



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org

20018

32A

ilko

PROGRAMA REGIONAL DE BIOTECNOLOGIA PARA AMERICA
LATINA Y EL CARIBE DP/RLA/83/003

RESISTANCE TO VIROSIS IN POTATO: DEVELOPMENT OF PLANTS BEARING
RESISTANCE TO POTATO VIRUS PVX, PVY AND PVS BY COMBINED
MOLECULAR AND IN VITRO CULTURE TECHNIQUES*

INFORME FINAL

CONTRATO No. 88/66
Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile

INFORME DE AVANCE PROYECTO "RESISTANCE TO VIROSIS IN POTATO.
DEVELOPMENT OF POTATO PLANTS BEARING RESISTANCE TO POTATO
VIRUS PVX, PVY AND PLRV BY COMBINED MOLECULAR AND IN VITRO
PLANT CULTURE TECHNIQUES"

ONUUDI PROJECT "REGIONAL PROGRAMME OF BIOTECHNOLOGY FOR LATIN
AMERICA AND THE CARIBBEAN"

DR. MIGUEL JORDAN, CONTRACT N° 88/66

LABORATORIO DE BOTANICA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
CASILLA 114-D
FAX: 2225515
SANTIAGO
CHILE

A: COORDINADOR TÉCNICO, DR. RODOLFO QUINTERO/ONUUDI, PRESIDENTE
MASARYK 20-14° PISO, COL. POLANCO, 11570, MÉXICO

CC: INGRID TORVALL, OFICINA DE ENLACE PNUD CEPAL, STGO.
HORACIO ESTEBAN HOPP, COORDINADOR PROYECTO, BUENOS AIRES,
ARGENTINA.
MARCELA MILLAN, CONICYT, STGO.

NOVIEMBRE 1989

AAA TAREAS A REALIZAR: en los 2 últimos informes del 24 de Enero y 22 de Junio se describen actividades programadas y desarrolladas en esos períodos, así como los logros hasta esas fechas. De acuerdo a dichos resultados y el desarrollo del programa a futuro, correspondería realizar las siguientes tareas:

1) Experimentos de Micropropagación

- a) Definidas las condiciones de cultivo, niveles hormonales y fitohormonas específicas que permiten la obtención de plantas a partir de explantes de hoja mediante embriogénesis somática/u organogénesis caulinar directa, sería de conveniencia ensayar dichos tratamientos en diferentes clones para contar con mayor número de plántulas para realizar comparaciones electroforéticas.
- b) Promover respuestas regenerativas a partir de hojas en presencia de diferentes agentes mutagénicos químicos in cluyendo luz UV.
- c) Mejorar condiciones de cultivo para acelerar crecimiento, formación de microcallo y organogénesis a partir de células. Informes recientes de la literatura (Hunt & Helgeson, 1989) indican la conveniencia de usar medios desprovistos de NH_4NO_3 , incrementar 4x KH_2PO_4 , e incluir hidrolizado de caseína y suero de albúmina de bovino en suspensiones celulares de papa. Se ensayará también la potencialidad embriogénica a partir de suspensiones celulares en agitación continua.
- d) En el supuesto que las nuevas condiciones permitan un rápido crecimiento y embriogénesis a partir de células individuales, se aplicarán mutágenos (semejante al punto b).
- e) Masificar el material in vitro, en especial aquel que parezca más interesante/valioso.
- f) Realizar pruebas electroforéticas para evaluar parámetros de plantas derivadas por embriogénesis/organogénesis in

- g) Propagación del material y establecimiento en vivero; posible detección de variaciones.
- 2) Entrenamiento en un curso de Ingeniería Genética en Argentina a ser dictados durante 1990, el cual no se realizó en 1989.
- 3) Visita de asesoramiento a Ecuador; ésta visita había sido igualmente programada pero no se efectuó por causas ajenas a nuestra voluntad.

BBB DETALLE INSUMOS APORTADOS

El detalle de insumos (montos y fecha) está anexado en este informe, más adelante en forma separada. En términos de aplicación, se concretó la compra de la agitadora orbital, el equipo de electroforesis y la microcentrifuga Eppendorf. Todos estos equipos están ya instalados en nuestro Laboratorio. Los insumos se repartieron en la adquisición de materiales, para medios de cultivo, reactivos de electroforesis y otros compuestos, todos de marca "Sigma". Los viajes a EE.UU. y contactos con el Laboratorio del Prof. Helgeson, Madison; DNA Plant Corporation N. Jersey y Oakland así como al CIP, (Lima, Perú) nos ayudaron a obtener importante información sobre condiciones de cultivo y requerimientos y respuestas en papas. Las visitas a Valdivia (Univ. Austral, Lab. del Dr. A. Contreras) nos permitió disponer del material vegetal con el que actualmente estamos trabajando en gran parte de los ensayos.

CCC DESCRIPCION TRABAJOS REALIZADOS

(El detalle fue resumido en los últimos 2 informes del 24 de Enero y 22 de Junio respectivamente, logros posteriores se indican aquí:

- 1) Regeneración de plantas a partir de hojas. Diferentes clones (1079, 1005, 1200) regeneran plantas completas a partir

de secciones de hojas adultas por embriogénesis directa/ organogénesis directa (sin mediar callo) a partir de unos 40 días de iniciados los cultivos. Más de 15 plántulas se obtienen por cada sección, todas con posible expresión de variación somaclonal, como indica la literatura. Los medios y/o condicionantes son Murashige & Skoog (1962) con 0,02 mg/l de AIA y 2,5 mg/l de zeatina. La adición de 1mg/l de AG_3 (el cual se reduce en 90% de concentración efectiva por autoclavado) no parece provocar mayor crecimiento o diferencias en respuestas regenerativas (Fig.1).

2) Formación de microcallo y callo a partir de células.

Se tienen condiciones de crecimiento para células de papa del cv. "Romano" y otros en desarrollo aunque no todavía regeneración a plántulas. Las colonias se cultivan en MS vit. mod. con 1 mg/l de 2,4-D, 40 mg/l de adenina y diferentes concentraciones de citocininas (BA 0.1-0.5 mg/l). Actualmente hay formación de microcallos ($\pm 1mm^3$) a partir de colonias del cv. Romano que bajo nuestras condiciones se tornaron de color café, lo cual en papa no constituye un problema en términos morfogénicos (Tovar, com. pers.) Al subcultivar estos en otro medio (MS vir. mod. con AIA 0.1 mg/l y BA 1.0mg/l se forma callo de color verde de aspecto organogénico, al cabo de 5 meses. (Fig. 3).

Como se mencionó, dada la lentitud de estas colonias en crecer, se ha revisado totalmente este medio, modificándolo; en algunos casos también se están probando co-cultivos con callo nodriza de diferente origen lo cual podría condicionar la morfogénesis en papa. (Fig. 2).

3) Inducción de brotes en callo de diferente origen.

Los cultivos más idóneos son los ápices caulinares que en presencia de 1 mg/l de ANA, pueden formar callo.

Si este callo se subcultiva en MS vit. mod. con ANA/BA 1.0 y 2.0 mg/l respectivamente o 2.0/2.0 mg/l se forman raíces en muchos casos. El mismo callo forma brotes si se cultiva en ANA 0.1 mg/l BA 5 mg/l después de 3 meses.

- 4) Regeneración a plántulas. El medio J (Jordán y Apablaza, 1981) con ANA 0.3 mg/l, BA 1.0 mg/l y GA₃ 0.01 mg/l) permite formación de raíces al cabo de 10 días y condiciona un buen crecimiento simultáneo de: a) brotes derivados de callo multiorigen y de: b) brotes y/o plántulas que nacen de secciones de hojas. (Aspectos de los resultados anteriores se visualizan en la Fig.4).

DDD DIFICULTADES

Han habido demoras en la llegada del equipo de electroforesis y su funcionamiento puesto que presentó defectos técnicos desde fábrica. Este problema está resuelto y dado que se cuenta con todos los elementos fungibles se empezará el trabajo electroforético próximamente.

Otras dificultades están referidas al cultivo celular de papas directamente. Hemos notado siempre, aun en diferentes condiciones de cultivo y de fitohormonas, un crecimiento lento y que no se debe a una escasa densidad de plaqueo. Aunque tengamos subcultivos de colonias que han generado callo verde de buen aspecto (y que aparentemente, podrían organizar brotes súbitamente) lo real es que este callo a diferencia del generado por un tejido cualinar, es más recalcitrante (respuestas semejantes de escasa organogénesis fue compartida con colegas del CIP en Lima). Pudiera ser que el cv. "Romano" fuese especialmente difícil en crecer, como también se informa en la literatura, pero ensayos con células de otros clones, aún no indican mayores respuestas. Como se mencionó se han iniciado experimentos con diferentes condicionantes

que incluyen cambios del medio basal, hormonas y addendas orgánicas, aparte de nuevos ensayos con tejidos nodriza para subsanar este problema.

EEE COMENTARIOS GENERALES

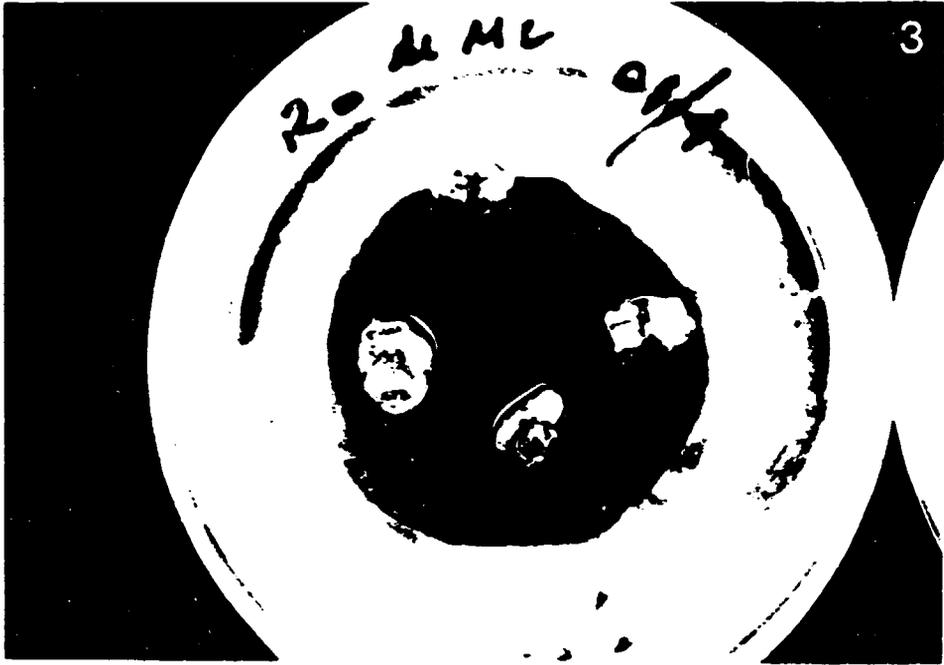
Sería altamente conveniente poder recibir información de los resultados y/o avances que se van desarrollando en los diferentes laboratorios. Parecería necesario tener una reunión global entre los participantes del proyecto en alguna próxima oportunidad.

1



2





INFORME TECNICO PROYECTO "RESISTANCE TO VIROSIS IN POTATO:
DEVELOPMENT OF POTATO PLANTS BEARING RESISTANCE TO POTATO
VIRUS PVX, PVY AND PLRV BY COMBINED MOLECULAR AND IN VITRO
PLANT CULTURE TECHNIQUES"

ONUDI PROJECT "REGIONAL PROGRAMME OF BIOTECHNOLOGY FOR
LATIN AMERICA AND THE CARIBBEAN"

DR. MIGUEL JORDAN, CONTRACT N° 88/66 - 2do. INFORME

Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas,
P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D
Fax: 2225515, Santiago, Chile.

A: COORDINADOR TECNICO, DR. RODOLFO QUINTERO/ONUDI,
PRESIDENTE MASARYK 20-14° PISO, COL. PCLANCO, 11570,
MEXICO.

C.C: - HORACIO ESTEBAN HOPF; Coordinador Proyecto. B.
Aires, Argentina.
- RENAN FUENTEALBA; Oficina de Enlace PNUD-CEPAL,
Santiago.
- MARCELA MILLAN, CONICYT, Santiago

JUNIO 1989

Informe correspondiente a Julio 1989. Dr. M. Jordán

I.- Experimentos de propagación

Distintos sistemas de regeneración para clones chilenos de papa y el cv. "Romano" se han desarrollado a la fecha. Estos incluyen protocolos para

- 1) Establecimiento de suspensiones
- 2) Crecimiento y organogénesis de microcallos
- 3) Inducción de brotes en callo de diferente origen
- 4) Regeneración de plantas a partir de hoja
- 5) Inducción de raíces en brotes y/o meristemas y
- 6) Crecimiento de plántulas previo trasplante a vitro.

Se ha podido evaluar:

- Condiciones de cultivo (medios y sustratos) para lograr el crecimiento de células, con producción de microcallo.
- Niveles y combinaciones de hormonas que gatillen la organogénesis caulinar y radicular en callo de diferente origen. Dicha información se precisa para inducir posteriormente la organogénesis a partir del "microcallo" derivado de las células en suspensión. Al respecto, dado que las suspensiones no expresan hasta ahora regeneración a través de embriogénesis ni tampoco por organogénesis, se han estado probando diferentes tipos de callo para simular respuestas, después aplicables a "microcallos". En este sentido ya que 2,4-D es aparentemente un promotor del crecimiento de células de papa (Corcuera, com. pers.) queda por evaluar si su presencia o exclusión en los medios infliere sobre la producción de brotes en ambos sistemas respecto a otras hormonas del tipo "auxinas"
- Condiciones que permitan regenerar brotes de diferen

te origen a plantas. Esto es aplicable a 3 modelos a desarrollar:

- a) para brotes potencialmente obtenibles de microcallo y obtenidos por organogénesis caulinar en callos;
 - b) para brotes originados directamente de explantes de hojas
 - c) para la producción de brotes múltiples a partir de tejidos derivados de otros explantes caulinares (Ej. ápices caulinares, secciones nodales).
- Cabe destacar que durante este período se ha visualizado además la producción directa de plántulas a partir de hojas como una fuente rápida de regeneración, la cual omitiría las fases de subcultivo y que proporcionaría variantes somaclonales en alta frecuencia. Al respecto diferentes clones (1005, 1200) han mostrado respuestas promisorias en presencia de zeatina al cabo de 4 semanas. En resumen, a la fecha se cuenta con los siguientes protocolos y resultados:

- 1) Formación de callo: para obtener suspensiones e inducir organogénesis. El callo crece en diferentes medios, la formación de raíces se logra con niveles de ANA/BA 1/2 o 2/2 mg/l; la formación de brotes con ANA/BA 0.1/5 mg/l después de unos 3 o más meses de cultivo, aun cuando el callo puede aparecer de color café. Los Cvs. y clones con los que se han obtenido respuestas positivas son Romano, clones 1031, 1238, 1200, 1149, 1022. Romano formó microtúbulo bajo estas mismas condiciones sin mediar subcultivo.
- 2) Establecimiento de suspensiones celulares: con el cv. Romano se han sembrado/plaqueado células a

partir de callo. A la fecha solo se obtiene "micro callo" con 2,4-D/BA 1/0.1 mg/l. Se espera que este callo crezca más para proceder a la inducción de morfogénesis, siguiendo el protocolo dado en 1).

- 3) Regeneración a plántulas: desde ápices caulinares, brotes inducidos en callo y brotes organizados a partir de hojas. El crecimiento y rizogénesis simultánea de ápices caulinares en diferentes clones se logra con el medio J, ANA/BA/GA₃ (1/0.1/0.01/mg/l; respectivamente) asumiéndose que GA₃ se reduce aún a 1/10 con el proceso de autoclavado. En el cv. Ultimus y otros clones, los brotes formados en callo crecen en buenas condiciones y dan raíces. En el caso de brotes derivados directamente de hojas, también el medio J indicado anteriormente favorece la formación de raíces al cabo de 10 días de subcultivo. La figura 1 muestra las diferentes respuestas en los sistemas de regeneración descritos.

- 4) Regeneración de brotes a partir de hojas. Hemos tenido respuestas muy positivas en los clones 1005 y 1200 usando AIA/Z/GA₃ en concentraciones de 0.02/2.5/lmg/l respectivamente. Esta es la forma más rápida de regeneración y según la literatura también una de las más adecuadas para la búsqueda de variación somaclonal.

II.- Adquisición de equipos: como se había indicado en el informe anterior se ha procedido al trámite de importación de equipos contándose a la fecha con la microcentrífuga "Eppendorf". Una de las partidas de importación de reactivos Sigma se encuentra igualmente en el Laboratorio, mientras una segunda compra ya arribó a Santiago.

III.- Entrenamiento externo en "variación somaclonal". A partir de marzo de este año se concretaron 2 visitas; una a EE.UU. y la otra a Lima, Perú. En EE.UU. se visitó el Laboratorio del Prof. Helgeson de la Universidad de Wisconsin en Madison. Igualmente se tuvo contacto con la Dra. Adams del "Biotron" del mismo lugar. Posteriormente se contactó al grupo de científicos de DNA-Plant Corp. en N. Jersey en especial al Dr. Maro Sondahl como también al Dr. Hugo Dooner de la misma empresa en Oakland , cercana a San Francisco. Con este mismo propósito se visitó a investigadores del Centro Internacional de la Papa (CIP) en Lima, Perú contactando al Dr. Primo Accatino, al Dr. Nelson Espinoza, John Dodds y Pilar Tobar.

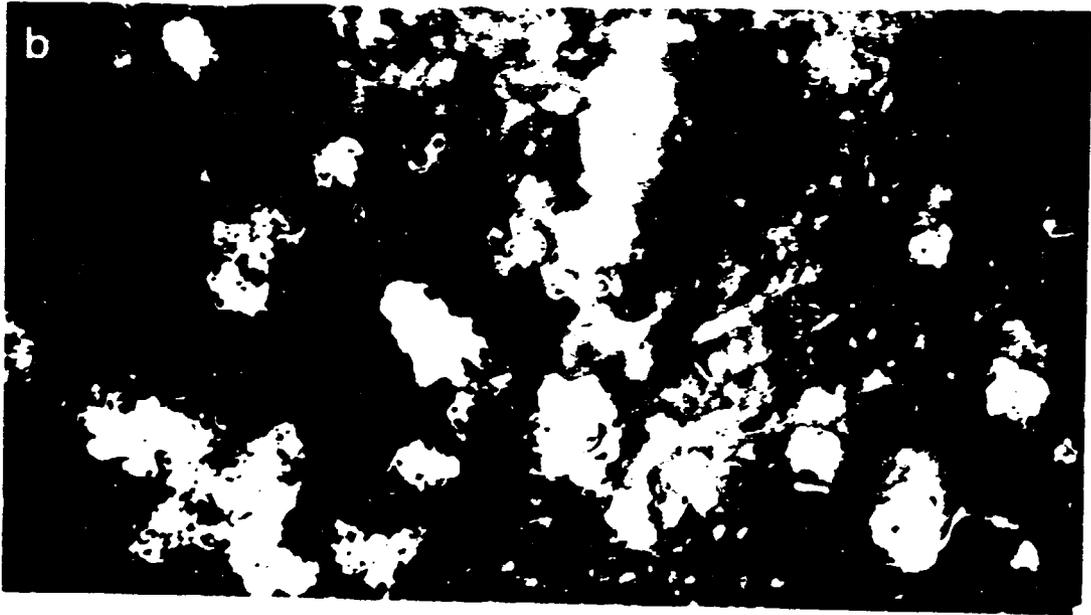
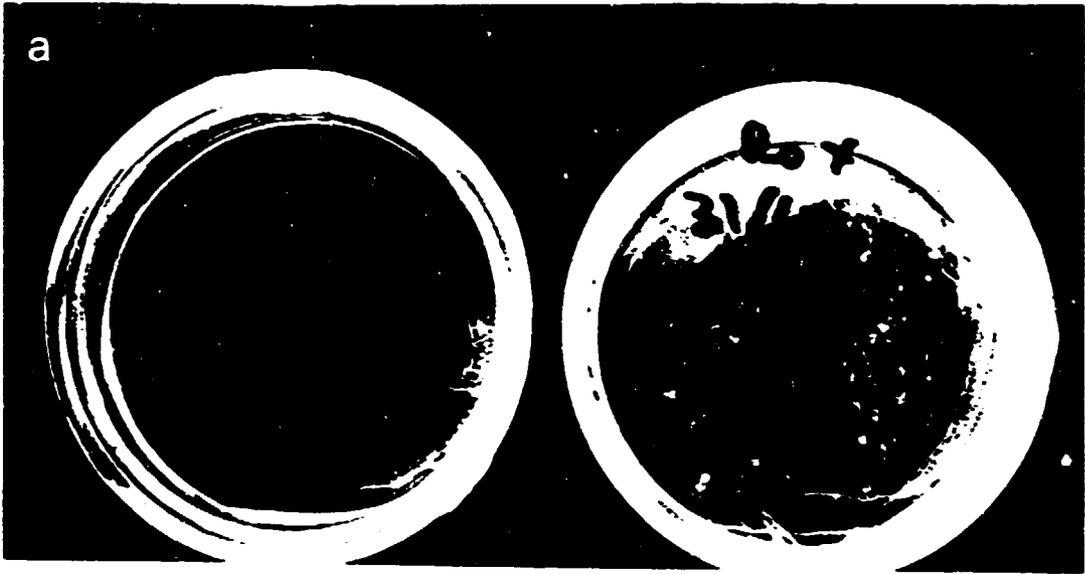
IV.- La visita en caracter de asesoramiento a Ecuador (ver informe anterior). Esta actividad ha quedado pendiente. No he recibido información de parte del Dr. A. Ortega de la Facultad de Ciencias Agrícolas con dicho motivo.

V.- Términos de referencia (TOR) 1989-1990. (Ver anexo)

Presupuesto por II AñoPaís: Chile, (Miguel Jordán)

<u>Rubro</u>	<u>Dolares</u>
Materiales y Suministros	6.000
Equipo	-
Adiestramiento Personal	(1)
Comunicaciones	1.000
Reuniones	500
Publicaciones e Información	1.000
	<hr/>
TOTAL	8.500

(1) El curso de Ingeniería Genética planificado en Argentina para el I año no se realizó postergándose para el II año.



Calendario de pagos propuestos (II año)

País: Chile (Miguel Jordán)

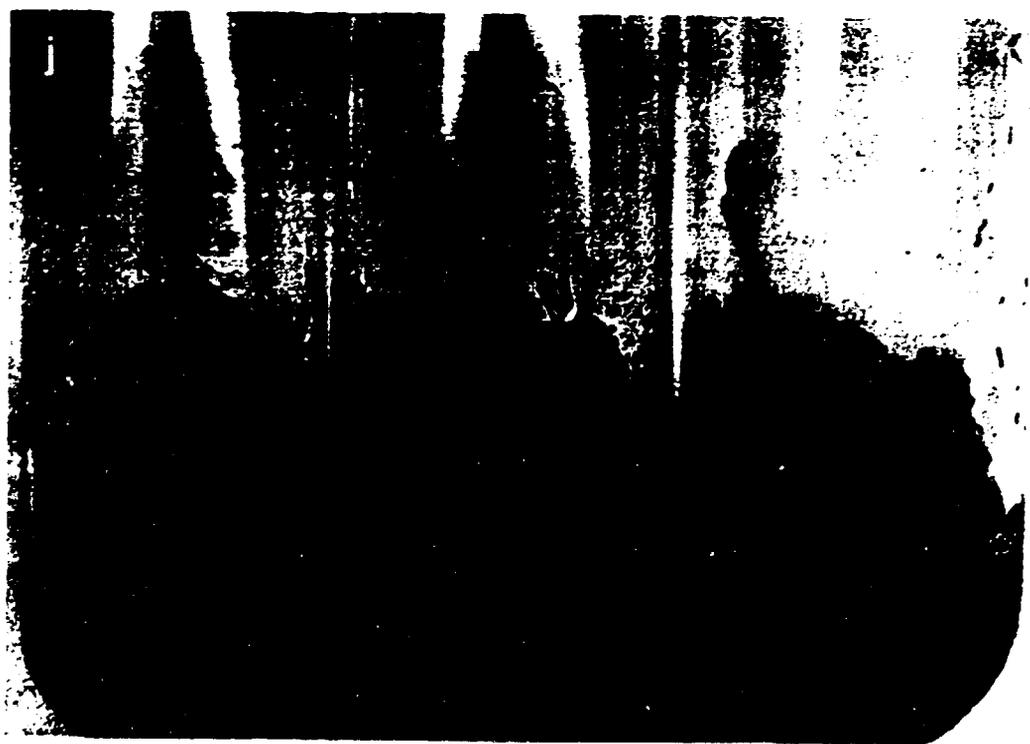
Presupuesto por meses (I. Año)

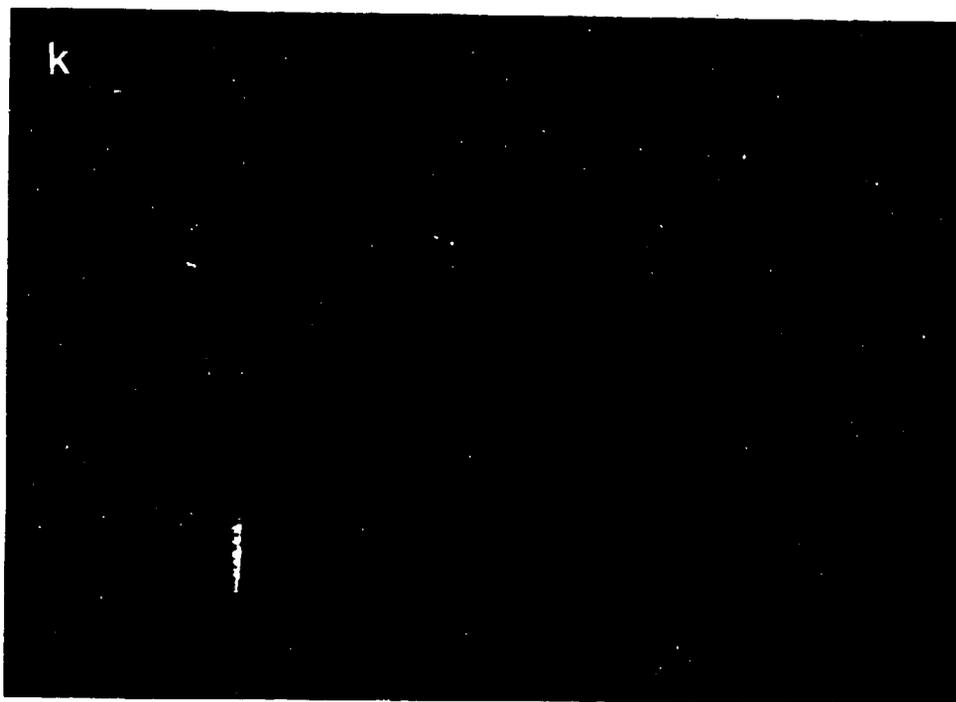
	<u>M E S E S</u>							
	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	<u>8</u>	<u>10</u>	<u>12</u>	<u>Total</u>
Materiales y Suministros		4.000		2.000				6.000
Comunicaciones								
Reuniones	500			500				1.000
Publicaciones	250			250				500
e Información	250			250			500	1.000
	1.000	4.000		3.000			500	8.500











Explicación a las figuras.-

- a) Suspensiones celulares del cv. "Romano". El medio M₂ (derecha) permite la formación de microcallo.
- b) Suspensiones celulares del cv. "Romano" formando "microcallo".
- c) Callo formado de un ápice caulinar con formación de brotes múltiples.
- d) Detalle del callo organogénico indicado en c)
- e) Formación de brotes múltiples y microtubérculos en callo del cv. "Romano".
- f,g) Organogénesis directa de brotes a partir de hojas.
- h) Detalle de una hoja organogénica mostrando formación de brotes múltiples.
- i,j) Estadios de inducción - desarrollo de brotes múltiples de hojas de los clones chilenos de papa N° 1005 y 1200.
- k) Subcultivo de brotes originados de hojas tendientes a inducir formación de raíces.
- l) Aspecto de plántulas derivados de hojas y/o meristemas los cuales se desarrollan bien en un medio solidificado (hipohídrico) en el medio J (Jordán et al. 1978).

INFORME TECNICO PROYECTO "RESISTANCE TO VIROSIS IN POTATO.
DEVELOPMENT OF POTATO PLANTS BEARING RESISTANCE TO POTATO
VIRUS PVX, PVY AND PLRV BY COMBINED MOLECULAR AND IN VITRO
PLANT CULTURE TECHNIQUES"

ONUDI PROJECT "REGIONAL PROGRAMME OF BIOTECHNOLOGY FOR
LATIN AMERICA AND THE CARIBBEAN"

DR. MIGUEL JORDAN, CONTRACT N° 88/66 - 1ER. INFORME

LABORATORIO DE BOTÁNICA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
P. UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
CASILLA 114-D
FAX: 2225515
SANTIAGO
CHILE

A: COORDINADOR TECNICO, DR. RODOLFO QUINTERO/ONUDI, PRESIDENTE
MASARYK 20-14° PISO, COL. POLANCO, 11570, MEXICO.

CC.: INGRID TORVALL, OFICINA DE ENLACE PNUD CEPAL, STGO.

HORACIO ESTBAN HOPP, COORDINADOR PROYECTO, BUENOS
AIRES, ARGENTINA.

ELIZABETH WICHA, CONICYT, STGO.

ENERO 1989

1.- Experiencias de micropropagación:

- a) Búsqueda de material vegetal con productores y organismos incluyendo banco de germoplasma.

A partir de agosto se iniciaron los ensayos de micropropagación como pre-ensayos en dos cultivares de papa de amplio uso en el mercado nacional entre ellas: cvs.: "Romano" y "Ultimus". Este material se utilizó para determinar medios y condiciones de cultivo preliminares conducentes a la inducción de callo (tejido no organizado, crecimiento de meristemas, rizogénesis y adaptación para experimentos con mutágenos; luz UV, inicialmente.

Posteriormente se procedió a recolectar material de papa particularmente referido a clones chilenos que corresponden al banco de germoplasma de la colección existente en la Universidad Austral de Chile. El Dr. Andrés Contreras quien donó gentilmente este material nos facilitó muestras de tubérculos de 12 clones e información con la caracterización de cada genotipo. Parte de este material presenta resistencia a alguna virosis, ya sea resistencia a PVX o PVY. contándose con información de la condición sanitaria mediante detecciones serológicas y plantas indicadoras desde 1982 en adelante. Un resumen del material en estudio se visualiza en el cuadro N° 1, anexo. El detalle de los 12 clones cedidos para nuestra investigación en lo referente a virosis vegetales se encuentra en: Contreras y Banse 1982, Contreras y Soto 1982 y Contreras y Tapia 1983. En nuestro Laboratorio a partir de cada muestra consistente en un par de tubérculos por clon se indujo a la brotación, ya sea en (1) sustrato con arena y tierra como también (2) en bande-

se ha solicitado y recibido proformas de productos químicos a la Fa. Sigma para su importación. A través de la Fa. Ivens se está adquiriendo una ultracentrífuga y se están importando el resto de los materiales y/o equipo mayor solicitado (equipo de electroforesis, agitador y otros accesorios). Diferente material se está adquiriendo en plaza.

- 3.- Entrenamiento externo en variación somaclonal: se escribió a diferentes Centros de Investigación para efectuar esta pasantía. La Fa. DNA Plant Technology Corporation de New Jersey a través del Dr. Marc Sondahl está dispuesta a recibirme. Una conversación sostenida en Chile con el Dr. Primo Acatino de CIP Lima Perú podría concretar una visita en breve si coincide la disponibilidad de tiempo. La visita a EE.UU. y Perú debería efectuarse a fines de Febrero o Marzo por razones técnicas.
- 4.- Visita en carácter de asesoramiento para Ecuador. Durante el último trimestre de 1988 se estableció contacto escrito con el Dr. Alberto Ortega de la Universidad Central de Quito a fin de determinar la fecha que se consideraría la más adecuada para realizar el curso de perfeccionamiento en mi visita a Quito. Dicha respuesta está aún pendiente.
- 5.- Preparación de Términos de Referencia para los próximos 12 meses (TOR).

La actividad está referida a principalmente lograr sistema de regeneración de plantas y la obtención de microtubérculos del material regenerado. A nivel celular se desea el establecimiento de suspensiones celulares y la inducción de respuestas morfogénicas para la regeneración del material con potencialidades. En forma paralela se iniciarán estudios con agentes mutagénicos en suspenso-

jas con papel de cromatografía bajo condiciones de una cámara de cultivo a 25°C y con un fotoperíodo de 12 horas bajo luz difusa a fin de inducir la etiología y crecimiento rápido de los brotes en cada cultivar. Algunos de los resultados de dicha metodología están en la Figura 1 anexa. El material usado como fuente de propagación ya sea tejido meristemático como también secciones internodales se cultivó en diferentes medios nutritivos correspondientes a los de Murashige & Skoog 1962 (MS) y Jordán et al. 1980 (J). El rango hormonal se evaluó en cada tipo de fitohormona; de 0.1 a 0.5 mg por litro de ANA como también de BA para conocer potenciales respuestas morfogénicas y de crecimiento en los diferentes clones y cvs. Como resultado, ambos en diferente concentración promovieron la proliferación de callo en un período posterior a 10 días. Actualmente y a futuro se ha usado este material en los experimentos de suspensión celular e inducción de variación. Al momento, todos los medios de cultivo y niveles hormonales han demostrado ser inductores de crecimiento y permiten el desarrollo de todos los clones indicados anteriormente así como de las variedades "Ultimus" y "Romano" que fueron los de más rápida respuesta. Dentro de los clones de la colección chilena el número 1238 y 1022 son también los más vigorosos en el crecimiento in vitro como también los más precoces en la brotación de tubérculos realizada en maceteros. Dos clones no han logrado ser cultivados y se han perdido temporalmente por problemas de infección del material inicial pudiendo ser recuperado a futuro a partir de la colección de la U. Austral

2.- Adquisición de equipos:

En un inicio los trabajos se realizaron sobre la base de los medios de cultivos disponibles en el laboratorio. En el intertanto

nes y tejidos (luz ultravioleta, productos químicos) evaluando respuestas con ayuda de parámetros bioquímicos (electroforesis) y otras características posibles de detectar. Igualmente se participará en un curso sobre ingeniería genética de plantas - "Vectores basados en el sistema de Agrobacterium" que se está coordinando en Argentina y que se dictará en Julio del presente año. Mi participación en este curso había sido aceptada durante la estadía en Argentina el año 1988 durante la elaboración final de este proyecto.

Cuadro 1

Caracterización parcial de clones originarios de Chiloé y Archipiélago de Chonos perteneciente a la colección de germoplasma de la Universidad Austral de Chile y cedido al Laboratorio de Botánica de la Pontificia Universidad Católica en uso en este proyecto.

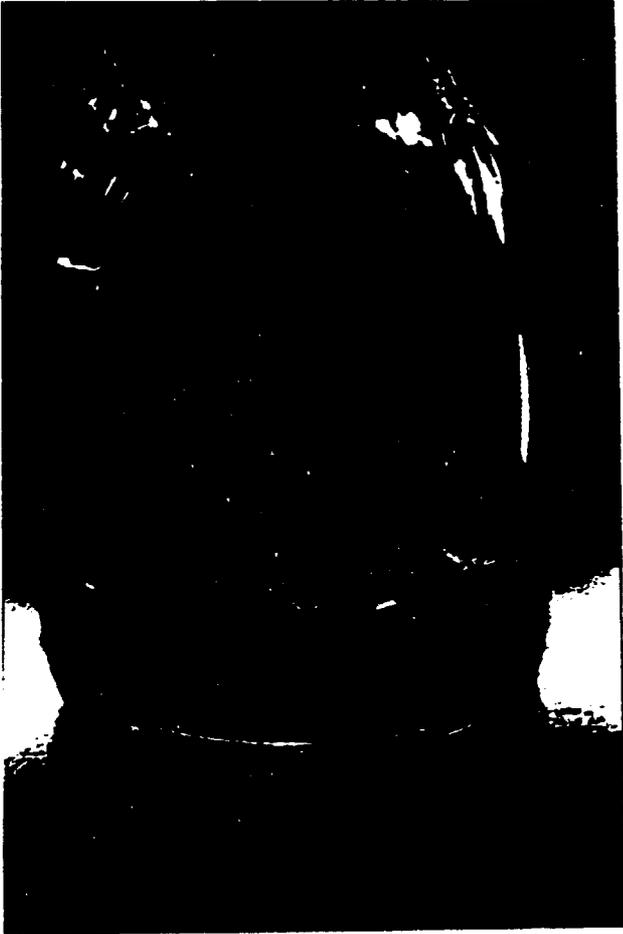
Clones	Resist. PVY	PVX	Condición sanitaria del material			
	(1)	(2)	(3)			
1200	0	+	-x	+y	-s	-LR
1238	-	+	0	0	0	0
1244	+	0	-x	-y	-s	-LR
1031	0	0	-x	-y	-s	+LR
1029	+	0	-x	-y	-s	-LR
1146	+	0	+x	-y	+s	-LR
1149	+	0	-x	-y	-s	-LR
1005	0	+	-x	-y	+s	-LR
1022	+	0	+x	-y	-s	-LR
1079	+	+	-x	-y	-s	-LR
1110	-	+	-x	-y	-s	-LR
1071	+	0	0	0	0	0

0 = Sin información

(1) Contreras, A y V. Tapia (1983) Agro Sur 11, 69-73

(2) Contreras, A y J. Banse (1982) Agro Sur 10,84-89

(3) Contreras, A. y M.A. Soto (1982) Agro Sur 10, 90-96





Leyenda de Figuras.-

- a) Tubérculos del cv "Romano", etiolados.
- b) Brotes múltiples, callo y raíces originados de tejidos meristemáticos de los cvs. "Ultimus" y "Romano".
- c) Brotes múltiples originados de un meristema del clon 1031.
- d) Proliferación de tejido no organizado "callo" a partir de un meristema del clon 1238. El callo aparece verde con numerosos cuerpos compactos de aspecto embriogénico.