

INFORME FINAL
TECNICO Y DE GESTION
PROYECTO FIA: C 96-1-A-016
“VALIDACIÓN DE LA PROPAGACIÓN DE OLIVOS *in vitro*”
(ETAPA COMPLEMENTARIA)

Noviembre – 1998

I. ANTECEDENTES GENERALES

I.1 TITULO DEL PROYECTO: "Validación de la propagación de olivos *in vitro*"

I.2 AREA TEMATICA: Propagación de olivos

I.3 ENTIDAD EJECUTORA:

Nombre: Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso

Dirección: La Palma s/Nº, Quillota

Teléfono: 32 – 274530

Fax: 32 – 274570

RUT: 81.669.200-8

I.4 JEFE DE PROYECTO: Mónica Castro Valdebenito

I.5 COSTO TOTAL: \$1.547.158.=

I.6 APORTE DEL FIA: \$279.932.=

I.7 PERIODO DE EJECUCION: 07 de mayo de 1998 al 07 de agosto de 1998

II. RESUMEN EJECUTIVO

A la fecha se han realizado una serie de ensayos conducentes a lograr un protocolo de enraizamiento *in vitro* e *in vivo* del material de olivo micropropagado.

Se logró establecer el mejor tratamiento para enraizar *in vitro* los explantes previamente elongados.

No se logró enraizar *in vivo* microestacas procedentes de la propagación *in vitro* de esta especie.

No se logró aclimatar las microestacas enraizadas *in vitro*.

III. TEXTO PRINCIPAL

III.1 ASPECTOS METODOLOGICOS

Para llevar a cabo esta etapa complementaria del proyecto se utilizó explantes de olivo de la variedad Sevillano que crecían en condiciones *in vitro* procedentes de las etapas anteriores.

III.1.1 Enraizamiento *in vitro*

Este ensayo se realizó con microestacas de 2 cm de longitud. Como medio de cultivo se utilizó las sales minerales del medio de Murashige y Skoog (1962) diluídas a la mitad de su concentración, adicionadas de azúcar (20g/l), carbón activado (0,3g/l) y agar (7g/l).

Se ensayaron dos tratamientos auxínicos: ácido naftalén acético (ANA) y ácido indol butírico (AIB), utilizando en ambos casos una concentración de 1mg/l del regulador de crecimiento, con veinte repeticiones por tratamiento.

El pH se ajustó en 5,8, previo a la esterilización de los medios de cultivo en autoclave por un período de 15 minutos a 120°C. Todas las manipulaciones del material vegetal se realizaron en una cámara de flujo laminar horizontal, siguiendo el protocolo clásico de las siembras *in vitro*.

Una vez establecidos los explantes en los frascos que contenían los respectivos medios de cultivo, fueron llevados a una cámara de crecimiento con ambiente controlado, con una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, una intensidad lumínica de 1600 lux y un fotoperíodo de 16 horas luz por día.

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- Presencia o ausencia de raíz
- Número de raíces por explante
- Largo de raíces

Estas evaluaciones se realizaron cada 15 días.

Una vez que las raíces alcanzaron los 2 cm de longitud, las plantas fueron llevadas a la cámara bioclimática bajo invernadero frío. Dentro de esta cámara, se habilitaron pequeñas canastas con un sustrato compuesto de perlita y turba (3:1 v/v) donde se ubicaron las plantas durante todo el período de aclimatación (Figura 1). Estas canastas estaban cubiertas por un polietileno transparente que permitiera mantener la humedad relativa cercana al 100% (Figura 2). En esta etapa se evaluó la sobrevivencia a las condiciones *in vivo* al cabo de 15 días de trasplantadas.

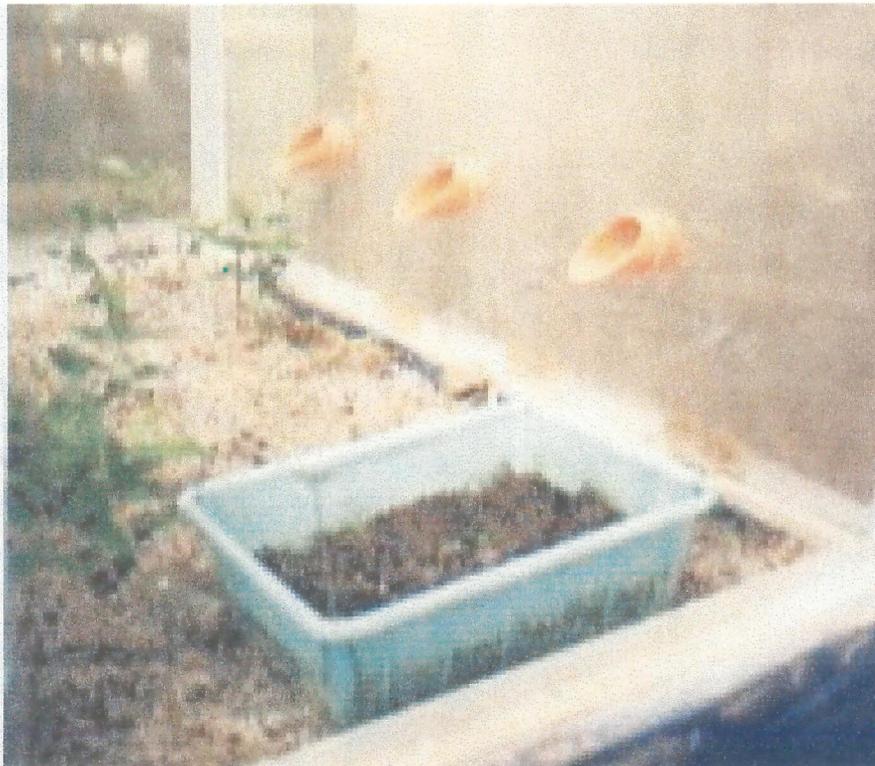


Figura 1. Canasta utilizada para aclimatar microestacas micropropagadas de olivo



Figura 2. Canasta cubierta con polietileno transparente, utilizada para aclimatar microestacas micropropagadas de olivo

III.1.2 Pretratamiento para estimular el enraizamiento *in vitro*

Al igual que en el ensayo anterior, se utilizaron microestacas procedentes de la etapa de elongación del proceso de micropropagación de olivo.

El pretratamiento se llevó a cabo en un ambiente estéril dentro de la cámara de flujo laminar horizontal y consistió en:

- la inmersión de la base de la microestaca en una solución acuosa de ANA (1mg/l) por 35 segundos, o
- la inmersión de la base de la microestaca en una solución hidroalcohólica de AIB (500 mg/l) por 30 minutos.

Una vez realizado el pretratamiento correspondiente, se procedió igual que en el ensayo anterior, teniendo la precaución que las microestacas pretratadas con ANA fueran llevadas al tratamiento con ANA y aquellas pretratadas con AIB fueran llevadas al tratamiento con AIB. Se realizó un total de 20 repeticiones por tratamiento.

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- Presencia o ausencia de raíz
- Número de raíces por explante
- Largo de raíces

Estas evaluaciones se realizaron cada 15 días.

III.1.3 Pretratamiento para estimular el enraizamiento *in vivo*

Para llevar a cabo este ensayo se utilizaron aquellos explantes de 2 cm de longitud procedentes de la fase de elongación *in vitro*.

Los pretratamientos se aplicaron en condiciones estériles en la cámara de flujo laminar horizontal, siguiendo el protocolo clásico para los repiques *in vitro*, y consistieron en:

- el establecimiento de los explantes en un medio de cultivo compuesto por las sales minerales de Murashige y Skoog (1962) diluidas a la mitad de su concentración, adicionadas de azúcar (20g/l), carbón activado (0,3 g/l), agar (7g/l) y ANA (1 mg/l), por un período de 5 días. Durante este tiempo se mantuvieron en la cámara de crecimiento con ambiente controlado, con una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, una intensidad lumínica de 1600 lux y un fotoperíodo de 16 horas luz por día.

- el establecimiento de los explantes en un medio de cultivo compuesto por las sales minerales de Murashige y Skoog (1962) diluidas a la mitad de su concentración, adicionadas de azúcar (20g/l), carbón activado (0,3 g/l), agar (7g/l) y AIB (1 mg/l), por un período de 5 días. Durante este tiempo se mantuvieron en la

cámara de crecimiento con ambiente controlado, con una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, una intensidad lumínica de 1600 lux y un fotoperíodo de 16 horas luz por día.

Una vez realizados los pretratamientos a veinte unidades experimentales por cada uno de ellos, las microestacas fueron retiradas de los frascos de cultivo, se les eliminó todos los restos de medio de cultivo de la base y se sumergieron en una mezcla de Benlate (1,2 g/l) más Captan (1,2 g/l), para ser llevadas a la cámara bioclimática bajo invernadero frío.

Dentro de esta cámara, se habilitaron pequeñas canastas con un sustrato compuesto de perlita y turba (3:1 v/v) donde se ubicaron las plantas durante todo el período de enraizamiento y aclimatación. Estas canastas estaban cubiertas por un polietileno transparente que permitiera mantener la humedad relativa cercana al 100%. En esta etapa se evaluó el enraizamiento y la sobrevivencia a las condiciones in vivo al cabo de 15 días de trasplantadas.

III.2 RESULTADOS OBTENIDOS

III.2.1 Enraizamiento *in vitro*

Al cabo de 15 días de establecidos los explantes en los tratamientos con reguladores de crecimiento auxínico, se observó enraizamiento sólo en algunos explantes del tratamiento con ANA (Cuadro1).

CUADRO 1. Enraizamiento (%) *in vitro* de microestacas de olivo cultivar Sevillano

Tratamientos	Enraizamiento (%)
ANA (1mg/l)	40
AIB (1mg/l)	0

Al evaluar las características de estas raíces se pudo constatar que estas tenían un largo promedio de 3 mm por raíz, presentando sólo una raíz por explante (Cuadro2).

CUADRO 2. Número y largo de raíces por microestaca de olivo cultivar Sevillano

Tratamientos	Número de raíces/microestaca	Largo de raíces (mm)
ANA (1mg/l)	1	3
AIB (1mg/l)	0	0

Si se comparan estos resultados con lo que ocurre en otras especies frutales como son los cítricos, se puede constatar que si bien en estas especies los primordios radicales son visibles a los 8 días, en el caso del olivo recién a los 15 días son visibles. Sin embargo, si se compara la velocidad de crecimiento de estas raíces, ésta es superior en los olivos donde en este ensayo se pudo constatar que al cabo de 23 días ya alcanzaban un largo promedio de 17 mm por raíz, tasa de crecimiento muy superior a la observada en cítricos *in vitro*.

Una vez que las raíces alcanzaron los 2 cm de longitud, las plantas se llevaron a la cámara bioclimática para su aclimatación a las condiciones *in vivo*. En esta cámara, las plantas se ubicaron en las canastas descritas en la metodología y se mantuvieron cubiertas con un polietileno transparente (Figura 3). Sin embargo, al cabo de 7 días comenzaron a manifestar síntomas de deshidratación a pesar de contar con una alta humedad relativa. Además, las hojas comenzaron a abscionar en forma progresiva, hasta que las plantas quedaron completamente

desfoliadas, para finalmente secarse completamente el tallo. Estos resultados concuerdan con lo reportado por diversos investigadores, donde se señala que las mayores pérdidas en la micropropagación se obtienen en la etapa de aclimatación.

De este modo, al cabo de 15 días el porcentaje de sobrevivencia era prácticamente nulo, para llegar a obtener finalmente a los 20 días la muerte total del material vegetal.

Este ensayo se repitió posteriormente lográndose los mismos resultados.

III.2.2 Pretratamiento para estimular el enraizamiento *in vitro*

En este ensayo, se obtuvo 0% de enraizamiento con ambos pretratamientos y sus respectivos tratamientos posteriores. Con esta inmersión de la base de la estaca en una solución auxínica lo que se pretendía era cumplir con los requisitos auxínicos descritos por Hartmann *et al* (1997), para la fase del enraizamiento denominada auxina-activa, durante la cual se requiere una provisión continua de auxina para formar raíces, a partir de una yema terminal o auxina exógena. Sin embargo, estos tratamientos no dieron el resultado esperado lo que podría deberse a varios factores, entre otros, que la concentración de auxina no haya sido suficiente, que faltara algún cofactor de enraizamiento o bien que la enzima polifenol oxidasa que participa en formación del complejo co- factor+auxina no haya estado disponible.

De todas maneras este material vegetal sin enraizar fue llevado a la cámara bioclimática para su enraizamiento *in vivo* y posterior aclimatación, obteniéndose los mismos resultados descritos en el ensayo anterior.

III.2.3 Pretratamiento para estimular el enraizamiento *in vivo*.

Con este ensayo se perseguía el mismo objetivo que en el ensayo anterior, es decir que la auxina estuviera disponible para la fase auxina-activa del proceso de rizogénesis.

Sin embargo, no se obtuvo los resultados esperados y al cabo de 5 días de ser trasplantadas las microestacas comenzaron a manifestar síntomas de deshidratación y a los 10 días comenzaron a abscionar sus hojas para quedar al cabo de 15 días completamente desfoliadas. Por lo tanto, en las dos variables evaluadas, enraizamiento y sobrevivencia a las condiciones *in vivo* se obtuvo 0%. Este ensayo se repitió, lográndose los mismos resultados ya descritos.

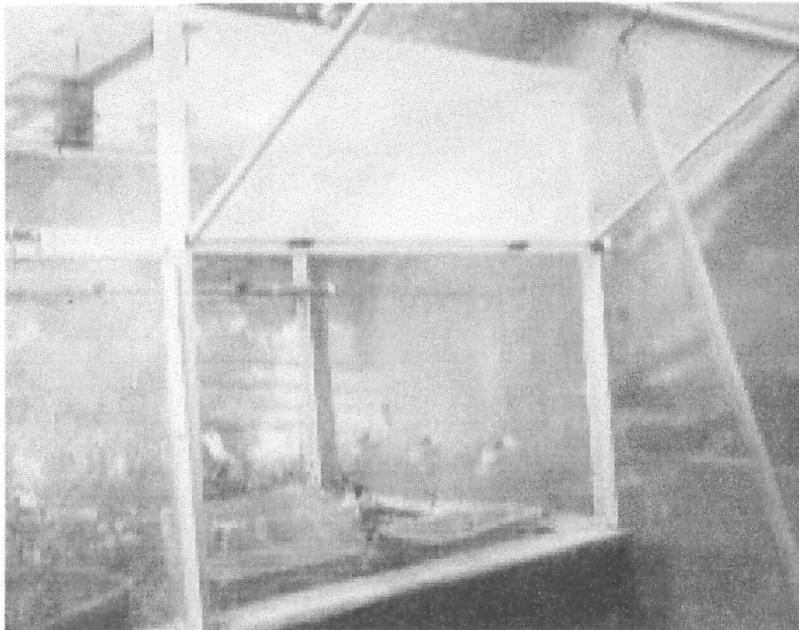


Figura 3. Vista general de la cámara bioclimática con el sistema utilizado para enraizar y aclimatar microestacas micropropagadas de olivo.

III.3 PROBLEMAS ENFRENTADOS

Se había considerado la posibilidad de evaluar el efecto del reactivo Putrescina como estimulador del enraizamiento según lo cita MENCUCCINI (1995), en un trabajo sobre enraizamiento de olivo *in vitro*. Dicho reactivo fue encargado al proveedor de Sigma en agosto del presente año, comprometiéndose a entregarlo en 15 días, sin embargo hasta la fecha este reactivo aún no está disponible en el país ni en el extranjero.

III.4 CUADRO RESUMEN DE COSTOS

3.- PROGRAMADO / REAL APORTES FIA										
ITEM	may-98		jun-98		jul-98					
	PPTO	REAL	PPTO	REAL	PPTO	REAL	PPTO	REAL	PPTO	REAL
Personal de Dirección										
Personal de apoyo										
Servicios, suministros y otros	115475	28650	115475	22473	115475	55134				
Uso de bienes de capital										
Adquisición de Infraestr. e Instrumentos	142000									
TOTALES	257475	28650	115475	22473	115475	55134				

ITEM	ago-98		nov-98		TOTAL	
	PPTO	REAL	PPTO	REAL	PPTO	REAL
Personal de Dirección						
Personal de apoyo						
Servicios, suministros y otros	115475	70650		103025	461900	279932
Uso de bienes de capital						
Adquisición de Infraestr. e Instrumentos					142000	0
TOTALES	115475	70650	0	103025	603900	279932

III.5 DIFUSION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

III.5.1 RUIZ, L. 1998. "Efecto de la aplicación de AIB y época de recolección sobre el enraizamiento de estacas semileñosas de olivo (*Olea europaea* L.) del cultivar sevillano." Se adjunta resumen y tapa del Taller de Titulación.

III.5.2 CASTRO, M., CARTER, E. y RUIZ, L. 1998. "Micropropagación de olivo (*Olea europaea* L.). III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. 1-5 junio, La Habana, Cuba. 124 y 125 p. Se adjunta resumen del trabajo presentado y tapa del libro de resúmenes del Congreso.

III.5.3 CASTRO, M. y RUIZ, L. 1998. "Efecto de la aplicación de AIB y época de recolección sobre el enraizamiento de estacas semileñosas de olivo (*Olea europaea* L.) del cultivar sevillano." IX Congreso Latinoamericano de Horticultura y XLIX Congreso Agronómico de Chile. Se adjunta resumen del trabajo presentado.

III.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Con el tratamiento con ácido naftalén acético (ANA) se obtuvo 40% de enraizamiento de microestacas de olivo del cultivar sevillano *in vitro*.
- Estas microestacas enraizadas no lograron sobrevivir en la etapa de aclimatación *in vivo*.
- No se logró enraizamiento *in vitro* de microestacas de olivo del cultivar sevillano con los pretratamientos de inmersión en soluciones auxínicas.
- No se logró enraizamiento *in vivo* de microestacas micropropagadas de olivo del cultivar sevillano.
- El porcentaje de enraizamiento *in vitro* logrado (40%) no es suficiente para ser utilizada esta técnica a escala comercial.

III.7 BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

CAÑAS L., AVILA J.; VICENTE M. y BENBADIS A. 1992. Micropropagation of Olive (*Olea europea* L.), Biotechnology in Agriculture and Forestry. 18: 493-505.

CAÑAS L., CARRAMOLINO L., VICENTE M., 1987, Vegetative Propagation of the Olive Tree from *in vitro* Cultured Embryos, Plant Science. 50: 85-90.

CASTRO, M., MIRANDA, V. Y PALMA , B. 1997. Microcuttings root system morphology and development under *in vitro* and *in vivo* conditions in Citrus rootstocks (*Citrus macrophylla* West and *Citrango Troyer- Poncirus trifoliata* (L.) x *Citrus sinensis* (L.) Osb.). Biology of root formation and development. 65: 155-156.

GARCIA-BERENGUER A., DURAN R., 1990, Mineral Media for *in vitro* Propagation of Juvenile 'Picual', Acta Horticulturae. 286: 61 - 64.

HARTMANN, H., KESTER, D. DAVIES, F. y GENEVE, R. 1997. Plant propagation. Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc. 770 p.

LEVA, A.R.; PETRUCCELLI, R.; BARTOLINI, G. 1994, Mannitol 'in vitro' Culture of *Olea europea* L. (cv. Maurino), Acta Horticulturae. 356: 43 - 46.

MENCUCCINI, M., 1995. Micropropagazione e Miglioramento Genetico *in vitro* dell 'Olivo: Stato dell 'Arte e Prospettive Future. Rivista di Frutticoltura. 12: 73 82.

MENCUCCINI, M.; CORONA, C. 1991. Plant Regeneration and First attempt of *in vitro* Genetic improvement of Olive (cv. Moraiolo). Acta Horticulturae, 300:261 - 264

MURASHIGE,T. and SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-93.

PALMA, B. , BRAVO,H. Y CASTRO,M. 1997. Comparative study of root systems in *Citrus macrophylla* seedlings and microcuttings propagated *in vitro*. Acta Horticulturae 447: 591-596.

RAMA P.; PONTIKIS C. A. 1990. *In vitro* Propagation of Olive (*Olea europea sativa* L.) 'Kalamon'. Journal of Horticultural Science. 65 (3), 347 - 353.

RUGINI, E. 1984. *In vitro* propagation of some Olive (*Olea europea sativa* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and Embryos. Scientia Horticulturae. 24: 123 134.

RUGINI, E. 1990. *In Vitro* Culture of the Olive. An Overview of the Present Scientific Status, Acta Horticulturae. 286: 93 - 96.

RUGINI E.; BAZZOFFIA A., 1988. A Simple *in vitro* Method To Avoid the initial dark period and to increase rooting in fruit trees. *Acta Horticulturae*. 227.. 438 440.

RUGINI E.; FONTANAZZA G. 1981. *In Vitro* Propagationn of 'Doice Agogia' Olive., *Hort Science*. 16 (4).. 492 - 493.

RUGINI E., LUPPINO M. 1991, Endogenous Polyamine and Root Morphogenesis Variations Under Different Treatments in Cuttings and in *in vitro* Explants of Olive, *Acta Horticulturae*. 300.. 225 - 232.

SEYHAN, S.; ÓZZAMBAK E., 1994, Shoot Multiplication of Some Olive (*Olea europea* L.) Cultivars. *Acta Horticulturae*. 356: 35 -38.

SUTTER, E. 1994. Olive cultivars and propagation. In: Ferguson, L., Steven, G., Martin, G. eds. Olive production manual. Oakland, California, University of California. pp.23-30. (Publication 353).

III.8 ANEXOS

- Resumen y tapa del Taller de Titulación de RUIZ, L. 1998. "Efecto de la aplicación de AIB y época de recolección sobre el enraizamiento de estacas semileñosas de olivo (*Olea europaea* L.) del cultivar sevillano."
- Resumen del trabajo presentado y tapa del libro de resúmenes del III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. 1-5 junio de 1998. La Habana, Cuba.
- Resumen del trabajo presentado al IX Congreso Latinoamericano de Horticultura y XLIX Congreso Agronómico de Chile. 30 noviembre – 3 diciembre de 1998.

UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
FACULTAD DE AGRONOMIA

AREA DE FRUTICULTURA



TALLER DE LICENCIATURA

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE AIB Y EPOCA DE RECOLECCIÓN
SOBRE EL ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS SEMILEÑOSAS
DE OLIVO (*Olea europaea* L.) DEL CULTIVAR SEVILLANO.

LORETO ANDREA RUIZ GUTIÉRREZ

QUILLOTA CHILE

1998

6. RESUMEN

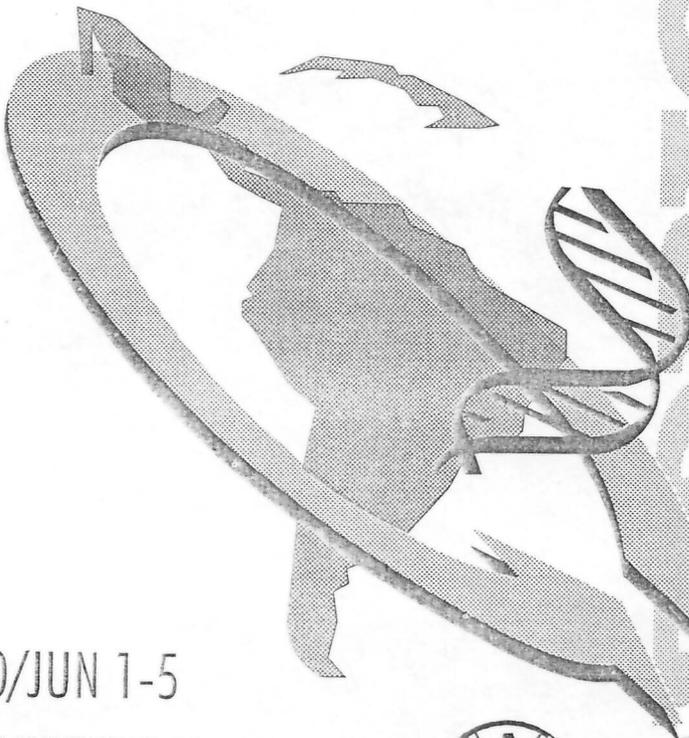
En el invernadero y Laboratorio de Micropropagación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso, se realizó un estudio de propagación de olivo (*Olea europaea* L.) cultivar Sevillano, con el objetivo de evaluar el enraizamiento de estacas semileñosas dentro de una cámara de polietileno bajo nebulización, durante el período comprendido entre noviembre de 1997 y junio de 1998.

El estudio consistió en la evaluación del efecto de cinco épocas de recolección de estacas (noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo) y de tres dosis de auxina, AIB (0 ppm, 2000 ppm y 4000 ppm), sobre el porcentaje de enraizamiento, el porcentaje de pudrición y el número y longitud promedio de raíces por estaca, realizando mediciones a los 30, 60 y 90 días de iniciado el ensayo.

Los resultados obtenidos para las variables "porcentaje de enraizamiento", "número de raíces" y "longitud promedio de raíces" no permiten establecer una influencia marcada del AIB sobre la totalidad de los tratamientos, ya que sólo en algunas épocas de recolección la auxina ejerció una influencia notoria. Así, a los 90 días de establecidas las estacas, los mayores porcentajes de enraizamiento los obtuvieron las recolectadas en diciembre con 2000 y 4000 ppm de AIB, en enero con 4000 ppm de AIB y en marzo con 2000 y 4000 ppm de AIB, en un rango que fluctuó entre 60,87 % y 85,71 %. Con relación al número de raíces, los mejores resultados obtenidos fueron de estacas recolectadas en marzo con 2000 y 4000 ppm de AIB. Con respecto a la longitud promedio de raíces, los mejores resultados fueron obtenidos por estacas recolectadas en diciembre con 2000 y 4000 ppm de AIB, enero con 4000 ppm de AIB y marzo con 0, 2000 y 4000 ppm de AIB. Con relación al porcentaje de pudrición, no hubo efecto significativo de la dosis de AIB; las estacas más afectadas fueron las recolectadas en noviembre con 0 y 2000 ppm de AIB, en enero con 0 y 4000 ppm de AIB y en febrero con 2000 ppm de AIB.

III ENCUENTRO LATINOAMERICANO
DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL

3RD LATIN-AMERICAN MEETING
ON PLANT BIOTECHNOLOGY



RESUMENES-ABSTRACT

JUNIO/JUN 1-5

PALACIO DE CONVENCIONES DE LA HABANA
Havana International Conference Center



de las pasifloras comestibles, dirigido al logro de variedades promisorias, principalmente en cuanto a calidad de frutos y resistencia a enfermedades. La posibilidad de incrementar, mediante mutaciones inducidas, la variabilidad genética de los cultivos requiere precisar previamente la dosis óptima del agente mutagénico que un cierto explante de un determinado cultivo puede tolerar. Semillas parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) con 14% de humedad fueron sometidas a las dosis de 0; 100; 200; 300; 400 y 500 Gy de rayos γ , usando la fuente de Cobalto 60 del CENA/USP. Los tratamientos, con 4 réplicas cada uno, en diseño completamente aleatorizado, constaron de 25 semillas / tratamiento / repetición, las cuales fueron sembradas en cajones de madera mantenidos en invernadero, conteniendo una mezcla de suelo, arena y estiércol. La germinación se inició a los 15 días. Como indicadores de daños se usaron los parámetros de porcentaje de germinación, presencia de manchas cloróticas en el follaje, altura de plantas y sobrevivencia, y fueron medidos periódicamente. Los resultados obtenidos permiten concluir lo siguiente: a) la dosis de 200 Gy afectó severamente la germinación, altura de plantas y sobrevivencia; b) la dosis de 300; 400y 500 Gy resultaron letales; c) la dosis letal 50 está entre 100 y 200 Gy.

MICROPROPAGACIÓN DE OLIVO (*Olea europaea* L.)

V.M. Castro; R. E. Caner; G. L. Ruíz

Laboratorio de Micropropagación, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Esta investigación es la primera etapa de un proyecto que tiene como objetivo establecer un protocolo para la propagación *in vitro* del olivo. El material vegetal utilizado fue: material proveniente de campo de las variedades Sevillano, Ascolano y Empeltre; y plantas madres de la variedad Sevillano, mantenidas en un invernadero frío. Inicialmente se determinó el tipo de explanta a utilizar, para ésto se testó 3 tipos de material, uninodal, yema y ápice caulinar. El tratamiento de desinfección a seguir se basó en una primera instancia en la utilización de hipoclorito de sodio para la desinfección de los 3 tipos de explantes mencionados, luego las experiencias se centraron en pruebas de desinfección para explantes uninodales de olivo, ya que éstos fueron los que presentaron los mejores resultados. Se encontró

que la mejor concentración de desinfectante fue 2,5% de hipoclorito de sodio. La determinación del medio de establecimiento para explantes uninodales de olivo se basó en el medio descrito por Rugini (1984), modificándose las concentraciones de zeatina, obteniéndose los mejores resultados con 0,5 mg/l de zeatina. De los ensayos realizados en la etapa de proliferación utilizando el mismo medio basal la mejor respuesta se obtuvo con 4 mg/l de zeatina. Para aumentar la longitud de las microestacas obtenidas en la etapa de proliferación, se realizó un ensayo utilizando brotes de 5, 10, 15 mm de longitud, los que fueron subcultivados sobre el medio de elongación descrito por Rugini y Fontanaza (1981). Sin embargo, no se obtuvieron resultados satisfactorios.

PROPAGACIÓN *in vitro* DE PORTAINJERTOS DE ROSA (*Rosa canina*)

V.M. Castro; M.L. Jorquera

Laboratorio de Micropropagación, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Se realizaron dos ensayos con el objetivo de desarrollar un sistema de micropropagación de esta especie para la posterior obtención de plantas libres de virus, siguiendo la técnica de aislamiento de meristemas. El primero consistió en evaluar 5 concentraciones de Bencil amino purina (BAP) en la etapa de proliferación sobre botes axilares de rosa, para esto se realizaron 5 mediciones semanales a partir de 12 días de la siembra. Los resultados de este ensayo indicaron que la concentración de 1 ppm de BAP fue la que entregó el mayor promedio de número de brotes de portainjerto de rosa, necesitándose más tiempo en dicha etapa para determinar el efecto de esta concentración sobre la tasa de crecimiento de brotes. El segundo ensayo se realizó para evaluar, en la etapa de aislamiento meristemático, una concentración de BAP solo v/s BAP + GA₃, en medios de elongación para los meristemas, para lo cual se efectuaron 14 mediciones a partir de los 73 días después de la siembra. Los resultados indicaron que existió efecto de la combinación de BAP + GA₃ en la sobrevivencia de los meristemas, siendo significativamente distinto en las últimas 9 semanas de evaluación sobre el tratamiento de BAP solo. Con respecto a la tasa de crecimiento promedio, no se verificó ningún efecto de los tratamientos sobre la variable respuesta.

Efecto de aplicación de AIB y época de recolección sobre el enraizamiento de estacas semileñosas de olivo (*Olea europaea* L.) del cultivar Sevillano

Castro, M., Ruiz, L. Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso. Casilla 4-D, Quillota, Chile. e-mail: mcastro@ucv.cl

Financiamiento parcial: FIA C96- 1- A- 016

Con el objetivo de evaluar el enraizamiento de estacas semileñosas de olivo cultivar Sevillano, se recolectaron estacas en 5 épocas y se aplicaron 3 dosis de AIB (0 ppm, 2000 ppm y 4000 ppm). Las variables medidas fueron porcentaje de enraizamiento, porcentaje de pudrición y número y longitud promedio de raíces por estaca. Las evaluaciones se realizaron a los 30, 60 y 90 días. A los 90 días de establecidas las estacas, los mayores porcentajes de enraizamiento los obtuvieron las recolectadas en diciembre con 2000 y 4000 ppm , en enero con 4000 ppm y en marzo con 2000 y 4000 ppm, en un rango que fluctuó entre 60,87% y 85,71%. El mayor número de raíces se obtuvo con estacas recolectadas en marzo con 2000 y 4000 ppm, mientras que el mayor largo promedio de raíces se alcanzó con estacas recolectadas en diciembre con 2000 y 4000 ppm, enero con 4000 ppm y marzo con 0, 2000 y 4000 ppm de AIB. El porcentaje de pudrición fue mayor en estacas recolectadas en noviembre con 0 y 2000 ppm, en enero con 0 y 4000 ppm y en febrero con 2000 ppm de AIB.