



CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO CONSULTORES CALIFICADOS

1. Antecedentes de la Propuesta

Título ASESORIA EN INMERSIÓN TEMPORAL

Código CO-V-2004-1-A-005

Entidad Responsable UNIVERSIDAD DE TALCA

Coordinador XIMENA CALDERON BALTIERRA

Nombre y Especialidad del Consultor MARCOS DAQUINTA, DR. ING AGRONOMO

Lugar de Origen del Consultor (País, Región, Ciudad, Localidad) CUBA, CIEGO DE AVILA, CENTRO DE BIOPLANTAS

Lugar (es) donde se desarrolló la Consultoría (Región, Ciudad, Localidad) VII, TALCA, LABORATORIO CULTIVO DE TEJIDOS INSTITUTO DE BIOLOGÍA VEGETAL Y BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE TALCA

Fecha de Ejecución 01 A 29 DE AGOSTO 2004

Proponentes: presentación de acuerdo al siguiente cuadro:

Nombre	Institución/Empresa	Cargo/Actividad	Tipo Productor (si corresponde)
Ximena Calderón Baltierra	Universidad de Talca	Docente/Investigador	--

Problema a Resolver: detallar brevemente el problema que se pretendía resolver con la ejecución de la propuesta, a nivel local, regional y/o nacional.

En proyecto FIA de mejoramiento genético de orquídeas del género *Chloraea* se requiere masificar a futuro la(s) variedad(es) con fines comerciales y de exportación. En los laboratorios Cultivo de Tejidos Vegetales y Biología Molecular del Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología de la Universidad de Talca e invernaderos de la Universidad Católica de Valparaíso, se está investigando y desarrollando protocolos para generar por distintas vías, un producto de alto valor comercial. Sin embargo, con las metodologías desarrolladas a la fecha el número de plantas mejoradas que se puede producir es reducido. Por consiguiente se pensó en desarrollar métodos de masificación que han sido muy efectivos para otras especies vegetales. Se requirió entonces la asesoría de un experto para instalar un sistema de multiplicación masiva, del cual el Centro de investigación Ciego de Avila es pionera.

Podríamos haber accedido a comprar el sistema RITA en Francia, sin embargo el elevado costo de ésta nos llevó a instalar nuestro propio sistema "construido en Chile". Para ello era necesario el conocimiento directo de un experto para seleccionar el material en Chile



que cumpliera con los requisitos que exige el sistema de inmersión temporal. Pensar solucionar el problema en busca de materiales en las grandes ferreterías de Talca sin la ayuda del ojo experto no era posible por falta de conocimiento.

Por otra parte, vimos la instalación de este sistema más allá de la aplicación exclusiva al proyecto FIA mencionado. Vimos la prestación de servicio a empresas a nivel regional /nacional y por consiguiente un plus para nuestras Universidades.

Objetivos de la Propuesta

Dejar instalado y en funcionamiento un sistema de inmersión temporal en el laboratorio Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad de Talca y dictar dos charlas, una en Talca (Universidad de Talca) y otra en Quillota (Universidad Católica de Valparaíso).

2. Antecedentes Generales: describir aspectos de interés y cifras relevantes del país o región de origen del consultor, con énfasis en la situación agrícola y la situación del rubro que aborda la propuesta en particular (no más de 2 páginas).

El Centro de Bioplasmas se encuentra en la provincia de Ciego de Ávila, territorio muy agrícola dedicado al cultivo de la caña de azúcar, los cítricos, el banano, las hortalizas, (en el territorio se encuentran la mayor superficie del país de cultivos protegidos para la producción de este tipo de cultivo) y la mayor área dedicada al cultivo de la piña. También se desarrolla en el territorio la producción animal (ganado vacuno, ovino-caprino, búfalos, aves).

El consultor trabaja en el Centro de Bioplasmas, institución puntera en las investigaciones en biotecnología vegetal en Cuba. El Centro se dedica a investigaciones en micropropagación vía organogénesis y embriogénesis somática de plantas de interés agrícola, dentro de estas se encuentra la piña, la caña de azúcar, los bananos, el plátano, especie forestales (*Eucalyptus* sp, Cedro, Caoba, Teca, entre otras), especies forestales no madereras (Bambúes), plantas ornamentales, tanto de follaje como de flor, entre las que se encuentran las orquídeas epifitas y terrestres.

En cuanto al cultivo de las orquídeas, en el Centro se trabajan diferentes especies de orquídeas epifitas como son: *Cymbidium*, *Oncidium*, *Clatayas* y más recientemente con *Phaleanopsis*. Entre las orquídeas terrestres se trabaja la *Spathoglottis plicata*, orquídea con grandes posibilidades de comercializar, que aunque se cultiva en patios y jardines, aun no se cultiva a nivel comercial en viveros.

En este sentido en el Centro se puso a punto un procedimiento para la micropropagación de plantas mediante la técnica de inmersión temporal, este sistema ha permitido el incremento de las tasas de multiplicación con respecto a las técnicas convencionales (tabla 1).

Tabla #1: Coeficientes de multiplicación en la micropropagación convencional y mediante el uso de SIT.



Cultivo	Variedad	Micropropagación	
		Convencional	Inmersión Temporal
Piña	Cayena Lisa	8.0	68.8
	MD ₂	5.8	26.8
Caña de Azúcar	C 91-301	3.7	34.1
	C1051-73	4.1	58.0
	C120-78	3.9	30.2
	C323-68	4.3	39.5
	C85-212	3.8	31.6
	C85-214	4.0	29.8
	CP-5243	4.0	32.5
Malanga	INIVIT	3.0	10.44
	México 1	2.8	7.71
Banano	FHIA-18	3.8	7.40
	FHIA-01	3.4	10.4
	Gran Enano	4.0	16.6
Syngonium	W. Butterfly	7.3	28.0
	Pixie	2.2	18.4
Spathyphyllum	Sensation	3.7	17.6
Phylodendron	Xanadu	2.0	8.8

Con relación a este procedimiento, el Centro ha brindado consultorías en diferentes países y ha participado en proyectos internacionales relacionados con esta línea de investigación.

En el Centro se desarrollan otras investigaciones biotecnológicas relacionadas con la producción de metabolitos, interacción plantas-patógenos, la computación aplicada a las investigaciones biotecnológicas.

3. Itinerario desarrollado por el Consultor: presentación de acuerdo al siguiente cuadro:

Fecha	Ciudad y/o Localidad	Institución/Empresa	Actividad Programada	Actividad Realizada
3-7/08	TALCA	UNIV DE TALCA	Evaluar con lo que se contaba para montaje de técnica	Se cumplió buscando los material es en ferreterías
9/08	TALCA	UNIV DE TALCA	Seminario abierto	Se hizo con



			para 20 personas	participación de 50 personas
10-20/08	TALCA	UNIV DE TALCA	Montaje I.T. y realización de experimentos con Chloraea	Hizo casi al día 20 porque no llegaron los materiales antes. Se trabajó en preparación de medios y montaje de ensayos (foto)
22/08	Yumbel	Fundo Los Rios de Yahuilo	Conocer lo que se hace en el lugar y edo de plantas de orquídea	Se hizo el día antes (sábado 21) y se ayudó en la colecta
23-26/08	TALCA	UNIV DE TALCA	Realizar experimentos con Chloraea	Se chequeó el funcionamiento de las unidades y evaluó los problemas presentados con el nuevo sistema de I.T.
26/08	Casa Blanca	EMPRESA COMERCIAL DE MICROPROPAGACION FLORES BULBOSAS	Actividad no programada	Pasamos a buscar a Don Enrique Matthei a Santiago y luego visitamos la Empresa
27-28/08	Quillota	Univ Católica de Valparaíso	Seminario abierto de I.T.	Se viajó el día antes (jueves 26). Se hizo el seminario el 27 con asistencia de 15 personas.
29/08	Santiago		Regreso a Cuba	Se hizo ese día

Señalar las razones por las cuales algunas de las visitas o actividades programadas no se realizaron o se modificaron.

La programación de trabajo se modificó en función de la llegada de materiales para instalar el sistema de inmersión temporal. Luego la preparación de medios requirió más tiempo de lo normal puesto que se utilizaron frascos de 1 L que se deben manejar con extremo cuidado para evitar el corte de mangueras u otras partes durante el autoclavado.

Debido a los contactos previos del consultor con el Sub Gerente de la empresa de micropropagación comercial Vitrocentre, se decidió aprovechar el viaje a Quillota y pasar a Casa Blanca a visitar una empresa de propagación comercial de bulbosas, con varios fines: contactar a los chilenos con el gerente, establecer los lazos para futuras comercializaciones de las Chloraeas y conocer las instalaciones de una empresa que exporta toda su producción a Holanda. Se sumó a nosotros Don Enrique Matthei, a quien recogimos en Santiago.



4. Resultados Obtenidos: descripción detallada de las tecnologías conocidas (rubro, especie, tecnología, manejo, infraestructura, maquinaria, aspectos organizacionales, comerciales, etc.) y de la tendencia o perspectiva de dichas tecnologías en su lugar de origen. Explicar el grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, de acuerdo a los resultados obtenidos. Incorporar en este punto fotografías relevantes que contribuyan a describir las tecnologías.

En Cuba se han realizado investigaciones sobre la aplicación de esta técnica en la proliferación de meristemas de caña de azúcar, para el cultivo intensivo de microtubérculos de papas, para la proliferación de *Eucalyptus sp*, para la mutiplicación de plantas ornamentales como es el caso de *Caladium*, entre otras Araceas (figura 1), para la propagación *in vitro* de la piña (figura 2) y para la proliferación de bananos (figura 3).

Estas técnicas han permitido incrementar en corto tiempo los volúmenes de plantas requeridas para la agricultura y otros programas. Sin lugar a dudas las plantas producidas bajo estas condiciones tienen un menor costo, dado por el ahorro de componentes del medio de cultivo (agar u otros agentes gelificantes). La posibilidad de lograr un mayor volumen de plantas bajo las mismas condiciones instaladas, es decir, con el área física y el personal disponible, es otra ventaja de los sistemas de inmersión temporal. Esto se debe al aumento de las tasas de proliferación de los cultivos, debida al mayor intercambio de medio de cultivo y gaseosa que se produce trabajando con esta técnica.

Otra gran ventaja que ofrece estos sistemas de multiplicación es que se pueden cumplir todas las fases del cultivo sin necesidad de manipularlos, es decir, se puede lograr el enraizamiento de las plantas sin necesidad de un gasto de mano de obra adicional. Con el cambio del medio de cultivo de proliferación por el medio de cultivo de elongación y enraizamiento en los sistemas de inmersión temporal se logran plantas aptas para la aclimatización, como es el caso de los bananos (figura 3).



Figura 1. Proliferación de *Caladium* en sistemas de inmersión temporal.



Figura 2. Multiplicación de la piña en sistemas de inmersión temporal Nalgene de 10 litros.

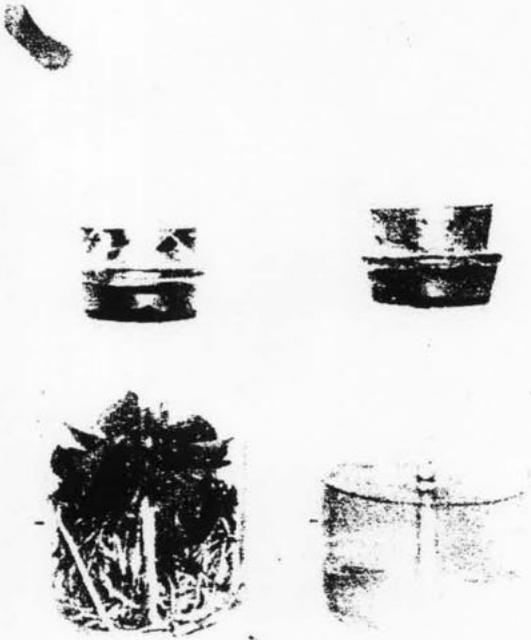


Figura 3. Multiplicación de bananos FHIA-18 en sistemas de inmersión temporal.

5. Aplicabilidad: explicar la situación actual del rubro en Chile (región), compararla con la tendencias y perspectivas de su lugar de origen y explicar la posible incorporación de las tecnologías capturadas, en el corto, mediano o largo plazo, los procesos de adaptación necesarios, las zonas potenciales y los apoyos tanto técnicos como financieros necesarios para hacer posible su incorporación en nuestro país (región).

Aunque en Chile existen institutos de investigación y empresas privadas donde se trabajan estas técnicas, como vid y papa (INIA. Chillan), Arandano (Hortifrut, Santiago), es necesaria la implementación de esta técnica para cada cultivo o especie en cuestión.

En Francia, lugar de origen de esta técnica y más tarde en Cuba, lugar donde ha tomado un gran auge esta técnica, solo se han trabajado cultivos tropicales. En Cuba aunque se han trabajado varias especies de plantas ornamentales por estas técnicas, la gran mayoría son de otras familias botánicas distintas.

En orquídeas hay reportes en otros países del éxito de esta técnica en *Phaleanopsis*, sin embargo resulta sumamente interesante la puesta a punto de los sistemas de inmersión temporal para la masificación de orquídeas nativas del genero *Chloraea*. Teniendo en cuenta la falta de experiencia en la propagación de este genero de orquídea y de otros géneros de orquídeas terrestres mediante los sistemas de inmersión temporal, es necesario el estudio de todos los factores físicos, químicos y fisiológicos que influyen en esta técnica de cultivo *in Vitro*.



FACTORES A ESTUDIAR EN LOS SISTEMAS DE INMERSION TEMPORAL.

- ◆ TIEMPO Y FRECUENCIA DE INMERSION.
- ◆ TIPO Y DENSIDAD DE INOCULO.
- ◆ VOLUMEN DE MEDIO DE CULTIVO.
- ◆ TIEMPO DE PROLIFERACION.
- ◆ CONDICIONES DE CULTIVO.
- ◆ GENOTIPO.
- ◆ USO DE RETARDANTES DEL CRECIMIENTO.

Por ejemplo, para cada especie estudiada es necesario ajustar el tiempo y frecuencia de inmersión (tabla 1)

Tabla 1. Comportamiento de la frecuencia y tiempo de inmersión para algunos cultivos tropicales.

CULTIVO	MORFOGENESIS	TIEMPO (min.)	FRECUENCIA (h)
Bananos	Organogénesis	15	3
Café	Organogénesis	1	4
Caucho	Organogénesis	1	4
Cítricos	Embriogénesis	1	4
Bananos	Embriogénesis		
Café	Embriogénesis		
Piña	Organogénesis	2	3
Caña de azúcar	Organogénesis	3	3
Papa	Microtubérculos	3	
Eucalyptus	Organogénesis	1	12

Otro aspecto que hay que tener en cuenta, es la vía morfogénica a trabajar. Teniendo en consideración cual vía a seguir, los factores se van a comportar diferentes para cada especie.

6. Contactos Establecidos: presentación de acuerdo al siguiente cuadro:

Institución/Empresa	Persona de Contacto	Cargo/Actividad	E-mail
Fundación Chile	Jorge Campos	Programa de PFM	jcampos@fundacionchile.cl
Fundación Chile	Carlos Kahler	Jefe de	ckahler



		Proyectos Bosques, Industria y Turismo.	@fundacionchile.cl
Vitro Centre Chile	Jaime Kong	Gerente	jkong@fundacionchile.cl
Vitro Centre Chile	Arnold Gramatges	Gerente Técnico	jkong@fundacionchile.cl
Universidad Católica de Valparaíso	Mónica Castro	Profesor	mcastro@ucv.cl
Universidad Católica de Valparaíso	Gabriela Verdugo	Profesor	gverdugo@ucv.cl
Fundo Los Rios de Yahuilo	Enrique Matthei	Productor	matthei@ournet.cl
Universidad de Talca	Patricio peñailillo	Botánico	ppenailillo@utalca.cl

En la charla de Quillota, habían varias personas de laboratorios privados con mucho interés en la inmersión como Zone (los dueños son una familia japonesa, eso entendí), y otros dos, pero ninguno me dio sus datos.

7. Detección de nuevas oportunidades y aspectos que quedan por abordar: señalar aquellas iniciativas detectadas durante la consultoría, que significan un aporte para el rubro en el marco de los objetivos de la propuesta, como por ejemplo la posibilidad de realizar nuevas consultorías, giras o cursos, participar en ferias y establecer posibles contactos o convenios. Indicar además, en función de los resultados obtenidos, los aspectos y vacíos tecnológicos que aún quedan por abordar para la modernización del rubro.

En el marco de la consultoría se discutió la posibilidad de participación de varios investigadores del proyecto *Mejoramiento genético de orquídeas nativas del genero Chloraea* en el V Simposio de Biotecnología Vegetal a desarrollarse en el Centro de Bioplasmas, Ciego de Ávila, Cuba entre los días 7 al 11 de febrero del 2005, para profundizar en el intercambio y discusión de los trabajos a desarrollar con la orquídea chilena.

Durante la estancia, faltó tiempo suficiente para desarrollar otros experimentos con el objetivo de ajustar los sistemas de inmersión temporal, ya que la respuesta biológica del cultivo no permitió tener resultados y poder hacer correcciones al sistema en cuestión.

8. Resultados adicionales: capacidades adquiridas por el grupo o entidad responsable, como por ejemplo, formación de una organización, incorporación (compra) de alguna maquinaria, desarrollo de un proyecto, firma de un convenio, etc.



Durante la consultaría el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Talca, adquirió habilidades en el trabajo con la técnica de inmersión temporal, aspecto novedoso para este colectivo de trabajo.

También se vió la posibilidad de trabajar de forma conjunta en un nuevo proyecto para la propagación de distintas especies de Bambúes con potencialidades para Chile, debido a la factibilidad de trabajar estas especies *in Vitro* y las grandes ventajas que ofrece este cultivo en la producción de material para la construcción de viviendas y muebles entre otras aplicaciones.

9. Material Recopilado: junto con el informe técnico se debe entregar un set de todo el material recopilado durante la consultoría (escrito y audiovisual) ordenado de acuerdo al cuadro que se presenta a continuación (deben señalarse aquí las fotografías incorporadas en el punto 4):

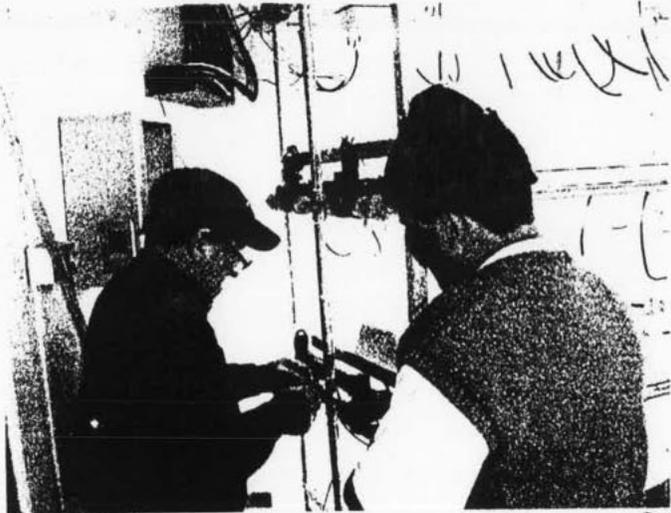
Tipo de Material	Nº Correlativo (si es necesario)	Caracterización (título)
Foto	1 a, b, c, d	Instalación sistema inmersión temporal
Foto	2 a, b, c, d	Comprobación manual de Sistema de inmersión temporal
Foto	3 a, b	Estante de inmersión temporal en funcionamiento
Foto	4 a, b, c, h, d, f, g, h	Charla en Universidad de Talca: Manejo biotecnológico de especies ornamentales, forestales y bambúes en Cuba
Foto	5 a, b, c	Charla en Universidad Católica de Valparaíso, Quillota: sobre propagación de plantas en sistemas de inmersión temporal
Foto	6	Búsqueda de material de Chloraea en Yumbel
Foto	7	Visita invernadero Fac Agronomía Quillota
Foto	8 a, b, c, d, e, f, g	Visita empresa de micropropagación comercial
Foto	9	Actividades adicionales: limpieza de prefiltros
Foto	10	Resultados de la I.T.

FOTO 1
a, b, c, d

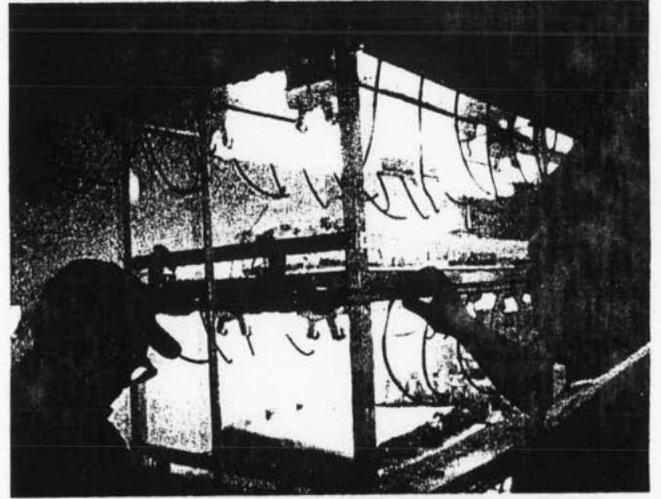
INSTALACIÓN I.T. U. Talca



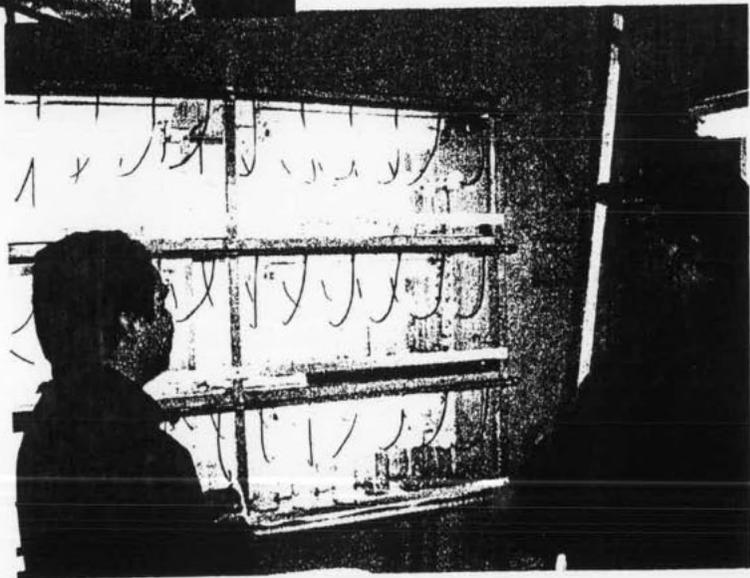
a



b

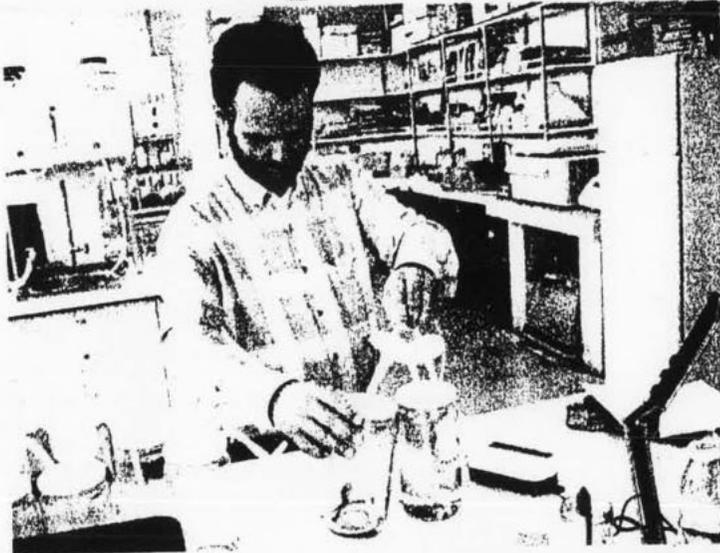


c



d

Comprobación manual de I.T.



a



b



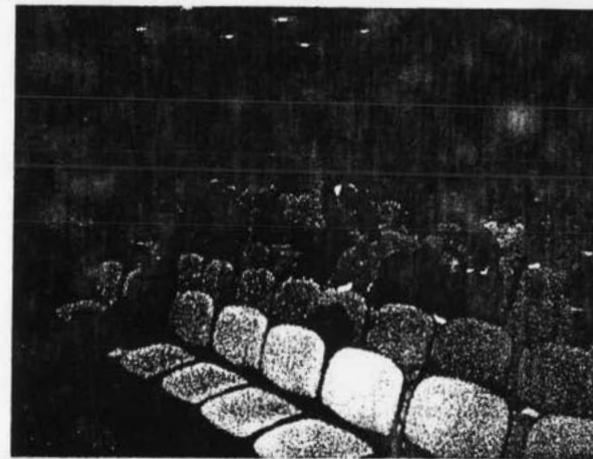
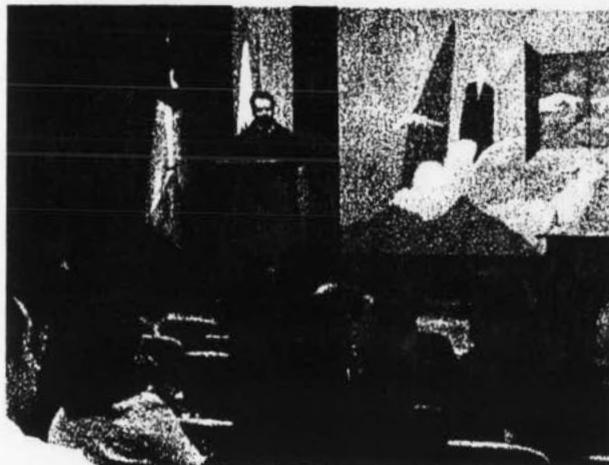
c



d

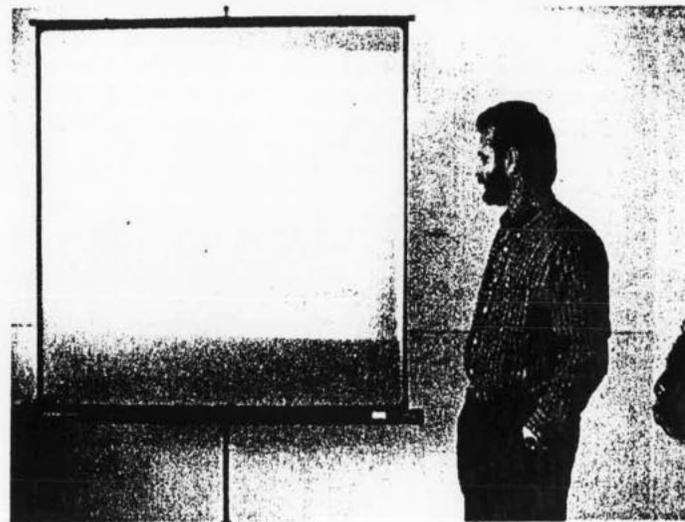
Seminario Univ. De Talca (9-08-04)

FOTO 4 a, b, c, d, e, f,
g, h



CHARLA QUILLOTA

FIG. 5 a, b, c



a



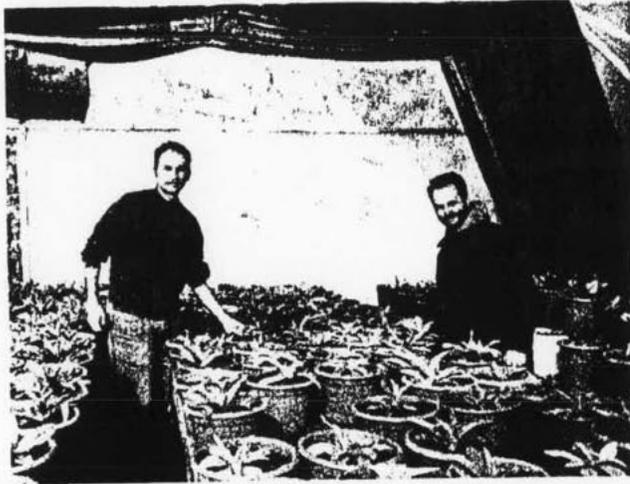
b



c

FOTO. 6 a, b, c, d

Terreno en Yumbel



a



b



c



d

Foto 7. Visita a UCV, Quillota

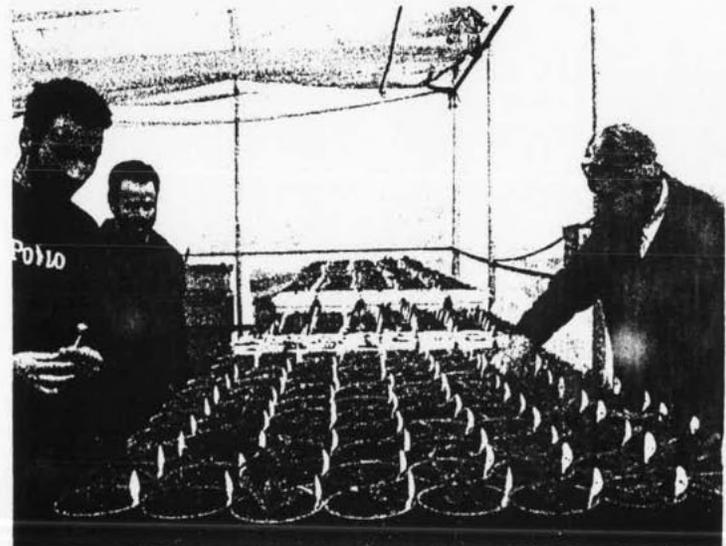
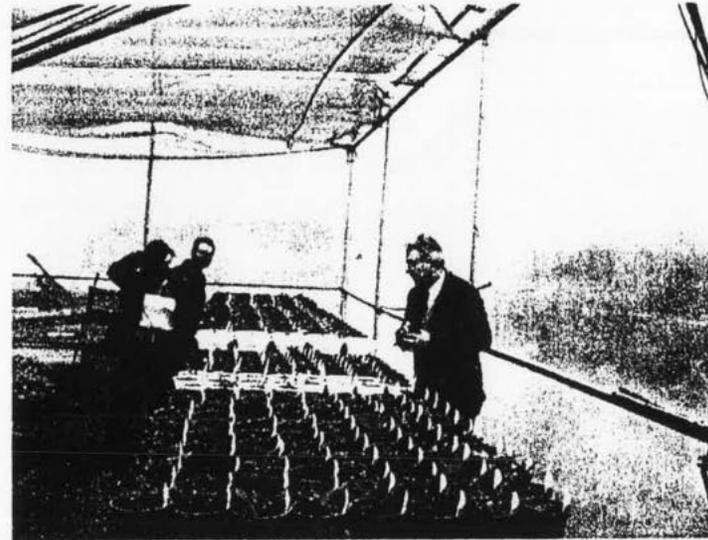
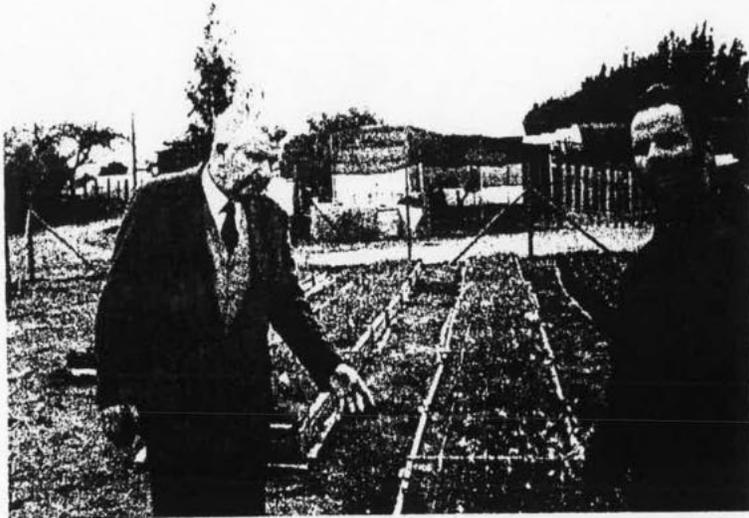
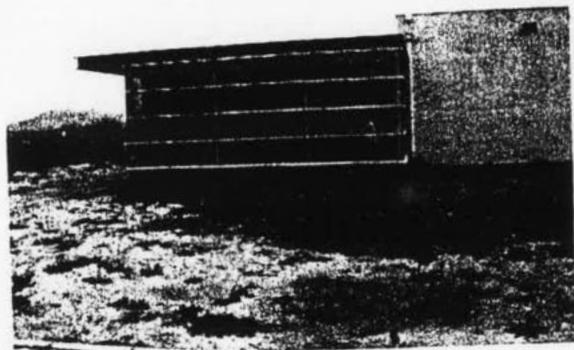


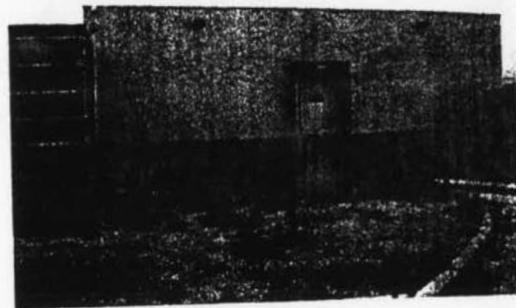
fig. 8. a, b, c, d, e, f, g



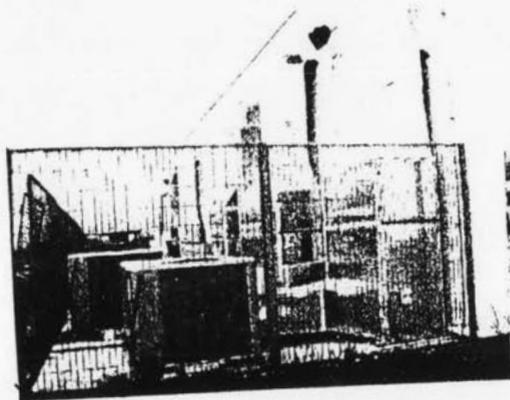
a



b



c



d



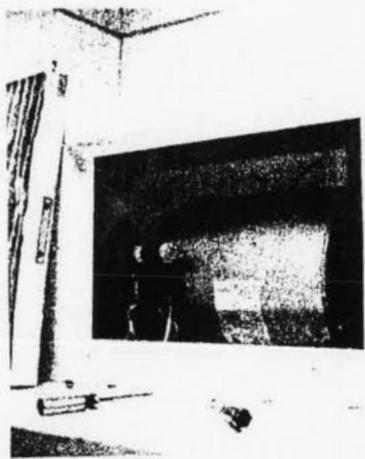
e

f

g

Foto 9 a,b,c,d

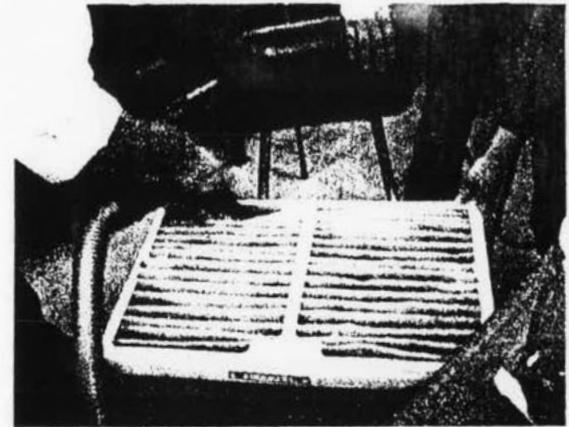
8. RESULTADOS ADICIONALES



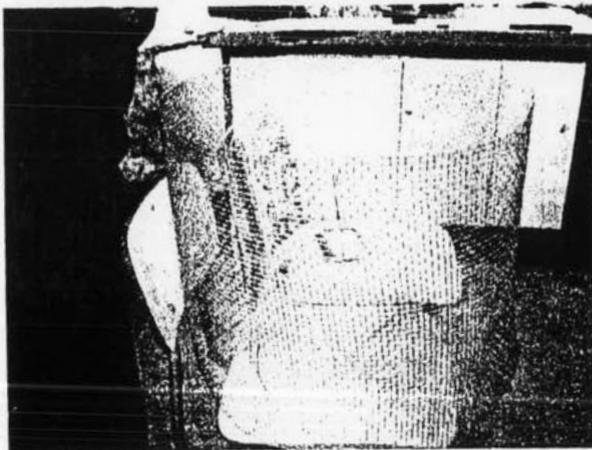
a



b

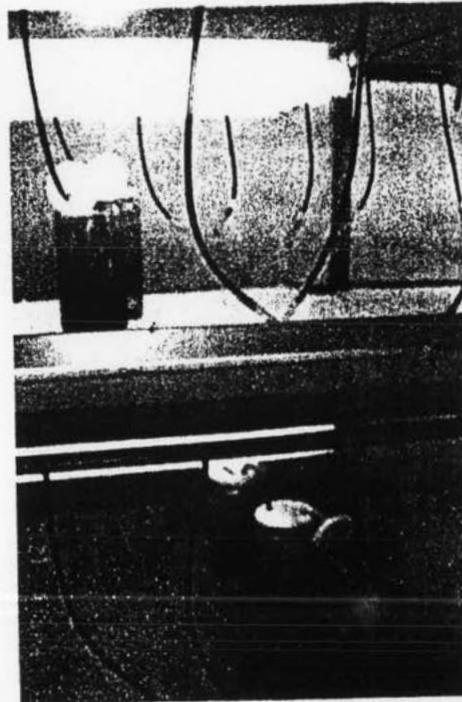
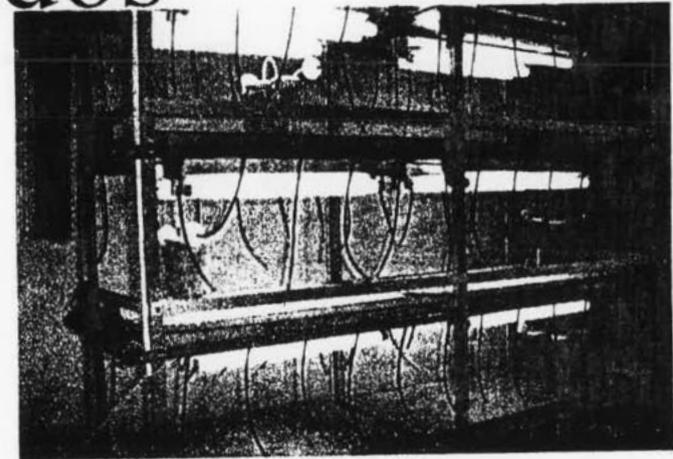
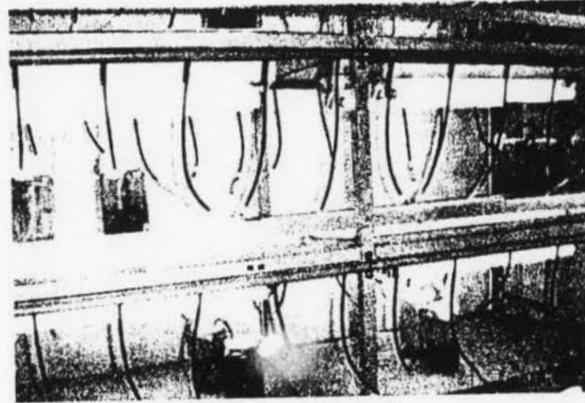
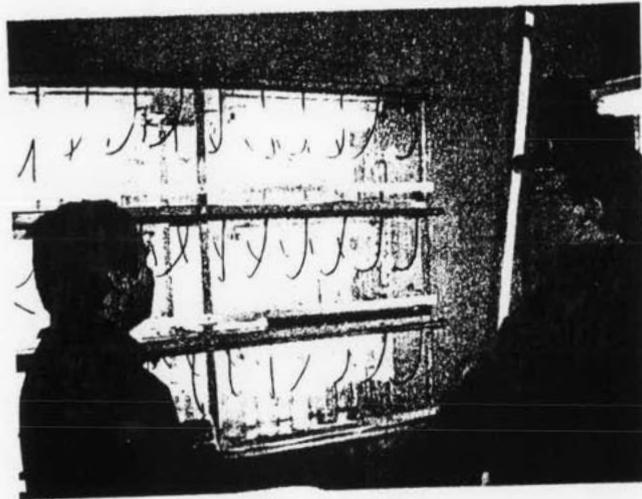


c LIMPIEZA FILTROS



d limpieza de cesto para

Foto 10. Resultados



CHARLA U TALCA

MANEJO BIOTECNOLÓGICO DE ESPECIES ORNAMENTALES, FORESTALES Y BAMBUES EN CUBA.



Laboratorio Cultivo de Celulas y Tejidos.
Centro de Biopiantas. UNICA.
Email: mdaqunta@biopiantas.cu

Plantas ornamentales micropropagadas en el Centro de Biopiantas

Familia Botánica	Especie	Varietal
Mimosaceae	Pyramis alba	Variedad: Escala Variegada, Bicolor, Multicolor
	Pyramis bicolor	Novissima, Golden King, Strigata, Escala
	Pyramis multicolor	Alba
Asteraceae	Syntherisma polyanthum	Variedad: White, Escala, Fines
	Syntherisma sp.	Mix de 10 variedades
	Asteriscium	Tipos: Miercurio, Sombra, Fines, Lunares, Fines
	Syntherisma sp.	Syntherisma, Strigata, Fines
Phytolobaceae	Phytolobum sp.	Novissima, Escala
	Phytolobum sp.	Novissima, Escala
Araliaceae	Braxos strigata	Solitaria, Escala
	Radermachia sp.	Escala

Plantas ornamentales micropropagadas en el Centro de Biopiantas (Cuentas)

Familia Botánica	Especie	Variedad
Rubiaceae	Rosa sp.	Bicolor
Myrsinaceae	Bougainvillea spectabilis	Bicolor, Blanca
Oxalidaceae	Syntherisma polyanthum	Mix de 10
Phytolobaceae	Lunares	Mix de 10
Droseraceae	Drosera rotundifolia	Variedad: Fines
Polythalamaceae	Nepenthes sp.	Herbario, Escala
	Nepenthes sp.	Herbario, Escala
Araliaceae	Radermachia sp.	Palma Escala
	Chamaedorea sp.	Palma Escala

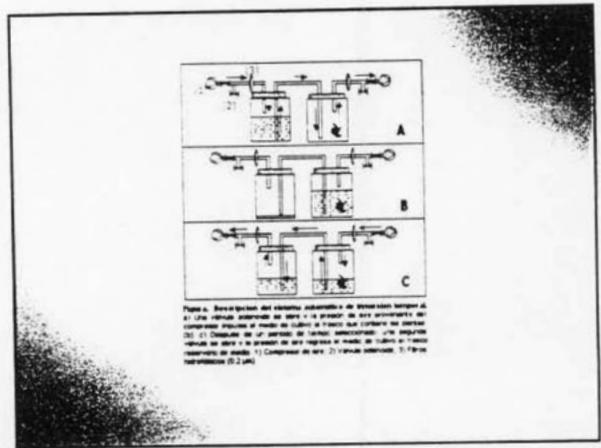
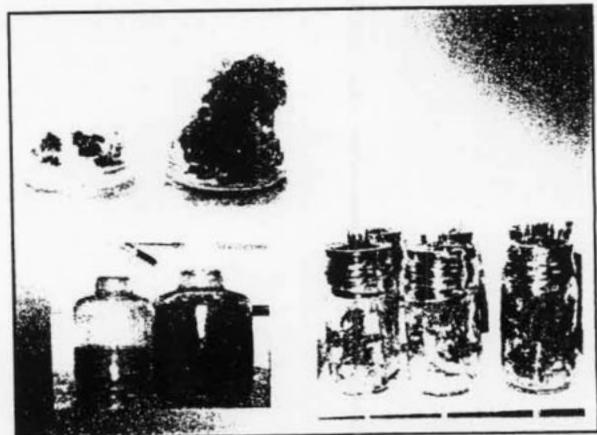
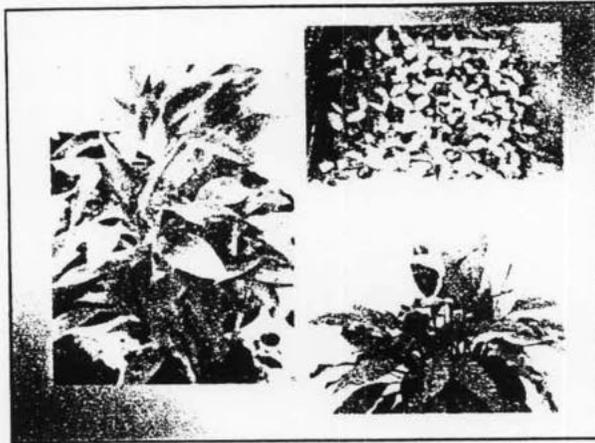


Tabla: Coeficientes de multiplicación en micropropagación convencional y mediante el uso de NTI

Nombre	Varietal	Multiplicación convencional	Multiplicación por NTI
Fide	Cayena	8.0	68.8
	Luz	5.8	26.8
Bromelias	Ardama, Neoregelia, Viviana	4.5	30.0
	varias	3.5	40.0
Astrocybe	varias	1.2	5.5
Syngonium	White Butterfly, Fide	7.7	26.0
	varias	2.2	18.4
Spathiphyllum	Senation	3.7	17.6
Phytolobium	Xandu	2.0	8.8





PROPAGACIÓN VEGETATIVA

Se ha empleado durante siglos por fruticultores, horticultores y viticultores

En especies forestales no se ha utilizado a nivel operativo, excepto en especies de los generos *Cryptomeria*, *Populus*, *Salix* y *Eucalyptus*

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LAS ESPECIES LEÑOSAS:

SEGUN AUMENTA LA EDAD DEL DONANTE, SE PIERDE EL POTENCIAL MORFOGENICO

INDICADORES FENOTÍPICOS ASOCIADOS A LA JUVENTUD

- 1- CAPACIDAD DE FORMACION DE RAÍCES
- 2- LONGITUD DE LOS PECIOLOS
- 3- VOLUMEN DEL MERISTEMO APICAL
- 4- EL NUMERO DE ENTRENUDOS
- 5- HABITO DE CRECIMIENTO Y LONGITUD DE LOS ENTRENUDOS
- 6- RESPUESTA A LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO
- 7- PRODUCCION DE ESPINAS

TECNICAS EMPLEADAS PARA INDUCIR REJUVENECIMIENTO

- 1- MICROINJERTO
- 2- PUERTOS EN CASCADAS
- 3- ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS EN CAMARA HUMEDA
- 4- CLONAJE DE ARBOLES PARA OBTENER NUEVAS BROTAIONES
- 5- INYECCION EXOGENA DE CITOQUININAS



Selección de árboles "élite" o "plus"



Inducción de brotes apicales

ESQUEMA GENERAL PARA LA MICROPROPAGACIÓN DE ESPECIES FORESTALES



REJUVENECIMIENTO.

TECTONA GRANDIS

Tratamiento	% de Enraizamiento	Nº de Raíces	Largo de la raíz mayor (cm)
Yemas brotadas de árboles adultos	100	2.0	6.3 a
Brotos de plantas juveniles	100	2.6	5.3 b

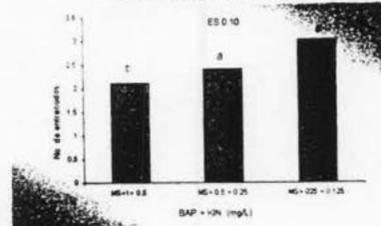
ESTABLECIMIENTO

Tabla 1. Efecto del tiempo de desinfección en el porcentaje de contaminación y germinación de semillas de Caoba híbrida y Cedro con el empleo de HgCl₂ a 0.25%.

Tiempo (min)	% Contamin.		% Germinación 18 días		% Germinación 30 días		% Germinación 45 días	
	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro
1	15 a	10 a	0	2 a	10 a	0	30 a	15 bc
3	5 b	12 a	0	0 b	5 b	10 ab	25 ab	45 b
5	0 c	10 a	0	0 b	0 c	10 ab	12 b	55 b
7	0 c	0 b	0	0 b	0 c	15 a	0 c	45 b
10	0 c	0 b	0	0 b	0 c	5 b	0 c	25 c
ES	2.45	1.16	0.0	0.02	1.68	0.08	0.07	1.03

MULTIPLICACION

TECTONA GRANDIS



MULTIPLICACION

SWIETENIA Y CEDRELA

Efecto del 6-BAP en la multiplicación y elongación de los brotes de Caoba híbrida y Cedro

Tratamientos	Nº brotes/explantes		Longitud de los brotes (cm)		Nº Nudos / brote	
	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro
Control	1.0 d	1.1 b	4.7 a	4.9 a	2.0 a	2.8 ab
0.25 mg l ⁻¹ BAP	2.1 c	1.5 b	4.0 a	3.7 b	2.0 a	2.9 a
0.50 mg l ⁻¹ BAP	3.4 b	2.5 a	3.1 b	3.6 b	2.9 a	3.1 a
0.75 mg l ⁻¹ BAP	0.9 a	0.3 a	0.4 c	0.5 c	1.5 b	2.4 b
1.00 mg l ⁻¹ BAP	7.2 e	2.4 a	0.7 c	0.7 c	0.5 c	2.5 b
ES x	0.21	0.11	0.14	0.03	0.16	0.08

ENRAIZAMIENTO

TECTONA GRANDIS

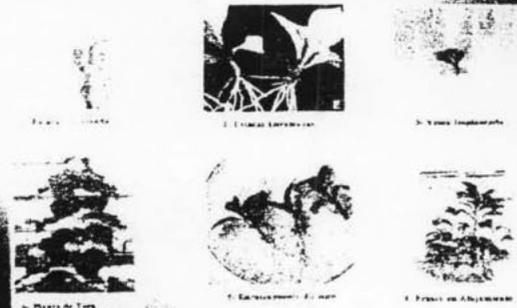
Tratamientos	Número de raíces	Longitud raíz
Sin polvo	1.0 b	1.0 c
1000 mg L ANA - 1000 mg L AIB	2.0 a	2.8 a
2000 mg L ANA - 2000 mg L AIB	1.8 a	2.8 b
ES	0.15	0.11

ENRAIZAMIENTO

CAOBA y CEDRO

Tratamientos	Nº de Raíces/explantes		Longitud de la raíz mayor (cm)	
	Caoba	Cedro	Caoba	Cedro
Control	1.27 c	1.40 b	1.62 b	1.0 c
0.5 mg l ⁻¹ AIB	0.54 b	0.97 a	0.99 a	1.51 ab
1.0 mg l ⁻¹ AIB	0.21 ab	0.85 ab	4.11 e	0.88 b
1.5 mg l ⁻¹ AIB	0.90 a	0.06 a	4.16 a	0.97 a
ES x	0.11	0.23	0.07	0.05

ESQUEMA GENERAL DE PROPAGACION DE LA TECTONA



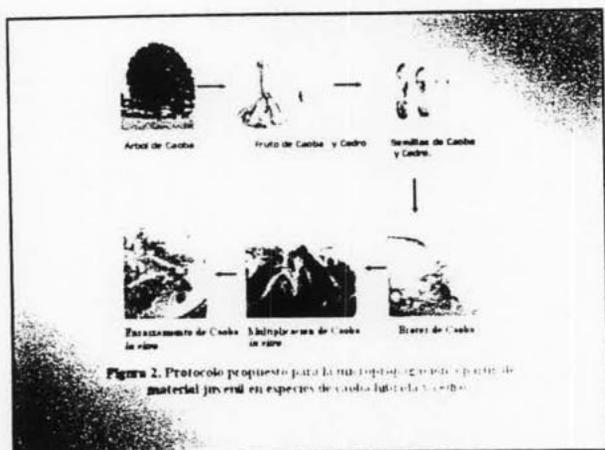
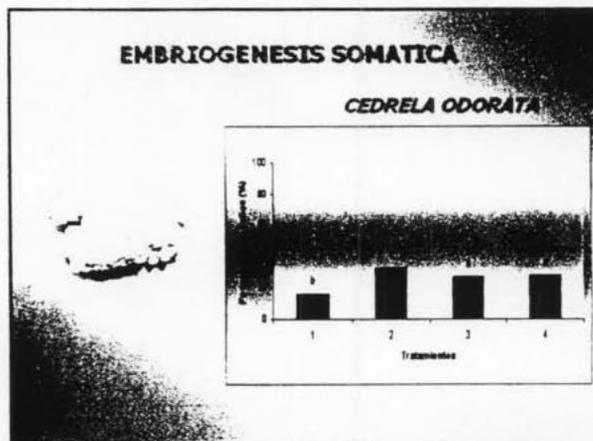
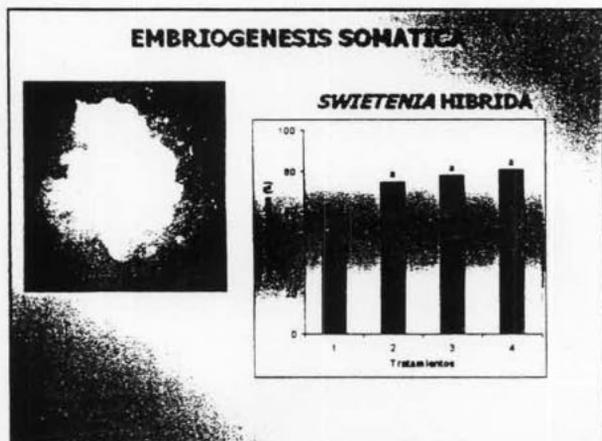
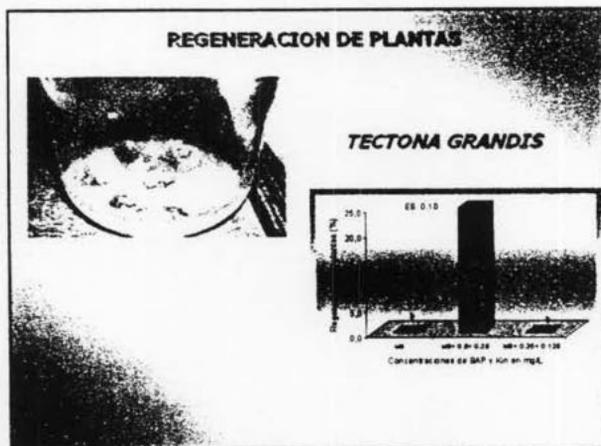
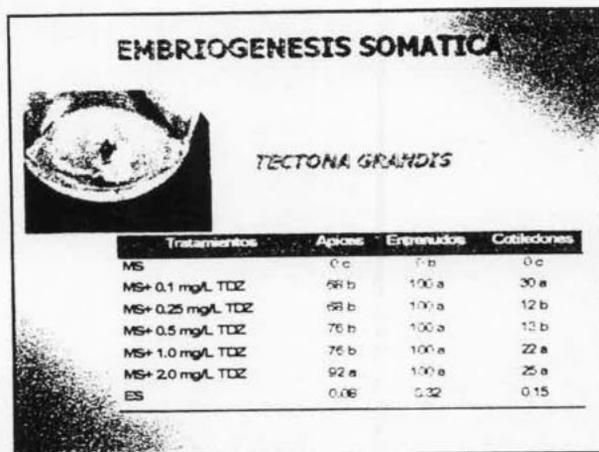


Figura 2. Protocolo propuesto para la multiplicación in vitro de material juvenil en especies de caoba (Tectona grandis).



Khaya nyasica y *Toona ciliata*



Khaya nyasica



Tabla. Comportamiento de la formación de callos en segmentos de hojas y raquis de *Khaya nyasica*.

Tratamiento	Callos en hojas (%)	Callos en raquis (%)
0.0 mg/L TDZ	0 c	0 c
0.10 mg/L TDZ	25 b	67 a
0.25 mg/L TDZ	75 a	67 a
0.50 mg/L TDZ	25 b	50 b
1.0 mg/L TDZ	0 c	0 c
EE	0.22	0.28

Toona ciliata



Tabla. Comportamiento de la formación de callos en segmentos de hojas y raquis de *Toona ciliata*.

Tratamientos	Callos en hojas (%)	Callos en raquis (%)
0.0 mg/L TDZ	0 c	0 c
0.1 mg/L TDZ	83.3 a	37.5 a
0.25 mg/L TDZ	88.8 a	44.5 a
0.50 mg/L TDZ	33.3 b	22.2 b
1.0 mg/L TDZ	33.3 b	22.2 b
ESx	0.18	0.21



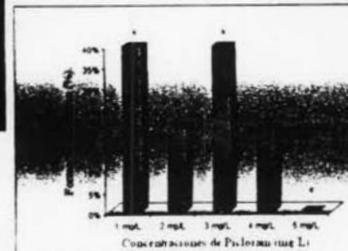
Toona ciliata



Guadua angustifolia y *Dendrocalamus strictus*



Guadua angustifolia





Dendrocalamus strictus

Tabla. Porcentaje de formación de callos a partir de segmentos de tejido intercalax.

Concentración de Picloram	Porcentaje de formación de callos
0 mg L Picloram	0 c
3 mg L Picloram	20 b
6 mg L Picloram	80 a
9 mg L Picloram	16 b

CONCLUSIONES

1. Se logró establecer una metodología para la micropropagación de Teca a partir de árboles adultos, la cual consta de los siguientes pasos:

- Realizar el enraizamiento de los brotes epicórmicos de árboles seleccionados en cámara húmeda con zeolita.
- Realizar la desinfección de los brotes epicórmicos con HgCl₂ a 0.25% durante 10 minutos.
- Implantar los ápices de los brotes epicórmicos en medio MS suplementado con 0.5 mg/L de BAP.
- Utilizar el medio MS suplementado con 1 mg/L de BAP para la multiplicación de segmentos provenientes de plantulas obtenidas de semillas y para los segmentos de árboles adultos, enriquecer este medio con 0.5 mg/L de Kinetina.
- Realizar el enraizamiento directamente *ex vitro* bajo condiciones controladas, con polvos enraizadores a 1000 mg/L de ANA y 1000 mg/L de AIB.

Se logró la inducción de callos en todas las concentraciones de TDZ, siendo los callos obtenidos a partir de ápices, cotiledones y flores los de mejores características morfológicas. La regeneración de plantas se logró en los callos provenientes de ápices en medio suplementado con 0.5 mg/L de BAP y 0.25 mg/L de TDZ.

3. Se estableció una metodología para la micropropagación de Cedro y la Caoba híbrida a partir de semillas seleccionadas, la cual consta de los siguientes pasos:

- Realizar la desinfección de las semillas de Cedro y caoba con HgCl₂ a 0.25% durante 5 minutos.
- La multiplicación de los brotes se realiza en medio de cultivo MS suplementado con 0.25 mg/L de BAP.
- El enraizamiento de los brotes se logró con 0.5 mg/L de AIB.

4. En árboles adultos seleccionados de Caoba híbrida y Cedro se logró la formación de callos con estructuras embriónicas a partir de inflorescencias jóvenes en el medio de cultivo MS (1962) suplementado con 0.25 mg/L de Tidiazuron.

5. En hojas y raquis de árboles adultos de *Khaya nyasica* y plantas de dos años de edad de *Toona ciliata* se logró la formación de callos y la regeneración de plantas en este último (Cedro del Himalaya).

Se logró la formación de callos nodulares a partir de tejido de árboles adultos, en *Guadua angustifolia* y *Dendrocalamus strictus*.



V INTERNATIONAL CONGRESS
BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE

Bioveg 2005

Centre for Agricultural Biotechnology
International Congress Biotechnology and Agriculture

Quinta Edición / Fifth Edition
del 7 al 11 de Febrero / from 7 to 11 of February

More information: www.biotech.org/veg | V Congreso Internacional Biotecnología y Agricultura BioVeg 2005 | More information: www.biotech.org/veg

PROYECTO FIA "MEJORAMIENTO GENETICO DE ORQUIDEAS DEL GENERO Chloraea"

CODIGO PI-C-2003-1-A-081. 2003-2007

Coordinador General: Dra Ximena Calderón Baltierra

Coordinador alterno: Ing Agrónomo Gabriela Verdugo

A 8 meses de trabajo de tan maravilloso proyecto estamos contentos porque hemos ido desarrollando satisfactoriamente las actividades planificadas, y porque el equipo de profesionales se relaciona en forma respetuosa, eficiente y con un alto grado de autonomía. Somos un grupo de 8 personas procedentes de Universidad Católica de Valparaíso (Gabriela Verdugo y Mauricio Cisternas), Universidad de Talca (Enrique Gonzalez, Ariel Salvatierra, Ma. Paz Jofré, Karla Quiroz y Ximena Calderón) y Fundo Los Rios de Yahuiló en Yumbel (Enrique Matthei).

Tal como se ha planificado hemos podido prospeccionar material vegetal en diferentes localidades del país. Este material consiste en 8 especies de *Chloraea* sp. y una de *Gavilu* sp., se encuentra en estado de plantas en Yumbel y Quillota. Paralelamente se ha hecho la caracterización biométrica de las semillas.

Por otra parte estamos analizando los resultados de las imágenes digitales en dos poblaciones de semilla no híbrida, y evaluando tiempos de almacenaje sobre la germinación. También estamos evaluando un método masivo de siembra directa sobre sustratos inoculados.

Todas las plantas provenientes de cultivos *in vitro*, en estados muy primarios de desarrollo, están creciendo en invernadero de aclimatación y se evalúa el estado nutricional de las hojas. También estamos trabajando en la reproducción vegetativa *in vitro*.

Dentro del objetivo de acortamiento de floración estamos utilizando vías que van desde técnicas en invernadero hasta la transgenia. En esta etapa estamos ensayando el efecto de diferentes citoquininas y niveles de nutrientes tanto sobre plantas *in vitro* como *ex situ*. En condiciones *in vitro* además estamos evaluando el efecto de tejido nodriza (rizomas). También se está evaluando en invernadero el efecto de corte de la vara floral. Las plantas de Yumbel están plantadas en Quillota, y en ensayo tenemos 6 tratamientos para acortamiento del período de floración, que incluyen giberelina, antigiberelina, citoquinina y etileno con aplicaciones diferenciales de fósforo.

Respecto a la transgenia en *Chloraea* sp., se ha aislado el gen *Falsiflora* de la especie nativa *Lycopersicon chilense*, ortólogo del gen *Leafy* de *Arabidopsis thaliana*, elemento clave en la inducción de la floración en varias especies vegetales. El gen aislado ha sido fusionado al promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor y esta construcción genética ha sido donada en un vector binario que permite su introducción mediante transformación en *Chloraea* sp. Paralelamente, se está trabajando en la obtención de protoplastos de orquídea, con el fin de introducir en ellos las construcciones genéticas mediante electroporación y evaluar la capacidad de la construcción realizada para expresar el gen *Falsiflora*, etapa previa a la transformación estable de *Chloraea* sp.

Estamos en la etapa inicial de producción de líneas puras mediante la tecnología de producción haploides. Logramos relacionar y reconocer los estados de desarrollo tanto de polen como de óvulos en las yemas florales inmaduras.

Mantenemos *in vitro* la generación F1 de cruces dirigidos realizados en el 2003, material que prontamente será trasladado a Quillota para su evaluación.

Planificamos para el año 2004 traer a Chile un experto Cubano en la técnica de inmersión temporal, quien nos está ayudando actualmente en el desarrollo y puesta a punto de los ensayos para masificar a futuro las plantas híbridas, o variedades de *Chloraea* que se mejoren por vías tradicionales, en laboratorio o por transgenia.

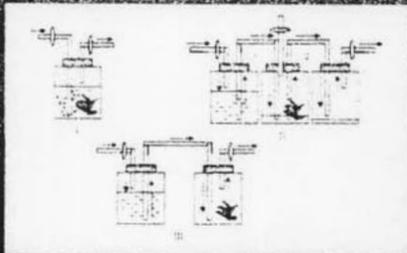
MASS PROPAGATION OF TROPICAL CROPS IN TEMPORARY IMMERSION BIOREACTORS

Centro de Bioplantas, Universidad de Ciego de Avila, CP. 69450, Cuba, e-mail: mescalona@bioplantas.cu

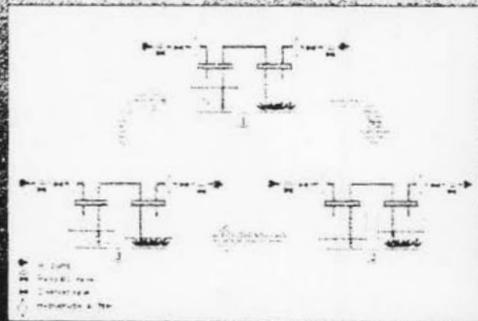
Introduction

Plant propagation by tissue culture has become a major research and training tool for many years. The biotechnology of plant propagation is mainly applied to crops with high added value, because of its relatively high production cost (Ettiene and Berthouly 2002). In order to overcome the pitfalls and shortcomings of conventional micropropagation, we have developed a semi-automated system for large scale plant propagation. This system has the advantages of increase proliferation rate, lower cost and improve survival rate during acclimatization (Escalona et al., 1999).

Semi-automated bioreactor in pineapple plant propagation



- I - Permanent immersion with aeration
- II - Liquid medium micropropagation
- III - Temporary immersion



Operating cycle of the TIB (1) emerged stage, shoots are culture in one vessel and the second for the liquid culture medium. (2) beginning of the immersed stage the medium is pushed up into the plant container immersing the shoots. (3) End of the immersed stage, second solenoid valve is opened and the culture medium is carried out to its container.

First generation of temporary immersion bioreactor



Second generation of temporary immersion bioreactor



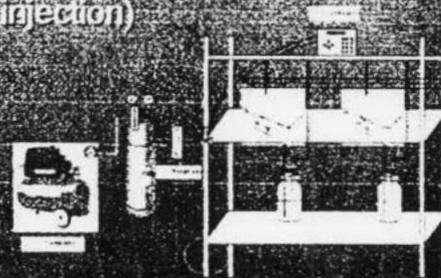
Scaling-up pineapple plant propagation using Temporary Immersion Bioreactor

Third generation of temporary immersion bioreactor



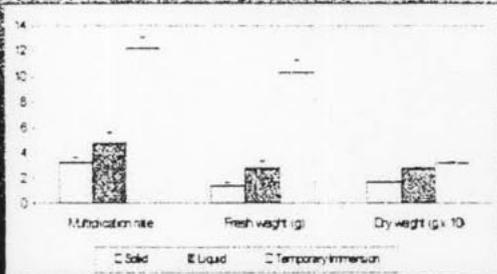
New type of plant container in TIB during Eucalyptus shoots proliferation.

Third generation of temporary immersion bioreactor (CO₂ injection)



TIB designed for CO₂ supply to plant container

Different factors to be evaluated



Different factors to be evaluated

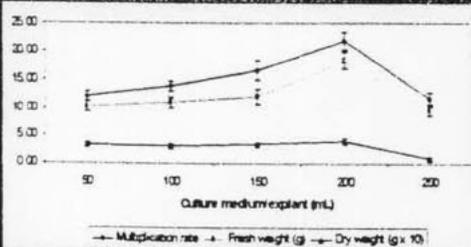
EFFECT OF IMMERSION FREQUENCY AND DURATION ON PINEAPPLE SHOOTING (VAR. SUGAR)

Immersion Frequency	Multiplication rate	Shoot height (cm)	Fresh weight (g)	NA of leaves/shoot	No. of new shoot/shoot
1 h	45.2 b	7.57 c	1.33 c	7.53 b	1.2 a
3 h	28.8 a	10.31 b	5.90 b	11.82 a	0.1 b
5 h	10.6 c	11.99 a	4.82 a	7.60 b	0.2 b
Signification	*	**	**	**	**
SE	2.6	0.76	0.89	0.68	0.012

Different factors to be evaluated

continue

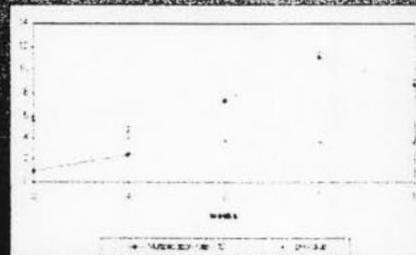
EFFECT OF VOLUME OF CULTURE MEDIUM PER EXPLANT ON PINEAPPLE MULTIPLICATION RATE, AND FRESH AND DRY WEIGHT



Different factors to be evaluated

continue

EFFECT OF PINEAPPLE SHOOTING DURATION ON MULTIPLICATION RATE AND MEDIA pH



Different factors to be evaluated

Wang et al. (2011)

Culture methods	Paclobutrazol (mg L ⁻¹)	Micropropagation %
Conventional micropropagation	0.0	3.9-10.86
	0.5	6.0-10.46
	1.0	11.4-14.63
Temporary immersion	0.0	22.2-4.88
Bioreactor	0.5	37.7-12.12
	1.0	66.8-15.70
Significance		
Interaction CM X FB		**

Summary of micropropagation process using temporary immersion bioreactor

Crops	Crops	Micropropagation	
		Conventional	Temporary Immersion
Apple	Golden Delicious	11	41
	Granny Smith	28	39
Orange	CS-807	21	31
	F 1001-79	31	36
	1700-49	29	30
	222-48	48	51
	CA-72-41	48	53
Guava	Sweet	23	24
	Marula	29	31
Strawberry	Strawberry	22	24
	Strawberry	34	34
Pear	Grand Noble	18	19
Pear	Shanxi 88	15	16
Passiflora	Passiflora	23	23
Passiflora	W. Purple	24	24
	Pink	22	22
Passiflora	Passiflora	21	21
Passiflora	Passiflora	21	21
Passiflora	Passiflora	21	21
Passiflora	Passiflora	21	21

Comparison of proliferation rate achieved by different crops

Summary of pineapple micropropagation using temporary immersion bioreactor.



Ecophysiological parameters

The effect of culture growth condition on the CO₂ level in the headspace of plant containers.

Culture Methods	PPF (mol m ⁻² s ⁻¹)	CO ₂ concentration (mol m ⁻³)			
		t = 0h	t = 1h	t = 2h	t = 3h
Conventional Micropropagation	50	357.6 ± 92.2	622.5 ± 215	1102 ± 197	2051 ± 461
	225	377.9 ± 251.8	1125 ± 185	1617.4 ± 688	2113 ± 225
Temporary Immersion Bioreactor	50	581.8 ± 87.7	525.1 ± 665	2572.1 ± 948	3372 ± 78.4
	225	495.5 ± 32.5	7797 ± 875	10937 ± 575	14171 ± 325

PPF = photosynthetic rate of CO₂ level during more than 1 hour of propagation. t = 0, 1, 2, 3 hours. 225 and 50 are light intensity (PPF) for the 225 and 50 μmol photons m⁻² s⁻¹ respectively. Error bars represent standard deviation (SD) and standard error (SE) of the mean.

Ecophysiological parameters

Effects of culture methods and PPF on ecophysiological parameters (chlorophyll content, oxygen uptake and maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm)) of pineapple shoots at 21 days of culture.

Growth condition	Light intensity (PPF)	Oxygen uptake (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Chlorophyll content (mg g ⁻¹ FW)	Fv/Fm
Conventional Micropropagation	Low PPF	0.211c	5.921c	0.73
	High PPF	0.270c	5.783	0.76
TI	Low PPF	0.430b	6.318c	0.77
	High PPF	0.910a	6.333	0.69

Ecophysiological parameters

Effects of culture methods and PPF on ecophysiological parameters (chlorophyll content, oxygen uptake and maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm)) of pineapple shoots at 21 days of culture.

Growth condition	Light intensity (PPF)	Chlorophyll content (mg g ⁻¹ FW)	Fv/Fm
Conventional Micropropagation	Low PPF	5.921c	0.73
	High PPF	5.783	0.76
TI	Low PPF	6.318c	0.77
	High PPF	6.333	0.69

Conclusions

- Temporary immersion bioreactor is an efficient tool for plant mass propagation because it increases multiplication rate and plant quality, and allows partial automation and reduction of production cost.
- Temporary immersion bioreactors are adequate systems to develop *in vitro* acclimatisation and therefore increase efficiency of micropropagation protocols.
- Temporary immersion bioreactors can be used for production of shoots ready to be transferred for acclimatisation phase and production of shoots for further micropropagation in conventional forms.
- Shoot quality did not depend totally from photosynthesis. Pineapple shoots seemed to use more culture medium nutrients than those from photosynthesis.
- Temporary immersion bioreactor-derived shoots showed a remarkable nutrient uptake indicating a higher mixotrophic metabolism.

Crónica

Señales económicas

Viernes 6 de A

Política

Señales económica

Espectáculos

El Mundo

Deportes

Todas las noticias

— Cubano llega a asesorar el cultivo de la orquídea chilena

Fuente :La Segunda Internet

Como parte de un proyecto de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), un especialista cubano trabajará durante agosto junto al equipo chileno que está tratando de mejorar genéticamente el cultivo de la delicada orquídea chilena.

Desde Cuba proviene el consultor Marcos Antonio Daquinta, ingeniero agrónomo especialista en Producción Vegetal del Centro de Investigación de Biopantallas de la Isla, quien asesorará durante agosto a los investigadores nacionales que desarrollan un proyecto de mejoramiento genético de la Orquídea Chilena del género chloraea, iniciativa que respalda la Fundación para la Innovación Agraria (FIA)

El proyecto se realiza en las Universidades de Talca y Católica de Valparaíso, y busca acortar el tiempo en que la planta tarda en florecer, mediante investigaciones simultáneas a nivel de campo y de laboratorio, para mejorar de manera tradicional y no tradicional el lapso de espera que puede ser de varios años.

El especialista caribeño enseñará a poner en rodaje un sistema de inmersión temporal para las orquídeas en crecimiento, método que permite hacer más eficiente la propagación vía tejidos o semilla in vitro de plantas.

El equipo de profesionales chileno está compuesto por Gabriela Verdugo y Mauricio Cisternas de la Universidad Católica de Valparaíso; Enrique González, Ariel Salvatierra, María Paz Jofré, Karla Quiroz y Ximena Calderón de la Universidad de Talca y Enrique Matthei, del Fundos "Los Ríos de Yahuiló" de Yumbel, quienes ya comenzaron a trabajar junto al consultor.

- [Su sitio web](#)
- [Su mail](#)
- [Su pagina de inicio](#)

- [Contáctenos](#)
- [Ayuda](#)
- [Suscripciones](#)
- [Publicidad](#)
- [Mapa del sitio](#)
- [Inicio](#)

```
\n'); } if ( plugin ) { document.writ
```



```
if (!(navigator.appName && navigator.appN  
("Netscape")>=0 && navigator.appVersion  
>=0)) {document.write
```

Manos libres
inalámbrico

Mensajería
E-mail
Calendario
Contactos



"No sólo es de importancia científica, sino económica, pues podríamos obtener un producto mejorado y masificado en forma económicamente conveniente" explica Ximena Calderón, docente e investigadora de la Universidad de Talca y coordinadora del equipo.

Como primera actividad pública en Chile, el especialista cubano dictará una charla técnica sobre "Mejoramiento Biotecnológico de especies ornamentales, forestales y bambúes en Cuba". La actividad está programada para el lunes 9 de agosto en la Universidad de Talca, Campus Lircay, Salón Diego Portales, entre las 15:00 y las 16:00 horas. La participación es sin costo, pero la inscripción previa es obligatoria en el fono 71-200277 o el Email csepulveda@utalca.cl



> [✉ Enviar a un Amigo](#)  [Imprimir](#)

[🔍 Buscar Articulos en la web](#)

Más en menos tiempo

El objetivo del proyecto es generar un híbrido transgénico de orquídea que inicie la pro en un periodo de tiempo que resulte rentable para la producción comercial de flores de Además, se busca establecer un protocolo probado de clonación y producir material gen homogéneo.

De los siete géneros que comprenden a las orquídeas nativas chilenas, el género Chlor más de 100 especies, que en la naturaleza se caracterizan por florecer en forma bianua

Para acortar la floración de la orquídea, los investigadores están evaluando técnicas de agronómico y desarrollando individuos transgénicos.

Genéticamente, la modificación consiste en aislar genes de otras especies que acelera crecimiento y madurez e introducirlos en la orquídea, de manera de obtener la iniciación menor tiempo respecto de lo que sucede en la naturaleza. Uno de los genes transplanta pertenece a la coliflor, y se lo denomina genéricamente como gen de precocidad.

Entre los impactos esperados, se menciona que la producción masiva de plantas permit producto a menor costo que se espera comercializar en el mercado nacional e internaci como disponer de un método que asegure alta tasa de propagación y su conservación (la flora nativa chilena.

De la hibridación de orquídeas tropicales ha brotado toda una industria, donde un solo € nuevo híbrido puede llegar a costar 75 mil dólares.

Especialista Cubano

El equipo chileno explica que una ventaja del especialista cubano es que está formado con sus propias manos", factor que abarata los costos de construcción del sistema de ir temporal ya que utiliza los recursos disponibles, con un costo aproximado de un décimo cobran los proveedores de equipos para los mismos resultados.

El consultor llega a Chile para prestar asesoría de montaje y explotación de los sistema (inmersión temporal), y en el diseño y realización de experimentos para la propagación en sistemas de inmersión temporal.

En el Centro de Bioplasmas de Cuba, donde se desempeña profesionalmente, se trabaja

con estas técnicas en cultivos como los de la caña de azúcar, papa, piña y banana, y que ha sido permitido exportar estos productos a empresas de otros países, así como patentar algunos de ellos.

El consultor es autor de varias publicaciones sobre el tema. Ha realizado asesorías de micropropagación en diferentes países como Hungría, México, Brasil o España y ha sido parte de dos proyectos de inmersión temporal.

En el marco del proyecto, el objetivo de la visita del especialista cubano es desarrollar una metodología avanzada y eficiente para establecer protocolos de producción que permitan a futuro la comercialización a bajo costo plantas de orquídea y la futura transferencia tecnológica a las instituciones, propósito que la charla del lunes cumple en su primera etapa.



Periodo de trabajo. 2 de agosto al 28 de agosto del 2004.

Se impartió una charla sobre Manejo biotecnológico de especies ornamentales, forestales y bambúes en Cuba, en la Universidad de Talca y otra charla sobre Propagación de plantas en sistemas de inmersión temporal en la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso.

Durante la estancia se trabajó en el montaje de un estante de inmersión temporal, en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Talca, para ello se hizo un estudio en las ferreterías de Talca para la compra de los materiales necesarios, siempre buscando los materiales más económicos. Después de adquiridos los materiales se procedió a la construcción del sistema de inmersión temporal con ayuda del personal especializado de la Ferretería Ferrital.

Por otra parte se ordenó la compra de las mangueras de silicona y filtros a suministradores de equipos y materiales de laboratorio de Santiago. Para los sistemas se utilizaron frascos de vidrio disponibles en el mercado, con la construcción de estos sistemas de inmersión temporal se logró un ahorro considerable con respecto a los sistemas RITA que se encuentran en el mercado internacional.

Se participó en el diseño de experimentos con los sistemas de inmersión temporal para la multiplicación de *Chloraea*, aquí se propuso trabajar con tres frecuencias de inmersión temporal, con tres medios de cultivos diferentes con la inclusión del Paclobutrazol y con tres explantes distintos. A partir de estos ensayos se determinará la frecuencia de inmersión mejor para la multiplicación de las *Chloraea*, además de conocer si el Paclobutrazol tiene un efecto sinérgico con las citoquininas en la multiplicación como sucede en otras plantas.

Con los sistemas de inmersión temporal se espera incrementar las tasas de multiplicación con respecto a los coeficientes de multiplicación que se tienen en los métodos convencionales, debido a las ventajas que presenta esta técnica. Esta forma de cultivo permite un mayor intercambio gaseoso en los frascos de cultivo, una mayor absorción de nutrientes por los explantes al estar en completo contacto con el medio de cultivo, además



de disminuir los costos de producción al permitir la producción de una mayor cantidad de plantas por tiempo y espacio en el laboratorio.

Para trabajar en estos sistemas es necesario contar con explantes que se encuentren completamente sanos, por lo que se recomendó el testaje de los explantes antes de su inoculación en dichos sistemas en medios de cultivo enriquecidos con peptona y extracto de levadura, antes de su inoculación en los sistemas de inmersión temporal.

Esta es una nueva técnica de cultivo, la cual implica determinados cuidados a la hora de trabajar, por tratarse de frascos de mayor capacidad a los que se utilizan en el método convencional, y con una sistema de oxigenación que favorece el crecimiento acelerado de bacterias si los tejidos están contaminados, por lo que se hicieron algunas recomendaciones pertinentes. Por otra parte se debe tener en cuenta la completa hermeticidad de los frascos, ya que de presentarse mínimas fugas, el sistema no funcionaría.

Se trabajó en el mantenimiento general de los prefiltros y de los filtros HEPA de las cabinas de flujo laminar, también, en conjunto con la gente del laboratorio cultivo de tejidos, se fabricaron prefiltros nuevos para las cabinas. Se crearon facilidades para el trabajo con los sistemas de inmersión temporal, como son cestas metálicas para la esterilización de dichos sistemas, lo que facilita la esterilización en la autoclave sin tener que manipular los sistemas individualmente.

Se participó en un trabajo de campo en Yumbel, aquí se ayudó en la selección y colecta de plantas jóvenes en el bosque para trabajos de maceteros, así como en la selección de plantas adultas para futuros trabajos de caracterización bioquímica y nutricional de los rizomas y follaje (actividades del lab cultivo de tejidos vegetales).

10. Aspectos Administrativos

10.1. Organización antes de la llegada del consultor

a. Conformación del grupo proponente

___ muy dificultosa ___X___ sin problemas ___ algunas dificultades



(Indicar los motivos en caso de dificultades)

b. Apoyo de la Entidad Responsable

___ bueno X regular ___ malo

(Justificar) Aunque el contrato fue firmado y autorizado por el Rector, el Director del IBVB se opuso a proporcionar la totalidad de los montos comprometidos por la U. Talca y el Coordinador de la actividad tuvo que acceder a otra fuente para financiar el aporte comprometido.

c. Trámites de viaje del consultor (visa, pasajes, otros)

X bueno ___ regular ___ malo

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

Que exista mayor apoyo a la gestión de los investigadores que con tanto esfuerzo y dedicación sacan adelante los objetivos de sus proyectos.

10.2. Organización durante la consultoría (indicar con cruces)

Ítem	Bueno	Regular	Malo
Recepción del consultor en el país o región	X		
Transporte aeropuerto/hotel y viceversa	X		
Reserva en hoteles	X		
Cumplimiento del programa y horarios	X		
Atención en lugares visitados	X		
Intérpretes	No fue necesario		

En caso de existir un ítem Malo o Regular, señalar los problemas enfrentados durante el desarrollo de la consultoría, la forma como fueron abordados y las sugerencias que puedan aportar a mejorar los aspectos organizacionales de otras consultorías.

11. Evaluación del consultor: la contraparte nacional (grupo proponente) debe realizar una evaluación del consultor en términos de si constituyó un real aporte al conocimiento del rubro o tema de la propuesta en Chile (región). Evaluar su calidad profesional y técnica y su capacidad de interacción con los agentes del sector.



Aporte al conocimiento del rubro o tema de la propuesta en Chile (región).

El aporte fue inmediato al presentar su primera charla a un numeroso público en la Universidad de Talca. Los estudiantes de pregrado que asistieron dijeron haber escuchado información totalmente novedosa para ellos. Parte de la charla consideró la producción de bambúes *in vitro*, lo que nos motivó a invitar profesionales ligados a este cultivo. Producto de esta interacción estamos en la fase concretar ideas para presentar un proyecto de cooperación internacional u otro donde interaccionemos con sus instituciones. En esta iniciativa hemos contactado a un agricultor y consideraremos la inmersión temporal como parte de las actividades a desarrollar en dicho proyecto.

El particular estilo del consultor, persona muy sencilla y entusiasta que resuelve problemas con gran simpleza, fue un componente importante para que los estudiantes se sintieran motivados a acercarse con posterioridad al laboratorio.

En el desarrollo de actividades para las cuales fue consultado tuvimos una gran interacción, integración y dinámica desde el comienzo, situación que nos llevó a buscar en forma ordenada y coordinada los implementos en Talca para comenzar a su instalación y no tuvimos que viajar a Santiago a recorrer distantes ferreterías como ocurrió a otros que nos precedieron en esta técnica en Chile. Mientras fuimos realizando estas actividades pude entender y conocer con detalle el funcionamiento e instalación del sistema. Esto indica que la transferencia tecnológica comenzó directamente a nivel de la coordinación del proyecto.

Aunque la técnica que vino a implementar el consultor está funcionando tanto en INIA como en HORTIFRUT, quien suscribe nunca pudo aprovechar esa tecnología ni acceder a ella con anterioridad. Los resultados parciales informados por ellos en una actividad de difusión no se pudieron ahondar para aprovechar el sistema. Esto indica que las experiencias experimentales son necesariamente personales. En este aspecto creo que FIA debiera sugerir la solidaridad del conocimiento adquirido con sus fondos, entre las instituciones.

En consecuencia el aporte del consultor a la implementación de una nueva tecnología fue para nosotros de un 100%, puesto que junto a mi equipo técnico pudimos desarrollar el sistema de inmersión temporal con todos los detalles que implica su funcionamiento.

Evaluación de la calidad profesional y técnica y capacidad de interacción con los agentes del sector.

El consultor demostró una gran capacidad para establecer contactos con las personas que le interesaban e incluso una de las visitas realizadas a la empresa Vitrocenter en Casa Blanca y no programadas en esta actividad, sin afectar los costos del proyecto, fue propuesta por él. El beneficio que significó para el proyecto fue un nexo para las futuras exportaciones de la(s) variedad (es) que se genere (n) en el proyecto de mejoramiento genético de Chloraeas.

Respecto al desarrollo de las actividades programadas en esta consultoría y su operatividad:

En todas las ferreterías visitadas en Talca encontrábamos partes de lo buscado y fue en la última que visitamos que, aunque no tenía todo, tenía la capacidad de saber vender y



asesorar al cliente. Contamos tanto para la compra como para la instalación, con la asesoría del ingeniero eléctrico de dicha empresa. Solicitó internamente las piezas faltantes a locales de Santiago, situación que tomó casi dos semanas y media. Esta situación retrasó las actividades programadas en forma considerable.

Por consiguiente la evaluación del sistema puesto en marcha se está haciendo posterior a la consultoría. El afán de ahorrar del consultor significó instalar frascos de vidrio con tapas metálicas que se perforaron y traspasaron con mangueras de silicona. Esto trajo el inconveniente que al autoclavar las mangueras se dilatan, se ahorcan y por consiguiente muchos de los sistemas fallan en su condición de esterilidad y presión. Esto ha significado que todos, excepto un sistema, se contaminaron. Aquel que no se contaminó, sin embargo, muestra un crecimiento y multiplicación evidentes. Continuamos montando ensayos con los sistemas que no están dañados, que son una mayoría. Al mismo tiempo, por consejo del consultor, estoy comprando fitting para conectar las mangueras en las tapas y así evitar el problema mencionado y botellas plásticas autoclavables.

12. Informe del Consultor: anexar un informe realizado por el consultor, con las apreciaciones del rubro en Chile (región), sus perspectivas y recomendaciones concretas para la modernización o mejoramiento de éste en el país y/o a nivel local.

En Chile se ve un desarrollo promisorio de la multiplicación masiva, puesto que ya hay tres instituciones que cuentan con el sistema: INIA, HORTIFRUT y Universidad de Talca. En los dos primeros esta técnica se ha estado evaluando en un proyecto FIA que termina este año. Sus resultados parciales señalan claramente que esta, como toda técnica, debe ser precisada por especie, protocolos que toman uno a dos años desarrollar.

Extrapolando a la Universidad de Talca, que recién comienza con la técnica (Foto 10), debiera, a finales del proyecto estar en condiciones de ofrecer un producto masificado en su proyecto de mejoramiento genético.

13. Conclusiones Finales

La Universidad de Talca tiene ahora un sistema de inmersión temporal cuyo funcionamiento deberá ser optimizado para lograr cultivos axénicos (libres de patógenos). Considerando que el tiempo de la estadía fue de un mes, nos enfrentamos a un "gasto" de tiempo para adquirir las partes del sistema a instalar, que nos significó la imposibilidad de evaluar en forma concienzuda el funcionamiento del sistema. La última semana solamente se pudo trabajar en esto y definitivamente no fue suficiente. Yo diría que se requiere de una segunda etapa netamente experimental. El sistema es simple, pero se requiere de experiencia para reconocer sus fallas y como resolver lo que se presenta.

Uno de los inconvenientes en el sistema instalado es la falta de fittings de conexión entre las gomas de silicona. Por ahorrar recursos, el consultor conectó directamente las mangueras a las tapas. Al sacar los frascos del autoclave éstas se ahorcan, perdiéndose en algunos frascos, la capacidad para hacer vacío y para mantener la esterilidad. En el presente esto significa comprar fittings, botellas plásticas autoclavables y más mangueras de silicona autoclavable, que felizmente podremos comprar con el presupuesto asignado en el proyecto de mejoramiento genético.



Fecha: 28 de Septiembre de 2004

Nombre y Firma coordinador de la ejecución: Ximena Calderón Baltierra

AÑO 2004



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN DE LA CONSULTORÍA

FECHA: 09 de Agosto

Nombre	Actividad	Institución o Empresa
Gian Carlo Rivano D	Estudiante	U. TALCA
Teresa Romero	Profesor	Col. Montessori
Claudio Olivares	Estudiante	UTAL
Luis Lefebvre G.	Estudiante	Universidad de Talca
José Penar R	Prof	UTALCA
Cristián Zamora Abarca	Estudiante	UTALCA
Angel Salvatierra Castro		UTALCA
ENRIQUE GONZALEZ	Profesor	UTALCA
BASILIO CARRASCO	ESTUDIANTE PG	UTAL
Karla Quiroz	Abogada	UTALCA
Mauricio José V	Biología	UTALCA



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN DE LA CONSULTORÍA

FECHA: 09 de Agosto

Nombre	Actividad	Institución o Empresa
Francisco Heronzo	Estudiante	UTAL
José Carrasco	Estudiante	UTAL
Mauricio UGA	ESTUDIANTES	UTAL
CHRISTIAN RAMOS	ESTUDIANTE	U. TAL
JAVIER VALDÉS	ESTUDIANTE	U. TAL
Roberto Gutra Guzmán	Estudiante	Grupo Montessori
Paulina Montalba Solari	Estudiante	Colegio Montessori
Diego Rojas	Estudiante	Colegio Montessori
Zamira Rendón Rendón	estudiante	UTAL
Gonzalo Pachao A.	Estudiante	UTAL



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN DE LA CONSULTORÍA

FECHA: 9.8.04

Nombre	Actividad	Institución o Empresa
Cecilia Sore F.	Asesora Técnica	Vivero Río Tijeras
Felipe Quintero B.	Ing. Forestal	Utal
Roberto Herrera S.	Ing. forestal	utal
Felipe Gómez O.	Estudiante	UTAL
Rodrigo Medina C.	Estudiante	UTAL
Roberto Rojas Mota	Estudiante	utal
Ortiz Villalobos A.	Estudiante	UTAL
Felipe Riquelme	Estudiante	UTAL
Rodrigo Cerecote P.	Estudiante	UTAL
Anja George	Ing. Hort.	Vivero Río Tijeras
Steffen Hahn	Botánico	Utal - Jardín Botánico



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN DE LA CONSULTORÍA

FECHA: 09 de Agosto

Nombre	Actividad	Institución o Empresa
DAZ MENDOZA QUETANA	ING. FORESTAL	CUENCA TALENTEPO
Mauricio Cisternas	Abstracción	U. C. V
LEONARDO VEGA	ING. FORESTAL	UTAL
Rodrigo M. Valdés Pineda	Ing. Forestal	UTAL
José Luis López Heredia	Ing. Forestal	UTAL
Gerardo Bustos Muñoz	Ing. Forestal	UTAL
Petrino Peñalillo	Inst. Biol. Neg. Biol.	UTAL CA
PETER CALGARI	" " "	" "
Ally Veldname	Alumno UTAL	UTALCA
VERONA VICO	ING AGRONOMO	UTALCA
Camila Calderón	Docente / Investigadora	U. de Talca



ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN DE LA CONSULTORÍA

FECHA: Talca
09 de Agosto de 2004

Nombre	Actividad	Institución o Empresa
Alejandra Agosto	ESTUDIANTE/FORESTAL	UTAL
Roberto Fuentes	ESTUDIANTES/ING FOR	UTAL
Jorge Campos R	Ing Forestal	Fundación Chile
José Luis J.	Agricultor	Orcadas Chile
Gonzalo Lino Jero	Agricultor	Guadalupe Chile
Carlos Kihlen	Ing. Forestal	Fundación Chile
Albert Boronat	Profesor	Universidad de Barcelona
Rubén D. Almada	Estudiante	UTALCA
Aurora Marín	Estudiante	UTALCA
María José Avila O	Ing. Forestal	UTAL.
Pamela Rojas Bañados	T.R	UTAL
Paula Esquivel O	Estudiante	UTAL
Pablo Bravo M.	estudiante/Forestal	U. tal

DIFUSION UNIV. CATELICA VALPARAISO - ELILLOTA



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACION PARA LA
INNOVACION AGRARIA

Fecha: 27-Agosto

Nombre	Institución
Mónica Mesas U.	Huerto California
Claudia Fuentesvilla S.	—
Gonzalo Gallardo M.	AGRO BELIN.
Isabel Vallejos	UCV
Claudia Fassio	PUCV
Miriam Montecino	PUCV
Nicole Danouy.	PUCV.
Mariano Oseguera	PUCV
Manuel Oval	UMB-GONE
Mónica Castro U.	PUCV.
Gonzalo Verdugo	PUCV