



INFORME TÉCNICO FINAL

EJECUTOR:

Alejandro De Kartzow García.

NOMBRE DEL PROYECTO:

Mejoramiento de la oferta y calidad de plantas de vivero de Ruscus Italiano (*Danae Racemosa*).

CÓDIGO:

FIA - PYT- 2012 - 0038.

Nº INFORME: FINAL

PERÍODO INFORME:

Desde: 1 de julio de 2012.

Hasta: 30 de junio de 2015.

NOMBRE Y FIRMA COORDINADOR PROYECTO:

Ana Victoria Quijada Bannura

USO INTERNO FIA	
FECHA RECEPCION	

INDICE

I .Resumen ejecutivo del proyecto.

II .Informe de avance técnico.

- 1.- Resumen del proyecto.
- 2.- Actividades ejecutadas, análisis de brecha (comparativo) y metodología.
 - Ensayos de propagación vía micropropagación.
 - Ensayos de propagación vía semillas.
 - Ensayos de propagación vía división de corona.
 - Ensayos para crecimiento comercial.
- 3.- Resultados e hitos.
- 4.- Impactos logrados a la fecha.
- 5.- Problemas enfrentados.
- 6.- Programa próximo período.
- 7.- Otros aspectos de interés.
- 8.- Conclusiones y recomendaciones.

III .Informe de difusión y publicaciones.

IV .Anexos.

Anexo 1 : Fichas.

Anexo 2 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía semillas primera y segunda temporadas.

Anexo 3 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía división de corona.

Anexo 4 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de crecimiento comercial.

Anexo 5 : Días de campo y seminario.

I. Resumen ejecutivo del proyecto

Si bien el cultivo del Ruscus Italiano ha mostrado ser una alternativa técnicamente factible de desarrollar (adaptabilidad mostrada) y económicamente atractiva de implementar (precios internacionales y demanda) en la zona sur del país, esta se ha visto fuertemente limitada en su desarrollo tanto por el acceso al material vegetal (disponibilidad de proveedores y normativa SAG que prohíbe el ingreso de este material al país) para iniciar su cultivo, como por lo lento del proceso de crecimiento para obtener una planta con potencial productivo comercial (5 a 6 años, por fisiología de la planta dados requerimientos alternados de horas frío y días grado en orden a inducir yemas y favorecer crecimiento vegetativo respectivamente).

Dado lo anterior, se hace necesario ejecutar un proyecto de investigación y desarrollo para determinar la forma más eficiente de obtener plantas comerciales de Ruscus Italiano, tanto en términos de su tasa de propagación como del tiempo requerido para ello. En este marco, este proyecto pretende determinar: La forma más eficiente de propagarlo (tasa de propagación): vía semilla; división de rizoma; micropropagación, así como la forma más eficiente de obtener una planta comercial (de rápida entrada en producción) a partir de un material de origen dado, medido por el tiempo requerido para ello, lo anterior por mantención forzada en invernadero climatizado del material propagado.

En este contexto, entre el 1 de julio del 2012 y el 30 de junio de 2015 se desarrolló, de acuerdo a lo presupuestado esta iniciativa, en dependencias del predio Agrícola Santa Clara, de la comuna de Río Bueno, Región de los Ríos.

Los resultados logrados a la fecha han permitido establecer claros protocolos en términos de las vías más eficientes para la propagación y crecimiento comercial de estas plantas. Con la información lograda se han concretado exitosamente niveles piloto de producción comercial.

II. Informe de avance técnico

1.- Resumen del Proyecto.

En el período comprendido entre el 1 de julio del 2012 y el 30 de junio de 2015, se desarrollaron una gran cantidad de actividades asociadas al presente proyecto, las que **se resumen a continuación.**

Los ensayos de propagación vía micropropagación ejecutados llevan a pensar que **esta vía de propagación es extremadamente difícil y lenta** de ejecutar. A la luz de los resultados obtenidos durante la primera temporada de ensayos, se tomó la decisión de **no continuar adelante con esta línea de investigación.**

Los ensayos de propagación vía semilla realizados durante la primera; segunda y tercera temporadas, han ratificado que **es la concentración de 2.000 ppm de Ácido Giberélico la que logra consistentemente los mayores % de germinación en semillas (96%) y la mayor altura de plúmula en semillas germinadas.** Todo en condiciones de 15 - 20 °C de cámara de germinación / crecimiento. Se estableció consecuentemente un protocolo con los resultados obtenidos, el que es posible de ser implementado en un plazo de 6 meses, aproximadamente. **El escalamiento comercial, a nivel de piloto, del protocolo establecido anteriormente ha sido posible exitosamente de ser implementado** con base a una gran cantidad de semillas.

Los ensayos de propagación vía división de corona permiten afirmar que esta vía es una alternativa viable para propagar esta especie ya que las plantas divididas arraigan en un alto %. Por otra parte, se puede afirmar que, al dividir las plantas a 1 yema, estas sufren un importante retroceso en su desarrollo frente a las plantas de 2 yemas. Con base en las conclusiones antes alcanzadas, **esta alternativa de propagación no es atractiva** ya que no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas. A la luz de los resultados obtenidos durante la primera temporada de ensayos, se tomó la decisión de **no continuar adelante con esta línea de investigación.**

Los ensayos para el crecimiento comercial fueron concluyentes para las variables estudiadas: **Sustratos:** Sustrato A, que contiene mayor proporción de suelo del campo (50%). **Enraizantes:** No aplicar ningún tipo de enraizante. **Condiciones de crecimiento:** El mejor protocolo de crecimiento comercial se logra al combinar dos periodos de crecimiento en invernadero calefaccionado a 15 - 25 °C con camas calientes a 12 - 20 °C. La vernalización natural en el periodo

invernal se le puede dar a las plantas al parar el funcionamiento de la caldera y abrir las lucarnas de los invernaderos.

A la luz de los resultados obtenidos durante la primera temporada de ensayos, se tomó la decisión de **no continuar adelante con esta línea de investigación, ya que obviamente lo más conveniente técnica y económicamente es utilizar el invernadero calefaccionado como un complemento para extender el periodo de crecimiento estival** a los meses de primavera y de otoño. **Los meses invernales** de menores temperaturas, deberían coincidir con el periodo de **vernalización** la que se le daría al abrir las lucarnas y suspender la caldera.

El protocolo anterior se implementó exitosamente a nivel de escalamiento comercial piloto, con la producción de 160.000 plantas, durante los últimos periodos del proyecto, lográndose un **importante incremento en la eficiencia del uso de la capacidad instalada de invernaderos,** dado el empleo masivo de camas calientes.

La conjunción de las tecnologías desarrolladas, tanto para la obtención de plántulas, como para el crecimiento bajo condiciones de invernaderos, del material obtenido, se plantea como una metodología eficiente en el logro del objetivo propuesto en este proyecto, esto es: "Determinar la forma más eficiente de obtener plantas comerciales de Ruscus Italiano". Lo anterior se materializó en el escalamiento comercial, a nivel de piloto, de la producción de plantas de Ruscus con estándar comercial para ser plantada en un huerto industrial, que a la fecha alcanza a las 2 ha.

2.- Actividades ejecutadas, análisis de brecha (comparativo) y metodología.

En carta Gantt anexa se presenta el desarrollo del proyecto durante el período comprendido entre el **1 de julio del 2012 y el 30 de junio de 2015**, fecha de inicio / término del proyecto.

Ambas fechas antes indicadas se marcan con una **línea de color rojo** a efecto de facilitar la lectura y comprensión de la carta Gantt.

En ella se presentan las **tareas programadas a ejecutar en letras negras** y los **hitos en azul**.

En las barras de la Gantt, se presentan **las tareas ejecutadas en barras azules**.

Las barras de avance (% completado) se presentan **en barras rojas** o en **en barras azules**, dependiendo de si la tarea **se ejecutó** o **se reprogramó**.



ADJUNTO: CARTA GANTT DEL PERÍODO:

Fecha de inicio: **1 de julio del 2012**

Fecha de corte: **30 de junio de 2015**

A continuación se describirán, para cada grupo de actividades, relacionadas con los diferentes conjuntos de ensayos del proyecto:

- **Ensayos de propagación vía micropropagación.**
- **Ensayos de propagación vía semilla.**
- **Ensayos de propagación vía división de coronas.**
- **Ensayos para crecimiento comercial.**

Los siguientes aspectos:

1.- **Las actividades realizadas** analizando las **brechas** entre lo programado y lo efectivamente ejecutado (**porcentaje de avance**).

2.- **Se describirá la metodología empleada** en la ejecución de las mencionadas actividades, sus **resultados**, **evaluaciones** y **conclusiones** para, finalmente, presentar una **secuencia fotográfica** representativa de la actividad.

Ensayos de propagación vía micropropagación.

En lo referente a las siguientes actividades del periodo:

1. Ensayos de propagación

1.1. Ensayos de propagación vía micropropagación

1.1.1 Ensayos de prop. vía microprop. 1º temporada

Cosecha y obtención de explantes

Laboratorio de Micropropagación

Cámara de crecimiento

Traslado a invernadero de crecimiento

Hito : Metodología de micropropagación primera evaluación finalizada

1.1.2 Ensayos de prop. vía microprop. 2º temporada

Cosecha y obtención de explantes

Laboratorio de Micropropagación

Cámara de crecimiento

Traslado a invernadero de crecimiento

Hito : Metodología de micropropagación primera evaluación finalizada

1.1.3. Ensayos de prop. vía microprop. 3º temporada

Cosecha y obtención de explantes

Laboratorio de Micropropagación

Respecto a la actividad de Ensayos de Propagación vía micropropagación, esta presenta un porcentaje de avance del 100%. **Para la 1º temporada**, las actividades de cosecha y obtención de explantes y laboratorio de

micropropagación, presentan un porcentaje de avance del **100%**. **Las restantes actividades programadas** en esta vía de propagación **se suspendieron y/o modificaron**, dados los **motivos técnicos** que a continuación se explican. Lo anterior produce una brecha entre lo planificado y ejecutado. **EL HITO: Metodología de micropropagación primera evaluación finalizada**, se alcanzó en el periodo del proyecto y **EL HITO Metodología de Micropropagación Definida**, también se definió en este período.

A continuación **se resumen los resultados** reportados para esta vía de propagación durante el proyecto.

1.- Obtención de explantes de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos.

La esterilización para el establecimiento in vitro de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos **durante el año 2012, fue negativa**, ya que el material así obtenido se contaminaba consistentemente pasados unos días de haber sido establecido en el medio MS.

Aun cuando se siguió el protocolo para la esterilización de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos establecida por Pasqualetto (2003), (utilización de cloro y posteriormente alcohol etílico para, por último, ser lavados repetidamente en agua estéril), ésta no reportó resultados positivos en los intentos realizados. Lo anterior, debido a las altas probabilidades de contaminación en la propagación de tejido vegetal obtenido de crecimientos hipógeos, ya que como se sabe, este resulta corrientemente contaminado con hongos presentes en el suelo.

Continuando con la evaluación del ensayo, **se pudo observar que consistentemente los explantes cosechados a partir de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos (Vía Rizomas), se contaminaban con hongos. Dicha situación se mantuvo en los explantes obtenidos posteriormente durante el 2013, terminando por contaminarse la totalidad del material cultivado**, lo que estaría indicando que existe contaminación endógena del tejido vegetal así cosechado.

2.- Obtención de explantes a partir de ápices meristemáticos obtenidos de semillas germinadas.

Dados los negativos resultados obtenidos anteriormente se consideró esta alternativa, que consistió en que, **durante el año 2013**, a partir de 30 plántulas de *Ruscus Italiano* provenientes de semillas germinadas en condiciones de esterilidad (placas petri, papel filtro, agua destilada y fungicidas) se obtuvieron explantes de tejido vegetativo apical sobre el que se realizaron sucesivos intentos de esterilización con diferentes concentraciones de cloro, alcohol etílico y lavados con agua destilada (Fue sometido a repetidos lavados de desinfección con alcohol desnaturalizado al 70% por 30 segundos y lavado posterior de 3 veces con agua destilada



estéril, continuando con la desinfección con hipoclorito de sodio al 1% por 15 minutos y lavado posterior de 3 veces con agua destilada estéril). Lo último se repitió al menos una vez, para poder obtener así un explante estéril capaz de desarrollarse in vitro.

El material así desinfectado, fue depositarlo (sembrado) en tubos esterilizados con medio MS, los que fueron llevados a una cámara de crecimiento en condiciones de 24°C y en un régimen de fotoperiodo de 16 Hrs. de luz y 8 Hrs. de oscuridad.

Los resultados comunicados por el Sr. Kompatzki, profesional responsable del laboratorio in vitro, indican que a la fecha **solo 3 muestras de la gran cantidad realizada no se contaminaron**, perdurado en el tiempo, lo que estaría señalando que este material se contamina fácilmente, no obstante ello se pudo obtener algún material esterilizado susceptible de ser mantenido en condiciones In-Vitro. El mismo profesional reporta que el crecimiento In-Vitro de los explantes es extremadamente lento.

Con las iniciativas desarrolladas durante el proyecto, se logró obtener material esterilizado proveniente de semillas germinadas y, explantes a partir de ellos, lo que indica que esta especie es susceptible de ser propagada por esta vía. El problema es lo difícil de obtener (por lo fácilmente contaminable - contaminación endógena) y lo lento del crecimiento de los explantes obtenidos.

Dado el escaso éxito logrado en la etapa de esterilización y el lento crecimiento de los explantes In-Vitro, obviamente se generaron muy pocas plántulas, por lo que en los ensayos de micropropagación de la **1° temporada** no se pudieron pasar a la etapa siguiente, de Cámara de crecimiento y a su etapa posterior de Traslado a invernadero de crecimiento. **Dados los resultados obtenidos en la primera temporada y de común acuerdo con el ejecutivo del proyecto, se decidió no continuar con los ensayos programados para la 2° y 3° temporada.** Con esta base, estas actividades se reportan como no ejecutadas, generándose una brecha entre lo presupuestado y lo ejecutado que se origina en la falta de disponibilidad de material de ensayo para ejecutar la etapa siguiente.

Los antecedentes antes reportados llevan a pensar que esta vía de propagación es extremadamente dificultosa y lenta de ejecutar ya que en este proyecto solo se han podido obtener muestras de material micro propagado.

En lo referente al Hito Metodología de micropropagación primera evaluación finalizada, los antecedentes reportados (escaso éxito logrado en la etapa de esterilización y lento crecimiento de los explantes In-Vitro), permiten afirmar que este se alcanzó.

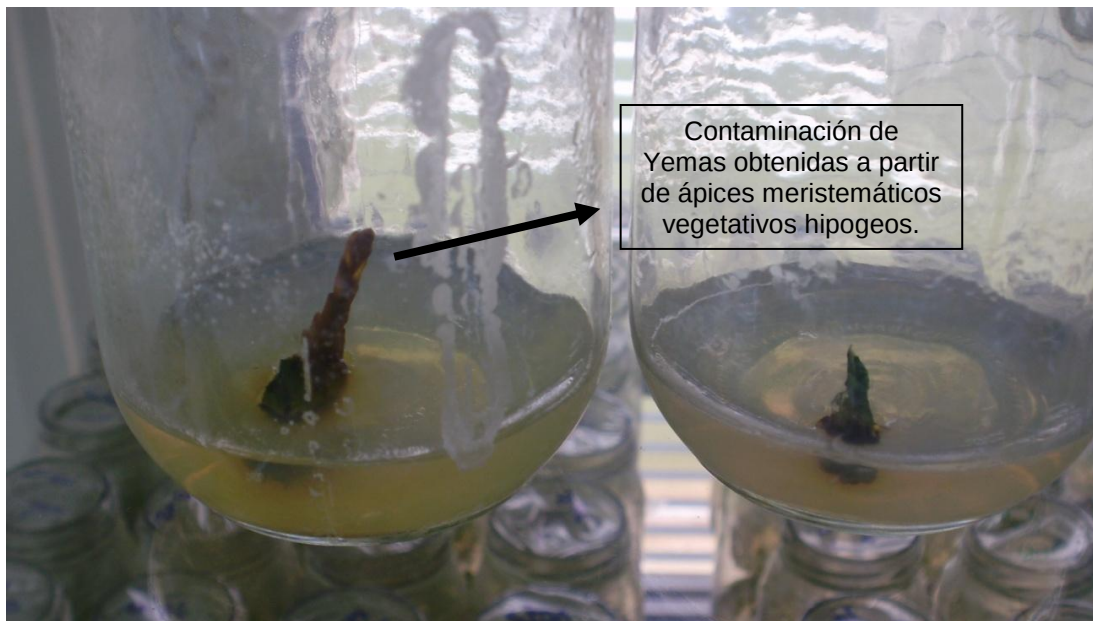
Lo anterior lleva a concluir que no es aconsejable el continuar desarrollando esta vía de investigación en la propagación de esta especie, lo que constituye la conclusión de la metodología de micropropagación (Hito Metodología Micropropagación definida).

Algunos aspectos de las actividades anteriores se muestran en la siguiente secuencia fotográfica, ordenadas por temas:

- 1.- Obtención de explantes de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos.**
- 2.- Obtención de explantes a partir de ápices meristemáticos obtenidos de semillas germinadas.**

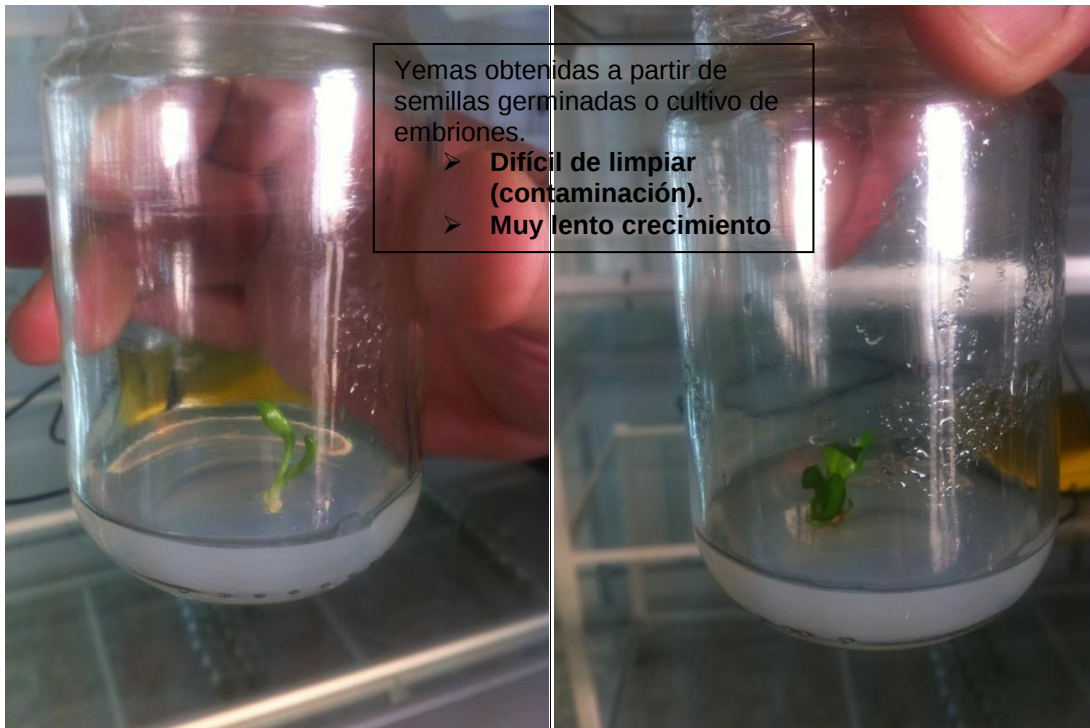
1.- Obtención de explantes de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos.





2.- Obtención de explantes a partir de ápices meristemáticos obtenidos de semillas germinadas.







Ensayos de propagación vía semilla.

En lo referente a las siguientes actividades del periodo:

1. Ensayos de propagación

1.2. Ensayos de propagación vía semilla

1.2. 1. Ensayos de propagación vía semilla 1º temporada

Obtención y secado

Tratamientos de escarificación

Tratamientos de germinación

Tratamientos de frío en hoja

Tratamientos de cámara de crecimiento

Traslado a invernadero de crecimiento

HITO: Metodología de propagación vía Semilla, primera evaluación finalizada.

1.2. Ensayos de propagación vía semilla 2º temporada

Obtención y secado

Tratamientos de escarificación

Tratamientos de germinación

Tratamientos de frío en hoja

Tratamientos de cámara de crecimiento

Traslado a invernadero de crecimiento

HITO: Metodología de propagación vía Semilla definida.

1.2. Ensayos de propagación vía semilla 3º temporada

Obtención y secado

Tratamientos de escarificación

Tratamientos de germinación

Tratamientos de frío en hoja

Tratamientos de cámara de crecimiento

Las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondiente a la 1º temporada**, presenta un % de avance del **100%**, desarrollándose según lo planificado. **El Hito**, Metodología de propagación vía semilla primera evaluación finalizada se alcanzó oportunamente.

Por otra parte, las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondientes a la 2º temporada** presentan un % de avance del **100%** ya que se ejecutaron la totalidad de las tareas asociadas a esta actividad. **El Hito**, Metodología de propagación vía semilla definido, se alcanzó oportunamente.

Por último, las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondientes a la 3ª temporada** presentan un % de avance del **100%**, ya que se ejecutaron la Obtención y secado; El Tratamiento de escarificación; El Tratamiento de germinación; El Tratamiento de Frío en hoja; Tratamiento de Cámara de Crecimiento y se encuentra en desarrollo su Traslado a Invernadero de Crecimiento.

A continuación se **resumirán los aspectos** centrales desarrollados en los **ensayos de propagación vía semillas** correspondientes a **la primera y segunda temporada. Se finalizará con el reporte de las actividades de dichos ensayos durante la tercera temporada.**

Respecto a las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondientes a la primera temporada (año 2012)**, a continuación se presenta un resumen de las actividades desarrolladas, las evaluaciones efectuadas y sus conclusiones:

- 1) La semilla adquirida a mediados del año 2012 fue lavada repetidas veces y secada.
- 2) La cantidad de 2.079 semillas fueron sometidas a los tratamientos de escarificación:
Diferentes concentraciones (500 / 1000 / 2000 / 5000 ppm) de Ácido Giberélico ó
Diferentes períodos (0 / 2 / 4 / 6 semanas) de Frío.
- 3) Las semillas así tratadas se sometieron a diferentes temperaturas en la cámara de germinación (15-20-25°C).
- 4) La evaluación del % de germinación de estos tratamientos se realizó en dos oportunidades: El 20 de diciembre del año 2012 y el 12 de Febrero del 2013, arrojando los siguientes resultados:

Las conclusiones alcanzadas se resumen en que **la escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 1.000 a 5.000 ppm, y su posterior traslado a una cámara de crecimiento a 20°C permiten obtener una germinación más precoz y alta, con un porcentaje de germinación de hasta el 65% (2.000 ppm), en comparación con los otros tratamientos y el testigo. En lo referente a la escarificación por temperatura, esta no tuvo un efecto positivo en el porcentaje de germinación de las semillas, al mostrar todos los tratamientos porcentajes de germinación inferiores al testigo.**

En este punto se planteó la incógnita de la respuesta que se podría obtener con concentraciones de Ác. Giberélico mayores.

- 5) Los tratamientos de escarificación (frío / Ac. Giberélico) en hoja (para romper la dormancia del epicotilo), se desarrollaron con semillas germinadas (radícula), seleccionadas para que ellas fueran homogéneas, estas se sometieron a tratamientos de frío (3 - 5°C) por períodos de: 0 / 2 / 4 / 6 / 8 / 10 / 12 / 14 / 16 semanas y a tratamientos con Ác. Giberélico (GA₃) en concentraciones de: 0 / 500 / 1000 / 2000 / 5000 ppm.

El material así tratado fue plantado individualmente en recipientes de plumavit perforados en su base, de aproximadamente 10 cm de alto, los cuales contenían un sustrato preparado en base a partes iguales de turba y perlita, fertilizada con abono soluble RocmagicR Bulbosas (N,P,K - 40,20,13 + Microelementos quelatados por EDTA). Dichos recipientes, con sus respectivas semillas germinadas, tratadas y plantadas fueron depositados en la mencionada cámara de crecimiento y mantenidos a temperaturas de 15, 20 y 25°C.

- 6) La evaluación de los tratamientos anteriores (que consistió en medir la presencia o ausencia de crecimiento -en centímetros- de la plúmula) se efectuó el 20 de Junio del 2013 e indica que:

Los mejores resultados para **el crecimiento de la plúmula, a partir de semillas germinadas de Ruscus, se lograría con condiciones de temperaturas entre 15 y 20°C (promedio total de cm. de plúmula de 15,05 y 12,9cm.)** ya que a 25°C la plúmula tiende a deshidratarse y senecer (promedio total de cm. de plúmula de 3,0), a pesar de los frecuentes riegos (diarios).

Por otra parte, existe un **claro efecto del tipo de escarificación sobre la cantidad de plúmula total obtenida. En tal sentido, la escarificación con Ác. Giberélico muestra una clara superioridad frente a la escarificación con frío hasta 8 semanas de almacenamiento** (los tratamientos de escarificación por frío que superaban las 8 semanas de almacenamiento a 3-5°C presentaron sintomatología fungosa, por lo que no se realizaron), lo anterior medido tanto en los centímetros totales de plúmula obtenida como en la cantidad de plantas que la emitieron. De esta forma los tratamientos de almacenaje refrigerado por 2 - 4 - 6 - 8 semanas fueron inferiores o levemente superiores al testigo de 0 semanas, mientras que **los tratamientos con Ac. Giberélico en concentraciones de 500 - 1.000 - 2.000 - 5.000 ppm fueron significativamente superiores (prácticamente el doble) que el testigo de 0 ppm.**

- 7) Una vez finalizadas las evaluaciones anteriores, las plantas obtenidas fueron trasladadas al invernadero de crecimiento y, después de un periodo de

aclimatación, en sus contenedores originales, fueron trasplantadas a speedlings para continuar con su desarrollo comercial.

Con respecto al HITO: Metodología de propagación vía semilla primera evaluación finalizada, **este se alcanzó a fines de Junio de 2013** (antes de lo planificado: 22 de Septiembre de 2013) y se resume en que **el mejor tratamiento logrado para escarificar; hacer germinar; romper la dormancia de la plúmula y finalmente hacer crecer la plántula es:**

1.- La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 1.000 a 5.000 ppm, y su posterior traslado a una cámara de crecimiento a 20°C permiten obtener una germinación más precoz y alta, con un porcentaje de germinación de hasta el 65% (2.000 ppm).

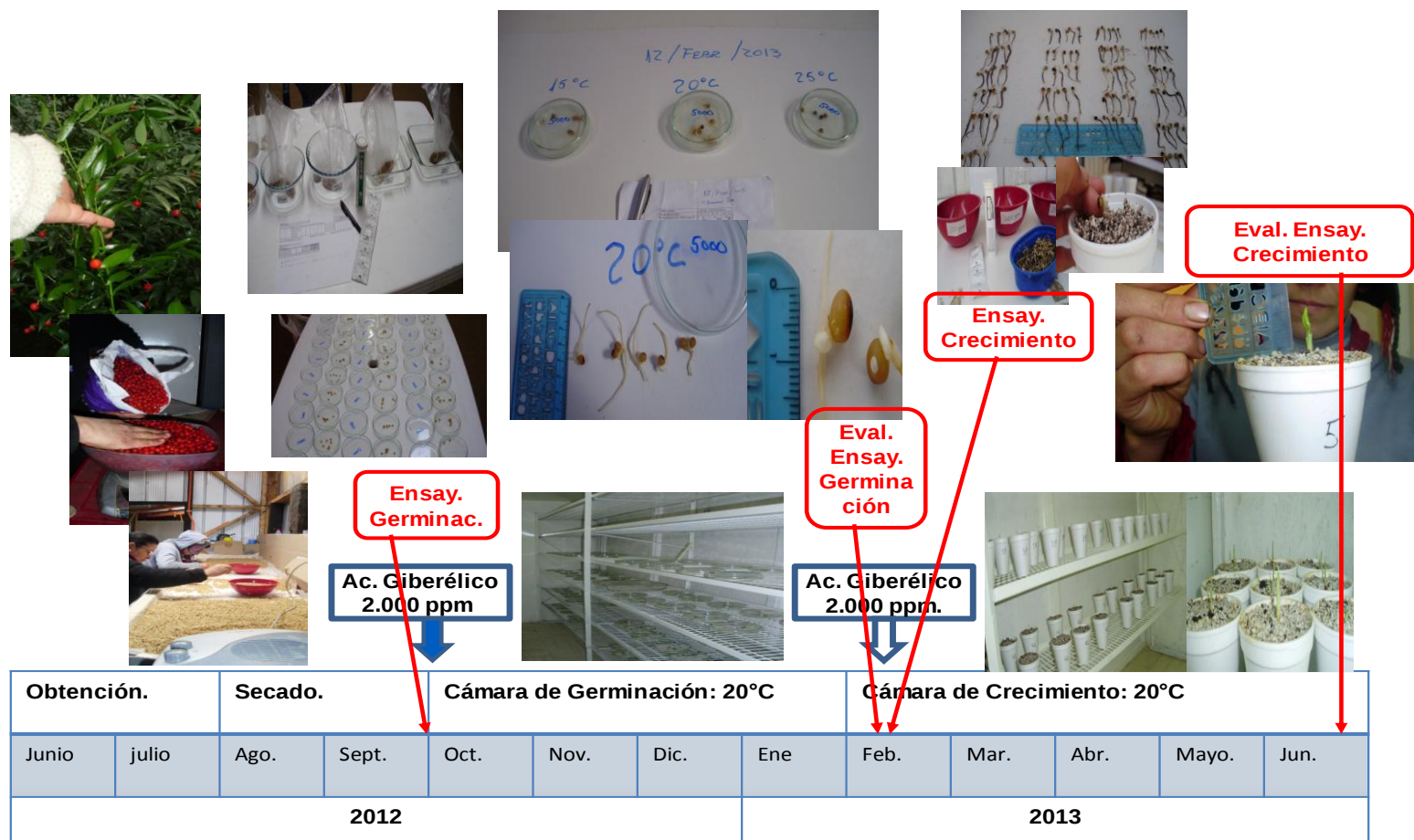
2.- La escarificación posterior con Ác. Giberélico muestra una clara superioridad (medido tanto en los centímetros totales de plúmula obtenida como en la cantidad de plantas que la emitieron) frente a la escarificación con frío. Los tratamientos con Ac. Giberélico en concentraciones de 500 a 5.000 ppm fueron significativamente superiores (prácticamente el doble) que el testigo (0 ppm). Los mejores resultados para el crecimiento de la plúmula, a partir de semillas germinadas de Ruscus, se lograría con condiciones de temperaturas entre 15 y 20°C.

El establecimiento del protocolo anteriormente señalado se puede resumir en:

- **La obtención y secado de semilla de Ruscus.**
- **La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 2.000 ppm.**
- **Germinación en cámara de crecimiento a 20°C.**
- **Tratamiento con Ac. Giberélico en concentraciones de 2.000 ppm.**
- **Cámara de crecimiento a 15 - 20°C.**

La secuencia anterior y que se resume en la Figura 1, indica que en 12 meses se puede obtener una plántula de Ruscus. En este punto se pensó que dado que las temperaturas de germinación y crecimiento óptimas son de 20°C y que el mejor método para lograr tanto escarificar la semilla y romper dormancia de la plúmula son de 2.000 ppm de ácido giberélico, **se hace recomendable el realizar todo el proceso en placas Petri, para de esta forma manipular lo menos posible el material vegetal. Con esta consideración se establecieron los ensayos realizados durante el 2013.**

Figura 1. Diagrama de propagación vía semilla primera temporada



Respecto a las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondientes a la segunda temporada (año 2013)**, a continuación se presenta un resumen de las actividades desarrolladas, las evaluaciones efectuadas y sus conclusiones:

- 1) En el mes de Mayo del 2013 **se procedió a comprar** al mismo proveedor mencionado en la propuesta, la cantidad de **100.000 semillas**. De igual forma se procedió a la cosecha de **16.000 semillas** provenientes de plantas adultas de propiedad del agente ejecutor. La totalidad de las semillas así obtenidas, exceptuando aquellas destinadas a ensayo, **fueron sometidas al protocolo antes señalado, con la modificación** obvia de que pensando en el escalamiento comercial, utilizar en vez de las costosas placas Petri, **cajones confeccionados en aluminio y policarbonato, rellenos de turba y perlita** depositada sobre una capa de material que permite el drenaje. **Lo anterior constituye una innovación orientada al escalamiento comercial del protocolo definido.**
- 2) **Los tratamientos de los ensayos de escarificación se realizaron en placas Petri** y consideraron 7 semillas por placa y 60 placas Petri por tratamiento, con un total de 2.100 semillas en ensayo, se realizaron los primeros días de Julio del 2013 y tomaron solo un día en realizarse. Ellos consistieron en probar concentraciones más altas de Ácido Giberélico (0 ppm; 2.000 ppm; 5.000 ppm; 8.000 ppm y 10.000 ppm). Al igual que en la temporada anterior, las semillas se sumergieron en la solución respectiva.
- 3) Dichos tratamientos de escarificación se depositaron en cámara de germinación (a 20 °C) y se desarrollaron por 60 días (Julio a Agosto del 2013). Ellos fueron evaluados (% de germinación) el 30 de Agosto del 2013. **Los resultados obtenidos permiten concluir que el mejor tratamiento para escarificar semillas de Ruscus es con Ácido Giberélico en concentraciones entre 2.000 ppm a 5.000 ppm, lográndose un % de germinación en torno al 63%. Dado lo anterior la concentración recomendada será de 2.000 ppm.**
- 4) Por otra parte, **los tratamientos de frío en hoja, o de aplicación de ácido Giberélico**, solo tomaron un día en ejecutarse, el 30 de Agosto del 2013. Dichos tratamientos consistieron en asperjar a cada uno de los tratamientos anteriores (placas Petri) idénticas concentraciones de Ácido Giberélico (0 ppm; 2.000 ppm; 5.000 ppm; 8.000 ppm y 10.000 ppm.)
- 5) **Los tratamientos de cámara de crecimiento**, se continuaron por 105 días (Septiembre a 15 de Diciembre). Dichos tratamientos fueron evaluados el 15

de Diciembre en términos del total de cm de plúmula obtenidos; del total de plantas obtenidas y del promedio de cm de plúmula por plántula.

Los resultados logrados permiten concluir que el mejor tratamiento para escarificar o romper la dormancia de la plúmula en semillas germinadas de Ruscus es con Ácido Giberélico en concentraciones entre 2.000 ppm a 5.000 ppm, lográndose una altura de plúmula de alrededor de 1,5 cm. Dado lo anterior la concentración recomendada será de 2.000 ppm.

Con respecto al HITO: Metodología de propagación vía semilla Definida, **este se alcanzó a comienzos de Enero del 2014** (antes de lo planificado: 11 de Septiembre de 2014).

El análisis de los resultados obtenidos de esta segunda temporada se resume que: **Los resultados de esta segunda temporada de ensayos han permitido ratificar los resultados obtenidos de la primera temporada de ensayos ya que en definitiva es la concentración de 2.000 ppm de Ácido Giberélico la que consistentemente logra los mayores % de germinación en semillas y la mayor altura de plúmula en semillas germinadas.**

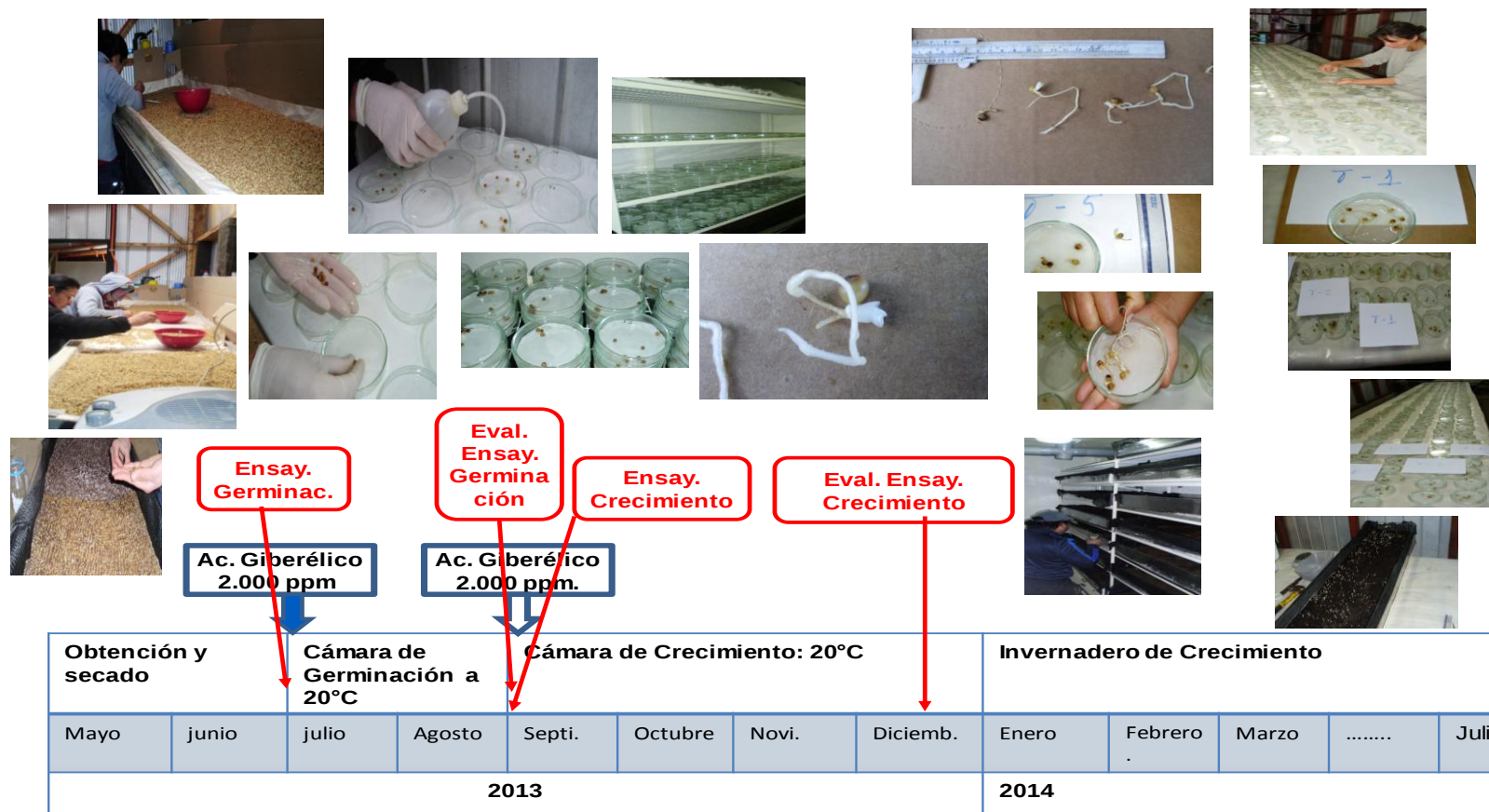
Dado lo anterior se cumplió con el HITO: Metodología de Propagación de Semillas Definida.

De esta forma, **las actividades contempladas a ser desarrolladas durante un año** (Julio de 2013 a Agosto de 2014) **se completaron en un plazo mucho más breve** (Julio a Diciembre de 2013). Lo anterior es indudablemente un **importante avance en ahorro de tiempo y recursos proporcionado por la metodología elegida e indica que en 6 meses se puede obtener una plántula de Ruscus.**

- 6) Una vez finalizadas las evaluaciones anteriores, las plantas obtenidas tanto de los ensayos realizados en placas Petri, como del escalamiento comercial realizado en contenedores de policarbonato, fueron trasladadas al invernadero de crecimiento donde después de un periodo de aclimatación, fueron plantadas en speedlings para continuar con su desarrollo comercial.

La secuencia anterior se resume en la Figura 2, e indica que en 6 meses se puede obtener una plántula de Ruscus.

Figura 2. Diagrama de propagación vía semilla segunda temporada



Respecto a las actividades de los **ensayos de propagación vía semillas correspondientes a la tercera temporada (2014)**, a continuación se presenta en detalle las actividades desarrolladas.

Dado que a comienzos del año 2014 ya se tenía definido cuál era la mejor metodología de propagación vía semilla (HITO). **Durante el 2014** y de común acuerdo con el Ejecutivo del proyecto, **se decidió que no era necesario realizar baterías de ensayos durante este año**, en el cuál los **esfuerzos estarían centrados en implementar el escalamiento comercial piloto** de la tecnología definida.

Con tal objetivo, durante junio y julio del 2014, se procedió a la compra de **160.000 semillas** al proveedor anteriormente individualizado. Esto, unido a **50.000 semillas** cosechadas del huerto adulto de propiedad del ejecutor, **totaliza 210.000 semillas destinadas al escalamiento comercial de la tecnología definida**.

A la totalidad de las semillas anteriormente mencionadas **se les aplicó el protocolo establecido, el que se puede resumir en:**

- **La obtención y secado de semilla:** La semilla fresca es lavada profusamente con agua corriente a efectos de retirar el tegumento rojo que la cubre. Posteriormente la semilla es esparcida sobre un cartón limpio forrado con pliegos de papel absorbente a efectos de secarla. Una vez que la semilla se encuentra seca esta es desinfectada con fungicida (Captan), el que se deja actuar durante unos días.
- Posteriormente se procede a la **escarificación de las semillas** con Ác. Giberélico, en concentración de 2.000 ppm. Para ello se sumerge la semilla por 24 horas en la solución definida.
- El siguiente paso consiste en **sembrar las semillas ordenadamente**, con un molde, en **cajones contruidos de policarbonato** y estructura de hierro. El **sustrato empleado** consiste en 50% de turba y 50% de perlita depositada sobre una capa de material de plumavit (esferas), que permite el drenaje del agua excedente del riego.
- Las cajas con las semillas así sembradas son depositadas en las estanterías de fierro contruidas a tal efecto. Dada la gran cantidad de semillas adquiridas durante este año, **se tuvo que implementar el uso de contenedores plásticos (bandejas de yogurt) recubiertos de malla raschel blanca** y depositados en estructuras de madera complementarias a las anteriores para poder guardar en la **Cámara de germinación** la totalidad del material adquirido. La temperatura de la Cámara de

germinación **se mantiene constante en 20°C**, lo anterior se logra mediante el uso de una estufa oleo eléctrica, con termostato digital.

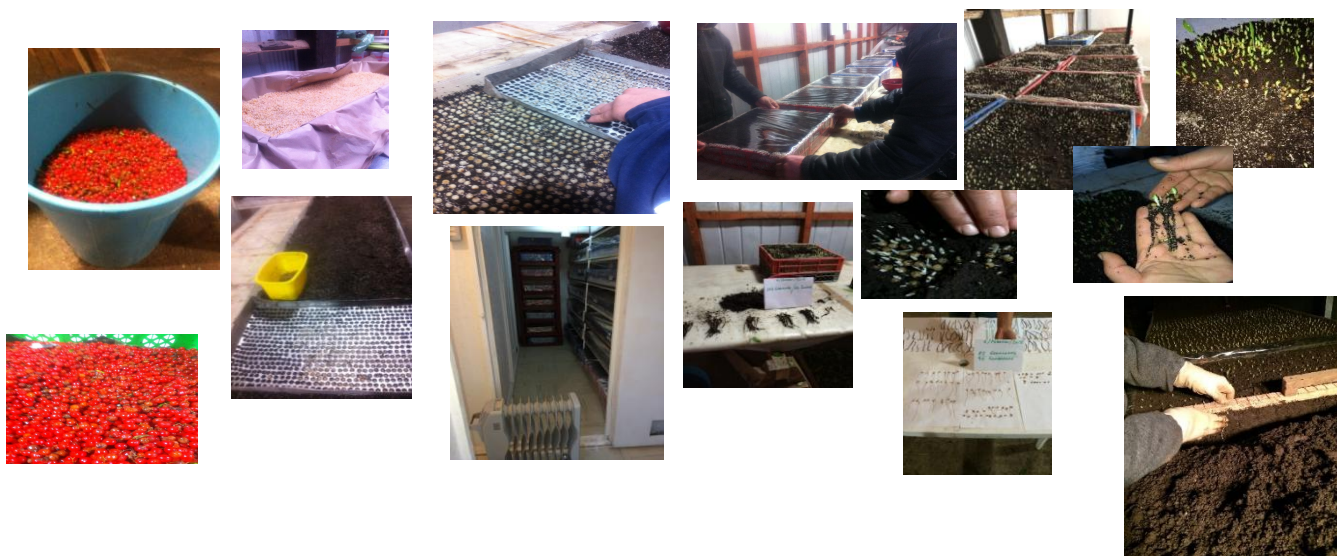
- Las semillas así sembradas comienzan su germinación. **Las condiciones de manejo** implican aplicaciones periódicas de fungicida con un rociador de mano. La temperatura es controlada mediante termómetro digital al menos tres veces diarias. Sistemáticamente se renueva el aire de la Cámara por medio del extractor de aire forzado, para mantener así una humedad reducida.
- **Se tomó la decisión de cubrir la totalidad de los contenedores con semillas con film plástico transparente** (Alusa Plast industrial). La innovación anterior apunta, por una parte, a **conservar con mayor facilidad la humedad dentro del contenedor**, ya que el agua evaporada se condensa en el film plástico y se recircula dentro del contenedor y, por otra parte, a **dar condiciones de mayor aislación a los contenedores frente a problemas de contaminación fungosa**, lo que en la práctica se ha apreciado importantemente, en comparación a la temporada anterior.
- **60 días después de la siembra y posterior a la germinación**, se aplicó **Ac. Giberélico en concentraciones de 2.000 ppm.**, a objeto de inducir el crecimiento de la plúmula.
- Estas semillas germinadas fueron mantenidas en la **Cámara de crecimiento a 15 - 20°C.**, hasta el **20 de diciembre del 2014**, donde se desarrollaron tanto la plúmula como la radícula, según lo esperado.
- **Desde el 20 de diciembre del 2014 y por un período de aproximadamente 60 días** los contenedores se mantuvieron en repisas metálicas en un **recinto especialmente acondicionado (sombreadero)** en términos de estar bajo galpón y protegido con malla Rachel blanca 50% (condiciones de umbría). Lo anterior, a objeto de "aclimatar" las plántulas obtenidas a condiciones de invernadero de crecimiento.
- **El 6 de febrero del 2015 se evaluó** el porcentaje de plántulas obtenidas. Para ello se marcó 100 cm² (10 cm x 10 cm) tanto en la plantilla metálica de plantación como, al azar, en varios cajones y bandejas. De esta forma se pudo obtener la cantidad de semillas sembradas y la cantidad de plántulas obtenidas en idéntica superficie. **Los resultados son muy prometedores ya que indican porcentajes de germinación promedio del 96% y 91% para bandejas y cajones de policarbonato respectivamente.** Lo anterior es muy superior al porcentaje de germinación obtenido en la

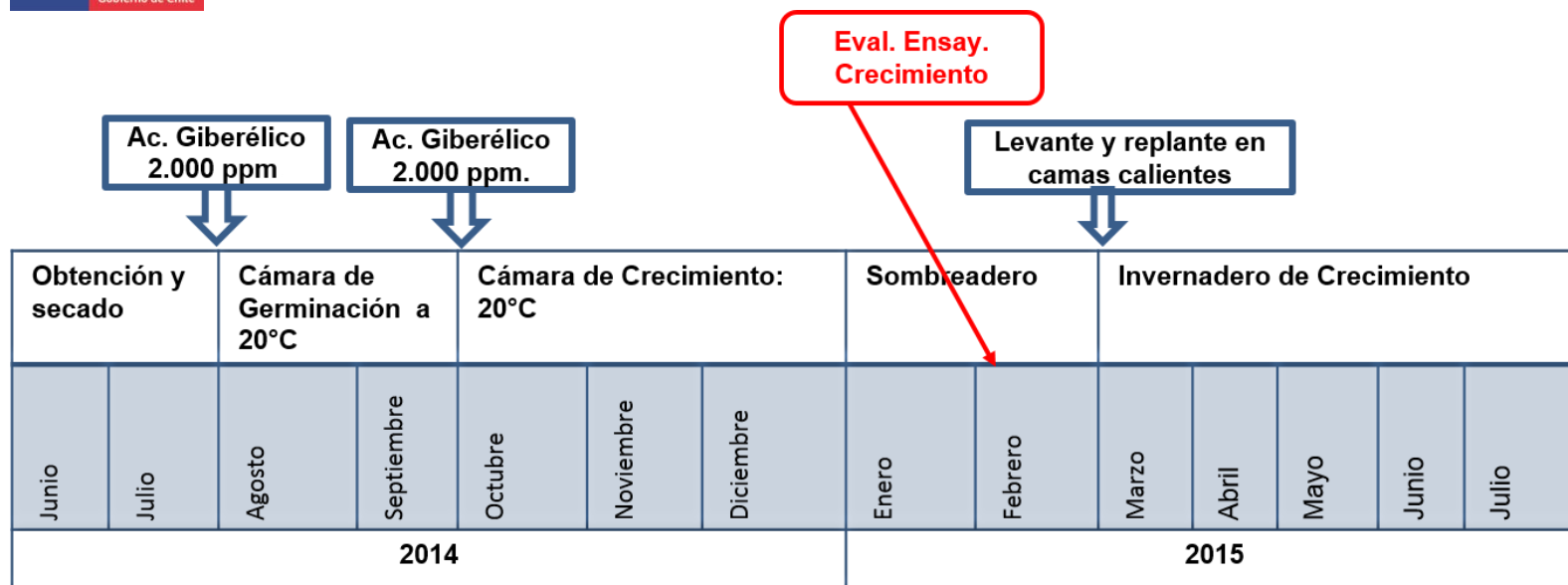
temporada anterior (63%), lo cual constituye indudablemente un refinamiento en la tecnología desarrollada.

- Por último **a partir del mes de Marzo del 2015**, dichos cajones y contenedores **se trasladaron al invernadero de crecimiento**, a objeto de **levantar las plántulas así obtenidas y plantarlas (en un marco de 2,5 cm x 2,5 cm) en las camas calientes** construidas especialmente para dicho proceso. Dada la gran cantidad de material obtenido y lo lento del proceso de plantación, limitado por lo delicado de la tarea, esta labor se ha desarrollado en los pasados meses encontrándose finalizada a fines de Julio del presente año.
- Durante el mes de **Mayo del 2015** la contraparte del proyecto **adquirió la cantidad de 40.000 semillas**, las que sumadas a las **10.000 semillas de producción propia**, constituyen el material inicial **para alimentar el ciclo de producción de plantas de esta temporada**. Se hace notar la importante reducción en la cosecha de semillas observada en la temporada, presumiblemente por motivos climáticos.

La secuencia anterior se resume en la Figura 3.

Figura 3. Diagrama de propagación vía semilla tercera temporada





En este punto creemos importante el **reportar las siguientes actividades**, relacionadas a esta vía de propagación, que se emprendieron **por iniciativa del Agente Ejecutor**:

1.- Desde el año 2013 a la actualidad se viene adquiriendo y aportando crecientes cantidades de semilla (116.000 el 2013 y 210.000 el 2014). Lo anterior ha obligado a innovar rápidamente en el proceso de germinación y de crecimiento al que esta gran cantidad de semilla es sometida, a efectos de hacer posible el escalamiento comercial del protocolo definido. Para lo anterior se innovó en:

- **El reemplazo de las costosas placas Petri por cajones confeccionados en aluminio y policarbonato, rellenos de turba y perlita** depositada sobre una capa de material que permite el drenaje.
- El diseño de una **matriz metálica que permite una ordenada**, eficiente y rápida **siembra**.
- **La utilización de contenedores plásticos (bandejas de yogurt) recubiertos de malla raschel blanca** como método complementario a los contenedores de policarbonato antes descritos, constituyendo una **alternativa más económica y altamente exitosa** de siembra de semillas.
- La decisión de **cubrir la totalidad de los contenedores con semillas con film plástico transparente** (Alusa Plast industrial), a objeto tanto de **conservar con mayor facilidad la humedad dentro del contenedor**, como de **dar condiciones de mayor aislación a los contenedores frente a problemas de contaminación fungosa**, lo que en la práctica **se ha apreciado importantemente**, al comparar temporadas sucesivas.

2.- Durante el año 2014 se decidió entregar al laboratorio In Vitro del Sr. Kompatzki, la cantidad de 2.000 semillas escarificadas, las que fueron sembradas en frascos esterilizados que contenían una solución MS. Se depositaron 5 semillas por frasco y se mantuvieron sin luz y a 20°C durante 3 meses, para ser finalmente expuestas a la luz y mantenidas en idénticas condiciones a las antes señaladas. El Sr. Kompatzki reportó consistentes contaminaciones dentro de los frascos, lo que lo obligó a retirar muchas unidades para proceder a su esterilización y nuevamente a su cultivo en dicho medio. La totalidad de los frascos y semillas fueron retirados por el Agente Ejecutor durante el mes de noviembre de ese año y trasplantados a idénticas condiciones que las

plántulas de la producción piloto antes detallada . **El resultado final de este emprendimiento medido en términos de cantidad de semillas entregadas y número de plántulas obtenidas, indica que este es de un 50%. Lo anterior, unido al mayor costo de este procedimiento comparativamente al desarrollado por el Agente Ejecutor, lo hacen no aconsejable.**

3.- Durante el año 2014, **se entregó una limitada cantidad de semillas al laboratorio de semillas de la Escuela de Agronomía de la PUCV a objeto de determinar la presencia de embriones en dicho material, arrojando los resultados que un alto % de las semillas presentaba embriones distinguibles en imágenes de rayos X. A continuación se le solicitó al laboratorio que hiciera una prueba de germinación con la reducida cantidad de semillas restantes. El resultado más importante que se puede obtener del informe remitido por dicho laboratorio, dado lo reducido de las muestras, es que también habría una posible respuesta en la germinación a tratamientos con KNO_3 .**

4.- Durante el año 2014 se **depositó alrededor de 10.000 semillas escarificadas a germinar en bolsas ziploc forradas internamente con papel filtro y humedecidas con agua esterilizada y Captan. Lo anterior a objeto de incrementar la eficiencia en el uso del espacio dentro de las cámaras de germinación.** Las bolsas fueron selladas y mantenidas en idénticas condiciones que los cajones y contenedores descritos anteriormente (cámara de germinación). **El resultado evaluado indica un 0% de germinación. Lo anterior lleva a pensar que la nula ventilación presente en una bolsa auto sellante interfiere con la germinación, ya que se percibió intensos olores a fermento.**

En la siguiente **secuencia fotográfica se muestra un resumen de las principales actividades desarrolladas** en esta vía de propagación, seleccionadas en orden a **graficar el protocolo definido como final** en este proyecto.

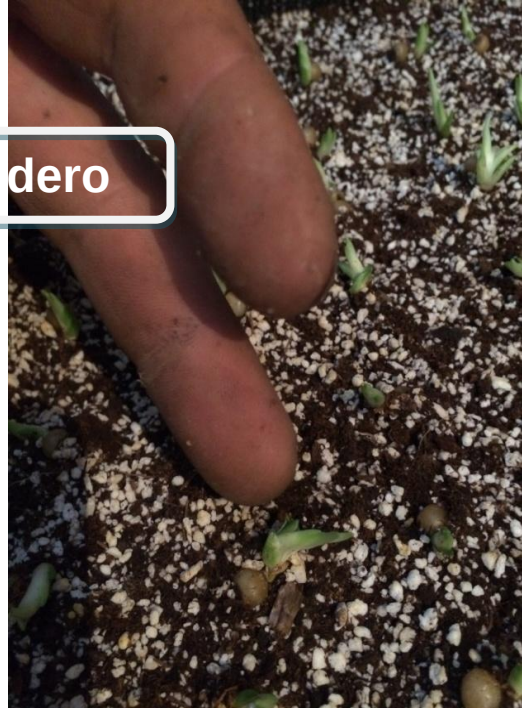
A continuación se **presenta también** una secuencia fotográfica que muestra la **evaluación final del protocolo establecido**, así como **algunos aspectos** de los ensayos realizados con **bolsas auto sellantes** y de la **germinación en medio MS** y de su resiembra en sustrato.



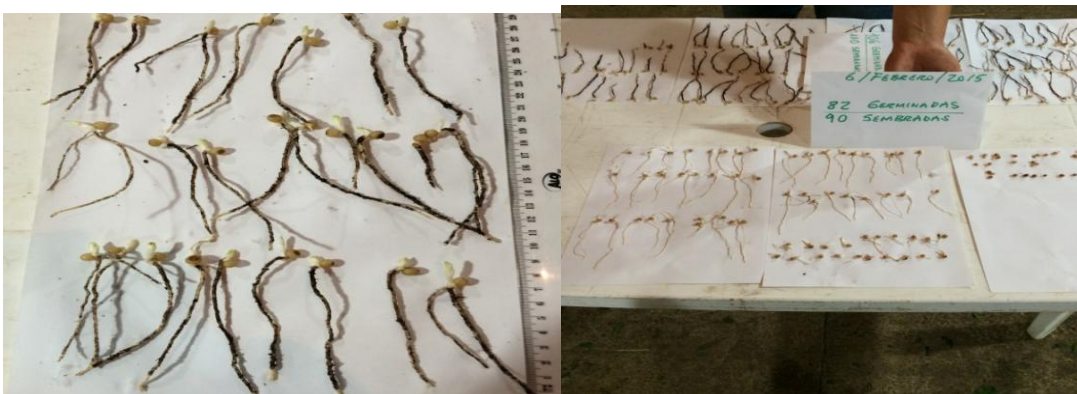


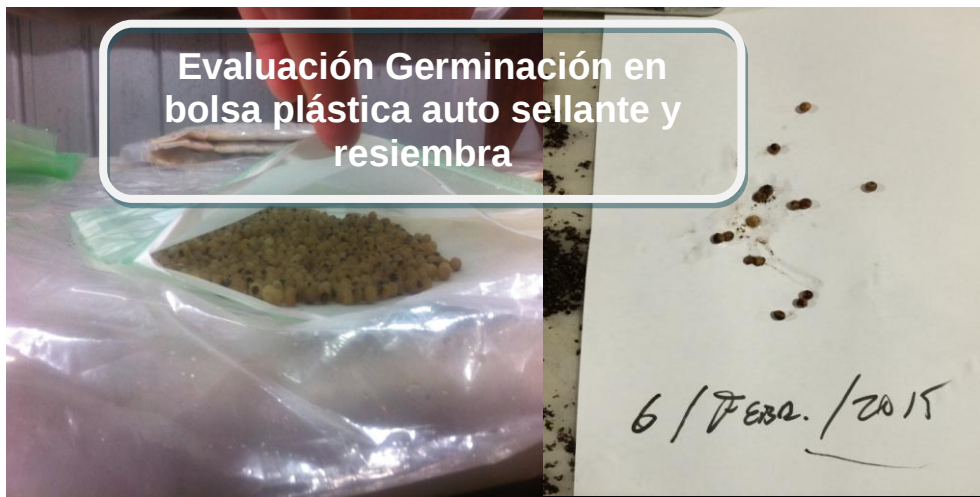


Sombreadero













Trasplante de Germinación en
Medio MS a Sustrato

Ensayos de propagación vía división de coronas.

En lo referente a las siguientes actividades del periodo:

1. Ensayos de propagación

1.3. Ensayos de propagación vía división de corona

1.3. 1. Ensayos de propagación vía corona 1º temporada

Obtención de rizomas

División de rizomas

Ejecución de ensayos enraizante

Plantación en contenedores / sustratos

Traslado a Invernadero Crecimiento

**HITO: Metodología de propagación vía rizomas
primera evaluación finalizada**

1.3. 2. Ensayos de propagación vía corona 2º temporada

Obtención de rizomas

División de rizomas

Ejecución de ensayos enraizante

Plantación en contenedores / sustratos

Traslado a Invernadero Crecimiento

**HITO: Metodología de propagación vía rizomas
definido**

1.3.3. Ensayos de propagación vía corona 3º temporada

Obtención de rizomas

División de rizomas

Ejecución de ensayos enraizante

Plantación en contenedores / sustratos

Traslado a Invernadero Crecimiento

Respecto a las actividades de **ensayos de propagación vía división de corona para la primera temporada (2012)** estas presentan un % de avance global del 100%, acorde a lo planificado, al haberse completado todas las actividades comprometidas para el periodo.

El Hito: Metodología de propagación vía rizomas, primera evaluación finalizada, se cumplió en la fecha estipulada (20 de Septiembre de 2013).

Las restantes actividades programadas en esta vía de propagación se suspendieron y/o modificaron, dados los motivos técnicos que a continuación se explican. Lo anterior produce una brecha entre lo planificado y ejecutado.

Respecto al Hito: Metodología de propagación vía Rizomas definido programado 3/10/2014, **se considera que este se alcanzó.**

Como se reportó en los informes anteriores, durante el año 2012, se adquirieron un total de 42.500 plantas, unidas a 30.000 plantas de aporte de la contraparte ejecutora. La totalidad de este material se encuentra en los invernaderos construidos para contenerlas.

Durante el año 2012, el material vegetal obtenido de los ensayos de propagación vía división de corona, plantado en sustrato dentro de los contenedores plásticos, en cantidad de 312 contenedores con 45 plantas cada uno (correspondiente a 156 contenedores de material con 1 yema y 156 contenedores de material con 2 yemas) fue trasladado a partir del 15 de noviembre del año 2012 a los invernaderos, disponiéndolos en filas formadas por dos cajas de fondo en los diferentes compartimentos de temperatura (invernadero frío, invernadero calefaccionado a 15 -20 y 25°C y en cama caliente a 12 y 20°C en ambiente de 25°C). Para evitar cualquier aparición de plagas y enfermedades, se aplica regularmente molusquicida y una mezcla de fungicidas (sistémicos y de contacto), insecticidas y bioestimulantes foliares. El riego se aplica vía aspersores micro jet, según demanda.

Los 52 contenedores asignados a invernadero frío, permanecieron durante todo el período estipulado en el proyecto en esas condiciones. Los restantes contenedores (260) una vez completado el período (124 días) de los ensayos de invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 1, fueron retirados de los invernaderos calefaccionados a mediados del mes de marzo y trasladados a una cámara de frío en donde se les dio condiciones de temperatura de entre 4 a 5°C por 61 días (ensayo vernalización ciclo 1). Los contenedores fueron depositados en repisas metálicas para facilitar su riego y control. Se habilitó de igual forma dentro de la cámara de frío, un sistema de iluminación en base a tubos fluorescentes los que se prendieron por alrededor de 12 horas cada día. A mediados del mes de mayo, dichos contenedores fueron retirados de la cámara de frío y trasladados nuevamente a su distribución original en los diferentes ensayos de invernadero calefaccionado (ensayos invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 2), en donde permanecieron bajo las mismas condiciones detalladas en el párrafo precedente, hasta mediados de Septiembre del 2013 (124 días).

El 20 de septiembre del 2013, a finales del segundo ciclo de crecimiento en invernadero calefaccionado, se procedió a levantar la totalidad de los ensayos en referencia y a evaluarlos en base al número y largo de brotes de cada planta, al número de yemas vegetativas, así como en el tamaño y/o peso del rizoma logrado. Alcanzando **las conclusiones que a continuación se presentan.**

Los resultados obtenidos respecto a los ensayos de división de rizomas indican que **al término de este primer ciclo de crecimiento**, que comprendió material vegetal con una y dos yemas sometido a múltiples condiciones de crecimiento tanto de invernadero calefaccionado alternado con cámara de frío, así como en invernadero frío y, a diferentes tipos de sustrato y enraizantes. **Las diferencias observadas en todos los tratamientos efectuados son consistentes en manifestar una clara superioridad del material con dos yemas iniciales, a su contraparte con una yema inicial.**

De esta forma, **los resultados de los ensayos de propagación vía división de rizomas antes descritos, permiten afirmar que, en promedio se logra un alto porcentaje de éxito en el establecimiento del material vegetal dividido a 1 y 2 yemas (92,8% y 97% respectivamente).**

De las restantes variables analizadas, la más importante es el peso promedio de cada planta la que más que se triplica entre el material de 1 y 2 yemas (peso promedio por planta de 2,53 gr y de 8,27 gr respectivamente), señalando que el material establecido a 2 yemas presentaba un crecimiento mayor que el establecido con 1 yema, lo cual es esperable dada la curva típica de crecimiento de las plantas. **En este punto y, respecto al peso, si se comparan dos plantas de una yema (que en conjunto pesan 5,06 gr) v/s una planta de 2 yemas (que pesa 8,27 gr), el desarrollo reportado en términos de biomasa favorece a la planta de 2 yemas.** Las restantes variables de número de brotes y yemas vegetativas y de largo, siguen el desarrollo fenológico típico del cultivo.

En resumen (**Hito de ensayos de propagación vía división de corona, primera evaluación finalizada**) **se puede afirmar que la división de rizomas es una alternativa viable para propagar esta especie ya que las plantas divididas arraigan en un alto %. Por otra parte, se puede afirmar que, al dividir las plantas a 1 yema, estas sufren un importante retroceso en su desarrollo frente a la plantas de 2 yemas, que en biomasa total significa una pérdida del 38,7% (5,06 gr v/s 8,27 gr). Por lo tanto y, en resumen, es una alternativa viable de propagación pero retarda más de lo conveniente el desarrollo del cultivo.**



Con base en las conclusiones antes alcanzadas, esta alternativa de propagación no es atractiva ya que no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas.

Con base a lo anterior y, en conocimiento del ejecutivo del proyecto, **se tomó la decisión (a fines del año 2013) de no continuar adelante, en una segunda y tercera temporadas con esta línea de investigación de propagación vía división de rizomas.**

Respecto al Hito: Metodología de propagación vía Rizomas definido, programado para el 3/10/2014, se considera que este se alcanzó, al lograrse claros resultados que indican **que aun cuando esta es una alternativa viable de propagación, retarda más de lo conveniente (no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas), el desarrollo del cultivo.** Por lo que esta alternativa de propagación no es atractiva.

En la siguiente secuencia fotográfica se muestran algunos aspectos de los ensayos realizados **durante la primera temporada (años 2012 y 2013).**





Ejecución y Plantación de los ensayos







Evaluación de los ensayos división de coronas.
Septiembre 2013



Ensayos para crecimiento comercial.

En lo referente a las siguientes actividades del periodo:

2. Ensayos para el crecimiento comercial

Planificación invernadero y sistema de calefacción.

Construcción invernadero calefaccionado.

2.1. Ensayo invernadero Frío

2.2. Ensayo invernadero calefaccionado a piso.

Ensayo invernadero calefaccionado a piso. Ciclo 1

Ensayo invernadero calefaccionado a piso. Ciclo 2

Ensayo invernadero calefaccionado a piso. Ciclo 3

Ensayo invernadero calefaccionado a piso. Ciclo 4

Ensayo invernadero calefaccionado a piso. Ciclo 5

2.3. Ensayo Invernadero calefaccionado cama caliente.

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 1

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 2

HITO: Primera secuencia de crec. comerc. evaluada

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 3

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 4

HITO: Metodología de crecimiento definida

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 5

Ensayo Inv. calefaccionado cama caliente. Ciclo 6

2.4. Ensayo vernalización cámara de frío.

Ensayo vernalización cámara de frío. Ciclo 1

Ensayo vernalización cámara de frío. Ciclo 2

Ensayo vernalización cámara de frío. Ciclo 3

Ensayo vernalización cámara de frío. Ciclo 4

Ensayo vernalización cámara de frío. Ciclo 5

Respecto a las actividades de **Planificación invernadero y sistema de calefacción y de Construcción invernadero calefaccionado**, estas presentan un % de avance del **100%**

En lo referente al avance de los **ensayos para el crecimiento comercial**, estos presentan un % de avance del **100%** ya que, como se mencionó en el apartado anterior, durante el **2012 y 2013**, la totalidad de los 312 contenedores fueron distribuidos de acuerdo a los tratamientos planificados en:



Ensayos de invernadero frío el que presenta un porcentaje de avance del **100%**.
Ensayos de invernadero calefaccionado a piso ciclos 1 y 2, con un avance del **100%**.

Ensayos de invernaderos calefaccionados en cama caliente ciclo 1 y 2, con un avance del **100%**.

Ensayos vernalización cámara de frío ciclo 1, con un avance del **100%**.

Las restantes actividades programadas en las baterías de ensayos de crecimiento comercial (ensayos de invernadero calefaccionado en piso y en cama caliente ciclos 3, 4, 5 y 6 y ensayos vernalización cámara de frío ciclos 2, 3, 4 y 5), **se modificaron**, dados los motivos técnicos que a continuación se explican. Dado lo anterior y, en las actividades no ejecutadas ya que se modificaron, se presentan brechas entre lo planificado y lo ejecutado.

El HITO: Primera secuencia de crecimiento comercial evaluada, se alcanzó en la fecha estipulada (20 de Septiembre 2013). **De igual forma El HITO: Metodología de crecimiento comercial definida** (3 de Octubre de 2014), también se alcanzó.

A continuación **se detallan cronológica y resumidamente las actividades ejecutadas** durante los tres años de desarrollo de este proyecto.

Durante el año 2012 y respecto a las actividades de **planificación del invernadero y sistema de calefacción** se inició con la toma de decisión respecto a la ubicación óptima dentro del predio de las estructuras del invernadero y el sistema de caldera con su correspondiente leñera de alimentación. Las consideraciones de accesibilidad, protección al viento y posibilidad de control permanente, pesaron al tomar la decisión de emplazar esta unidad en un sector bajo del predio, a efectos de proveer una adecuada protección al viento, descarga de leña para la caldera y tráfico de personal y maquinaria, así como vigilancia y control.

La construcción de los invernaderos fue realizada por la empresa Sociedad Agroindustrial Coberterra Restini Ltda., ciñéndose estrictamente al presupuesto presentado anexo en la propuesta aprobada de este proyecto. Dicha obra fue apoyada constantemente por personal de la contraparte y después de varios ajustes solicitados y debidamente corregidos, fue finalmente recepcionada y pagada. Posterior a lo anterior, la contraparte instaló varias capas de malla Rachel negra para dar las condiciones de sombreamiento requerida por esta especie, e instaló el sistema de riego aéreo con emisores por aspersión.

El sistema de calefacción, en lo que respecta a la caldera se ejecutó estrictamente basándose en el presupuesto presentado anexo a la propuesta aprobada de este proyecto, por la empresa Servimet Calderas Industriales Ltda. La mencionada caldera requirió de obras complementarias como es la sala de caldera, obra de madera construida sobre radier de concreto. Además de lo anterior se construyó una leñera con una capacidad significativa de almacenamiento (alrededor de 600 m³).

Respecto al sistema de distribución de calor, se decidió contratarlo con la misma empresa que instaló la caldera ya que ella ofreció condiciones ventajosas de precio y de mejoras sustanciales en el sistema de intercambio de calor, ya que aparte de las bombas recirculadoras de agua caliente, consideró un intercambiador de calor de placas marca Cipriani, con una potencia de 300.000 kcal/hr; el manifold de distribución de agua caliente y captura de agua fría; el tablero eléctrico de los equipos anteriores y su total traslado e instalación en el predio de la contraparte. La obra anterior fue completada con la adquisición a otro proveedor, de tubería planza marca Tigre de 3/4" para la distribución interna del calor. A objeto de evitar pérdida de calor por el contacto de las mangueras de distribución con el suelo del invernadero, se decidió cubrirlo con malla cubrepiso en su totalidad.

Todas las estructuras anteriores quedaron formando una unidad operativa, por lo que fue necesario el construir y/o mejorar los caminos de acceso, lo que se concretó construyendo una rampa de concreto reforzado de acceso con el camino vecinal a objeto de permitir la descarga de leña y, la nivelación y estabilización de los citados espacios con ripio estabilizado. De igual forma se requirió de modificar todo el tendido eléctrico existente dadas las necesidades de potencia requerida por los equipos (motores eléctricos), así como de construir nuevamente toda la matricería de riego requerida por estos invernaderos. Para finalizar, se reconstruyó todo el cerco perimetral con malla de 1,80 mt de alto coronada con una hebra de alambre de púa y se construyó un portón especial de acceso.

Respecto a la operación térmica de los invernaderos, las temperaturas requeridas han sido logradas sin problemas, con la operación de ventilación de las lucarnas apoyada por el uso de la fuente de calor proporcionada por la caldera.

La unidad se encuentra hoy en día plenamente operativa y su estructura ha soportado intensas tormentas de viento y lluvia sin mostrar deterioro alguno.

Respecto a las actividades de Ensayos para el Crecimiento Comercial, a partir de mediados del mes de noviembre del 2012, los 312 contenedores con los



ensayos fueron distribuidos, de acuerdo a lo planificado cuando se ubicaron dichos ensayos, en:

Los 6 tratamientos térmicos de condiciones de invernadero de crecimiento (ensayos invernadero frío / calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 1):

- Ensayos de invernadero frío a piso.
- Ensayos de invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15-20 y 25°C.
- Ensayos de invernadero calefaccionado en cama caliente a 12 y 20°C en temperatura ambiente de 25°C.

Donde permanecieron por 124 días.

Durante el año 2013 se continuó con los ensayos, que consideraron:

- Los 52 contenedores asignados a **invernadero frío**, permanecieron durante todo el período en esas condiciones (ensayo de invernadero frío).
- Los restantes contenedores (260) una vez completado el período de los **ensayos de invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 1**, fueron retirados de los invernaderos calefaccionados a mediados del mes de marzo y **trasladados a una cámara de frío** en donde se les dio condiciones de temperatura de entre 4 a 5°C por 61 días (ensayos de vernalización cámara de frío ciclo 1).
- A mediados del mes de mayo, dichos contenedores fueron **retirados de la cámara de frío y trasladados nuevamente a su distribución en los diferentes ensayos de invernadero calefaccionado** (ensayos invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 2), en donde se mantuvieron por 124 días hasta fines de Septiembre de 2013.
- Dichos ensayos fueron **levantados y evaluados el 20 de Septiembre** del 2013. (**HITO: Primera secuencia de crecimiento comercial evaluada**).

Esta batería de ensayos (primer ciclo completo de crecimiento: calor - frío - calor) **finalizó el 20 de septiembre del 2013, en donde se levantaron la totalidad de los ensayos.**

Este proceso consistió en retirar la bolsa plástica con el sustrato y las plantas del contenedor y así desgranar el pan de suelo, lo que permitió el retirar expeditamente las plantas en ensayo sin dañar sus raíces. Las plantas así obtenidas fueron agrupadas en un ramos y rotuladas con el número del ensayo. Posteriormente se procedió a lavar los ramos obtenidos con copiosa agua corriente y dejarlos secar.

Las evaluaciones se realizaron para cada tratamiento (ramo con 45 plantas) y consistieron en contar en número total de plantas presentes; el número total de

brotos presentes; el largo total en cm; el número total de yemas vegetativas presentes y, el peso total en gramos del ramo.

Los resultados obtenidos para los tratamientos de: **Sustratos; Enraizantes y Condiciones de crecimiento, se resumen a continuación:**

- 1) En lo referente a los dos diferentes **tipos de sustratos** probados en estos ensayos:
 - Sustrato A: Suelo 50%; Arena 25%; Turba 25%.
 - Sustrato B: Suelo 33%; Arena 33%; Turba 33%.

Suelo trumao del campo esterilizado mediante su vaporización por 120 minutos a 80°C. Arena de río y turba adquirida a proveedores. El sustrato anterior fue fertilizado con N-P-K y micronutrientes.

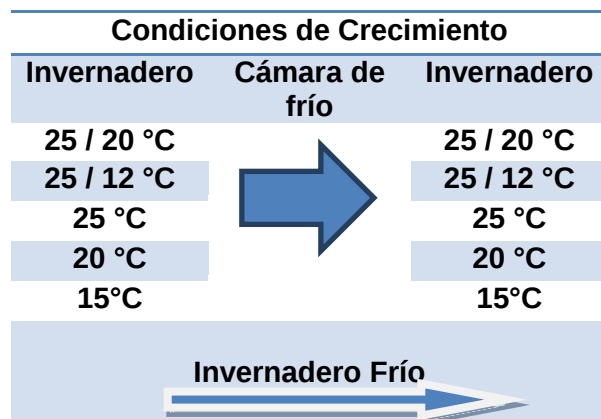
La evaluación de los tratamientos arrojó que **no existen diferencias apreciables entre los tratamientos en las variables en estudio, por lo que la decisión debería basarse en el sustrato más económico, que indudablemente es el sustrato A, que contiene mayor proporción de suelo del campo.**

- 2) La ejecución de los **ensayos de enraizantes** se realizó de acuerdo a lo programado para lo cual, primeramente, se procedió a calcular las diluciones de IBA y ANA, así como sus combinaciones, según lo planteado en el proyecto, y a aplicarlas por inmersión en el caso de IBA y por espolvoreo en el caso de ANA, a cada uno de los paquetes de plantas debidamente numerados. Dicho material vegetal fue sometido a un ciclo completo de crecimiento de: Invernadero (124 días) - Frío en cámaras (61 días) - Invernadero (124 días). para ser finalmente evaluado de la forma antes detallada.

Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias apreciables entre los tratamientos en las variables en estudio. En este caso en particular, no existen diferencias respecto al testigo por lo que la recomendación es no aplicar ningún tipo de enraizante.

- 3) La ejecución de los ensayos de **condiciones de crecimiento** consistió en someter al material vegetal en ensayo a un ciclo completo de crecimiento de: Invernadero (124 días) - Frío en cámaras (61 días) - Invernadero (124 días). para ser finalmente evaluado de la forma antes detallada.

En lo referente a los diferentes **tipos de condiciones de crecimiento** evaluadas en estos ensayos, a saber:



- 4) **A la evaluación anterior se le unió, por iniciativa del agente ejecutor, la de plantas que permanecieron en el invernadero frío (caldera apagada),** durante el periodo en que el restante material en ensayo fue ingresado a cámara de frío. Dichas plantas, para mayor aclaración, tienen iguales características que las de los ensayos, por lo que son comparables, recibieron los tratamientos de calor en los dos períodos estipulados en los ensayos y se diferencian de las plantas en ensayo solo en el hecho de que no fueron retiradas del invernadero para ser trasladadas a cámara de frío, permaneciendo en él durante este periodo, con la caldera apagada y las lucarnas abiertas, **es decir en condiciones de frío natural (Marzo a Mayo).** Dichas plantas permanecieron solo en los invernaderos calefaccionados a temperaturas de 15; 20 y 25 °C, no en las camas de crecimiento (25 y 12 °C y 25 y 20°C) construidas solo para las plantas en ensayo.

Los resultados obtenidos a esta altura indican que existen diferencias apreciables entre los tratamientos en las variables en estudio:

Las plantas creciendo bajo condiciones de invernadero calefaccionado a 25 °C y en cama caliente a 12 °C y 20 °C mostraron un desarrollo muy similar y superior a las plantas creciendo en condiciones de invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C., las que entre sí mostraron un comportamiento similar. Todas las anteriores fueron superiores a las de invernadero frío.

Por otra parte la comparación en el desarrollo de plantas que crecieron en invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C. y que

recibieron un tratamiento de vernalización en cámara de frío, con plantas que crecieron en idénticas condiciones pero que recibieron el tratamiento de vernalización (S / Vernalización artificial) en los mismos invernaderos al mantener las lucarnas abiertas durante el otoño del 2013, es muy similar.

Lo anterior se puede resumir en que las plantas creciendo en las siguientes condiciones mostraron el comportamiento que la ecuación indica, en las principales variables medidas:

$$[IC\ 25 / CC\ 12 = IC\ 25 / CC\ 20] > [ICP\ 15 + V = ICP\ 20 + V = ICP\ 25 + V] = [ICP\ 15/20/25 + FN] > IF$$

- Invernadero calefaccionado a 25 °C y cama caliente a 12 °C y 20 °C : $[IC\ 25 / CC\ 12 = IC\ 25 / CC\ 20]$
- Invernadero calefaccionado a piso a 15 °C; 20 °C y 25 °C y Vernalización en cámara de frío: $[ICP\ 15 + V = ICP\ 20 + V = ICP\ 25 + V]$
- Invernadero calefaccionado a piso a 15 °C; 20 °C y 25 °C y Vernalización con frío natural : $[ICP\ 15/20/25 + FN]$
- Invernadero frío: IF

Dados los antecedentes antes planteados se **concluyó que, el mejor protocolo de crecimiento comercial se lograría al combinar dos periodos de crecimiento en invernadero calefaccionado a 15 - 25 °C con camas calientes a 12 - 20 °C. La vernalización natural en el periodo invernal se le puede dar a las plantas al parar el funcionamiento de la caldera y abrir las lucarnas de los invernaderos.** Bajo las condiciones anteriores se lograrían porcentajes de incremento sobre el invernadero frío de 16% en el N° de plantas; 60 % en el N° de brotes; 49% en el Largo (cm); 57% en el N° de yemas vegetativas y, finalmente lo más importante, 86% en el peso (gr.).

Dado lo anterior a fines del año 2013, se decidió, en conjunto al ejecutivo del proyecto, el no continuar con los ensayos de crecimiento comercial ya que obviamente lo más conveniente, técnica y económicamente, es utilizar el invernadero calefaccionado como un complemento para extender el periodo de crecimiento estival a los meses de primavera y de otoño. Los meses invernales de menores temperaturas, deberían coincidir con el periodo de vernalización la que se le daría al abrir las lucarnas y suspender la caldera.

Lo anterior presenta un importante ahorro de recursos y trabajo al compararlo con el sistema inicialmente propuesto de calefacción de invernaderos y de uso de cámara de frío.

Lo antes planteado permite dar por cumplido el **HITO** comprometido para el 20/09/2013, al **encontrarse evaluada en su totalidad la primera secuencia de crecimiento comercial. De igual forma se da por logrado El HITO: Metodología de crecimiento comercial definida** (3 de Octubre de 2014), al haber tomado la decisión de no repetir la batería de ensayos por una segunda temporada, ante la claridad de los resultados obtenidos en la primera temporada.

Durante el **año 2014** las actividades realizadas en los ensayos para el crecimiento comercial **se enfocaron en implementar el escalamiento productivo piloto de la tecnología antes definida**. A tal efecto se procedió a **construir una gran cantidad de mesones de camas calientes** hechos a partir de tapas de pino canteado, sobre una estructura de pino dimensionado, reforzada con polines de pino impregnado, todo lo cual recibe una mano de barniz impermeabilizante y fungicida. La base de la estructura anteriormente detallada consiste en malla de cerco galvanizada. La estructura anterior fue reforzada en sus uniones a efectos de soportar el peso del sustrato que contendrá.

Una vez confeccionada la mesa de cama caliente, se procedió a **forrar su fondo con plástico negro de silo**, el que se perforó sistemáticamente con un molde a efectos de permitir el drenaje del agua de riego. A continuación **se llenaron con sustrato las camas calientes**. El piso del sustrato aplicado está formado por 100% de arena de río (aproximadamente 8 cm). Sobre lo anterior se esparció el sustrato (aproximadamente 18 cm) que correspondió a una mezcla de 50% de suelo del campo, debidamente esterilizado por vapor, con una mezcla de arena y turba.

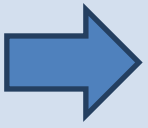
Las camas calientes así construidas, **fueron habilitadas**, en uno de los módulos, **con las mangueras de calefacción** que conducen el calor generado en la caldera.

Las actividades que a continuación se desarrollaron fueron las de **trasplantar la totalidad de las plantas obtenidas** de los ensayos anteriormente descritos, así como las plantas obtenidas a partir de las iniciativas de escalamiento comercial, a dichos mesones de camas calientes. En este punto se hace necesario el reportar que el **trasplante de plántulas inicialmente realizado a speedlings de plumavit, no mostró un comportamiento satisfactorio**, ya que la profundidad de dichos contenedores es insuficiente para cobijar adecuadamente la comparativamente larga raíz de las plántulas de Ruscus, por lo que se procedió a **trasplantar la totalidad de dicho material a los mesones de camas calientes**.

Por otra parte, y **no menos importante**, está el hecho del **incremento en la eficiencia del uso de la estructura del invernadero calefaccionado**, dado su alto costo, en este sentido **la cantidad de plantas posibles a ser albergadas en el sistema con speedlings, es aproximadamente 1/3 de la cantidad de plantas posibles a cultivar en el sistema de mesones de cama caliente**. Lo anterior, unido al hecho de la mayor eficiencia técnica en la producción (al no requerirse vernalización en cámara de frío), lleva a **concluir que esta alternativa es la mejor desde el punto de vista tanto técnico como económico**.

Por último, **el manejo térmico de los invernaderos** consistió en controlar la temperatura tanto del ambiente, como de la cama caliente, para que éstas se mantengan dentro del rango establecido para **un óptimo crecimiento**, es decir entre **15 - 25 °C para el ambiente**, con **camas calientes a 12 - 20 °C**. Lo anterior se logró mediante el uso del sistema de calefacción con base a la caldera y su distribución dentro de invernadero con agua caliente forzada dentro de cañerías plásticas. **Dicho sistema se aplicó entre el mes de marzo, hasta el 15 de junio del 2014. A partir de esa fecha se suspendió el suministro de calor y se manejaron los invernaderos lo más abiertos posible** (limitados por la velocidad del viento) a efectos de que las plantas reciban **en forma natural su vernalización** durante el período invernal. A fines del **mes de agosto del año 2014 (transcurridos 75 días de vernalización natural)** se comenzó nuevamente con el sistema de calefacción antes detallado, el que obviamente es utilizado **sólo como un complemento** de la temperatura que naturalmente pueden adquirir los invernaderos en forma pasiva. **El desarrollo del cultivo durante el año 2014 fue óptimo** en términos del crecimiento y vigor logrado en las plantas, lo que **obligó a considerar su necesario establecimiento definitivo (plantación comercial)**, ya que ellas estaban mayoritariamente ocupando la totalidad del sustrato disponible en los mesones de cultivo.

Un esquema de lo antes mencionado se presenta en la siguiente Figura.

Condiciones de Crecimiento		
Verano - Otoño	Invierno	Primavera - Verano
Invernadero	Frío Natural	Invernadero
Ambiente 15 - 25 °C / Cama Caliente 12 - 20 °C		Ambiente 15 - 25 °C / Cama Caliente 12 - 20 °C

Otro aspecto importante de mencionar en este apartado es que a partir del 11 de diciembre del año 2014, **se concretó la entrega de aproximadamente 80.000 plantas, de propiedad del agente ejecutor, para ser plantadas comercialmente en un predio cercano.** La modalidad del traspaso de las plantas corresponde a un **Joint Venture** entre el Ejecutor del proyecto y un inversionista nacional, a objeto de escalar rápidamente en el cultivo comercial de esta especie.

Durante lo transcurrido del **año 2015**, y a partir del **mes de Marzo los cajones y contenedores con plántulas** obtenidas del proceso de germinación y crecimiento, **se trasladaron al invernadero de crecimiento**, a objeto de **levantar las plántulas así obtenidas y plantarlas (en un marco de 2,5 cm x 2,5 cm) en las camas calientes** construidas especialmente para dicho proceso. **Dada la gran cantidad de material obtenido y lo lento del proceso de plantación**, limitado por lo delicado de la tarea, esta labor se ha desarrollado en los pasados meses encontrándose **finalizada a fines de Julio** del presente año.

Otro aspecto importante de mencionar en es que **a partir de Julio del año 2015, se está concretando la entrega de aproximadamente 80.000 plantas, de propiedad del agente ejecutor, para ser plantadas comercialmente en un predio cercano.** Al igual que para el año anterior, este **Joint Venture** entre el Ejecutor del proyecto y un inversionista nacional, tiene por objeto el escalar rápidamente en el cultivo comercial de esta especie, **el que contaría a esta fecha con un total de 160.000 plantas bajo cultivo comercial, es decir 2 ha.**

Algunos aspectos de las actividades anteriores se muestran en la siguiente secuencia fotográfica, **seleccionada para mostrar la secuencia final de manejo del invernadero de crecimiento** y algunos **aspectos complementarios**, como su **construcción**, así como la **entrega de plantas** para plantación comercial.

Construcción Invernadero de Crecimiento, Caldera y Sistema de Calefacción.











Manejo de plantas de propiedad del agente ejecutor.



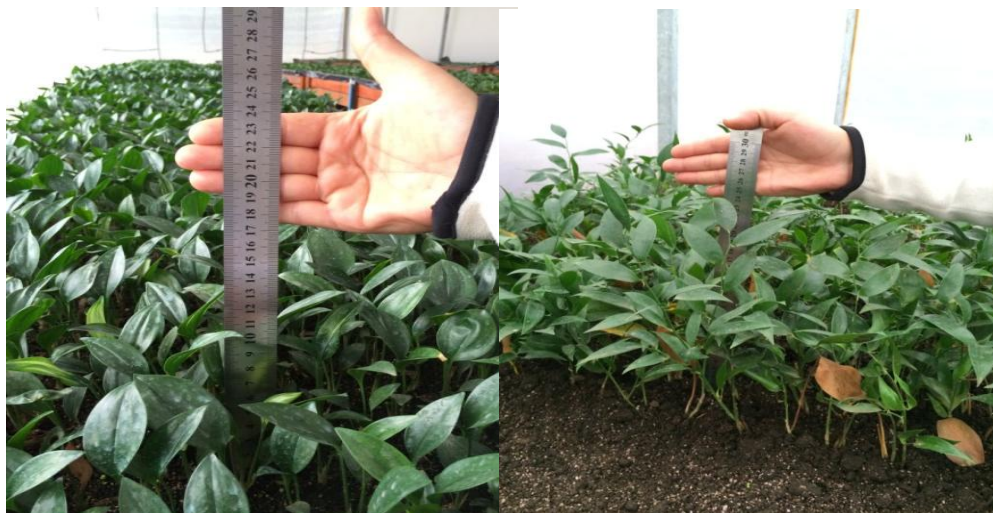
Traslado de Plántulas, preparación de Camas Calientes y Plantación





Mantenimiento y cuidado.





Construcción y habilitación de Camas Calientes



Proceso de levante de plantas comerciales para plantación industrial y Plantación Industrial

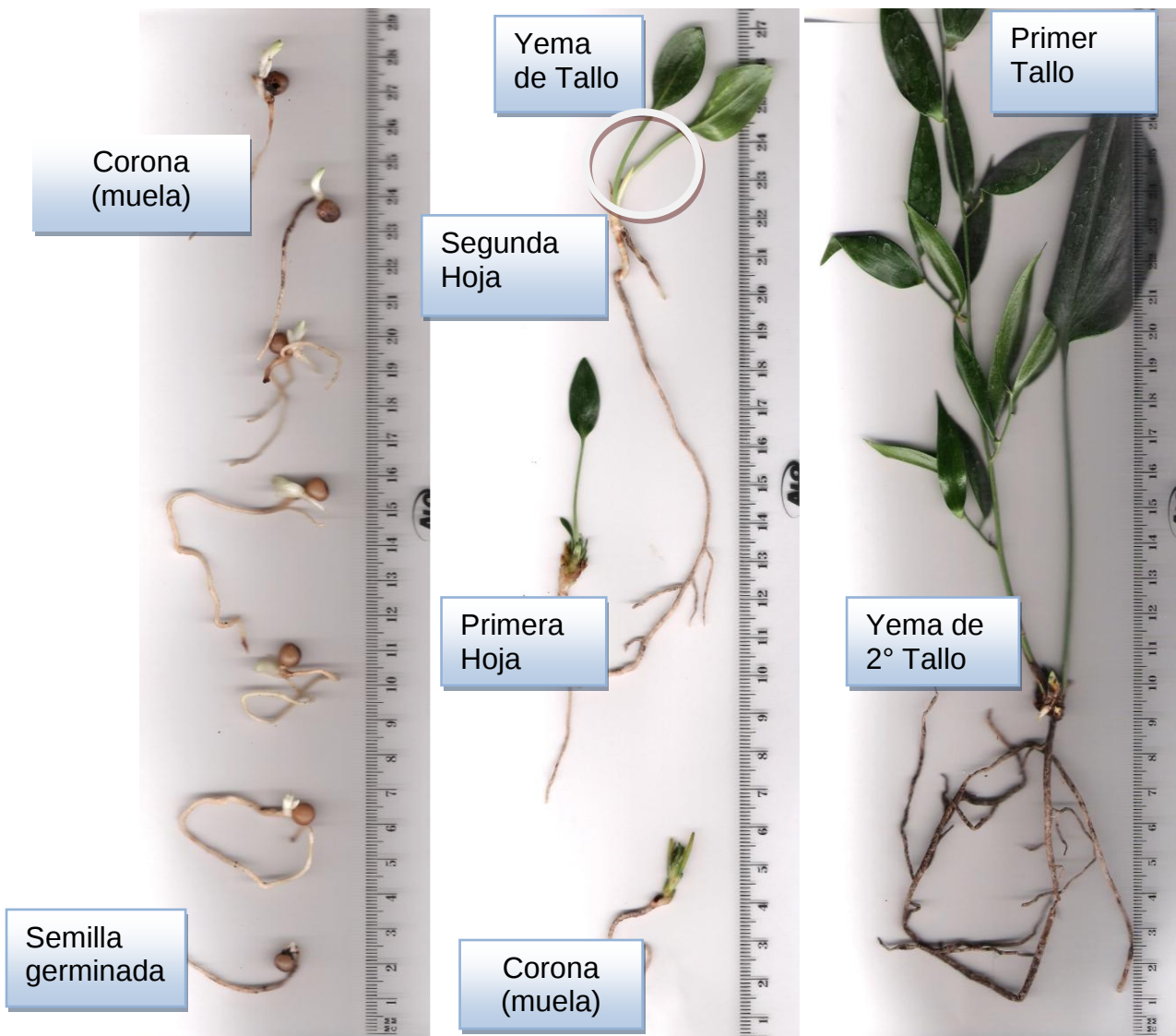






Por último, el manejo de material vegetal de *Ruscus Italiano* durante el proyecto, en diferentes estados de crecimiento y edades, ha permitido **plantear la siguiente secuencia de estados fenológicos de desarrollo ÓPTIMO, refrendado a Julio de 2015**, que se grafica en la secuencia fotográfica de material que fue escaneado durante el 2013 y 2014.

Primer año de Germinación y Crecimiento.	Segundo año de crecimiento. Plantín.	Tercer año de Crecimiento. Planta Comercial
--	--------------------------------------	---



3.- Resultados e hitos.

En referencia a los Resultados parciales e Hitos estipulados en la propuesta, a continuación se reportan ordenados por grupos de ensayos:

Ensayos de propagación vía micropropagación
--

- **1.- Obtención de explantes de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos.** Los explantes cosechados a partir de ápices meristemáticos vegetativos hipógeos (Vía Rizomas), se contaminan con hongos. Dicha situación se mantuvo en los explantes obtenidos posteriormente (durante el 2013 y 2014), terminando por **contaminarse la totalidad del material cultivado.**
- **2.- Obtención de explantes a partir de ápices meristemáticos obtenidos de semillas germinadas.**
Con las iniciativas desarrolladas durante el proyecto, se logró obtener **material esterilizado proveniente de semillas y, explantes a partir de ellos**, lo que indica que esta especie **es susceptible de ser propagada por esta vía.** El **problema** es lo **difícil de obtener** (por lo fácilmente contaminable - contaminación endógena) y lo **lento del crecimiento** de los explantes obtenidos.

Dado el escaso éxito logrado en la etapa de esterilización y el lento crecimiento de los explantes In-Vitro, no se logró pasar a las etapas posteriores (cámara de crecimiento - traslado a invernadero de crecimiento) debido a las pocas plántulas obtenidas. **Dados los resultados obtenidos en la 1° temporada y, de común acuerdo con el ejecutivo del proyecto, se decidió no continuar con los ensayos programados para la 2° temporada y obviamente, tampoco para la 3° temporada.**

Los antecedentes antes reportados llevan a pensar que esta vía de propagación es extremadamente dificultosa y lenta de ejecutar ya que en lo avanzado del proyecto solo se han podido obtener muestras de material micro propagado.

En lo referente al Hito Metodología de micropropagación primera evaluación finalizada, los antecedentes reportados (escaso éxito logrado en la etapa de esterilización y lento crecimiento de los explantes In-Vitro), permiten afirmar

que este se alcanzó. De igual forma el Hito Metodología de Micropropagación Definida, programado para el 22 de diciembre del año 2014, también se alcanzó, al definirse que la micropropagación no es una vía de multiplicación viable para esta especie.

Lo anterior lleva a concluir que no es aconsejable el continuar desarrollando esta vía de investigación en la propagación de esta especie.

Ensayos de propagación vía semilla

Primera temporada

La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 1.000 a 5.000 ppm, y su posterior traslado a una cámara de crecimiento a 20°C permiten obtener una germinación más precoz y alta, con un porcentaje de germinación de hasta el 65% (2.000 ppm), en comparación con los otros tratamientos y el testigo. En lo referente a la escarificación por temperatura, esta no tuvo un efecto positivo.

Los mejores resultados para el crecimiento de la plúmula, a partir de semillas germinadas de *Ruscus*, se lograrían con condiciones de temperaturas entre 15 y 20°C.

Existe un claro efecto del tipo de escarificación sobre la cantidad de plúmula total obtenida. En tal sentido, la escarificación con Ác. Giberélico muestra una clara superioridad frente a la escarificación con frío hasta 8 semanas de almacenamiento. Los tratamientos con Ac. Giberélico en concentraciones de 500 - 1.000 - 2.000 - 5.000 ppm fueron significativamente superiores (prácticamente el doble) que el testigo de 0 ppm.

Con respecto al HITO: Metodología de propagación vía semilla primera evaluación finalizada, **este se alcanzó a fines de Junio de 2013** (antes de lo planificado: 22 de Septiembre de 2013) y se resume en que **el mejor tratamiento logrado para escarificar; hacer germinar; romper la dormancia de la plúmula y finalmente hacer crecer la plántula es:**

- La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 1.000 a 5.000 ppm, y su posterior traslado a una cámara de crecimiento a 20°C permiten obtener una germinación más

precoz y alta, con un porcentaje de germinación de hasta el 65% (2.000 ppm).

- **La escarificación posterior con Ác. Giberélico** muestra una clara superioridad frente a la escarificación con frío. Los tratamientos con Ac. Giberélico **en concentraciones de 500 a 5.000 ppm fueron significativamente superiores (prácticamente el doble) que el testigo (0 ppm)**. Los mejores resultados para el **crecimiento de la plúmula**, a partir de semillas germinadas de Ruscus, se lograría con **condiciones de temperaturas entre 15 y 20°C**.

Lo anterior permitió el establecimiento del protocolo anteriormente señalado, que se puede resumir en:

- **La obtención y secado de semilla de Ruscus.**
- **La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 2.000 ppm.**
- **Germinación en cámara a 20°C.**
- **Tratamiento con Ac. Giberélico en concentraciones de 2.000 ppm.**
- **Cámara de crecimiento a 15 - 20°C.**

Segunda temporada

Se compraron y aportaron 116.000 semillas. La totalidad de las semillas, exceptuando aquellas destinadas a ensayo, fueron sometidas al protocolo antes señalado, con la modificación del **uso de cajones confeccionados en aluminio y policarbonato, rellenos de turba y perlita** depositada sobre una capa de material que permite el drenaje. **Lo anterior indudablemente constituye el escalamiento comercial del protocolo definido (Placas Petri).**

Los tratamientos de escarificación planteados con concentraciones más altas de Ácido Giberélico (0 ppm; 2.000 ppm; 5.000 ppm; 8.000 ppm y 10.000 ppm) y cámara de germinación (a 20 °C), **evaluados en % de germinación, entregaron resultados que permiten concluir que el mejor tratamiento para escarificar semillas de Ruscus es con Ácido Giberélico en concentraciones entre 2.000 ppm a 5.000 ppm, lográndose un % de germinación en torno al 63%.** Dado lo anterior la concentración recomendada será de 2.000 ppm.

Por otra parte, **los tratamientos de aplicación de ácido Giberélico (frío en hoja)**, en concentraciones de 0 ppm; 2.000 ppm; 5.000 ppm; 8.000 ppm y 10.000 ppm. y mantención en cámara de crecimiento, evaluados en términos del total de

cm de plúmula obtenidos; del total de plantas obtenidas y del promedio de cm de plúmula por plántula. Entregaron resultados que **permiten concluir que el mejor tratamiento para escarificar o romper la dormancia de la plúmula en semillas germinadas de Ruscus es con Ácido Giberélico en concentraciones entre 2.000 ppm a 5.000 ppm. Dado lo anterior la concentración recomendada será de 2.000 ppm.**

Con respecto al HITO: Metodología de propagación vía semilla Definida, **este se alcanzó a comienzos de Enero del 2014 (antes de lo presupuestado: 11 de septiembre del 2014),** al analizar los resultados obtenidos de esta segunda temporada y se resume en que: **Los resultados de esta segunda temporada de ensayos han permitido ratificar los resultados obtenidos de la primera temporada de ensayos ya que en definitiva es la concentración de 2.000 ppm de Ácido Giberélico la que consistentemente logra los mayores % de germinación en semillas y la mayor altura de plúmula en semillas germinadas.**

De esta forma, **las actividades contempladas a ser desarrolladas durante un año (Julio de 2013 a Agosto de 2014) se completaron en un plazo mucho más breve de 6 meses (Julio a Diciembre de 2013).** Lo anterior es indudablemente un **importante avance en ahorro de tiempo y recursos proporcionado por la metodología elegida.**

De lo anterior se concluye que es posible el obtener una plántula de Ruscus en 6 meses.

Tercera temporada

Dado que a comienzos del año 2014 ya se tenía definido cuál era la mejor metodología de propagación vía semilla (HITO). **Durante el 2014** y de común acuerdo con el **Ejecutivo del proyecto**, se decidió que **no era necesario realizar baterías de ensayos durante este año,** centrando los **esfuerzos en implementar el escalamiento** comercial piloto de la tecnología definida.

Durante junio y julio del 2014, se procedió a la compra de 160.000 semillas las que unidas a 50.000 semillas de aporte propio, **totalizan 210.000 semillas destinadas al escalamiento comercial de la tecnología definida.**

A la totalidad de las semillas anteriormente mencionadas se les aplicó el protocolo establecido. Los resultados obtenidos en lo transcurrido del año 2015 indican que las pequeñas modificaciones realizadas a dicho protocolo

como el cubrir los contenedores con film plástico a objeto de conservar mejor la humedad y evitar la contaminación fungosa, en conjunto con el afinamiento en el control de la temperatura y humedad, incrementaron los porcentajes de germinación a un 98%, lo cual indudablemente constituye un éxito desde el punto de vista de escalamiento comercial del protocolo definido.

Al momento de cierre del presente informe, Junio de 2015, las plántulas se encuentran creciendo en buenas condiciones después de haber sido retiradas del sombreadero. Actualmente se está finalizado con la plantación de las plántulas obtenidas en la etapa anterior en las camas calientes construidas especialmente para dicho proceso.

El ciclo de producción del 2015 se realizará sobre la base de 50.000 semillas adquiridas / aportadas, dada la **escases de producción de semilla** de esta temporada.

Como se mencionó anteriormente, **por iniciativa del Agente Ejecutor se emprendieron tres alternativas y/o mejoras** al proceso antes mencionado. La **primera**, referida a la **germinación** en frascos esterilizados con **medio MS**, resulta **muy cara** y poco eficiente. La **segunda**, centrada en la germinación en **bolsas plásticas auto sellantes**, con papel filtro humedecido, **no resultó**, mostrando un porcentaje de germinación del 0%, posiblemente por falta de aireación. La **última**, desarrollada en el Laboratorio de Semillas de la PUCV, indica que se puede obtener **escarificación por medio de KNO₃**.

Ensayos de propagación vía división de corona

Primera temporada

Durante el año 2012, se adquirieron un total de 42.500 plantas, unidas a 30.000 plantas de aporte de la contraparte ejecutora.

Dicho material fue **sometido a una batería de ensayos** que consideraron su **división a 1 y 2 yemas**; aplicación de diferentes **tipos y dosis de enraizantes** y disposición **en invernadero frío e invernadero calefaccionado** a 15-20 y 25°C y en **cama caliente** a 12 y 20°C en ambiente de 25°C. Parte de este material fue sometido a **condiciones de crecimiento en invernadero frío y otra parte bajo condiciones de frío forzado en cámaras**, para posteriormente ser **devueltos a**

los invernaderos calefaccionados, en idénticas condiciones que las primeramente detalladas.

En septiembre del 2013 a finales del segundo ciclo de crecimiento en invernadero calefaccionado, **se procedió a levantar la totalidad de los ensayos en referencia y a evaluarlos**

Los resultados obtenidos en todos los tratamientos efectuados son consistentes en manifestar una clara superioridad, en términos de biomasa, del material con dos yemas iniciales, a su contraparte con el de una yema inicial. También es posible afirmar que se logra un alto porcentaje de éxito en el establecimiento del material vegetal dividido a 1 y 2 yemas.

En resumen (**Hito** de ensayos de propagación vía división de corona, primera evaluación finalizada) **se puede afirmar que la división de rizomas es una alternativa viable para propagar esta especie ya que las plantas divididas arraigan en un alto %. Por otra parte, se puede también afirmar que, al dividir las plantas a 1 yema, estas sufren un importante retroceso en su desarrollo frente a la plantas de 2 yemas, que en biomasa total significa una pérdida del 38,7%. Por lo tanto y, en resumen, es una alternativa viable de propagación pero retarda más de lo conveniente el desarrollo del cultivo. Con base en las conclusiones antes alcanzadas, esta alternativa de propagación no es atractiva ya que no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas.**

Considerando lo anterior y, en **conocimiento del ejecutivo del proyecto**, se **tomó la decisión (a fines del año 2013) de no continuar en una segunda y tercera temporada con esta línea de investigación de propagación vía división de rizomas (Ensayos de propagación vía corona 2º temporada y 3º temporada).**

Respecto al Hito: Metodología de propagación vía Rizomas definido (programado para el 3/10/2014), se alcanzó anticipadamente, al lograrse claros resultados que indican que: aun cuando esta es una alternativa viable de propagación, retarda más de lo conveniente (no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas), el desarrollo del cultivo. Por lo que esta alternativa de propagación no es atractiva.

Ensayos para el crecimiento comercial

Durante el año 2012, el material en ensayo fue sometido a **los 6 tratamientos térmicos** de condiciones de invernadero de crecimiento (**ensayos invernadero frío / calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 1**):

- Ensayos de invernadero frío a piso.
- Ensayos de invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15-20 y 25°C.
- Ensayos de invernadero calefaccionado en cama caliente a 12 y 20°C en temperatura ambiente de 25°C.

Por otra parte este material fue sometido a los **tratamientos de Enraizantes y Sustratos estipulados**.

Durante el año 2013 se continuó con los ensayos, que consideraron que:

Los contenedores asignados a **invernadero frío**, permanecieron durante todo el período en esas condiciones (**ensayo de invernadero frío**).

Los restantes contenedores una vez completado el período de los **ensayos de invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 1**, fueron retirados de los invernaderos calefaccionados **trasladados a una cámara de frío** (**ensayos de vernalización cámara de frío ciclo 1**).

Una vez cumplido el ciclo de frío estipulado ellos fueron retirados **de la cámara de frío y trasladados nuevamente a su distribución en los diferentes ensayos de invernadero calefaccionado** (**ensayos invernadero calefaccionado a piso y en cama caliente ciclo 2**).

Dichos ensayos fueron **levantados y evaluados en Septiembre** del 2013. (**HITO: Primera secuencia de crecimiento comercial evaluada**).

Las evaluaciones realizadas para cada tratamiento (número total de plantas presentes; el número total de brotes presentes; el largo total en cm; el número total de yemas vegetativas presentes y, el **peso total en gramos del ramo**), **permitieron alcanzar los siguientes resultados para los tratamientos de: Sustratos; Enraizantes y Condiciones de crecimiento**, los que se resumen a continuación:

Sustratos.

- **No existen diferencias apreciables** entre los tratamientos en las variables en estudio, por lo que la decisión debería basarse en **el sustrato más económico**, que indudablemente es el sustrato A, **que contiene mayor proporción (50%) de suelo del campo.**

Enraizantes.

- **No existen diferencias apreciables** entre los tratamientos en las variables en estudio. En este caso en particular, no existen diferencias respecto al testigo por lo que **la recomendación es no aplicar ningún tipo de enraizante.**

Condiciones de crecimiento.

- Las plantas creciendo bajo condiciones de invernadero calefaccionado a 25 °C y cama caliente a 12 °C y 20 °C mostraron un desarrollo muy similar y superior a las plantas creciendo en condiciones de invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C., las que entre sí mostraron un comportamiento similar. Todas las anteriores fueron superiores a las de invernadero frío.
- La comparación en el desarrollo de plantas que crecieron en invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C. y que recibieron un tratamiento de vernalización en cámara de frío, con plantas que crecieron en idénticas condiciones pero que recibieron el tratamiento de vernalización (S / Vernalización artificial) en los mismos invernaderos al mantener las lucarnas abiertas durante el otoño del 2013, es muy similar.

Lo anterior se puede resumir en que las plantas creciendo en las siguientes condiciones mostraron el comportamiento que la ecuación indica, en las principales variables medidas:

$$[IC\ 25 / CC\ 12 = IC\ 25 / CC\ 20] > [ICP\ 15 + V = ICP\ 20 + V = ICP\ 25 + V] = [ICP\ 15/20/25 + FN] > IF$$

- Invernadero calefaccionado a 25 °C y cama caliente a 12 °C y 20 °C : $[IC\ 25 / CC\ 12 = IC\ 25 / CC\ 20]$
- Invernadero calefaccionado a piso a 15 °C; 20 °C y 25 °C y Vernalización en cámara de frío: $[ICP\ 15 + V = ICP\ 20 + V = ICP\ 25 + V]$
- Invernadero calefaccionado a piso a 15 °C; 20 °C y 25 °C y Vernalización con frío natural : $[ICP\ 15/20/25 + FN]$
- Invernadero frío: IF

Durante el segundo semestre de 2013, se concluyó que: El mejor protocolo de crecimiento comercial se lograría al combinar dos periodos de crecimiento en invernadero calefaccionado a 15 - 25 °C con camas calientes a 12 - 20 °C. La vernalización natural en el periodo invernal se le puede dar a las plantas al parar el funcionamiento de la caldera y abrir las lucarnas de los invernaderos.

En consideración de lo precedente, a fines del año 2013, se decidió, en conjunto al ejecutivo del proyecto, el no continuar con los ensayos de crecimiento comercial ya que obviamente lo más conveniente, técnica y económicamente, es utilizar el invernadero calefaccionado como un complemento para extender el periodo de crecimiento estival a los meses de primavera y de otoño. Los meses invernales de menores temperaturas, deberían coincidir con el periodo de vernalización la que se le daría al abrir las lucarnas y suspender la caldera.

Lo antes planteado permite dar por cumplido el **HITO** (comprometido para el 20/09/2013), al encontrarse evaluada en su totalidad la primera secuencia de crecimiento comercial.

Durante el año 2014 las actividades realizadas en los ensayos para el crecimiento comercial se enfocaron en implementar el escalamiento productivo piloto de la tecnología antes definida. A tal efecto se procedió a:

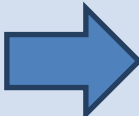
- 1) **Construir una gran cantidad de mesones de camas calientes:** Estructura de madera impermeabilizada con piso de malla.

- 2) Dichos mesones **se habilitaron al forrar su fondo con plástico negro de silo perforado y ser llenados con sustrato e instalados con las mangueras de calefacción**, dentro de los invernaderos.
- 3) Posteriormente se **trasplantaron la totalidad de las plantas obtenidas** (ensayos / escalamiento comercial), a dichos mesones de camas calientes.

En este punto se hace necesario el reportar que el **trasplante de plántulas inicialmente realizado a speedlings de plumavit, no mostró un comportamiento satisfactorio por lo que se procedió a trasplantar la totalidad de dicho material a los mesones de camas calientes.**

Por otra parte, y **no menos importante**, está el hecho del **incremento en la eficiencia del uso de la estructura del invernadero calefaccionado**, en el sentido de que **la cantidad de plantas posibles a ser albergadas en el sistema con speedlings, es aproximadamente 1/3 de la cantidad de plantas posibles a cultivar en el sistema de mesones de cama caliente.**

- 4) **El manejo térmico de los invernaderos** consistió en controlar la temperatura tanto del ambiente, como de la cama caliente, para que éstas se mantengan dentro del rango establecido para **un óptimo crecimiento**, es decir entre **15 - 25 °C para el ambiente**, con **camas calientes a 12 - 20 °C**. Lo anterior se logró mediante el uso del sistema de calefacción. **Dicho sistema se aplicó entre el mes de marzo, hasta el 15 de junio del 2014. A partir de esa fecha se suspendió el suministro de calor y se manejaron los invernaderos lo más abiertos posible** (limitados por la velocidad del viento) a efectos de que las plantas reciban **en forma natural su vernalización** durante el período invernal. A fines del **mes de agosto del año 2014 (transcurridos 75 días de vernalización natural)** se comenzó nuevamente con el sistema de calefacción antes detallado, el que obviamente es utilizado **sólo como un complemento** de la temperatura que naturalmente pueden adquirir los invernaderos en forma pasiva. **El desarrollo del cultivo durante el año 2014 fue óptimo** en términos del crecimiento y vigor logrado en las plantas, lo que llevó a **considerar su establecimiento definitivo**. En la siguiente Figura se presenta un esquema que resume el protocolo establecido, **dándose por logrado el HITO: Metodología de Crecimiento Definida**, que estaba programado para el 3 de octubre del 2014.

Condiciones de Crecimiento		
Verano - Otoño	Invierno	Primavera - Verano
Invernadero	Frío Natural	Invernadero
Ambiente 15 - 25 °C / Cama Caliente 12 - 20 °C		Ambiente 15 - 25 °C / Cama Caliente 12 - 20 °C

- 5) Otro aspecto importante de mencionar en este apartado es que a partir del 11 de diciembre del año 2014, **se concretó la entrega de aproximadamente 80.000 plantas para ser plantadas comercialmente en un predio cercano.** La modalidad del traspaso de las plantas corresponde a un **Joint Venture** entre el Ejecutor del proyecto y un inversionista nacional, a objeto de escalar rápidamente en el cultivo comercial de esta especie.

Durante lo transcurrido del **año 2015**, y a partir del **mes de Marzo los cajones y contenedores con plántulas** obtenidas del proceso de germinación y crecimiento anterior, **se trasladaron al invernadero de crecimiento**, a objeto de **levantarlas y plantarlas** (en un marco de 2,5 cm x 2,5 cm) **en las camas calientes** construidas especialmente para dicho proceso. **Dada la gran cantidad de material obtenido y lo delicado del proceso de plantación**, esta labor se ha desarrollado en los pasados meses encontrándose **finalizada a fines de Julio** del presente año. Lo anterior indudablemente constituye un importante **escalamiento comercial de la tecnología definida, al trabajar con más de 200.000 plántulas.**

Otro aspecto importante de mencionar en es que **a partir de Julio del año 2015, se está concretando la entrega de aproximadamente 80.000 plantas, de propiedad del agente ejecutor, para ser plantadas comercialmente en un predio cercano.** Al igual que para el año anterior, este **Joint Venture** entre el Ejecutor del proyecto y un inversionista nacional, tiene por objeto el escalar rápidamente en el cultivo comercial de esta especie, **el que contaría a esta fecha con un total de 160.000 plantas bajo cultivo comercial, es decir 2 ha.**

4.- Impactos logrados a la fecha.

Los impactos logrados a la fecha pueden ser **clasificados como internos y externos** a la entidad ejecutora.

Desde el punto de **vista interno**, el principal resultado logrado a la fecha dice relación con **la creación e implementación de una metodología de producción de plantas** comerciales de Ruscus Italiano.

Desde el punto de **vista externo**, el principal resultado logrado a la fecha dice relación con el establecimiento, a la fecha, **de 2 ha de Ruscus Italiano, equivalentes a 160.000 plantas producidas en base a la tecnología anterior.**

5.- Problemas enfrentados.

Los problemas enfrentados a la fecha dicen relación con:

- En los ensayos de **propagación vía micropropagación** fue imposible obtener explantes por la persistente contaminación fungosa de los explantes cosechados de ápices meristemáticos vegetativos hipogeos.
- La obtención de **explantes a partir de semillas germinadas en placas placas Petri** se contamina fácilmente y presenta una lenta velocidad de crecimiento.
- En los ensayos de **propagación vía semilla** los tratamientos de **frío en semillas germinadas** (tratamientos de frío en hoja) que superaban un período de almacenaje de 8 semanas presentaron contaminación fungosa, por lo que fue **imposible realizarlos**. Los positivos resultados alcanzados con GA₃, superan este problema.
- El manejo de la **calefacción del invernadero** es engorroso y consume una gran cantidad de combustible (leña) y electricidad. Por otra parte el sistema de entregar **frío en cámaras** de frío es también **engorroso** (traslado de contenedores) y **caro**, ya que consume una gran cantidad de electricidad. El sistema propuesto de complementar con temperatura los periodos de crecimiento natural del Ruscus, dándole condiciones de frío también en condiciones naturales, es comparativamente mucho más simple y económico.
- El **trasplante de plántulas** inicialmente realizado a **speedlings** de plumavit, **no mostró un comportamiento satisfactorio** por lo que se procedió a trasplantar la totalidad de dicho material a los mesones de camas calientes.

- La **germinación de semillas en medio MS** y en frascos esterilizados, aún cuando fue exitosa, presentó **alta contaminación fungosa** a pesar de las reiteradas desinfecciones del material, logrando un **éxito comparativamente bajo (50% de germinación)** y a un **costo comparativamente muchísimo más alto** que el protocolo desarrollado en este proyecto.
- La **germinación de semillas en bolsas plásticas** auto sellantes con papel filtro humedecido, logró un **0% de germinación**, al posiblemente interferir con el intercambio gaseoso entre la semilla y el medio.

6.- Programa próximo período.

El programa futuro contemplado, más allá del término del presente proyecto, es **continuar con la producción comercial de plantas a escala industrial**, para lo cual se considera algunas ampliaciones en la infraestructura, especialmente de cámaras de germinación y crecimiento.

Se considera además el **continuar con el escalamiento comercial del cultivo industrial**.

7.- Otros aspectos de interés.

El manejo de una gran cantidad de semilla (116.000 en el 2013 + 210.000 en el 2014) y **la implementación de un sistema de producción en serie**, con base al protocolo de germinación y crecimiento establecido, así como del protocolo de crecimiento comercial (invernadero calefaccionado / cama caliente + vernalización natural), **constituye indudablemente un escalamiento comercial piloto** del conjunto del proyecto. Lo anterior **se concretó al producir los dos primeros lotes comerciales** de plantas, a objeto de establecer cultivos industriales.

8.- Conclusiones y recomendaciones.

Las conclusiones y recomendaciones que se pueden plantear, una vez finalizado el presente proyecto, **se presentan ordenadas de acuerdo al objetivo** general y específicos definidos:

Objetivo general: Determinar la forma más eficiente de obtener plantas comerciales de vivero de Ruscus Italiano.

Objetivo específico N° 1: Determinar la forma más eficiente de propagar el Ruscus Italiano en términos de su tasa de propagación, ya sea vía semilla, división de rizomas o micro propagación.

Objetivo específico N° 2: Determinar la forma más eficiente de obtener una planta comercial óptima de Ruscus Italiano, a partir de un material de origen dado, medido por el tiempo requerido para ello.

Respecto al objetivo específico N° 1, se puede concluir que:

Ensayos de propagación vía micropropagación:

- 1) Los antecedentes reportados de los ensayos de propagación vía micropropagación, llevan a pensar que esta vía de propagación es extremadamente dificultosa y lenta de ejecutar ya que durante este proyecto sólo se han podido obtener muestras de material micro propagado.

Ensayos de propagación vía semilla

- 2) Los ensayos de propagación vía semilla indican que el mejor tratamiento para escarificar; hacer germinar; romper la dormancia de la plúmula y finalmente hacer crecer la plántula es:
La escarificación de las semillas con Ác. Giberélico, en concentraciones de 2.000 ppm, y su posterior traslado a una cámara de crecimiento a 20°C permiten obtener una germinación más precoz y alta, con un porcentaje de germinación del 96%. La escarificación posterior con Ác. Giberélico en concentraciones de 2.000 ppm fueron significativamente superiores en altura de la plúmula, a la escarificación con frío y a otras concentraciones

de Ác. Giberélico, así como al testigo (0 ppm). Los mejores resultados para el crecimiento de la plúmula, a partir de semillas germinadas de *Ruscus*, se lograrían con condiciones de temperaturas entre 15 y 20°C. Los resultados indican que es posible obtener una plántula en alrededor de 6 meses y que el protocolo definido es posible de ser implementado nivel de piloto comercial, con significativas cantidades de semillas.

Otras conclusiones, complementarias a la anterior, se señalan a continuación:

- 3) La imagen de rayos X muestra que un alto % de las semillas posee embrión.
- 4) La mejora introducida al protocolo inicial, en términos de cubrir los contenedores de germinación con film plástico, en conjunto con un preciso control de la temperatura y humedad, logra un alto porcentaje de control fungoso, incrementando el porcentaje de germinación inicial obtenido de un 65% a un 96%.
- 5) La germinación en medio MS es comparativamente cara y menos eficiente que el protocolo establecido.
- 6) El uso de bolsas plásticas auto sellantes con papel filtro humedecido para lograr germinación en semillas de *Ruscus* mostro ser inadecuado.

Ensayos de propagación vía división de corona

- 7) Los resultados obtenidos permiten afirmar que la división de rizomas es una alternativa viable para propagar esta especie ya que las plantas divididas arraigan en un alto %. Por otra parte, se puede afirmar que, al dividir las plantas a 1 yema, estas sufren un importante retroceso en su desarrollo frente a la plantas de 2 yemas. Con base en las conclusiones antes alcanzadas, esta alternativa de propagación no es atractiva ya que no se logra un crecimiento compensatorio al dividir las plantas a 1 yema, en comparación a plantas de 2 yemas.

Respecto al objetivo específico N° 2, se puede concluir que:

Ensayos para el crecimiento comercial

Sustratos.

- 8) Al probarse dos tipos de sustrato, se concluye que no existen diferencias apreciables entre los tratamientos en las variables en estudio, por lo que la decisión debería basarse en el sustrato más económico, que indudablemente es el sustrato que contiene mayor proporción (50%) de suelo del campo.

Enraizantes.

- 9) Al probarse diferentes tipos de enraizantes se comprobó que no existen diferencias apreciables en las variables en estudio, tanto entre los tratamientos, como con el testigo, por lo que la recomendación es no aplicar ningún tipo de enraizante.

Condiciones de crecimiento.

- 10) Las plantas creciendo bajo condiciones de invernadero calefaccionado a 25 °C y cama caliente a 12 °C y 20 °C mostraron un desarrollo muy similar y superior a las plantas creciendo en condiciones de invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C., las que entre sí mostraron un comportamiento similar. Todas las anteriores fueron superiores a las de invernadero frío.
- 11) La comparación en el desarrollo de plantas que crecieron en invernadero calefaccionado a piso a temperaturas de 15 °C; 20 °C y 25 °C. y que recibieron un tratamiento de vernalización en cámara de frío, con plantas que crecieron en idénticas condiciones pero que recibieron el tratamiento de vernalización (S / Vernalización artificial) en los mismos invernaderos al mantener las lucarnas abiertas durante el otoño del 2013, es muy similar.
- 12) Los antecedentes antes planteados permiten concluir que el mejor protocolo de crecimiento comercial se logra al combinar dos periodos de crecimiento en invernadero calefaccionado a 25 °C con camas calientes a 12 - 20 °C. La vernalización natural en el periodo invernal se le puede dar a

las plantas al parar el funcionamiento de la caldera y abrir las lucarnas de los invernaderos.

Es decir, lo más conveniente técnica y económicamente es utilizar el invernadero calefaccionado como un complemento para extender el periodo de crecimiento estival a los meses de primavera y de otoño. Los meses invernales de menores temperaturas, deberían coincidir con el periodo de vernalización en el que se abren las lucarnas y se suspende la caldera. El protocolo anterior es posible de ser implementado exitosamente a escala de piloto comercial, manejando una gran cantidad de plantas (más de 300.000) en diferentes estados de desarrollo y, a la vez, fué capaz de producir 160.000 plantas para plantación industrial.

- 13) Fue posible identificar una fenología óptima de crecimiento de plantas de *Ruscus*.
- 14) El incremento en la eficiencia del uso de la estructura del invernadero calefaccionado, en términos de la cantidad de plantas posibles a ser albergadas en el sistema con speedlings, es aproximadamente 1/3 de la cantidad de plantas posibles a cultivar en el sistema de mesones de cama caliente.
- 15) Las plantas muestran a la fecha, junio de 2015, una adecuada aclimatación a las condiciones de desarrollo en invernaderos calefaccionados y camas calientes, así como una adecuada respuesta a la vernalización con frío natural. El desarrollo de las plantas ha sido el esperado, confirmándose que es posible el producir en 3 años una planta comercial.

III Informe de difusión y publicaciones

Las actividades de difusión programadas dicen relación con la realización de dos días de campo y de un seminario final. **El primer día de campo fue realizado el día viernes 31 de enero de 2014.** A la actividad asistieron 20 personas.

Dicho evento se desarrolló de acuerdo al programa establecido, el que consideraba en primer lugar la recepción de los invitados y un desayuno de bienvenida, a continuación, la contraparte ejecutora realizó una presentación en PowerPoint de los principales aspectos desarrollados en el proyecto. Se contó con una amplia participación al momento de discutir los resultados y proyecciones del proyecto en desarrollo. A continuación, se mostró las cámaras de germinación / crecimiento y los contenedores de semillas, de igual forma se visitó el cultivo comercial desarrollado por la contraparte, para finalizar con una prolongada visita a los invernaderos calefaccionados, en donde se explicó detalladamente los logros alcanzados. El encuentro finalizó con la invitación a almorzar de los asistentes en torno a un asado.

Durante el mes de febrero del año 2015 se contemplaba la realización de un día de campo, dicho evento fue aplazado, de común acuerdo con el ejecutivo del proyecto, a objeto de realizarlo en conjunto con el cercano seminario final programado para el mes de junio del año 2015. **Ambos eventos se realizaron el día viernes 26 de junio de 2015.** A la actividad asistieron 21 personas.

Al igual que en el día de campo anterior, se recepcionó a los invitados con un desayuno, para posteriormente presentarles una amplia exposición (seminario) en PowerPoint sobre los principales aspectos desarrollados en el proyecto y de las conclusiones alcanzadas, lo que motivó gran interés de los participantes a la hora de visualizar las potencialidades del cultivo a la luz de los resultados logrados. Seguido se continuó con el día de campo, al mostrar las cámaras de germinación / crecimiento y una prolongada visita a los invernaderos calefaccionados, para terminar con una visita al cultivo comercial desarrollado por la contraparte. El encuentro finalizó con la invitación a almorzar de los asistentes en torno a un asado.

El desarrollo de una página Web y de una publicación técnica con los resultados logrados se encuentra a la espera de la aprobación del presente informe final, ya que este resume los logros alcanzados en el proyecto, proveyendo el material básico para su difusión a través de una publicación técnica asociada a la página Web del ejecutor.



IV Anexos

Índice de Anexos.

- **Anexo 1** : Fichas.
- **Anexo 2** : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía semillas primera y segunda temporadas.
- **Anexo 3** : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía división de corona.
- **Anexo 4** : Tratamientos y evaluaciones ensayos de crecimiento comercial.
- **Anexo 5** : Días de campo y seminario.

Anexo 1: Fichas.

1. Ficha del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre o razón social	Alejandro Cristián Andrés De Kartzow García			
Giro / Actividad	Agrícola / Agricultor en Frutales; Vivero y Floricultura.			
RUT				
Tipo de entidad (1)	Personas Naturales			
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	Micro empresa menos de 2400 UF/ año	Pequeña 2.401 a 25.000 UF / año	Mediana 25.001 a 100.000 UF / año	Grande más de 100.001 UF / año
Exportaciones, año 2010 (US\$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región	XIV Región de los Ríos			
País	Chile			
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web				

(1) Tipo de entidad

Empresas productivas y/o de procesamiento
Personas Naturales
Universidades Nacionales
Universidades Extranjeras
Instituciones o entidades Privadas
Instituciones o entidades Públicas
Instituciones o entidades Extranjeras
Institutos de investigación
Organización o Asociación de Productores
Otras (especificar)



2. Ficha representante(s) Legal(es) del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre	Alejandro Cristián Andrés
Apellido paterno	De Kartzow
Apellido materno	García
RUT	
Cargo en la organización	Propietario
Género	Masculino
Etnia (2)(clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Productor individual Pequeño
Firma del representante legal	

3. Ficha del Asociado N°1. (Repetir esta información por cada asociado)

Nombre o razón social	Floricultura Novazel S.A.			
Giro / Actividad	Comercialización, Exportación e Importación de Flores y Plantas.			
RUT				
Tipo de entidad (1)	Empresas productivas y/o de procesamiento			
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	Micro empresa (menos de 2400 UF / año)	Pequeña (2.401 a 25.000 UF / año)	Mediana (25.001 a 100.000 UF / año)	Grande (más de 100.001 UF / año)
Exportaciones, año 2010 (US\$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región	Metropolitana			
País	Chile			
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web	www.novazel.com			



Ficha representante(s) Legal(es) de Asociado(s) N°1. Repetir esta información por cada asociado

Nombre	Matías Eduardo
Apellido paterno	Avendaño
Apellido materno	Ceballos
RUT	
Cargo en la organización	Gerente General
Género	Masculino
Etnia (2) (clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Productor individual mediano-grande
Firma del representante legal	

4. Fichas de los Coordinadores

Nombres	Ana Victoria	
Apellido paterno	Quijada	
Apellido materno	Bannura	
RUT		
Profesión	Ingeniero Agrónomo	
Empresa/organización donde trabaja	Independiente	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella		
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	V Región de Valparaíso.	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)		
Firma		

5. Fichas de los Coordinadores

Nombres	Alejandro	
Apellido paterno	De Kartzow	
Apellido materno	García	
RUT		
Profesión	Ingeniero Agrónomo; Magister en Gestión; Doctor en Ciencias Empresariales.	
Empresa/organización donde trabaja	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Profesor Facultad de Agronomía.	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	V Región de Valparaíso.	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Productor individual pequeño	
Firma		

6. Ficha Equipo Técnico. Se deberá repetir esta información por cada profesional del equipo técnico

Nombres	Patricio Arturo	
Apellido paterno	Traimún	
Apellido materno	Ramos	
RUT		
Profesión	Técnico / Agricultor	
Empresa/organización donde trabaja	Agrícola Santa Clara / Alejandro De Kartzow García	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Técnico Jefe de Campo	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	XIV Región de los Ríos.	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)		
Firma		

Anexo 2 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía semillas primera y segunda temporadas.

Primera temporada.

Cuadro 1. Tratamientos de escarificación, de cámara de crecimiento y número de repeticiones (Semillas).

		Tratamientos		
		Cámara de Germinación.		
N°	Tratamientos	N°1	N°2	N° 3
	Escarificación	Temperatura 15°C	Temperatura 20°C	Temperatura 25°C
1	Temperatura (3 - 5°C) por 0 semanas	77	77	77
2	Temperatura (3 - 5°C) por 2 semanas	77	77	77
3	Temperatura (3 - 5°C) por 4 semanas	77	77	77
4	Temperatura (3 - 5°C) por 6 semanas	77	77	77
5	Ac. Giberélico a 0 ppm	77	77	77
6	Ac. Giberélico a 500 ppm	77	77	77
7	Ac. Giberélico a 1000 ppm	77	77	77
8	Ac. Giberélico a 2000 ppm	77	77	77
9	Ac. Giberélico a 5000 ppm	77	77	77
Cantidad de semillas a ensayo		2079		
Cantidad de placas Petri / Tratamiento		11		
Cantidad de semillas / Placa Petri		7		

Cuadro 2. Evaluación de ensayo de germinación de semillas.

Evaluación Ensayo Germinación Semillas						
% de Semillas germinadas						
Tratamiento	Fecha de medición					
	20 de Diciembre de 2012			12 de Febrero de 2013		
	15 °C	20 °C	25 °C	15 °C	20 °C	25 °C
Escarificación / Temperatura Germinación						
Temperatura (3 - 5°C) por 0 semanas	0,0	0,0	0,0	41,6	37,7	10,4
Temperatura (3 - 5°C) por 2 semanas	0,0	0,0	0,0	41,6	27,3	10,4
Temperatura (3 - 5°C) por 4 semanas	0,0	0,0	0,0	36,4	18,2	15,6
Temperatura (3 - 5°C) por 6 semanas	0,0	0,0	0,0	9,1	7,8	2,6
Ac. Giberélico a 0 ppm	0,0	15,6	0,0	35,1	40,3	29,9
Ac. Giberélico a 500 ppm	0,0	28,6	0,0	37,7	54,5	24,7
Ac. Giberélico a 1000 ppm	0,0	32,5	0,0	35,1	61,0	29,9
Ac. Giberélico a 2000 ppm	1,3	28,6	0,0	37,7	64,9	20,8
Ac. Giberélico a 5000 ppm	1,3	37,7	0,0	45,5	61,0	18,2
Promedio Temperatura germinación	0,3	15,9	0,0	35,5	41,4	18,0

Cuadro 3. Tratamientos de escarificación y de temperatura de crecimiento realizados sobre semillas germinadas.

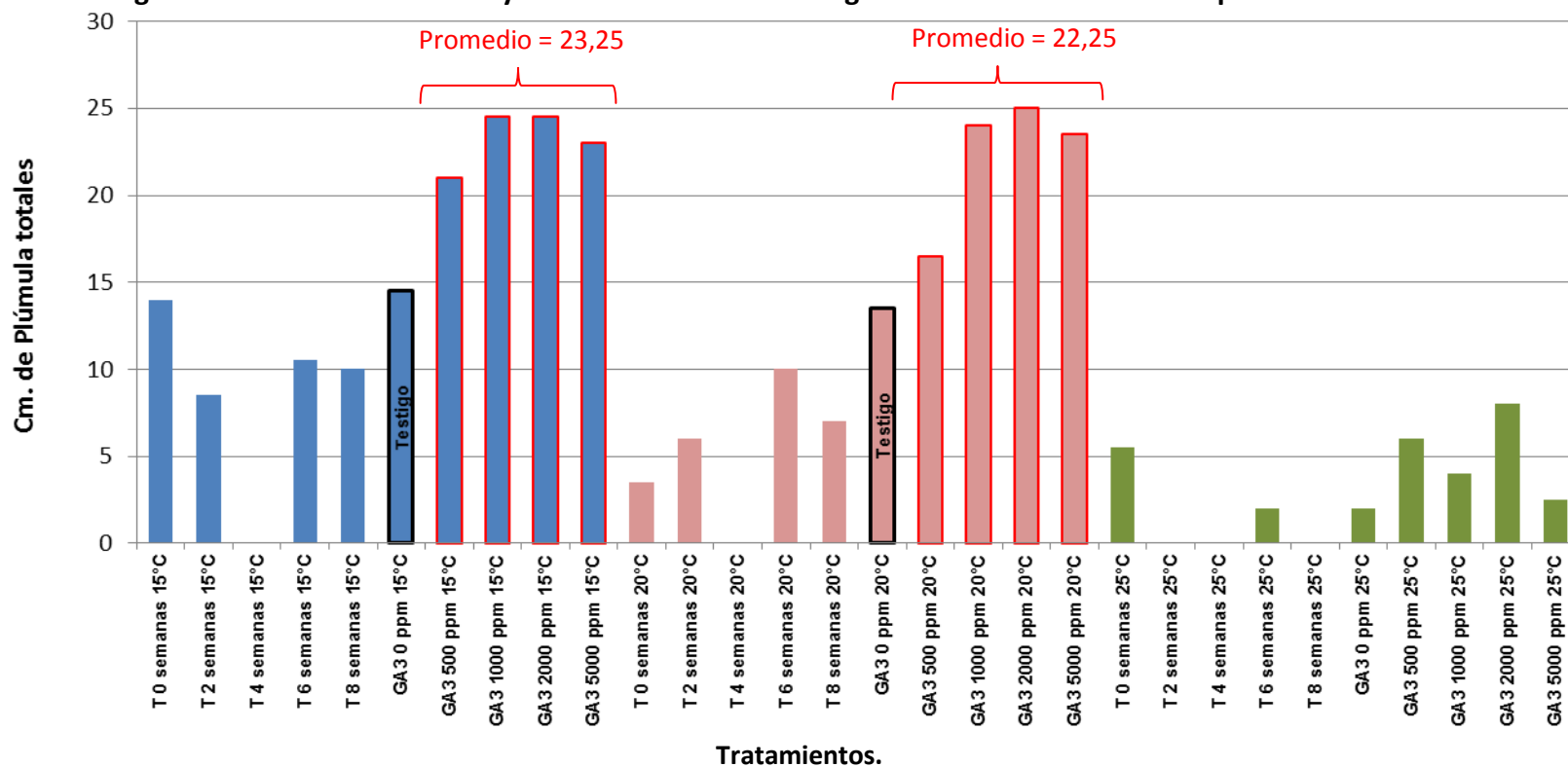
Número del Tratamiento			
Tratamientos	Temperatura Cámara Crecimiento		
Escarificación	15°C	20 °C	25°C
T (3-5°C) 0 semanas	1	15	29
T (3-5°C) 2 semanas	2	16	30
T (3-5°C) 4 semanas	3	17	31
T (3-5°C) 6 semanas	4	18	32
T (3-5°C) 8 semanas	5	19	33
T (3-5°C) 10 semanas	6	20	34
T (3-5°C) 12 semanas	7	21	35
T (3-5°C) 14 semanas	8	22	36
T (3-5°C) 16 semanas	9	23	37
GA3 0 ppm	10	24	38
GA3 500 ppm	11	25	39
GA3 1000 ppm	12	26	40
GA3 2000 ppm	13	27	41
GA3 5000 ppm	14	28	42
N° Tratamientos	42		
N° Repeticiones	10		
Cantidad total de material	420		

Cuadro 4. Evaluación de ensayos de escarificación y crecimiento de semilla germinada.

Medición (Total cm. de plúmula / N° Plántulas) Ensayos Escarificación semillas germinadas.					
Fecha medición: 20-06-2013					
Tratamientos Escarificación	Tratam. N°	Total cm. Plúmula cm.	Cant. de Plántulas N°	Promedio del total de cm. Plúmula	
				Por T° Cámara	Por Trat.: Frio / GA3; S/test.
T 0 semanas 15°C	1	14	10	15,05	14
T 2 semanas 15°C	2	8,5	4		7,25
T 4 semanas 15°C	3	0	0		
T 6 semanas 15°C	4	10,5	7		14,5
T 8 semanas 15°C	5	10	5		
GA3 0 ppm 15°C	10	14,5	8		23,25
GA3 500 ppm 15°C	11	21	8		
GA3 1000 ppm 15°C	12	24,5	10		
GA3 2000 ppm 15°C	13	24,5	9		
GA3 5000 ppm 15°C	14	23	8		
T 0 semanas 20°C	15	3,5	3	12,9	3,5
T 2 semanas 20°C	16	6	4		5,75
T 4 semanas 20°C	17	0	0		
T 6 semanas 20°C	18	10	7		13,5
T 8 semanas 20°C	19	7	4		
GA3 0 ppm 20°C	24	13,5	10		22,25
GA3 500 ppm 20°C	25	16,5	7		
GA3 1000 ppm 20°C	26	24	10		
GA3 2000 ppm 20°C	27	25	9		
GA3 5000 ppm 20°C	28	23,5	9		
T 0 semanas 25°C	29	5,5	5	3	5,5
T 2 semanas 25°C	30	0	0		0,5
T 4 semanas 25°C	31	0	0		
T 6 semanas 25°C	32	2	1		2
T 8 semanas 25°C	33	0	0		
GA3 0 ppm 25°C	38	2	1		5,13
GA3 500 ppm 25°C	39	6	4		
GA3 1000 ppm 25°C	40	4	3		
GA3 2000 ppm 25°C	41	8	4		
GA3 5000 ppm 25°C	42	2,5	2		

A efectos de graficar más explícitamente los resultados obtenidos en esta evaluación, en la siguiente Figura (1) se presenta un resumen de ellos.

Figura 1 : Mediciones de Ensayos Escarificación semillas germinadas. Centímetros de plúmula totales .



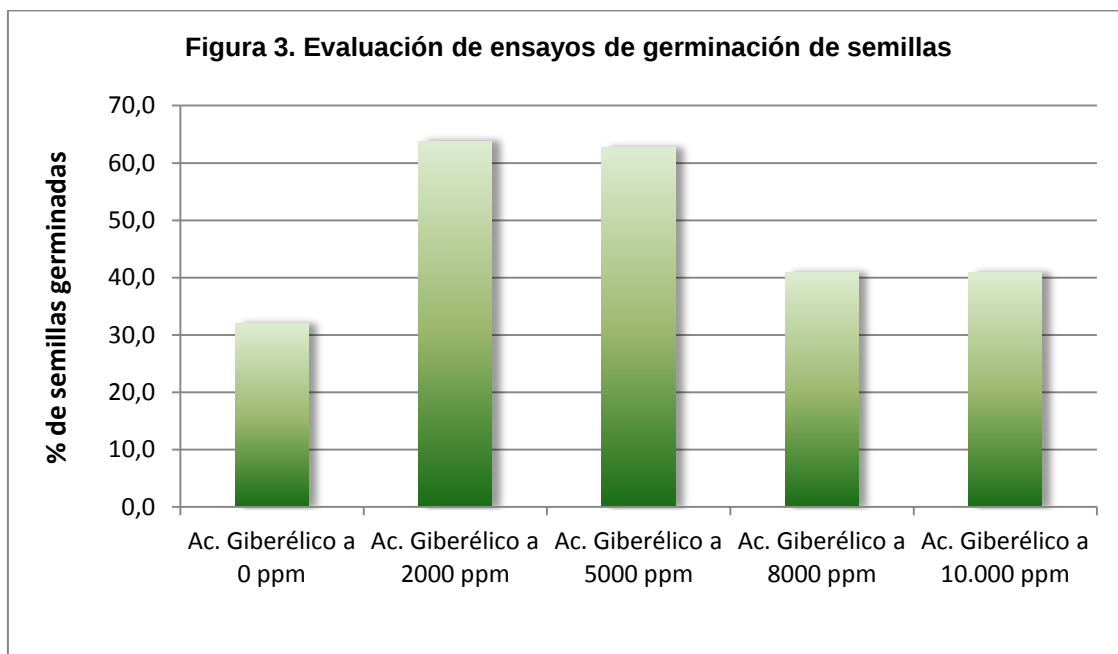
Segunda temporada.

Cuadro 5. Tratamientos de escarificación segunda temporada.

Tratamientos				
N°	Escarificación	N° Sem. /trat.	N° Sem. / placa	N° placas
1	Ac. Giberélico a 0 ppm	420	7	60
2	Ac. Giberélico a 2000 ppm	420	7	60
3	Ac. Giberélico a 5000 ppm	420	7	60
4	Ac. Giberélico a 8000 ppm	420	7	60
5	Ac. Giberélico a 10000 ppm	420	7	60

Cuadro 6. Tratamientos de escarificación de semillas 2° temporada
(N° de semillas germinadas promedio por placa con 7 semillas y % germinación).

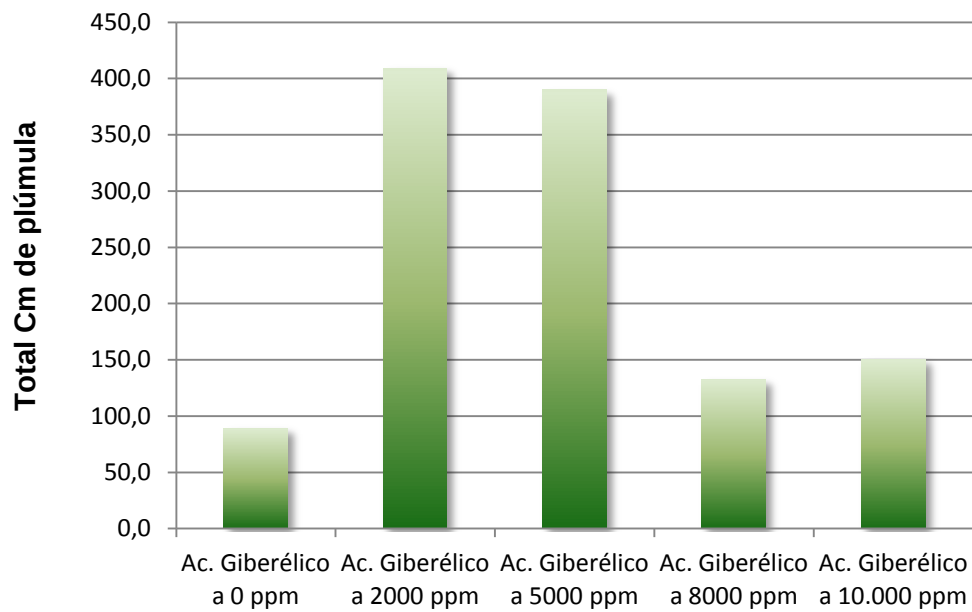
Concentración	0 PPM	2000 PPM	5000 PPM	8000 PPM	10000 PPM
Ac. Giber.	T1	T2	T3	T4	T5
Promedio	2,23	4,47	4,38	2,87	2,87
% Germinación	31,90	63,81	62,62	40,95	40,95



Cuadro 7. Evaluación del crecimiento de la Plúmula en tratamientos de diferentes concentraciones de Ácido Giberélico sobre semillas germinadas.

Tratamiento	Total cm. Plúmula	N° de Plántulas	Promedio (cm) plúmula por Plántula
Ac. Giberélico a 0 ppm	89,3	134	0,67
Ac. Giberélico a 2000 ppm	409,0	268	1,53
Ac. Giberélico a 5000 ppm	389,9	263	1,48
Ac. Giberélico a 8000 ppm	132,7	172	0,77
Ac. Giberélico a 10.000 ppm	150,4	172	0,87

Figura 4. Evaluación ensayos de Ac. Giberélico en crecimiento semilla germinada.

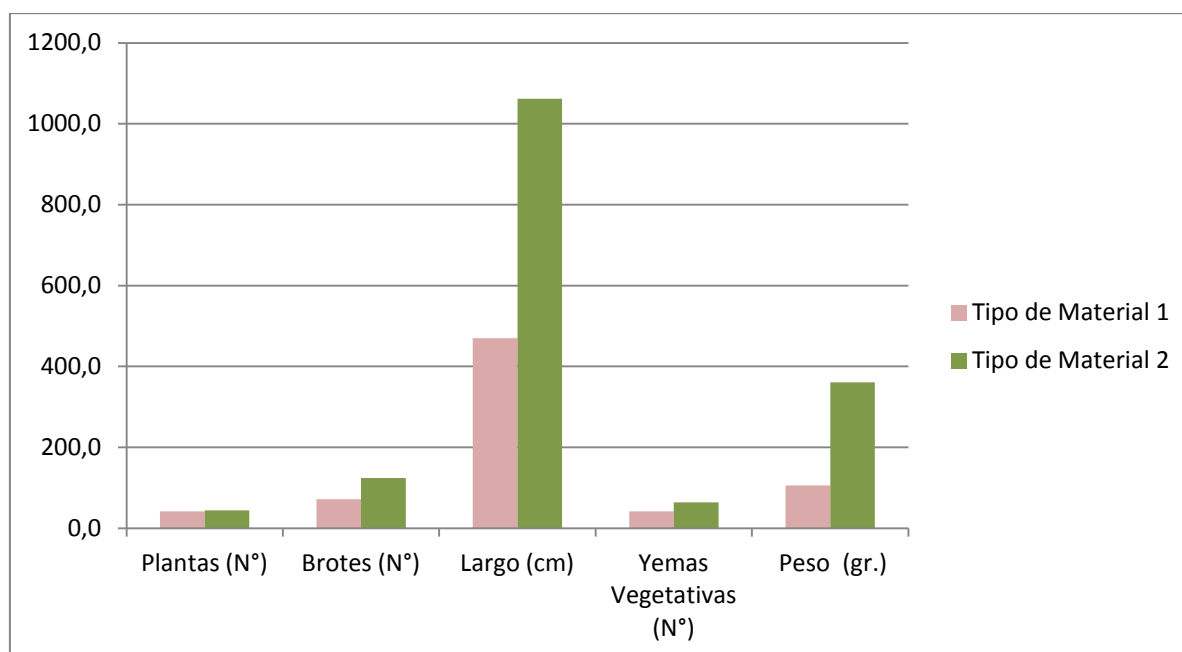


Anexo 3 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de propagación vía división de corona.

Cuadro 8. Evaluación de ensayos de propagación vía división de corona.
(Tipo de material de 1 yema y de 2 yemas).

Mediciones	Tipo de Material	
	Tipo de Material 1	Tipo de Material 2
Plantas (N°)	41,8	43,7
Brotes (N°)	71,5	124,1
Largo (cm)	470,0	1061,6
Yemas Vegetativas (N°)	41,8	64,0
Peso (gr.)	105,8	361,0

Figura 5. Evaluación de ensayos de propagación vía división de corona.
(Tipo de material de 1 yema y de 2 yemas).



Anexo 4 : Tratamientos y evaluaciones ensayos de crecimiento comercial.

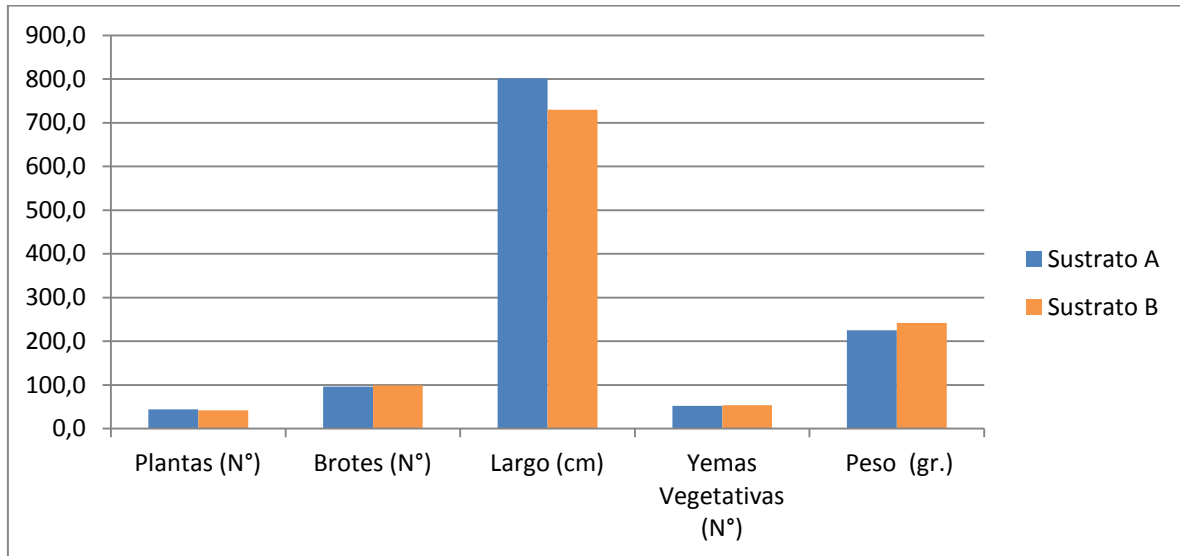
Cuadro 9. Evaluación de los Ensayos de Crecimiento Comercial 2013.

TRATAMIENTOS					Material Veget.	EVALUACIÓN 20 de Septiembre de 2013									
Condiciones de Crecimiento					Emrraizante	Concentración (ppm)	Tipo de Material	Sustrato	N° Contenedor (45 Plantas c/u)	Total Plantas (N°)	Total Brotes (N°)	Total Largo (cm)	Total Yemas veget. (N°)	Total Peso (gr)	
Invernadero Frío	25 / 20 °C	25 / 12 °C	25 °C	20 °C	15°C	IBA	250	1	A	1 a 312	44	88	352	44	90
						IBA	500	1	A		39	78	351	39	95
						IBA	1000	1	A		44	88	396	44	150
						IBA	2000	1	A		44	44	528	44	114
						ANA	250	1	A		44	44	396	44	104
						ANA	500	1	A		43	43	516	43	232
						ANA	1000	1	A		45	45	450	45	70
						ANA	2000	1	A		40	80	560	40	106
						IBA + ANA	250	1	A		44	88	440	44	76
						IBA + ANA	500	1	A		44	44	484	44	44
						IBA + ANA	1000	1	A		44	88	440	44	62
						IBA + ANA	2000	1	A		44	88	616	44	72
						Testigo	0	1	A		45	135	585	45	130
						IBA	250	2	A		45	135	1125	90	450
						IBA	500	2	A		44	88	1100	44	420
						IBA	1000	2	A		45	90	1125	90	410
						IBA	2000	2	A		45	90	1170	45	428
						ANA	250	2	A		45	135	990	45	258
						ANA	500	2	A		43	129	860	86	274
						ANA	1000	2	A		45	90	1080	45	326
						ANA	2000	2	A		42	126	1302	42	296
						IBA + ANA	250	2	A		45	135	1170	90	290
						IBA + ANA	500	2	A		45	135	1350	45	498
						IBA + ANA	1000	2	A		45	135	1260	90	298
						IBA + ANA	2000	2	A		43	129	1204	43	210
						Testigo	0	2	A		45	135	990	45	350
						IBA	250	1	B		40	40	400	40	150
						IBA	500	1	B		40	40	440	40	88
						IBA	1000	1	B		44	44	484	44	174
						IBA	2000	1	B		44	44	528	44	46
						ANA	250	1	B		44	44	572	44	84
						ANA	500	1	B		44	88	660	44	42
						ANA	1000	1	B		38	76	418	38	102
						ANA	2000	1	B		43	86	473	43	202
						IBA + ANA	250	1	B		42	126	420	42	134
						IBA + ANA	500	1	B		34	68	306	34	66
						IBA + ANA	1000	1	B		44	88	528	44	48
						IBA + ANA	2000	1	B		32	64	480	32	120
						Testigo	0	1	B		33	99	396	33	150
						IBA	250	2	B		45	135	1125	90	470
						IBA	500	2	B		45	135	1305	45	460
						IBA	1000	2	B		43	129	1075	86	350
						IBA	2000	2	B		39	117	819	39	182
						ANA	250	2	B		45	135	1260	90	510
						ANA	500	2	B		45	135	900	90	352
						ANA	1000	2	B		42	126	1176	84	430
						ANA	2000	2	B		41	123	820	82	288
						IBA + ANA	250	2	B		45	135	1080	90	504
						IBA + ANA	500	2	B		44	132	836	44	422
						IBA + ANA	1000	2	B		44	132	880	44	270
						IBA + ANA	2000	2	B		35	105	700	35	350
						Testigo	0	2	B		45	135	900	45	290

Cuadro 10. Evaluación de los Ensayos de Sustrato.

Mediciones	Sustrato	
	Sustrato A	Sustrato B
Plantas (N°)	43,88	41,54
Brotes (N°)	96,35	99,27
Largo (cm)	801,54	730,04
Yemas Vegetativas (N°)	52,46	53,31
Peso (gr.)	225,12	241,69

Figura 6. Evaluación de los Ensayos de Sustrato.



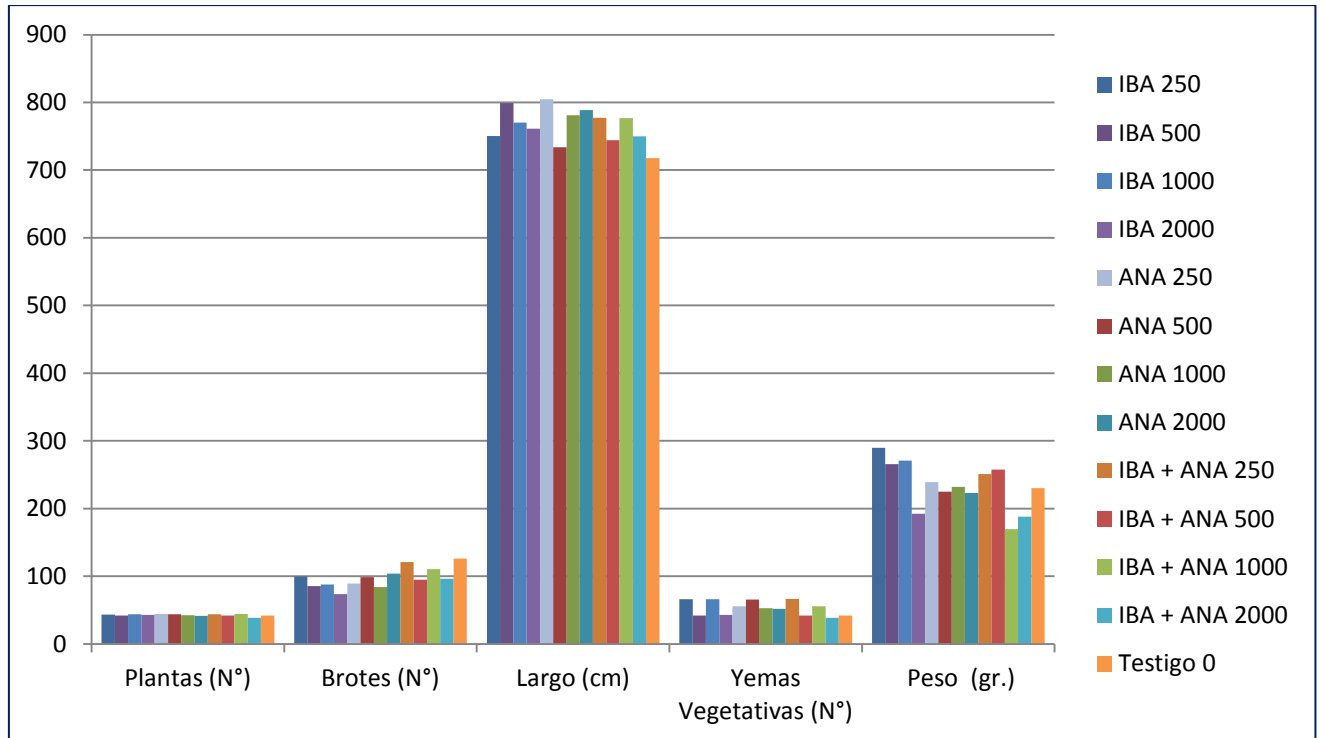
Tipos de enraizantes probados en estos ensayos, a saber:

Enraizante	Concentración (ppm)
IBA	250
IBA	500
IBA	1000
IBA	2000
ANA	250
ANA	500
ANA	1000
ANA	2000
IBA + ANA	250
IBA + ANA	500
IBA + ANA	1000
IBA + ANA	2000
Testigo	0

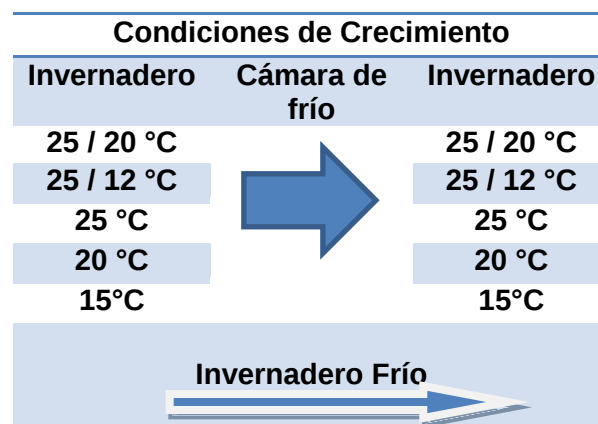
Cuadro 11. Evaluación de los Ensayos de tipos de enraizantes.

Trat. / Medic.	Plantas (N°)	Brotes (N°)	Largo (cm)	Yemas Vegetativas (N°)	Peso (gr.)
IBA 250	43,5	99,5	750,5	66	290
IBA 500	42	85,25	799	42	265,75
IBA 1000	44	87,75	770	66	271
IBA 2000	43	73,75	761,25	43	192,5
ANA 250	44,5	89,5	804,5	55,75	239
ANA 500	43,75	98,75	734	65,75	225
ANA 1000	42,5	84,25	781	53	232
ANA 2000	41,5	103,75	788,75	51,75	223
IBA + ANA 250	44	121	777,5	66,5	251
IBA + ANA 500	41,75	94,75	744	41,75	257,5
IBA + ANA 1000	44,25	110,75	777	55,5	169,5
IBA + ANA 2000	38,5	96,5	750	38,5	188
Testigo 0	42	126	717,75	42	230

Figura 7. Evaluación de los Ensayos de Enraizantes.



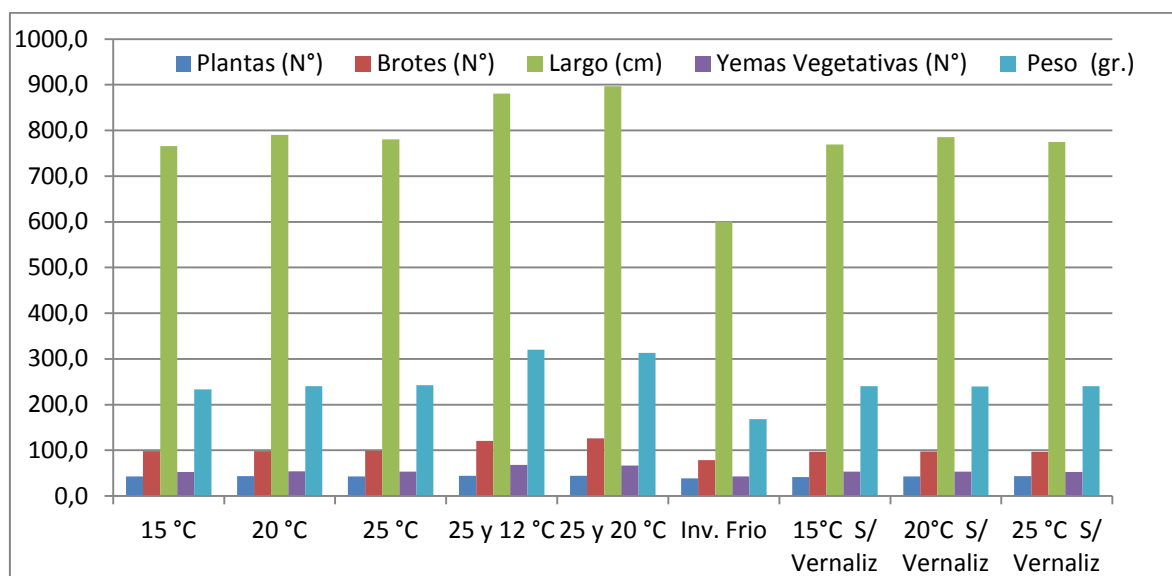
Tipos de condiciones de crecimiento



Cuadro 12. Evaluación de los Ensayos de condiciones de crecimiento.

Análisis por tratamiento térmico / vernalización.									
Variables	15 °C	20 °C	25 °C	25 y 12 °C	25 y 20 °C	Inv. Frio	15°C S/ Vernaliz.	20°C S/ Vernaliz.	25 °C S/ Vernaliz.
Plantas (N°)	42,71	43,2	42,8	44,2	44,3	38,2	41,30	42,5	43,6
Brotes (N°)	97,81	98,23	98,7	120,3	125,8	78,6	96,50	97,6	96,5
Largo (cm)	765,79	790,5	780,2	880,9	896,5	600,5	769,30	785,6	775,2
Yemas Veget. (N°)	52,88	54,2	53,5	68,3	66,9	42,5	53,10	53,2	52,2
Peso (gr.)	233,40	240,2	242,3	320,3	312,9	168,3	240,30	239,8	240,1

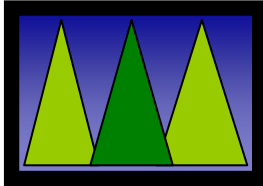
Figura 8. Evaluación de los Ensayos de condiciones de crecimiento.





Anexo 5 : Días de campo y seminario.

INVITACIÓN



Agrícola Santa Clara

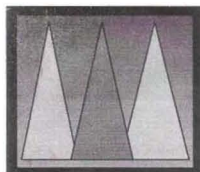


Ana Victoria Quijada Bannura, Coordinadora General del Proyecto de Innovación “**Mejoramiento de la oferta y calidad de plantas de vivero de Ruscus Italiano (*Danae racemosa*)**” código PYT-2012-0038, y la **Fundación para la Innovación Agraria**, FIA, saludan atentamente a Usted y tienen el agrado de invitarle a un día de campo, actividad que se desarrollará el **día viernes 31 de enero de 2014 a las 9:30 A.M.** en el predio Santa Clara, de la comuna de Río Bueno, Región de los Ríos.

Para una mejor organización de esta actividad le rogamos confirmar su asistencia.

Río Bueno, enero 2014.





Agrícola Santa Clara



1º DÍA DE CAMPO AGRÍCOLA SANTA CLARA

PROYECTO FIA:

"MEJORAMIENTO DE LA OFERTA Y CALIDAD DE PLANTAS DE VIVERO DE RUSCUS ITALIANO"

Nº	Nombre	Fono	E-mail	Firma
1	Michael O. Rojas			
2	Johanna Fariel			
3	Paulino Longo V.			
4	Yvonne Combar			
5	Iselabbe Cayo			
6	RENE MORRAY			
7	EDGAR DOLAN			
8	MACARENA SANCHEZ			
9	Shirley Cárdenas			
10	Yasme Gohse			
11	Benedicta A. B.			
12	Luis A. Cordero E.			
13	Angelina Lora			
14	Edgar V. J.			
15	Hector A. B.			
16	Roberto Miranda			
17	Rebrotador			
18	Jaqueline Cabello			
19	Rafael Riquelme			
20	Guillermo Riquelme			



INVITACIÓN

La Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y la Agrícola Santa Clara, invitan a usted al seminario y día de campo que se desarrollará en el marco del proyecto FIA "Mejoramiento de la oferta y calidad de plantas de vivero de *Ruscus Italiano* (*Danae racemosa*)".

La actividad se realizará el viernes 26 de junio, a las 9:30 horas, en el predio Santa Clara, ubicado en comuna de Río Bueno, Región de Los Ríos.

Confirmar asistencia al teléfono:

* Se adjunta mapa.





Agrícola Santa Clara



Fundación para la Innovación Agraria

SEMINARIO Y DÍA DE CAMPO AGRÍCOLA SANTA CLARA

PROYECTO FIA:

“MEJORAMIENTO DE LA OFERTA Y CALIDAD DE PLANTAS DE VIVERO DE RUSCUS ITALIANO”

Nº	Nombre	Fono	E-mail	Firma
1	Yvonne Fortz Ciscenacio			
2	DANIEL AMANCIBIA CARRIZO			
3	LUIS SOLANO			
4	CHRISTIAN COFFE LEBER			
5	Mirya Soledad Barra			
6	Erica Karay Gutierrez			
7	Iman Zamudio S.			
8	Vernice Kollman A			
9	Mario Fierro S			
10	René Montanelli			
11	Luisa Messalem			
12	Constanza Sepúlveda			
13	MARIA LINA FERNANDEZ			

14	Yerme Götter, Damián			
15	Susana Pardo Ojeda			
16	Alvaro Muñoz A			
17	Jorge Leslie C			
18	Katharina Pinnerhof			
19	Carlos Alberto Riquelme			
20	Alejandro Montesinos			
21	Jorge Iván Cortés Silva			
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				