



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

PROGRAMA DE FORMACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

APOYO A LA PARTICIPACIÓN

INFORME TÉCNICO Y DE DIFUSIÓN

M^a Josefina Poupin S.

Propuesta N° FIA-FP-L-2004-1-F-043



Antecedentes Generales de la Propuesta

Nombre: M^a Josefina Poupin Swinburn

Código: FIA-FP-L-2004-1-F-043

Postulante: M^a Josefina Poupin Swinburn

Entidad Patrocinante

Lugar de Formación (País, Región, Ciudad, Localidad): República Dominicana, Boca Chica

Tipo o Modalidad de Formación (curso, pasantía, seminario, entre otros): Congreso, "V Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología, REDBIO 2004"

Fecha de realización (Inicio y término): 21 Junio - 26 Junio 2004

Justificación y Objetivos de la Propuesta:

- **Objetivo general:**

Familiarizarse con el desarrollo Internacional en biotecnología forestal, con el fin de conocer nuevas tecnologías aplicables a Chile

- **Objetivos específicos:**

- Contribuir con una experiencia de investigación Chilena en el desarrollo de la industria forestal regional.
- Contactar investigadores de relevancia internacional con los que se puedan establecer vínculos de colaboración.
- Seleccionar laboratorios líderes en el área de biotecnología vegetal como posibles centros de perfeccionamiento.
- Transferir aplicaciones biotecnológicas forestales realizadas en otros países a especies de relevancia nacional.
- Dar a conocer la experiencia y los conocimientos adquiridos en la actividad, con el fin de difundir a todos los interesados los temas de investigación forestal que están siendo estudiados en el ámbito internacional



Resultados e Impactos Esperados

- Corto plazo: Uno de los objetivos que presentará resultados inmediatos, de concretarse mi participación en la actividad, es el difundir la tecnología desarrollada a otros investigadores e interesados en el tema en la región.
Como también el de familiarizarme con los más importantes avances biotecnológicos en el ámbito forestal a nivel internacional.
Otro de los resultados es el de dar a conocer la experiencia y los conocimientos adquiridos en la actividad, con el fin de difundir a todos los interesados los temas de investigación forestal que están siendo estudiados en el ámbito internacional.
- Mediano plazo: Según los vínculos que se establezcan en la actividad, podré en el mediano plazo, establecer vínculos de colaboración con investigadores de relevancia internacional.
Así también, podré seleccionar laboratorios líderes en el área de biotecnología vegetal como posible centros de perfeccionamiento.
- Largo plazo: Uno de los resultados esperados más relevante a largo plazo, tanto para mi desarrollo como para el desarrollo biotecnológico del país, consiste en la aplicación de tecnologías innovadoras en las especies forestales de interés nacional

Breve Resumen de los Resultados:

El objetivo principal de la participación en la actividad descrita consistía en familiarizarse con el desarrollo Internacional en biotecnología forestal, con el fin de conocer nuevas tecnologías aplicables a Chile. Tras mi participación en la actividad de formación este objetivo fue cubierto, ya que se participó en un taller forestal en donde se describió el estado de Biotecnologías aplicadas a la industria forestal en países tan importantes en esta área como lo es Canadá, a través de la exposición de la Dra. Cristina Klimazsewska, así como también se presentó innovaciones en especies forestales importantes para países del caribe como Cuba o innovaciones en países como Perú. De esta manera pude conocer y comparar la realidad de investigación de un país desarrollado y países en desarrollo de la región, así como también comparar estas realidades con la nuestra. El trabajo presentado por parte de la Dra. Klimazsewska tiene bastante relación con el trabajo que se ha estado realizando en el laboratorio en el cuál trabajo y entregó varias directrices a través de las cuales podríamos seguir enfocando nuestras investigaciones en especies relevantes para la industria forestal nacional, como lo son *Pinus radiata* y *Eucaliptus*. Otro ejemplo mencionado en este taller se refirió a la incorporación de nuevas especies para el manejo forestal, que podrían ser importantes para la región, como lo es el caso de la Universidad de Guadalajara en donde se están haciendo

intentos para transformar genéticamente *Paulownia elongata*, que es una especie que podría tener varios beneficios económicos tras su cultivo al presentar un gran rendimiento en madera y crecimiento. En este taller también se cumplió con uno de los objetivos específicos que hacía referencia a la difusión de la investigación en el área forestal en nuestro país, ya que el Dr. Patricio Arce-Johnson, presentó datos del laboratorio en el cual trabajo, y algunos datos que correspondían a mi trabajo, en donde mencionó que existía un mayor detalle de ellos en mi presentación personal que se encontraba en forma de panel. Así la gente interesada en el tema pudo ir a visitar mi panel. Por lo tanto a través de este taller y de la exposición de mi panel se logró difundir la tecnología desarrollada a otros investigadores e interesados en el tema de la región. Como también logré familiarizarme con los más importantes avances biotecnológicos en el ámbito forestal a nivel internacional y principalmente de la región Latinoamericana y Caribeña.

Uno de los contactos interesantes logrados a través de la asistencia a REDBIO 2004, fue el establecido con la Dra. Klimazseweska, ya que permitió crear un vínculo de colaboración que en un futuro cercano podría permitirme realizar un perfeccionamiento en su laboratorio o en el de algunos de sus contactos.

Otro de los objetivos que se cumplieron tras la asistencia a la actividad fue la de difundir las actividades y conocimientos adquiridos en REDBIO 2004, ya que se realizó una charla de difusión en donde se describió los principales temas abordados en REDBIO 2004, que principalmente se refirieron a la realidad de transgénicos a nivel global, cuáles debieran ser las directrices de la región en esta materia y cuáles podrían ser los aportes de la agricultura en la superación de la pobreza en la región. Así también se describió cuáles fueron los datos personales en el área forestal que yo presenté en la actividad. Los asistentes a esta charla fueron principalmente estudiantes de doctorado en áreas biológicas, estudiantes de pre-grado y algunos invitados relacionados con áreas como la educación o el medioambiente. También en la página web www.bio.puc.cl/profs/arce/box3/index.htm se incorporó el panel que fue presentado en la actividad y un breve resumen de los temas que se abordaron en la actividad.

Itinerario de Trabajo Realizado: presentación de acuerdo al siguiente cuadro:

Fecha	Actividad	Objetivo	Lugar
21/06/04	Llegada a la ciudad de Boca Chica, Asistencia a la charla inaugural de REDBIO 2004	Conocer los objetivos y el programa de REDBIO 2004	Hotel Hamaca, Boca Chica
22-23/06/04	Asistencia a las plenarios, charlas y talleres programados	Conocer el estado de la Investigación en Biotecnología en la región Latinoamericana y Caribeña.	Hotel Hamaca, Boca Chica

24-25/06/04	Asistencia a las plenarios, charlas y talleres programados	Conocer el estado de la Investigación en Biotecnología en la región Latinoamericana y Caribeña.	Hotel Hamaca, Boca Chica
24-25/06/04	Exposición del panel personal	Dar a conocer la investigación realizada en nuestro laboratorio en el ámbito forestal a todos los interesados.	Hotel Hamaca, Boca Chica
24/06/04	Asistencia al taller forestal	Conocer las investigaciones biotecnológicas en el área forestal realizadas en países de la región y en laboratorios de alto rendimiento.	Hotel Hamaca, Boca Chica
26/06/04	Regreso a Santiago, Chile		

Resultados Obtenidos:

Uno de los principales conocimientos adquiridos durante la asistencia a la actividad REDBIO 2004, fue el de conocer la realidad actual de la Biotecnología en la región Latinoamericana y Caribeña y conocer cómo la Biotecnología puede ayudar a superar problemas como la pobreza y la desnutrición en los países en desarrollo. Además tuve la experiencia de asistir a charlas de exponentes de relevancia internacional que discutieron cuáles deben ser las directrices que los países en desarrollo debieran tomar para que la biotecnología se transforme en una herramienta de utilidad.

Además, y según mi objetivo general logré familiarizarme con el desarrollo Internacional en biotecnología forestal, específicamente con el desarrollo en países de la región y en algunos centros de investigación de alto rendimiento, en esta materia las investigaciones que se dieron a conocer me permitieron conocer el nivel de investigación en otros países y conocer tecnologías que podrían ser aplicadas a especies de relevancia nacional, específicamente, la investigación descrita por la Dra. Cristina Klimazsewka realizada en embriogénesis somática en *Pinus taeda* en Canadá, me permitió conocer algunos aspectos en la embriogénesis somática que podrían aplicarse en especies como *P. radiata*, como por ejemplo, el uso de patrones de niveles de proteínas en distintos estadios del proceso como sistema de análisis de la calidad de los embriones obtenidos en cada etapa.

Además pude contribuir con una experiencia de investigación Chilena en el desarrollo de la industria forestal regional, ya que expuse un panel en donde se explicaban cuáles son los resultados que hemos obtenido en nuestro laboratorio en el "Embriogénesis somática y producción de semillas artificiales en *Pinus radiata*" (Foto 1, página web www.bio.puc.cl/profs/arce/box3/index.htm). En este panel se encontraba una dirección de e-mail en donde los interesados podrán hacer preguntas acerca de la investigación realizada.



Además, pude establecer contacto con investigadores de alto nivel, no sólo relacionados con el área forestal, sino también con otras áreas, lo que me permitió conocer la realidad de la investigación científica en otros países de la región y en un futuro podría permitirme realizar colaboraciones o asistir a algún laboratorio en el extranjero para realizar un perfeccionamiento. Por último, también se difundió la experiencia tras la asistencia a la actividad en una charla abierta en donde se describió un breve resumen de los temas tratados en REDBIO 2004 y de la realidad actual de la Biotecnología en la región, con datos que fueron recopiladas tras la asistencia a REDBIO 2004 (Anexo 1).

Situación actual del rubro en Chile:

Tras mi asistencia a REDBIO 2004 pude notar que el rubro Forestal en nuestro país se encuentra actualmente en un nivel similar a países en donde este rubro también es de gran relevancia económica como por ejemplo, Canadá, aunque una de las grandes diferencias o desventajas que poseemos es la escala a la que nosotros podemos trabajar. En países como Canadá, en donde existe una gran inversión en esta materia, los laboratorios o centros de investigación trabajan a grandes escalas. En países como el nuestro a pesar de que los temas y formas de investigación son muy similares, se trabaja a menores escalas. Por lo que con una mayor inversión en la materia, y dado a que ya contamos con personas calificadas y centros de investigación podríamos en un mediano plazo alcanzar niveles de investigación más cercanos a los de países desarrollados.

Contactos Establecidos:

Institución/Empresa	Persona de Contacto	Cargo	Fono/Fax	Dirección	E-mail
Ministerio de Agricultura	Malachy Dottin	Ph D. En Biotecnología, Director de Laboratorio	(473)4402708/(473)4404191	St. Georges, Granada	malachyd@caribsurf.com
Laurentian Forestry Centre	Krystyna Klimaszewska	Ph D, Research Scientist Tree Biotechnology	(418)6484638	Canadá, Quebec	kklimaszewska@cfl.forestry.ca
Centro para el desarrollo Agropecuario y Forestal	Juan Pérez-Ponce	Ph D		República Dominicana	jnponce@yahoo.es
Instituto de Agricultura sostenible	Miguel Angel Ditta	Estudiante Postdoc.	(34)609971621	Córdoba, España	mangel@vicoso.ufv.br



Universidad de Ghent	Juan Carlos Pérez	Estudiante Doctorado	32 (0)9 3313809	Bélgica	juper@psb.ugent.be
----------------------	-------------------	----------------------	-----------------	---------	--------------------

Material Recopilado:

Tipo de Material	Nº Correlativo (si es necesario)	Caracterización (título)
Foto	1	Presentación del panel en REDBIO 2004
CD	1	Congreso de Biotecnología en Cuba
Folletos	1	Folletos publicitarios entregados en la actividad

Aspectos Administrativos

a. Información recibida por parte de FIA para realizar la Postulación

detallada aceptable deficiente

La información estuvo bien detallada y la aparición del formato en internet fue una herramienta útil para realizar la postulación. Además, los funcionarios del FIA estuvieron muy dispuestos a solucionar las dudas.

b. Sistema de Postulación al Programa de Formación de FIA

adecuado aceptable deficiente

No es una postulación engorrosa, es fácil seguir las instrucciones y creo que se solicitan los datos adecuados.

c. Apoyo de FIA en la realización de los trámites de viaje (pasajes, seguros, otros)

bueno regular malo

No se me presentó ningún inconveniente en esta materia.

d. Recomendaciones (señalar aquellas recomendaciones que puedan aportar a mejorar los aspectos administrativos antes indicados)

Una buena alternativa sería que todo el proceso de postulación se realizara mediante internet, creo que podría ser un proceso más económico y rápido.

Organización durante la actividad (indicar con cruces)

Ítem	Bueno	Regular	Malo
Recepción en país o región de destino según lo programado	X		
Cumplimiento de reserva en hoteles			X
Cumplimiento del programa y horarios según lo establecido por la entidad organizadora		X	
Facilidad en el acceso al transporte	X		
Estimación de los costos programados para toda la actividad	X		

Justificaciones:

No se cumplió la reserva de hoteles, ya que al parecer no se estimó bien la cantidad de participantes y se distribuyeron mal las piezas. Esto se solucionó enviando a parte de los participantes a otro hotel de la misma cadena. El programa tuvo algunos inconvenientes porque hubo panelistas que no asistieron a la actividad.

Programa de Actividades de Difusión

Charla de difusión:

El día 15 de Julio de 2004 se realizó una charla gratuita de difusión de la actividad en la Pontificia Universidad Católica, en donde se invitó vía mail a personas que pudieran tener interés en conocer los temas abordados en REDBIO 2004 y en donde se especificó que la invitación era abierta a todos los interesados, el principal objetivo de esta charla fue el de dar a conocer a los interesados las actividades realizadas durante la asistencia a REDBIO 2004, a manera de difundir la experiencia. Entre los asistentes se contó con estudiantes de doctorado, pre-grado e investigadores del área de las Ciencias Biológicas y Biotecnología, así como también personas relacionadas a la educación y el medioambiente (CONAMA). En la charla se presentó mediante Data Show una exposición de los principales temas tratados en REDBIO 2004, en donde uno de los más importantes fue la realidad actual de la biotecnología en la región, realidad en transgénicos y cómo la Biotecnología podría transformarse en una herramienta de importancia para superar problemas como la pobreza en los países en desarrollo de la región. Así también, se describió brevemente el trabajo personal que se presentó en REDBIO 2004 (Anexo 1, charla de difusión).

Internet:

En la página web www.bio.puc.cl/profs/arce/box3/index.htm se publicó en panel que fue presentado en REDBIO 2004, en don de además se describe brevemente la experiencia y se indica el apoyo de FIA en la participación en la actividad.

Tipo de material	Nombre o identificación	Idioma
Exposición en Data Show (Impresa, anexo 1, Diskette 1)	REDBIO 2004 "Biotecnología generando prosperidad, respetando la vida"	Español
Panel en internet (Impreso anexo 2, Diskette 1)	"Producción de semillas artificiales mediante la optimización de la embriogénesis somática en <i>Pinus radiata</i> "	Español



V encuentro Latinoamericano y del Caribe de
Biotecnología Agrícola, REDBIO 2004
"Biotecnología, generando prosperidad respetando
la vida"



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACION PARA LA
INNOVACION AGRARIA
Asistencia apoyada por
FIA

Josefina Poupin
Boca Chica, Rep. Dom 2004

Definición Biotecnología FAO:

"Toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la modificación de productos o procesos para usos específicos"

Tipos de Biotecnologías:

- Rojas: Médicas
- Blancas: Ambientales
- Verdes: Agrícolas

Conceptos tratados en el congreso:

El rol de la biotecnología en,

- Biofortificación
- Bioprospección (exploración de los seres vivos para los recursos bioquímicos y genéticos con valor comercial)
- Biotecnología para condiciones adversas
- Propiedad intelectual
- Biotecnología animal
- Bioseguridad
- Educación a distancia e información
- Superación de la pobreza



Albert Sasson: (ex consultor de la Unesco)

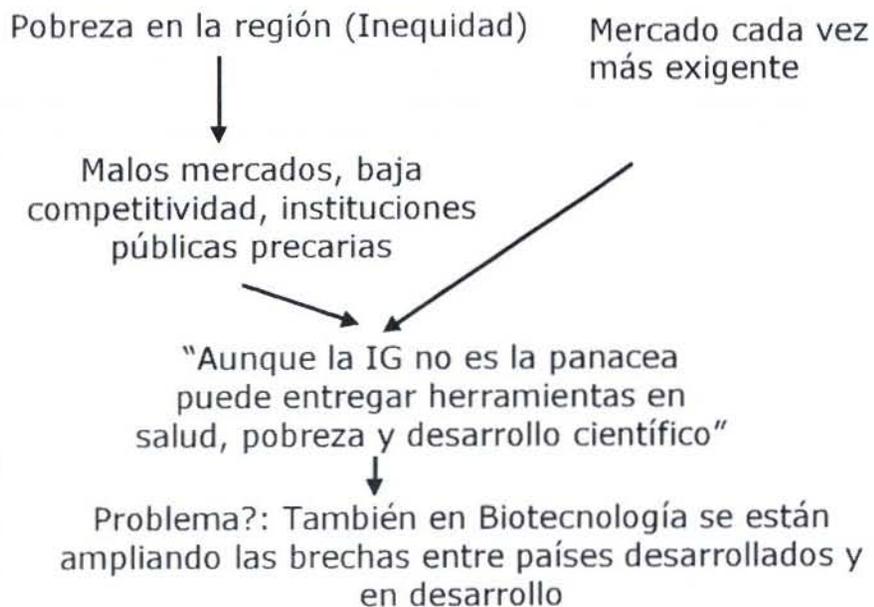
“El tren no parará dos veces en la misma estación”

- 97% de los ingresos globales están en Norteamérica, Japón y Europa y allí está más del 85% de las compañías biotecnológicas
 - Hay que explorar las posibilidades que entrega la biotec. y aplicarlas dentro de un marco regulatorio que proteja el ambiente, la salud, pero que permita la acción
 - Seguir ejemplos como el de Brasil (*Xillela fastidiosa*)
- “Cooperatividad”
- Nuevos mercados (no necesariamente UE)
 - LA debe tener una plataforma común de bioseguridad (Sin sobrerregulación, Potrykus)
- Cooperación, transferencia de tecnología y diálogo

¿Cuál es el impacto de actuar y no actuar?

Estado mundial de la Agricultura y la Alimentación
(2003-2004)
¿Biotecnología, una respuesta a la necesidad de los
pobres?

Rol de la Biotecnología en la región:



Cifras

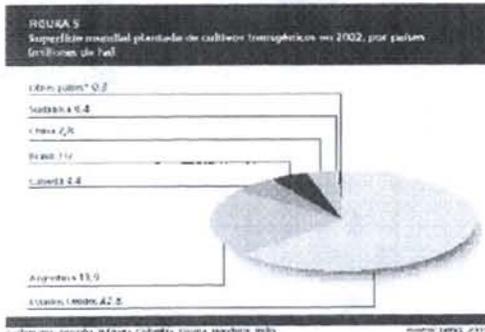
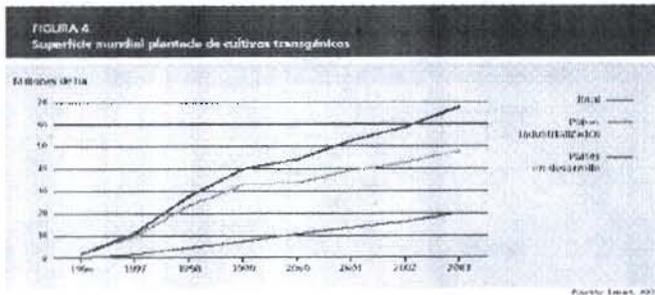


FIGURA 2
Características de los cultivos modificados genéticamente sometidos a ensayos en los países industrializados, 1997-2000 (porcentaje)

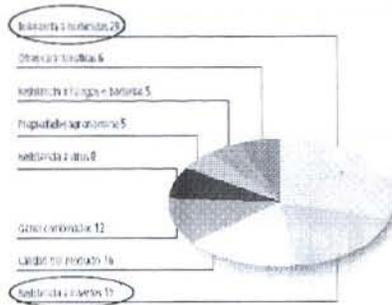
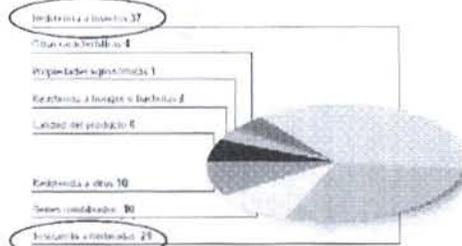
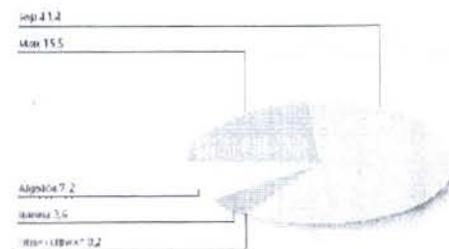


FIGURA 3
Características de los cultivos modificados genéticamente sometidos a ensayos en los países menos adelantados, 1997-2000 (porcentaje)



fuente: FAO, UNCTAD y Contribución, 2002

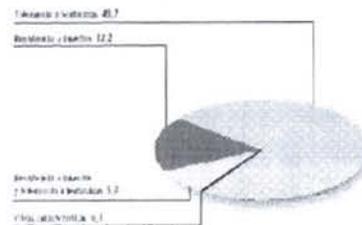
FIGURA 6
Superficie mundial plantada de cultivos transgénicos en 2002, por cultivo (millones de ha)



* Incluye cebada y trigo

fuente: James, 2003

FIGURA 7
Superficie mundial plantada de cultivos transgénicos en 2002, por característica (millones de ha)



fuente: James, 2003

- 6 países, 2 características, 4 cultivos y 10 empresas



99% de la producción mundial
de transgénicos

- No se producen trigo o arroz, principales cereales alimentarios
- Tampoco Sorgo, Mijo, Guisantes, Garbanzos o Maní, principales cultivos del trópico semiárido

“El monopolio hace que los gastos en Biotecnología y transgénicos no incluyen cultivos que podrían disminuir problemas de alimentación”

Presupuestos:

- 10 transnacionales: 3000 mill US
- GCIAI (Mayor grupo internacional de investigación agrícola del sector público): 300 mill US

“Hasta ahora no existe ningún programa del sector público para abordar desde la biotecnología los problemas más críticos de los pobres y el medioambiente”

“La biotecnología puede aumentar la brecha de inequidad, pero también puede ayudar a superar la pobreza, por lo que ningún ente de la sociedad debe permanecer indiferente ante sus ventajas y desventajas”

¿Qué puede hacer la región para beneficiarse de la Biotecnología?

¿Qué tipo de capacidades deben tener los países en desarrollo para beneficiarse con la IG?

¿Cómo se pueden movilizar más recursos para favorecer a los pobres?

¿Qué normativas hay que adoptar?

¿Qué papel debe jugar la propiedad intelectual?

Riesgos:

Riesgo: Peligro * Probabilidad * Consecuencias

- Mill. De personas han consumido OGM, sin observarse efectos negativos
- Mariposa monarca
- Plagas no han desarrollado resistencia a Bt
- Han aparecido malezas resistentes a herbicida que no han colonizado ecosistemas naturales
- Nuevas tecnologías (Genes limpios, múltiples, impedimento flujo génico)

"A pesar de que la Biotecnología no es la panacea para solucionar la pobreza, que tiene raíces sociales, si puede ser una gran herramienta para la región si ésta se encuentra preparada para adaptarla a su realidad"

"FAO apoya un control científico caso a caso de OGM, para evaluar sus posibles riesgos y beneficios"



"Producción de semillas artificiales mediante la optimización del proceso de embriogénesis somática en *Pinus radiata*"

Poupin, M.J., Aquea, F., Arce-Johnson, P. *

Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. *email-parce2@genes.bio.puc.cl

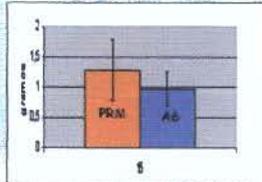
RESUMEN

Con el fin de obtener embriones somáticos de *Pinus radiata*, nosotros desarrollamos un nuevo medio de crecimiento PRM (*Pinus radiata medium*) y lo comparamos su eficiencia con la de un medio que se ha reportado para coníferas. En microscopio de luz identificamos y caracterizamos distintos estadios morfológicos encontrados en los embriones somáticos durante el proceso. Adicionalmente, usamos uno de estos estadios como marcador de diferenciación y maduración. Verificamos la eficiencia de este marcador como control de calidad del proceso, analizando su presencia en tratamientos de cosecho efecto pro-embriogénico como el polietilenglicol y el ácido abscísico (ABA). También determinamos la expresión de un gen de la familia β -expansina, encontrando que éste no se expresaba en tejidos no embriogénicos y sí se expresaba en estadios tardíos de diferenciación. Entonces usamos este gen como marcador molecular de diferenciación de embriones somáticos. Con el fin de acercar la eficiencia de la técnica de ES a lo que ocurre en la naturaleza con los embriones cigóticos de semilla, encapsulamos los embriones somáticos en medio PRM con alginato de sodio para producir semillas artificiales, y comparamos la eficiencia en germinación de éstas semillas con la germinación de semillas naturales de *P. radiata*.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

1.- Formulación del medio nutritivo PRM "*Pinus radiata medium*", con el fin de diferenciarse de los medios patentados para coníferas

1a.- PRM en mantención



Comparación del crecimiento del tejido a 15 días en el medio PRM en comparación con el crecimiento en un medio descrito y patentado para coníferas (A6)

1b.- PRM en maduración

		30	42	50
A6	NP embriones por corte (P)	0.3	0.4	5.1
	PRM	0.34	0.34	0.3

Comparación del número de embriones somáticos por pieza de tejido (Corte) en el medio A6 versus el número de embriones obtenidos en los distintos tiempos en el medio PRM

3.- Producción de semillas artificiales de ES de *P. radiata*

3a.- ES de *P. radiata* encapsulados en alginato de calcio



Es se embrieron en medio PRM con 3% de alginato de sodio, luego se produjo la gelificación al dejarlos en contacto con $CaCl_2$ 100 mM

3b.- Germinación de las semillas artificiales de *Pinus radiata*

Embriónes somáticos encapsulados	Embriónes somáticos no encapsulados	Embriónes cigóticos de semilla no encapsulados
66% (n=24)	73% (n=25)	91% (n=20)

3c.- Plántulas de *Pinus radiata* germinando de la cápsula



Las semillas artificiales se pusieron a germinar inmediatamente después de encapsularse, en la figura se observa la aparición de la radícula y los cotiledones fotointencionalmente activos, tras aproximadamente 30 días después de la siembra.

4.- Análisis mediante RT-PCR de la expresión de β -Expansina en 2 estados de desarrollo diferentes

Cambios y modificaciones en la pared celular ocurren a medida que progresa el desarrollo embrionario. Estos cambios están mediados por enzimas. Una de estas enzimas son los β -expansinas, quienes catalizan la relajación de la pared permitiendo la expansión de esta.



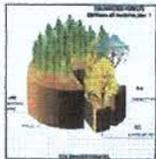
CONCLUSIONES

- El medio PRM, formulado en la investigación, es eficiente para la mantención y maduración de tejido embriogénico de *Pinus radiata*

- El método de identificación de embriones maduros tipo IV al microscopio puede usarse como modelo predictivo de la diferenciación de embriones, adelantando el proceso de 7 a 3 ó 4 meses. Y permite evaluar anticipadamente la eficiencia de tratamientos preembriogénicos

- Las semillas artificiales germinan eficientemente en un sustrato inerte, lo que acerca la eficiencia de la técnica de ES a la de semillas naturales de *P. radiata*

INTRODUCCIÓN



Pinus radiata es una conífera de gran importancia en la industria forestal del hemisferio Sur. Es por esto que se requiere de un desarrollo local de técnicas de regeneración y mejoramiento de la especie.

La Embriogénesis somática (ES) es una técnica de micropropagación que permite producir embriones en el laboratorio a partir de un tejido somático haploide o diploide y que proviene de individuos que poseen características provechosas para la especie. Además, la técnica entrega un modelo de estudio de la embriogénesis cigótica, ya que se obtienen cientos de embriones que son idénticos genéticamente entre sí.

La ES posee cuatro etapas características: Inducción, Mantención, Maduración y Germinación. En la inducción se obtiene tejido embriogénico a partir de un tejido somático en presencia de hormonas vegetales. En la mantención se prolifera el tejido obtenido en la etapa anterior en presencia de un medio nutritivo y hormonas vegetales. En la maduración se induce la formación de embriones maduros y completos y en la etapa de Germinación se induce la formación de la raíz. Todo el proceso tiene una duración de 7 meses aproximadamente. Una vez que se han obtenido embriones somáticos completos similares a los embriones cigóticos de la especie, se torna ventajoso cambiar la eficiencia de una producción clonal de embriones, con la ventaja que entregan las semillas como método de propagación. Así, pueden encapsularse los embriones en un polímero que permita su germinación y un mejor almacenamiento, produciéndose "Semillas artificiales".

OBJETIVOS

- 1.- Optimizar el proceso de embriogénesis somática en *P. radiata*
- 2.- Caracterización de los distintos estadios morfológicos y los factores que inducen diferenciación en los embriones somáticos
- 3.- Implementar un procedimiento de producción de semillas artificiales

Etapas del proceso de Embriogénesis somática en *Pinus radiata*

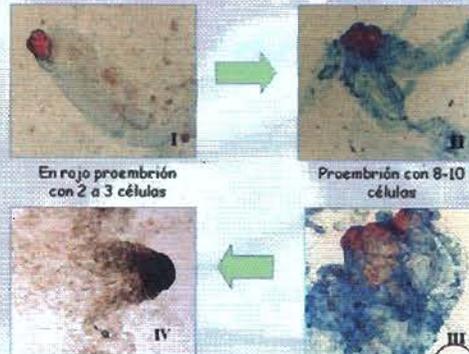


- a. Inducción de tejido embriogénico desde el megagametofito (2 meses)
- b. mantención y proliferación del tejido embriogénico (1 mes)
- c. maduración del embrión somático (2-3 meses)
- d. germinación del embrión (1 mes)

2.- Caracterización de los estadios morfológicos tempranos de los ES, para establecer un marcador temprano de diferenciación

2a.- Estado morfológico de los ES al microscopio óptico, en las distintas etapas del proceso, el estadio IV se utilizó como marcador de diferenciación

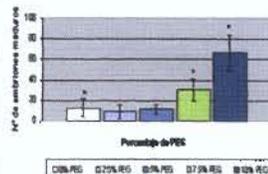
Aumento 40X: I, II y III ES teñidos con Carmin - Evans (Carmin en rojo indica células vivas del proembrión, Evans en azul indica células muertas del suspensor).



ES sin teñir con zona proembriogénica bien definida. Masa proembriogénica más densa

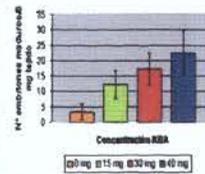
2b.- Análisis de la eficiencia del marcador tipo IV estudiando tratamientos preembriogénicos

2b1.- Aparición de embriones tipo IV en presencia de Polietilenglicol en la maduración



Nº de embriones tipo IV en distintas concentraciones de PEG (0, 2.5, 5, 7.5 y 10 % PEG 3350) en la etapa de maduración

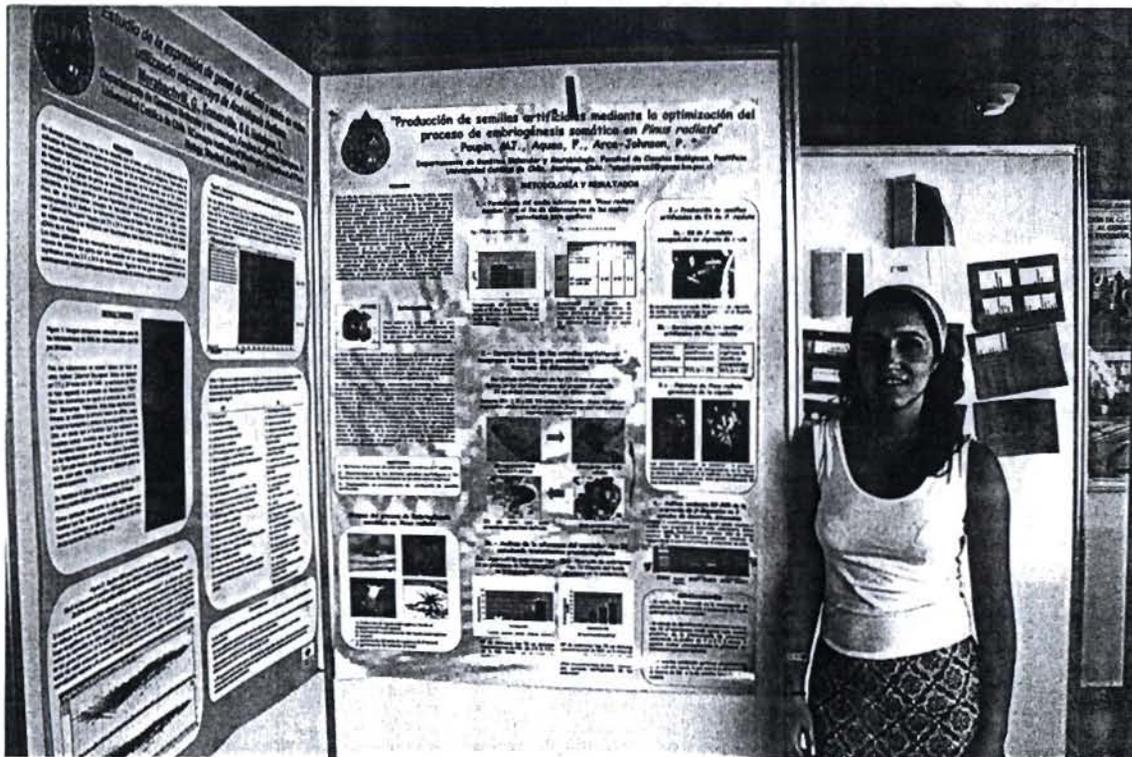
2b2.- Aparición de embriones tipo IV Efecto del ácido abscísico en la maduración



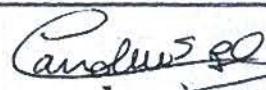
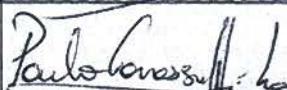
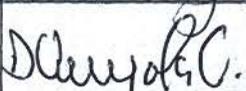
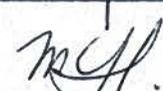
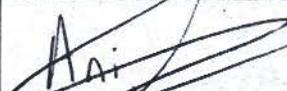
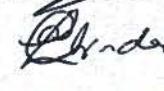
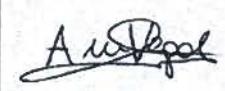
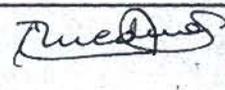
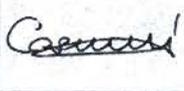
Nº de embriones tipo IV en distintas concentraciones de ABA en la etapa de maduración, las diferencias no son estadísticamente significativas, pero altas concentraciones de ABA inducen una correcta morfogénesis de los embriones



Foto 1



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

Nombre	Rut	Actividad Principal (Indicar si es profesional, técnico o productor)	Institución o Empresa	Fono	E-mail	Dirección	Firma
Carolina HP Serrano		Estudiante Doctoral	P.U.C.	6862579	cserrano@puc.cl	Alameda 340	
Paulo HP CANESSA		Estudiante Doctoral	P.U.C.	6862348	pfcanessa@puc.cl	Alameda 340	
DIEGO HP URBESOLA		PROFESIONAL	CONATA RT	6713052	DURFESOLA.RT@CONATA.CI	FLANESA 970 PISO 12	
MARGARITA HP CAMPOS		PROFESORA DE BIOLOGIA	COLEGIO DEL SAGRADO CORAZÓN	2129760	mcampos@puc.cl	Sta. Magdalena Sofía 277	
Anil Prem Sudaranyani HP		Estudiante de Doctorado	P.U.C.	2023527	asadaan@puc.cl	Manguelhue sur 1072.	
Agnes Cadavid Labinda HP		Estudiante de Doctorado	U. Chile	09-332-8668	acadvaid@uchile.cl	Santa Rosa 11315 Paradeiro 32 La Pintana	
Andrés Vega Contreras HP		Estudiante de Doctorado	P.U.C.	6862579	avegac@puc.cl	Alameda 340	
Consuelo HP Medina		Investigador Asociado	PUC.	6862663	parce2@gener.bio.puc.cl	Alameda 340.	
Carmen HP Espinoza		Bioquímico. Estudiante Doctorado	PUC	6862579	cespino@bio.puc.cl	Alameda 340.	



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

Nombre	Rut	Actividad Principal (Indicar si es profesional, técnico o productor)	Institución o Empresa	Fono	E-mail	Dirección	Firma
Felipe AQUERA HP		Biólogo	PUC	6862179	foquea@puc.cl	Alameda 340 8180	
Paola, Cañon HP		Biobioquímica	PUC	6862579	pcanong@bio.puc.cl	Alameda 340 Stgo	
IGNACIO HT Sotomayor		tec. Agrícola	PUC	6862579	ignaciosheor@hond.cl	Alameda 340 Stgo	
JOSE TOMÁS Matus P. HP		fic. en Cs. Biológicas	PUC	6864398	jtmatuse@puc.cl	Vicuña Mackenna 3860	
IGNACIO FERNANDEZ CHIVERON HP		ESTUDIANTE CS BIOLÓGICAS	PUC	6862679	ifernand@puc.cl	Alameda 340 Stgo	
Vicente Castro del Rio HP		Licenciado en Cs. Biológicas	PUC	6862879	vcastrod@puc.cl	Alameda 340 Stgo.	
Juan Pablo Arauco Cox HP		Estudiante doctorado En Biotecnología	U. CHILE		Jaraboc@puc.cl	Campus Bouchéff	