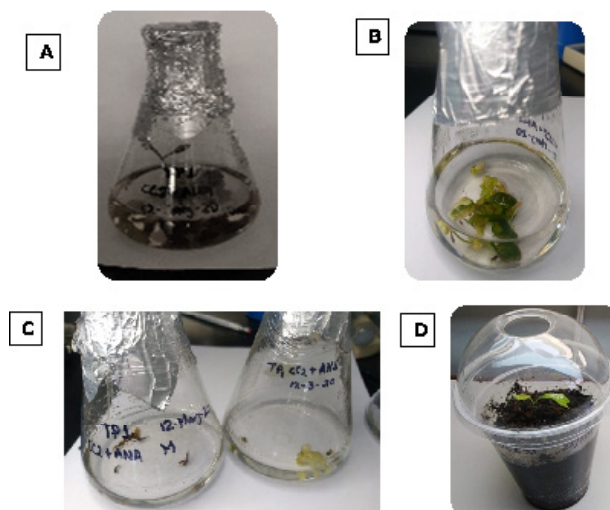
Etapa 3 Conversión de embriones somáticos en medio líquido (EDL) y Endurecimiento de plántulas (Figura 6).

Los embriones maduros del clon TSH-539 y de la accesión Verde-21 fueron seleccionados para conversión de plántula, se observó una variación en la conversión entre los dos genotipos de cacao. El TSH 539 mostró más altas conversiones que el genotipo Verde-21 esta variación puede estar relacionada con las características morfológicas de los embriones. Además, el genotipo Verde-21 presentó embriones normales, mientras que la mayoría de los embriones producidos por TSH-539 se presentan fusionados y poco desarrollados al igual que Ribeiro et al. (2008).

Marino y Berardi (2004) definen que dióxido de carbono y el etileno son producidos por los tejidos de las plantas cultivadas in vitro, estos gases pueden acumularse a niveles altos dentro de los frascos; además la baja luminosidad y reducido intercambio de gas dentro de los frascos puede

Figura 6

Germinación de embriones somáticos TSH-539 y conversión en planta (A); Embrión somático CPS1-23 en etapa globular (B); Embriones genotipos -Rojo y Amarillo en etapa globular (C); Endurecimiento de planta de cacao en vaso plástico con suelo genotipo Verde-21 (D)



ser perjudicial para el crecimiento y regeneración celular; al mismo tiempo las tapaderas de microporo permiten un mejor intercambio gaseoso con el medio ambiente externo reduciendo los compuestos mencionados. Este dato es muy similar en los resultados obtenidos en esta etapa, donde las plántulas del clon TSH-539 murieron y solo una plántula del genotipo Verde-21 paso a la fase de endurecimiento.

CONCLUSIONES

El clon TSH-539 y los genotipos verde-21, amarillo y CPS1-23 mostraron respuesta embriogénica en diferentes grados, a excepción del genotipo rojo que produjo un callo granular translúcido muy friable, afirmando la alta dependencia del genotipo, medios de cultivo, reguladores de crecimiento y el tipo de explante.

En todos los genotipos los estaminodios cultivados en TDZ y glucosa son los explantes con mejor respuesta para la inducción de callo embriogénico y friable, pero una vez formados los callos, los pétalos son más aptos para la formación de embriones somáticos primarios.

El balance Hormonal 2,4 D (2,4 - diclorofenoxiacético) y Kinetina (6-furfuril adenina), dio el mejor resultado para el desarrollo de estructuras pro embriogénicas.

En este trabajo se obtuvieron embriones somáticos del clon internacional TSH-539 y un genotipo salvadoreño identificado como Verde-21, solo estos dos genotipos se desarrollaron hasta la etapa cotiledonar. Posteriormente se desarrollaron hasta plántulas en el medio ED3 y ED4. Un tiempo prolongado en este medio favoreció buen desarrollo en altura y raíz, aspecto que permitió la adaptación *ex vitro* exitosa. Por otro lado, los pobres resultados obtenidos con los otros genotipos CPS1-23, genotipo rojo y genotipo amarillo que reafirman el fuerte efecto genotípico en la embriogénesis somática de *Theobroma cacao*. Este es el primer reporte de conversión a plántula y adaptación *ex vitro* exitosa en un genotipo salvadoreño de cacao, sin embargo, se requiere más investigación al respecto para superar la recalcitrancia asociada a otros genotipos de cacao.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (CIC-UES), por el apoyo financiero proporcionado a esta investigación, donde se ha fortalecido el conocimiento y las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología en el área de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

REFERENCIAS

Aguilar, M. (1990). Obtención de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) a partir del microinjerto de embriones somáticos [Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza].

Castañeda, V., Hernández, L., Quintanilla, G., Morán, A., Morazán, I., & Gómez, M. (2015). La bioprospección del cacao criollo de El Salvador: Redescubriendo la riqueza de un centro de domesticación de cacao prehispánico en Mesoamérica. *Revista El Salvador Ciencia y Tecnología*, 20(29).

Chanatásig, C. (2004). Inducción de la embriogénesis somática en clones superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) con resistencia a enfermedades fungosas [Tesis de maestría, Escuela de Posgrado del Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza].

Díaz López, A., Sánchez, D., Valera Leal, J., & Vegas García, A. L. (2015). Formación de embriones somáticos en cinco cultivares de *Theobroma cacao* L. cultivados en Venezuela. *Biotecnología Vegetal*, 15, 27–34.

Esan, E. (1977). Tissue culture studies on cacao (*Theobroma cacao* L.): A supplementation of current research. En *Proceedings of the 5th International Cacao Research Conference* (pp. 116–125). Cocoa Research Institute of Nigeria.

García, C., Marelli, J., Motamayor, J., & Vilella, C. (2018). Somatic embryogenesis in *Theobroma cacao* L. *National Institute of Health*, 1815, 227–245.

Guillou, C., Fillodeau, A., Brulard, E., Verdier, D., Simon, M., & Ducos, J. P. (2018). Indirect somatic embryogenesis of *Theobroma cacao* L. in liquid medium and improvement of embryo-to-plantlet conversion rate. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 54, 377–391.

Guiltinan, M., Alemanno, A., Young, A., & Maximova, S. (2000). Method and tissue culture media for inducing somatic embryogenesis and efficient regeneration of plant cacao (U.S. Patent No. 6,150,587). United States Patent and Trademark Office.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2012). Diagnóstico y caracterización de la cadena agroproductiva de cacao en El Salvador. IICA.

Komamine, A., Murata, N., & Nomura, K. (2005). Mechanisms of somatic embryogenesis in carrot suspension cultures: Morphology, physiology, biochemistry, and molecular biology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 41, 6–10.

Li, Z., Traore, A., Maximova, S., & Guiltinan, M. (1998). Somatic embryogenesis and plant regeneration from floral explants of cacao (*Theobroma cacao* L.) using thidiazuron. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 34, 293–299.

López-Báez, O., Moreno, J., & Pacheco, S. (2001). Avances en propagación de cacao (*Theobroma cacao*) por embriogénesis somática en México. En *Proceedings of the International Workshop on New Technologies and Cocoa Breeding* (pp. 163–177). INGENIC.

Marino, G., & Berardi, G. (2004). Different sealing materials for Petri dishes strongly affect shoot regeneration and development from leaf explants of quince 'BA 29'. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 40, 384–388.

Maximova, S., Alemanno, L., Young, A., Ferriere, N., Traore, A., & Guiltinan, M. (2002). Efficiency, genotypic variability, and cellular origin of primary and secondary somatic embryogenesis of *Theobroma cacao* L. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 38, 252–259.

- Mejía, F., & Palencia, C. (2000). Manejo integrado del cultivo del cacao. CORPOICA.
- Perea, A., Martínez, N., & Aránzazu, F. (2013). Características de calidad del cacao de Colombia: Catálogo de 26 cultivares. FEDECACAO.
- Pérez-Núñez, M., Chan, J., Sáenz, L., González, T., Verdeil, J., & Oropeza, C. (2006). Improved somatic embryogenesis from *Cocos nucifera* (L.) plumule explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 42, 37.
- Ribeiro, T., Cardoso, R., Cerqueira, F., de Mattos, J., & Cardoso, G. (2008). Somatic embryogenesis and plant regeneration in elite clones of *Theobroma cacao*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(10).
- Taiz, L., & Zeiger, E. (1998). Plant physiology (2nd ed.). Sinauer Associates.
- Urrea, A., Atehortúa, L., & Gallegos, A. (2011). Regeneración vía embriogénesis somática de una variedad colombiana élite de *Theobroma cacao* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(2).
- Villalobos, V., & Aguilar, M. A. (1991). Plant regeneration of cacao (*Theobroma cacao* L.) by micro-grafting somatic embryos. En Abstracts of the VIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture (p. 140). Association for Plant Tissue Culture.
- Yang, X., & Zhang, X. (2010). Regulation of somatic embryogenesis in higher plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 29, 36–57.
- Zahid, R., Das, S., Prasad, S., & Shankar, S. (2013). Somatic embryogenesis in monocots. En J. Aslam, P. S. Srivastava, & M. P. Sharma (Eds.), *Somatic embryogenesis and gene expression* (pp. 15–18). Narosa Publishing House.