

Informe Técnico Final Complementario

Nombre Proyecto: **Mejoramiento de la técnica de propagación in vitro para producción comercial de planta nativa chilena *Leucocoryne*.**

Fecha: **30 noviembre 2018**

Código Proyecto: **PYT-2012-0079**

Ejecutor: **Mansur Agricultural Service Ltda.**

Autor: **Levi Mansur Vergara**

OFICINA DE PARTES 2 FIA	
RECEPCIONADO	
Fecha	14.DIC.2018
Hora	14:16
No Ingreso	53712



OBJETIVO ESPECIFICO N° 4. PRODUCIR, A ESCALA PILOTO, BULBOS FLORALES DE CLONES SELECCIONADOS USANDO LA TÉCNICA DE CULTIVO IN VITRO.

En líneas generales la metodología utilizada correspondió a lo descrito en la propuesta original. Al cierre del informe técnico final (31/12/2015), se avanzó en identificar los clones que serían utilizados en la producción a escala piloto y en identificar el laboratorio que prestará el servicio que corresponde a Sone Mericrom Research Laboratory S.A. del Grupo Hijueltas (SMRL-Grupo Hijueltas) (SONE ahora en adelante). Se seleccionaron los siguientes clones E402, E526, E527, E539, E607, y E633 por sus cualidades como flor de corte, macetero o jardín, para que la empresa los produjera in vitro. A SONE se le proporcionó suficiente material para la iniciación. SONE efectuó dos entregas masivas de bulbos.

ACLIMATACIÓN, PLANTACIÓN Y COSECHA DE PRIMERA ENTREGA DE BULBOS IN VITRO

El proceso de aclimatación consistió en colocar los 1279 potes conteniendo aproximadamente 15 bulbitos cada uno, en cámara para su reposo, a una temperatura entre 22-25°C el día 21 de abril de 2018. Para lograr que los bulbos se endurecieran durante el periodo de aclimatación y reposo, es decir que desarrollaran catáfilas y que además se secase el medio de propagación, se procedió, previo a almacenarlos en cámara, bajo condiciones asépticas, a perforar la tapa de los potes y sellarlos con cinta Millipore 3M. Esta cinta permite, según la experta Ximena Fernández de la empresa SONE, la circulación de aire, pero no de microbios. A pesar de esto al cabo de dos meses en cámara ya hubo bulbos que comenzaron a mostrar síntomas de contaminación con bacterias y hongos. Aproximadamente 90 días después del ingreso a cámara los primeros bulbos comenzaron a brotar y se consideró que estaban inducidos y prontos para ser trasplantados al invernadero.

Se usó cuatro metros cúbicos de arena previamente esterilizada en la Estación Experimental de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso para preparar las cajas para el trasplante de los bulbos en el invernadero del programa de mejoramiento genético

del *Leucocoryne* en la Facultad de Agronomía de la PUCV. Se usó arena en desmedro de otros sustratos porque es el óptimo para bulbos de *Leucocoryne*. La densidad de plantación fue de 250 bulbitos/m².

La plantación se hizo el día 31 de Julio de 2018 con temperaturas que favorecen el crecimiento de los bulbos en su entorno natural. Al plantar, se notó que, a pesar de todos los cuidados, al menos 85% de los bulbos ya estaban con algún nivel de contaminación principalmente por bacterias, pero hongos también. No se sabe si la cinta Millipore 3M no fue una barrera eficaz a las bacterias o estas eran endógenas en los bulbos y se multiplicaron durante el largo tiempo de receso que permanecieron en cámara. Es preciso señalar que la temperatura óptima para el receso del *Leucocoryne* (22-25°C) es también óptima para la multiplicación de bacterias y hongos. Es probable que el tratar de lograr bulbos de mayor tamaño haya sido perjudicial ya que esto expone los bulbos a más transfers de medio y por ende aumenta la probabilidad de contaminación endógena.

La brotación de los bulbos fue dispareja y comenzó tres semanas después de la plantación durando aproximadamente 30 días. La cosecha de bulbos se terminó el 19 de noviembre de 2018 y fue un tremendo golpe a todo nuestro esfuerzo ya que solo se logró 154 bulbos de E402 (8.2%) y 330 bulbos de E527 (1.9%). Esta es sin embargo la primera experiencia de propagación in vitro con aclimatación y logro de bulbos de *Leucocoryne* en Chile. Estos bulbos están almacenados en cámara a una temperatura de 18-20°C en maceteros con arena para impedir que se des sequen. Se estarán monitoreando y esperaremos hasta que se empiecen a brotar para plantarlos y obtener bulbos de tamaño floral.

ACLIMATACIÓN, PLANTACIÓN DE SEGUNDA ENTREGA DE BULBOS IN VITRO

SONE hizo entrega de la última partida de bulbitos in vitro el día 26 de noviembre que incluye más genotipos fuera del E402 y E527 como lo son E526 (2240 bulbitos), E539 (890 bulbitos), E607 (440) y E633 (570). Los bulbos permanecerán en potes con medio de cultivo hasta dos semanas más cuando los pondremos en cámara, pero esta vez se probará un método distinto de aclimatación. Este método consiste en sacar los bulbitos de los potes con el medio de cultivo, lavarlos y dejarlos secarse en mallas a una temperatura de 20°C por dos semanas para que desarrollen catáfilas. Acto seguido se colocarán en maceteros cubiertos con arena para evitar que se des sequen y se colocaran en cámara a una temperatura más fría 18-20°C. Se pretende con esto evitar la proliferación de hongos durante su receso y obtener una mayor cantidad de bulbos sanos para trasplantar. Se hará monitoreo de la presencia de bacterias y hongos de los bulbos a los 30, 45, 60, 75 y 90 días de permanencia en cámara. Cuando se noten signos de brotación se prepararán cajas con arena para trasplante a invernadero. Esperamos que, con este método, en que los bulbitos estarán con un mínimo de humedad, se evite el crecimiento de patógenos y al taparlos con arena como ocurre en su medio natural, se evite su deshidratación.

Otro inconveniente que se presentó con los *Leucocoryne* es su baja tasa de propagación in vitro que no supero 1,4 y promedió 1,2.

En conclusión, la técnica no es adecuada para el escalamiento comercial del género *Leucocoryne*.