

**SESION PLENARIA II:
EL CULTIVO DE TEJIDOS EN LA PRODUCCION AGRICOLA**

EL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES EN LA PRODUCCION AGRICOLA

Juan Velozo

Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile

Introducción

En términos generales el cultivo de tejidos *in vitro* comprende, en su amplia acepción, un grupo heterogéneo de técnicas mediante las cuales un explante, es decir, una parte separada de una planta, órgano, tejido, célula o protoplasto, se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (Mro-ginski y Roca, 1991).

Los objetivos de las técnicas de cultivo *in vitro* son variados dependiendo de las aplicaciones que ellas tienen. Desde el punto de vista de la ciencia básica, se pueden realizar estudios de fisiología, bioquímica, genética, biología celular y molecular. En términos de sus aplicaciones prácticas, el cultivo de tejidos puede ser utilizado para obtener: (1) compuestos bioactivos, como fenoles, alcaloides, terpenos u otros; (2) variedades nuevas, mediante la inducción de mutaciones, fusión de

protoplastos, y plantas transgénicas mediante el uso de *Agrobacterium*; (3) plantas libres de fitopatógenos; (4) la propagación de plantas; y (5) la conservación de germoplasma.

Las investigaciones sobre cultivo de tejidos vegetales *in vitro* han estado centradas principalmente en la micropropagación. Ello se debe a una característica propia de los vegetales que es la totipotencialidad celular, es decir, la capacidad que tiene una célula de regenerar un individuo completo (un clon), conservando toda o casi la totalidad de la identidad genética de la planta madre. *In vitro*, se ha demostrado que la totipotencialidad celular está bajo el control hormonal y que ésta se expresa cuando existe un balance particular entre reguladores del crecimiento del tipo auxinas y citokininas. Bajo estos supuestos, al aplicar dosis hormonales en combinaciones específicas se pueden lograr respuestas organogénicas que conlleven a la re-

generación de plantas.

Distintos tipos de cultivos *in vitro* pueden ser realizados con la finalidad de micropropagar plantas: (1) cultivo de meristemas; yemas apicales o axilares son inducidas para producir su brotación y posterior multiplicación; (2) organogénesis directa, que comprende el desarrollo de órganos adventicios, en tejidos de tallo o raíces; (3) organogénesis indirecta, con el desarrollo de masas de tejido indiferenciado denominado callo, sobre el cual aparecen los órganos; (4) embriogénesis somática, que es la potencialidad que tienen las células en tejidos organizados o suspensiones celulares de originar un embrión no zigótico; (5) microinjerto; y (6) cultivo de embriones.

En la actualidad la micropropagación se practica con éxito en un número considerable de especies hortícolas, ornamentales, frutales y forestales. En algunas, esta metodología ha demostrado ser más ventajosa en comparación a los sistemas convencionales, debido al incremento del número de plantas obtenidas por genotipo a propagar, la reducción del tiempo de multiplicación, la posibilidad de propagar grandes cantidades de plantas en un espacio reducido, y

mayor control sobre el estado fitosanitario de las plantas y la posibilidad de regenerar rápidamente material escaso.

La finalidad de este trabajo es mostrar el estado actual de los estudios sobre el cultivo de tejidos en Chile, las especies que son de interés, y los tipos de estudios realizados en los últimos 5 años.

II. Metodología.

Para la realización de este trabajo se hizo una revisión de todos los trabajos sobre cultivo de tejidos presentados en las reuniones anuales de la Sociedad de Biología de Chile entre 1990 y 1994, los congresos de biotecnología organizados por CONICYT (1991 y 1993), el Segundo Taller Silvícola Eucalyptus-Bosque Nativo, organizado por Fundación Chile y Grupo Silvícola (Concepción 1992) y las VIII y IX reuniones de la Sociedad de Botánica de Chile. También se contó con el catastro de laboratorios de Biotecnología Vegetal, presentado en el documento "Antecedentes y directrices para el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal" (INIA, 1995). Paralelamente, se muestra la experiencia en el desarrollo de la investigación sobre cultivo de tejidos en un centro de

investigación universitario, como es el caso de nuestro laboratorio.

III. Temáticas abordadas mediante el cultivo de tejidos *in vitro*, en un centro de educación superior.

En Chile existe un importante grupo de laboratorios dedicados al cultivo de tejidos *in vitro*. La mayor parte de ellos están dedicados a la investigación pues se encuentran ubicados en entidades universitarias e integrados a facultades de ciencias. Existen muchos ejemplos sobre el esfuerzo de los grupos de investigación universitarios en el desarrollo de metodologías para la regeneración de especies vegetales. En nuestro laboratorio se han estudiado respuestas organogénicas y la micropropagación de diferentes especies, como el raulí (*Nothofagus alpina*), una especie arbórea con una gran aptitud forestal donde, se logró el desarrollo de brotes adventicios en secciones de lámina foliar. Además, se obtuvo la brotación de yemas laterales, su multiplicación y el arraigamiento de las mismas. Estas respuestas morfogénicas podrían ser utilizadas para la micropropagación de esta especie en programas integrados de mejoramiento genético (Jordán, Velozo y Sabja, 1995).

Otra línea de investigación desa-

rollada por nuestro grupo es la inducción de embriogénesis somática en papaya (*Carica pubescens*). En suspensiones celulares obtenidas a partir de callos, células somáticas dan origen a estructuras bipolares que van a constituirse en un embrión maduro. Este tipo de proceso se puede considerar la expresión máxima de la totipotencialidad celular y a su vez como técnica de propagación (Jordán y Velozo, 1995). La suspensión embriogénica puede ser multiplicada en forma indefinida o manejada para lograr la maduración de los embriones. El número y cantidad de embriones que se puede llegar a producir es ilimitado bajo las condiciones de cultivo establecidas. Los embriones maduros, a su vez, podrían ser encapsulados y utilizados como semillas.

En la interacción con la empresa privada, nuestro laboratorio ha desarrollado varios convenios de investigación para estudios de micropropagación, orientados a la transferencia tecnológica. En *Pinus radiata*, mediante el cultivo *in vitro* se posibilita propagar germoplasma seleccionado proveniente de cruzamientos dirigidos. Mediante el cultivo de fascículos se ha logrado inducir el desarrollo de raíces adventicias y en forma poste-

rior se ha obtenido de la brotación de las yemas.

Otra aplicación que tienen las técnicas de micropropagación es la de salvaguardar la biodiversidad, al poder multiplicar el germoplasma de especies que tienen problemas de conservación. Este es el caso del toromiro (*Sophora toromiro*), una especie en peligro de extinción. De acuerdo a nuestros estudios, es posible inducir la brotación de segmentos polinodales y el desarrollo de brotes adventicios en secciones nodales, en explantes obtenidos desde plántulas (Iturriaga et al, 1994). Estos resultados harían factible el uso del cultivo de tejidos para multiplicar rápidamente el escaso germoplasma existente de esta especie.

V. Líneas de investigación desarrolladas los últimos 5 años en Chile.

La historia del cultivo de tejidos vegetales en Chile es de más de dos décadas. Para obtener una panorámica actual de su estado de desarrollo nos referiremos a la historia reciente, entre 1990 y 1994. En nuestro país existe un número importante de laboratorios que están dedicados a esta actividad. Durante los últimos cinco años estos han generado un conjunto sig-

nificativo de trabajos en esta área, los cuales han sido presentados en sociedades científicas y congresos de biotecnología.

El listado de especies que son objeto de estudio en cultivo de tejidos y los tipos de trabajos que se han realizado, se presentan en el Cuadro 1. De las 32 especies mostradas en el Cuadro 1, el 75% son introducidas. En total, se han presentado 71 trabajos. El grupo de especies es bastante heterogéneo: frutales, forestales, hortalizas y ornamentales. Las especies con el mayor número de trabajos presentados corresponden a papa (*Solanum tuberosum*) y *Eucalyptus globulus*, con 9 trabajos cada uno. En segundo lugar, lúcuma (*Pouteria lucuma*), papaya (*Carica pubescens*), boldo (*Peumus boldus*), lavanda (*Labandula angustifolia*) y raulí (*Nothofagus alpina*), con tres o cuatro trabajos. Sobre el resto de las especies existen solamente uno o dos informes.

En relación a los tipos de estudios realizados, se encontró que más del 70% están relacionados a inducción de respuestas organogénicas *in vitro*, o a técnicas de micropropagación. El grupo más importante de estudios se refiere a organogenesis (41%), seguido de micropropagación (30%), fisiología bioquímica (20%), metabolitos se-

cundarios (8%), y conservación de germoplasma (1%). En relación al área de fisiología-bioquímica, los aspectos estudiados mediante la técnica de cultivo de tejidos se refieren a fisiología del estrés por fitopatógenos, frío, salinidad e inducción de enzimas de pared celular entre otros. En cuanto a la producción de metabolitos secundarios o compuestos bioactivos, se ha estudiado la síntesis de terpenos y producción de boldina; además del efecto de compuestos secundarios sobre el establecimiento de cultivos *in vitro*.

El financiamiento de las investigaciones procede tanto de fuentes extranjeras, como propias a las entidades ejecutoras. Los aportes externos representan más del 50%. Estos fondos, proceden de instituciones como FONDECYT, AID, PNUD, entre otras. Del total de los trabajos FONDECYT financió el 31%. En relación al aporte de la empresa privada, sólo un 5% de los trabajos fueron realizados por la Pontificia Universidad Católica gracias a convenios de investigación.

En el documento "Antecedentes y directrices para el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria

y Forestal" (INIA, 1995), se encuentran registrados la mayoría de los laboratorios dedicados al cultivo de tejidos. En este trabajo, se indican las principales líneas de investigación, las especies de interés y las biotécnicas relevantes que se desarrollan en cada laboratorio. Al igual que en la revisión de trabajos (Cuadro 1), se muestra que cerca del 77% de las especies estudiadas son introducidas. En relación a las áreas de interés, el 75% de los laboratorios está abocado a estudios de micropropagación, seguido por un 28% dedicados además a estudiar metabolitos secundarios, un 21% realizan trabajos sobre organogénesis o estudios relacionados a la conservación de germoplasma, y sólo un 7% de éstos se dedica a estudios de fisiología y bioquímica. Los resultados contrastan, en parte, con lo observado en los trabajos presentados en congresos. Ello puede deberse, a que sólo se incluyen los laboratorios que tienen como línea principal el desarrollo de estudios de cultivo de tejido, mientras que en la recopilación anterior, se da cuenta de todos los trabajos publicados que involucren el uso de estas técnicas.

Cuadro 1. Resumen de estudios sobre cultivo de tejidos in vitro presentados en Sociedades Científicas y Congresos de Biotecnología (1990 - 1994)

Especie		Tipo de estudio					
Nombre Común	Nombre científico	Propagación		Conser- vación	Metabolitos secun- darios	Fisiología bioquímica	Fuente
		Micropro- pagación	Organo- génesis				
Ajo	<i>Allium sativum</i>	-	2	-	3,10	-	-
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>				1		6
Arándano	<i>Vaccinium corymbosum</i>		2				6,9
Babaco	<i>Carica pentagona</i>		1				3
Belloto	<i>Beilschmedia berteniana</i>	6					
Boldo	<i>Peumus boldus</i>	1	1		1		6,7
Cebada	<i>Hordeum vulgare</i>	1				1	4
Cítricos	<i>Citrus sp.</i>						6
Clavel	<i>Dianthus caryophyllus</i>	1				1	6
Coliflor	<i>Brassica oleracea</i>	1					7
Espárrago	<i>Asparagus officinalis</i>	1					6,9
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	2	4			4	5,6,9,10
Eucalipto	<i>Eucalyptus sp.</i>	1	2				3,9
Eucalipto	<i>Eucalyptus nitens</i>		1				9
Frutilla	<i>Fragaria sp.</i>		1			1	7
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>		1		2		7,9
Lechero	<i>Euphorbia lactiflua</i>	1	1				2
Lúcumo	<i>Pouteria lucuma</i>		2				1,2,6,7
Maqui	<i>Aristotelia chilensis</i>	2			1		5
Muña blanca	<i>Mintostachys andina</i>						4,10
Palto	<i>Persea americana</i>	2	1			1	10
Papa	<i>Solanum tuberosum</i>		3	1		3	1,2,6,10
Papaya	<i>Carica pubescens</i>	2	2				1,5,6
Patagua	<i>Crinodendron patagua</i>	1					10
Pepino	<i>Solanum muricatum</i>	1	1				3
Pichi	<i>Fabiana imbricata</i>						3
Pino	<i>Pinus radiata</i>					1	5,9
Poroto	<i>Phaseolus vulgaris</i>	1				1	7,10
Raulí	<i>Nothofagus alpina</i>	1	1				2,8,9
Tomatillo	<i>Cyphomandra betacea</i>	2	1				3
Toromiro	<i>Sophora toromiro</i>		1				6
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>		1			1	2

(1): Sociedad de Biología, 1990; (2): Sociedad de Biología, 1991; (3): Sociedad de Biología, 1992; (4): Sociedad de Biología, 1993; (5): Sociedad de Biología, 1994; (6): Congreso de Biotecnología, CONICYT, 1991; (7): Congreso de Biotecnología, CONICYT, 1993; (8): Segundo Congreso Silvícola, Fundación Chile, 1992; (9): Sociedad de Botánica, 1991; (10): Sociedad de Botánica, 1994.

Al clasificar las especies estudiadas de acuerdo a sus usos, se encontró que las frutales y forestales son el principal objeto de estudio (33% y 21%, respectivamente), mientras que, hortalizas, cereales, ornamentales y otras están poco representadas. Las especies: *Solanum tuberosum*, *Eucalyptus sp.*, *Nothofagus alpina* y *Solanum muricatum*, son las de mayor interés con tres o cuatro grupos de investigación, dedicados a estudios de propagación, fisiología o conservación de germoplasma.

En relación a los laboratorios comerciales, la micropropagación representa su principal área de desarrollo. Sólo uno de éstos está dedicado además a la obtención de plantas libres de virus en arándano, y entre los cultivos que se micropropagan los frutales son el principal recurso (67%), seguido de especies ornamentales (33%). Existe un par de laboratorios dedicados a hortalizas y forestales, que llevan como promedio alrededor de cinco años de funcionamiento. Entre los cultivos micropropagados el arándano es la principal especie frutal (en tres de los 9 laboratorios registrados).

Como se ha planteado, existen numerosos laboratorios dedicados a desarrollar estudios de cultivo de tejidos *in vitro* en una variedad de

especies vegetales, con interés prioritariamente en propagación. Otros objetivos, como la producción de metabolitos secundarios, la eliminación de fitopatógenos, conservación, o estudios de fisiología y bioquímica, son áreas incipientes de investigación en nuestro país. Las especies frutales y forestales representan el principal foco de interés en los laboratorio de investigación universitario, mientras en los comerciales son frutales y ornamentales. La mayor parte de las especies estudiadas corresponden a cultivos introducidos de interés comercial y las nativas de interés, que parece no haber una gran interacción, lo son debido a su estado de vulnerabilidad o a que se encuentran en peligro de extinción.

El financiamiento de los estudios proviene en más de un 50% de fuentes externas y en un 31% procede de FONDECYT. Parece no haber demasiada interacción con la empresa privada, dado que sólo un 8,6% de las investigaciones procede de convenios de investigación. Este bajo porcentaje puede deberse además a la forma de operar en estas investigaciones, donde los resultados son generalmente privados y no informados a la comunidad científica. Otro aspecto que no puede ser dilucidado en este trabajo es si los estu-

dios de micropropagación u otros relacionados están integrados en un programa de mejoramiento. Esto es relevante para el éxito de este tipo de investigaciones y su puesta en práctica. Así también, no puede ser abordada la pregunta de si los estudios responden a la demanda del sector productivo o si además implican la obtención de algún valor agregado.

A la luz de los resultados, las temáticas de investigación parecen subyacer a los intereses de los propios investigadores y en un pequeño número de casos representa una respuesta al interés del sector económico. Este último punto tiene dos aspectos importantes a considerar: primero, los laboratorios ubicados en centros de investigación tienen como prioridad el desarrollo de investigaciones que sean un aporte al conocimiento científico, focalizado desde sus propias y originales perspectivas. Esta tarea tiene un valor intrínseco que ha sido reconocido por entidades que financian proyectos y cuyos resultados se proyectan a la comunidad en publicaciones de revistas científicas. En segundo lugar, las temáticas abordadas están encaminadas en forma prioritaria a desarrollar sistemas de micropropagación, y esta actividad es una biotécnica que tiene su mayor importancia en el traspaso

de tecnología al sector productivo. Desde esta perspectiva es urgente lograr un vínculo permanente, robusto y a la vez flexible entre los intereses del sector productivo con los centros de investigación universitarios. En estos, es donde se concentra el mayor número de laboratorios y de investigadores (con estudios de postgrado), además cuentan con la infraestructura y capacidad para enfrentar los desafíos que implican interacciones de tipo multidisciplinario en torno a objetivos comunes.

Referencias

- Arce, P., Gutiérrez, A., Reyes, M.A. y Leighton, F. Ensayo de procedimientos para la obtención de plantas transgénicas de papa (*Solanum tuberosum*). XXXIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Punta de Tralca, Chile. Arch. Biol. Med. Exp. 23, R: 230.
- Botti, C., Cánaves, L., Prat, L. y Fanta, N. 1993. Regeneración *in vitro* de *Phaseolus vulgaris*. III Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:151
- Calderón, X. y Montenegro, G. 1994.

- Ontogenia de raíces adventicias de origen *in vitro* en *Eucalyptus globulus*. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p:159.
- Calderón, X. y Neira, A. 1993. Determinación de peroxidasas totales en el enraizamiento *in vitro* de *Eucalyptus globulus*. XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 1(2), p:89.
- Calderón, X., Rotella, A. y Marín, A. 1992. Influencia del calcio, vitaminas y ácido giberélico en el alargamiento de *Eucalyptus globulus in vitro*. XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 69.
- Calderón, X., Vallejos, M. y Pacheco, P. 1991. Análisis ultraestructural en callos de *Eucalyptus globulus*. VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:159.
- Castillo, J.A., Jordán, M. y Velozo, J. 1994. Regeneración *in vitro* de *Minthostachys andina* Brett. Epling, (Labiatae). XXXVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 2 (3), p:143.
- Castillo, J.A., Jordán, M. y Velozo, J. 1994. Regeneración *in vitro* de la muña blanca (*Minthostachys andina* Brett. Epling.) Una especie de propiedades aromáticas y medicinales. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p: 164.
- Castro, M., Botti, C. y Pérez, L.M. 1993. Influencia del etileno en la regeneración de yemas de frutilla y frejol, cultivadas *in vitro*. III Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:151
- Chiong, M. y Pérez, L. M. 1991. Micropropagación de especies de cítricos. II Congreso Nacional de Biotecnología. Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes R: 47
- Del Villar, Mancilla, M., Chayet, L. y Traverso-Cory, A. Apirasa como posible marcador molecular en la tuberización *in vitro*. XXXIV Reunión Anual de

- la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Arch. Biol. Med. Exp. 24, R: 193.
- Figueroa, C., Massardo, F. y Zúñiga, G. E. 1991. Obtención de pigmentos carotenoides en cultivo de tejidos de alfalfa (*Medicago sativa*). II Congreso Nacional de Biotecnología. Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 46
- González, M.L., Iturriaga, L., Mujica, A. M., Oyanedel, E. Valenzuela, M.P., Velozo, J. 1990. Multiplicación *in vitro* de Especies Frutales de Importancia Económica para Zonas Semi-Aridas. XXXIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Punta de Trauca, Chile. Arch. Biol. Med. Exp. 23, R: 230.
- Ibarra, P., Ríos, D., Leonelli, G. y Pihán, R. 1994. Inducción de microbulbillos *in vitro* en ecotipos de ajo recolectados en la IX Region. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p: 82.
- INIA, 1995. Antecedentes y directrices para el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Conferencia de Planificación, Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal, Centro de investigación Quilamapu, Chillán. p:1-71
- Iturriaga, L., Jordán, M., Roveraro C., y Goreux, A. 1991. Cultivo *in vitro* de *Sophora toromiro* (Papilionaceae): Alternativa de micropropagación para una especie en peligro de extinción. II Congreso Nacional de Biotecnología. Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 49.
- Iturriaga, L., Jordán, M., Roveraro, C., and Goreux, A. 1994. *In vitro* culture of *Sophora toromiro* (Papilionaceae), an endangered species. Plant Cell Tissue and Organ Culture 37:201-204.
- Jordán, M. and Velozo, J. 1995. Improvement of somatic embryogenesis in Highland-Papaya cell suspensions. Plant Cell Tissue and Organ Culture (en prensa)
- Jordán, M., Velozo, J. and Sabja, A.M. 1996. Micropropagation of *Nothofagus alpina* (Pet E.) Oerst., Fagaceae. Plant Cell Reports (en prensa)
- Jordán, M. y Velozo, J. 1992.

- Micropropagación de Rauli (*Nothofagus alpina*). En, Segundo Taller Silvícola Eucalyptus-Bosque Nativo; Fundación Chile y Grupo Silvícola, Concepción. p:57- 65.
- Jordán, M., Ovando, M. Goreux, A. y Velozo, J. 1992. Regeneración *in vitro* de algunas especies frutales andinas. XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 70.
- Jordán, M., Tesser, B., Roveraro, C., Stipo, A., Velásquez, L., Aguirre, J. 1991. Aproximación a un protocolo de transformación en plantas de papa (*Solanum tuberosum*) usando *Agrobacterium tumefaciens*. II Congreso Nacional de Biotecnología. Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 50.
- Jordán, M., Tesser, B., Stipo, A. y Roveraro, C. 1990. Variación Somaclonal y Transformación en plantas de Papa. XXXIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Punta de Tralca, Chile. Arch. Biol. Med. Exp. 23, R: 230.
- Jordán, M., Valenzuela, M.P. y Oyanedel, P. 1991. Respuestas androgénicas en anteras de lúcuma (*Pouterira lucuma*), papaya (*Carica pubescens*) y chirimoya (*Annona cherimola*). XXXIV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Arch. Biol. Med. Exp. 24, R: 191.
- Jordán, M., Valenzuela, M.P, Velozo, J., Oyanedel, E., González, M.L., Sánchez, P., y Montenegro, G. 1991. Respuestas androgénicas en anteras de lúcuma (*Pouteria lucuma*) y papaya (*Carica pubescens*). II Congreso Nacional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 46.
- Jordán, M., Velozo, J., Obando, M., Rivas, S. y Goreux, A. 1993. Avances en la embriogénesis somática a partir de suspensiones celulares de *Carica pubescens*. XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiario de Biología. 1(2) p:88-89.
- Jordán, M., Velozo, J., Valenzuela, M.P. y Sánchez, P. 1993. Regeneración *in vitro* de lúcumo (*Pouteria lucuma*). III Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:137.

- Libano, X. y Zúñiga, G.E. 1991. Efectos del estrés salino sobre callos de trigo, *Triticum aestivum*. XXXIV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Arch. Biol. Med. Exp. 24, R: 192.
- Mancilla, M., Valenzuela, M. A., Kettlun, A.M., Collados, L., Garrido, J. y Traverso-Cory, A. 1994. Apirasa en microtubérculos de *S. tuberosum*. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p:133.
- Mancilla, J., Valenzuela, V., Triviño, C. y Concha, I. 1994. Germinación del grano de polen de *P. radiata in vitro*. Posible participación de transportadores de hexosas. XXXVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 2(3) p:141.
- Mancinelli, P., Céspedes, C., Orellana, B. y Silva, M. 1993. Cultivo *in vitro* de *Aristotelia chilensis* (mol.) Stunz. XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 1(2) p:89.
- Mancinelli, P., Gnecco, S., Pooley, A., Caamaño, V. y Beratto, V. 1991. Cultivo *in vitro* de *Euphorbia lactiflua* Phil. Euphorbiaceae. XXXIV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Arch. Biol. Med. Exp. 24, R: 191.
- Mancinelli, S.P., Silva, O.M., Bittner, B.N., Olave, C.M. e Inostroza, D.I. 1994. Micropropagación de *Crinodendron patagua* Mol. (Elaeocarpaceae). IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p:163.
- Mroginski, L.A. y Roca, W.M. 1991. Establecimientos de cultivos vegetales *in vitro*. En Roca y Mroginski (Eds.) Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. CIAT, Cali. p:19-40
- Oliger, P. y Gutiérrez, A. 1992. Producción de plantas transgénicas de papa (*Solanum tuberosum*) y espárrago (*Asparagus officinalis*). Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 70.
- Oliger, P., Arce, P., Flores, P., Gutiérrez, A., Ramos, Y. y Reyes, A. 1991. Micropropagación y regeneración *in vitro* de *Aspa-*

- ragus officinalis* vía callo organogénico. II Congreso Nacional de Biotecnología Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R 45.
- Oliger, P., Gebauer, M., Stipo, A., Snatelices, M. y Hernández, G. 1993. Detección y saneamiento de virus en clavel (*Dianthus caryophyllus*). III Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:157.
- Ovando, M. y Seemann, P. 1991. Regeneración y enraizamiento *in vitro* de espárrago (*Asparagus officinalis* L.). VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:154.
- Oyanedel, E., Castro, M. y Gardiazabal, F. 1994. Control del pardeamiento enzimático en tejidos de palto (*Persea americana* Mill.) cultivados *in vitro*. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p:117.
- Pacheco, P., Calderón, X. y Vega, A. 1994. Compuestos fenólicos como reguladores y marcadores en enraizamiento *in vitro* de *E. globulus*. XXXVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 2(3) p:142.
- Palma, V. y Ríos, D. 1991. Incidencia del medio nutritivo en el establecimiento *in vitro* de *Eucalyptus nitens*. VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:152.
- Palma, V., Ríos, D. y Ihl, M. 1991. Evaluación de agentes químicos en el control de la oxidación de explantes de *E. globulus*. II Congreso Nacional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R 49.
- Paneque, M. y Pérez, L.M. Cultivo de *Phaseolus vulgaris* en medio M&S con diferentes hormonas para estudios de mecanismos defensivos. IX Reunión Nacional de Botánica, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia. Libro resúmenes, p:185.
- Portilla, G., Ortiz, S., Carvajal, J. y Calderón X. 1991. Morfología celular y biosíntesis de terpenos en callos de lavanda. VIII Reunión Nacional de

- Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:155.
- Queupil, J.C. y Zuñiga, G.E. 1991. Cultivo de tejidos en boldo (*Peumus boldus*). Laboratorio de Fisiología Vegetal. Segundo Congreso Nacional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 48.
- Razmilic, I., López, I., DutraBehrens, M., Reyes, S. y Schmeda, G. 1992. Estandarización y micropropagación de *Fabiana imbricata*. XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 71.
- Reyes, M.A. y Alcalde, J.A. 1993. Desarrollo de una metodología para micropropagación de coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) a partir de Pella. III Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:150.
- Reyes, M.A. y Arce, P. 1992. Respuestas morfológicas diferenciales de seis especies de *Eucalyptus* al cultivo *in vitro*. XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 72.
- Ríos, D. y Ibarra, P. 1991. Respuesta organogénica a diferentes niveles de auxinas y citocininas en cultivo *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum*). VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:153.
- Ríos, D., Chavez, V. y Ibarra, P. 1991. Efecto de niveles de auxina y citocinina en la inducción de brotes de explantes de *V. corymbosum*. Segundo Congreso Nacional de Biotecnología Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R 45.
- Ríos, D., Ibarra, P., Pihán, R., Leonelli, G. y Hermosilla, J. 1992. Respuesta organogénica de explantes de ajo (*Allium sativa* L.) para su micropropagación *in vitro*. XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Libro Resúmenes, R: 71.
- Rotella, A. y Calderón, X. 1991. Micropropagación de Belloto del sur (*Beilshmidia berteriana* (Gay) kosterm., Especie en peligro de extinción. Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales. II Congreso Na-

- cional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 48.
- Sabja, A.M., Jordán, M., Velozo, J., Videla, P., Ampuero, A. y Droppelmann, F. 1992. Propagación vegetativa por medio de estacas y cultivo *in vitro* de *Eucalyptus* spp. En, Segundo Taller Silvícola Eucalyptus-Bosque Nativo; Fundación Chile y Grupo Silvícola, Concepción. p:66-84.
- Sabja, A.M., Videla, P., Jordán, M. y Droppelmann, F. 1991. Regeneración *in vitro* de *Pinus radiata*. VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:157.
- Sanhueza, S., Beltrán, J. y Portilla, G. 1993. Morfogénesis *in vitro* de lavanda (*Lavandula angustifolia*). 3er Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT. INTA, Santiago de Chile. p:150.
- Seemann, P. y Leal, G. 1991. Utilización de retardantes del crecimiento en la conservación *in vitro* de germoplasma de papas (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*). II Congreso Nacional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 47.
- Velozo, J. y Sánchez, P. 1991. Regeneración *in vitro* de *Nothofagus alpina*. VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:156.
- Velozo, J. y Sánchez, P. 1991. Regeneración *in vitro* de raulí (*Nothofagus alpina*). XXXIV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Arch. Biol. Med. Exp. 24, R: 191.
- Velozo, J., Jordán, M., Roveraro, C., Sabja, A.M. y Videla, R. 1991. Potencial morfogénico y regeneración *in vitro* de *Eucalyptus* spp. VIII Reunión Nacional de Botánica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago. Libro resúmenes, p:158.
- Zumaeta, A. y Verdugo, G. 1991. Efecto de algunos constituyentes de los medios de cultivo sobre la vitrificación en la propagación *in vitro* de plantas de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) cultivar Portrait. II Congreso Nacional de Biotecnología, Viña Del Mar. CONICYT. Libro resúmenes, R: 45.

Zúñiga, G. E. y Corcuera, L. J. 1993. Efecto de la temperatura sobre la eficiencia en el uso del carbono en suspensiones celulares de cebada, *Hordeum vulgare*. XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Puyehue. Noticiero de Biología. 1(2), p:87.

Zúñiga, G. E. 1993. Capacidad antioxidante de extractos de plántulas de boldo (*Peumus boldus*) obtenida *in vitro*. 3er Congreso Latinoamericano y Nacional de Biotecnología, CONICYT.INTA, Santiago de Chile. p:136.