



MINISTERIO DE AGRICULTURA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION QUILAMAPU
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION LA PLATINA



FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA



FAO

CONFERENCIA DE PLANIFICACION PROGRAMA NACIONAL PARA EL DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL EN CHILE

PLANNING CONFERENCE
NATIONAL PROGRAMME FOR ENHANCEMENT OF THE AGRICULTURAL
AND FORESTRY
BIOTECHNOLOGY IN CHILE

CHILLAN, CHILE 16 - 19 DE OCTUBRE DE 1995

EDITORES

MARIO PAREDES C.
CARLOS MUÑOZ SCH.

SERIE QUILAMAPU Nº 77
Chillán, Chile, mayo 1997

Edición: Hernán Riquelme R.
Erika Salazar S.

Digitación: Patricia Gatica S.
Verónica Guajardo P.

Diagramación: Impresora La Discusión

Impresión: Impresora La Discusión

Se autoriza el uso de este material con la obligación de citar autor (es) y fuente

Inscripción N° 100.169

ISBN 956-7436-03-7

Derechos exclusivos reservados para todos los países

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Centro Regional de Investigación Quilamapu
Casilla 426 Chillán, Chile
e mail: info@quilamapu.inia.cl

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Centro Regional de Investigación La Platina
Casilla 439 Correo 3 Santiago Chile
e mail: info@platina.inia.cl.

PRESENTACION

La biotecnología, como una de las más avanzadas herramientas modernas, ofrece campos insospechados de aplicación a las actividades silvoagropecuarias, y si bien es cierto no es algo reciente en el concierto internacional, en nuestro país, excepto la propagación *in vitro* de plantas, sólo en los últimos años ha adquirido mayor importancia y preocupación. Como resultado de lo anterior, en centros de investigación, universidades, y también de empresas privadas, se han iniciado trabajos en biotecnología gracias a la implementación de pequeños laboratorios, cuyo nivel de equipamiento depende de la envergadura de las inversiones que se esté en condiciones de realizar, pero sin duda lo más relevante es el grado de formación del equipo de profesionales que los opera.

Sin embargo, el desafío que enfrenta el sector silvoagropecuario, de modernización y de adecuación a los nuevos escenarios que impone una economía globalizada, requiere avanzar rápido para poder otorgar a nuestro país la competitividad necesaria frente a la oferta de otros países. En este contexto, la biotecnología puede

hacer un gran aporte en aspectos relacionados con la valorización de nuestros recursos genéticos, diversificación de la agricultura, mejoramiento de la producción y de la calidad de nuestros productos. Si deseamos como país situarnos en un nivel de vanguardia, se requiere unir los esfuerzos y las capacidades, para potenciar mutuamente los distintos agentes que están trabajando en biotecnología en Chile.

Se han realizado algunas acciones específicas al respecto, como el estudio que se solicitó a la FAO para conocer nuestra situación. El paso siguiente fue la realización de la "Conferencia de Planificación del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal", que permitió reunir a todos los especialistas del país que están trabajando en el tema, y escuchar a un grupo de expertos del país y del extranjero, cuyas disertaciones se entregan en el presente documento.

Nuestra institución tuvo el grato honor de organizar esta actividad, para lo cual se contó con la excelente disposición de especialistas de INIA, universitarios, y de em-

presas, quienes pusieron mucho entusiasmo para lograr que esta Conferencia fuera exitosa, constituyera un aporte al avance de la biotecnología en Chile, y para lograr una coordinación y articulación entre especialistas. Sin embargo es importante además reconocer el esfuerzo desplegado por quienes se dieron el trabajo de recopilar y editar cada una de las presentaciones, para así poder entregar en forma fidedigna los aportes de los especialistas. Debo expresar un especial reconocimiento al

Dr. Mario Paredes C. y Hernán Riquelme R. del CRI Quilamapu, y al Dr. Carlos Muñoz S. y a la señorita Erika Salazar S. del CRI La Platina, por su dedicación en estructurar el contenido del presente texto; gracias a sus aportes hoy podemos hacer entrega de este documento, que esperamos sea útil a la comunidad científica nacional e internacional.

Isaac Maldonado I.
Director Regional
INIA - CRI Quilamapu

PROLOGO

La necesidad de incrementar la competitividad del sector silvoagropecuario chileno, en un escenario de economías abiertas, no es discutible. Lo que si puede discutirse son las distintas estrategias que deben utilizarse para este propósito. Parece haber consenso, sin embargo, en que la tecnología debería jugar un rol trascendente en el incremento de esta competitividad. La variedad de opciones tecnológicas disponibles, obligan a fijar prioridades, de modo de incentivar el desarrollo de ciertas tecnologías que para el país representen ventajas competitivas.

La biotecnología puede ser una de estas tecnologías. La biotecnología moderna, que se basa en los avances científicos de las últimas tres décadas, posibilita la manipulación por el hombre del ADN, molécula que forma la base de la genética y de la vida misma. Estas tecnologías pueden ser aplicadas al sector silvoagropecuario sin las limitaciones éticas que su utilización tiene cuando ellas son aplicadas directamente al hombre. Por esta razón se prevé una rápida aparición de aplicaciones productivas destinadas al sector silvoagropecuario en los próximos años.

A pesar de lo anterior, en el país estas tecnologías no están ampliamente desarrolladas. Un diagnóstico preliminar de la situación actual del desarrollo de las biotecnologías en el sector silvoagropecuario, demuestra que tanto los recursos humanos como físicos son deficitarios, que no existen mecanismos de vinculación entre los generadores de la tecnología y los usuarios de ésta y que en el país no existen mecanismos claros para incentivar, coordinar y priorizar las actividades a desarrollar en biotecnología de modo de lograr la producción de bienes y servicios utilizables por el sector productivo o directamente por los consumidores.

Lo señalado anteriormente motivó al Ministerio de Agricultura de Chile (MINAGRI) a elaborar un Programa Nacional para el Desarrollo de la Biotecnología Agropecuaria y Forestal. La elaboración de este Programa fue encargada al Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), el cual convocó a un grupo de especialistas y administradores para que constituyeran un Comité Técnico Asesor (CTA), que diseñara una estrategia para la formulación del Programa. Este CTA estuvo integra-

do por el Director de Investigación del INIA, dos científicos de la misma institución, un representante de la Red de Cooperación Técnica en Biotecnología Vegetal de la FAO (REDBIO), un representante del Comité de Biotecnología de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), uno del Instituto Forestal (INFOR), uno de la Secretaría Ejecutiva de la Fundación para la Innovación Agraria y uno de la Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe (FAO-RELAC). La coordinación del CTA estuvo a cargo del suscrito.

El CTA, en su primera reunión, recomendó la realización de un diagnóstico de la situación de la biotecnología silvoagropecuaria en Chile. Con este propósito se le solicitó al Sr. Ministro de Agricultura que pidiera a la FAO la designación de un consultor especializado para que ayudara en la realización de un diagnóstico preliminar. Con la ayuda del consultor designado, esta primera etapa se concluyó en un plazo de 6 meses y se concretó en la publicación de un documento, editado conjuntamente por la FAO, el MINAGRI y el INIA, donde se recopiló la información disponible sobre biotecnología agropecuaria y forestal en el país.

Completado el diagnóstico, el CTA recomendó la contratación de un grupo de expertos internacionales de alto nivel, que pudiera colaborar en la formalización de una propuesta de Programa, teniendo en cuenta el diagnóstico realizado. Con este propósito el Gobierno de Chile solicitó oficialmente a la FAO, la ejecución de un Proyecto de Cooperación Técnica (TCP). Este incluyó la contratación de 5 expertos internacionales del más alto nivel científico, que se abocaron, durante 3 semanas, a revisar la evaluación hecha previamente y a formular una propuesta de Programa. Para ello mantuvieron entrevistas con los principales grupos de científicos que trabajan en biotecnología en el país, con autoridades del MINAGRI, de Agencias de Financiamiento y con los responsables del desarrollo científico y tecnológico del país.

Una vez elaborada la Propuesta, ésta fue presentada a la comunidad científica en una "Conferencia de Planificación" (CP), en la cual investigadores nacionales mostraron los avances alcanzados a la fecha en el país en materias de biotecnología, los expertos internacionales mostraron el estado del arte del desarrollo biotecnológico en sus respectivas áreas de especialidad, y los miembros integrantes del TCP presentaron su pro-

puesta de Programa Nacional. A la CP concurren más de 100 participantes. Fueron invitados representantes de algunos Centros Internacionales (CIP, CIMMYT, CIAT, ISNAR), de organizaciones de investigación y cooperación Internacional (CIRAD, USDA, SEI, JICA,), autoridades políticas (Oficina de Estudios y Planificación del MINAGRI, Gobiernos Regionales, etc.) y más de 50 científicos chilenos que trabajan en biotecnología agrícola, forestal y ganadera. Además, se invitó a participar al sector productivo, que lo hizo tanto presentando trabajos, como participando activamente de las discusiones. La CP se realizó en Chillán (VIII Región) y fue organizada por el Centro Regional de Investigación Quilamapu del INIA. El éxito de esta conferencia fue posible gracias a la entusiasta participación de un activo grupo de organizadores regionales que inclu-

yó a representantes de la Universidad de Talca, la Universidad de Concepción, la Universidad del Bío-Bío y la Universidad Adventista.

En el documento que se presenta a continuación se dan a conocer los trabajos presentados por los especialistas, tanto nacionales como internacionales, y las recomendaciones y conclusiones de la CP. Esperamos con ello contribuir a la difusión de esta valiosa información, que constituirá la base fundamental para la formulación definitiva del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal del Ministerio de Agricultura de Chile.

Carlos Muñoz Schick
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.
Instituto de Investigaciones
Agropecuarias

CONTENIDO

	Pág.
PRESENTACION	1
PROLOGO	3
DISCURSOS DE INAUGURACION	11
<i>Sr. Isaac Maldonado</i>	<i>13</i>
<i>Sr. Antonio Hargreaves</i>	<i>15</i>
<i>Sr. Santiago Funes</i>	<i>21</i>
<i>Sr. Sigisfredo Scheuermann</i>	<i>29</i>
SESION PLENARIA I: USO DE LA BIOTECNOLOGIA EN LA PRODUCCION PECUARIA.....	33
Estado de la biotecnología pecuaria en Chile <i>José Francisco Cox</i>	<i>35</i>
SESIÓN PLENARIA II: EL CULTIVO DE TEJIDOS EN LA PRODUCCION AGRÍCOLA	47
El cultivo de tejidos vegetales en la producción agrícola <i>Juan Velozo.....</i>	<i>49</i>
Relación entre la investigación, docencia y el sector privado en el área del cultivo de tejidos <i>Ruperto Hepp.....</i>	<i>65</i>
Uso actual y potencial del cultivo de tejidos: Experiencias en el CIAT <i>William Roca</i>	<i>71</i>
SESION PLENARIA III: USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN LA PRODUCCION AGRICOLA Y DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS	79
Uso actual y potencial de marcadores moleculares en fitomejoramiento en Chile <i>Patricio Hinrichsen.....</i>	<i>81</i>

Molecular markers applications in plant breeding in Chile <i>Peter M. Gresshoff</i>	95
Situación de la biotecnología en los cultivos tropicales <i>Jacques Meunier</i>	101
Uso práctico y masivo de marcadores moleculares en cereales. Apuntes y perspectivas del CIMMYT <i>Diego González de León</i>	107
Situación actual y potencial de los marcadores moleculares en el diagnóstico de las enfermedades en Chile <i>Guido Herrera</i>	117
Uso de los marcadores moleculares en el diagnóstico patológico <i>Chuck Niblett</i>	121
Fingerprinting de plantas y hongos con microsatélites <i>Günter Kahl</i>	129
SESION PLENARIA IV: PRODUCCION DE PLANTAS TRANSGENICAS	133
Producción de plantas transgénicas: La situación chilena <i>Loreto Holuigue</i>	135
Usos potenciales de la ingeniería genética <i>Günter Kahl</i>	143
SESION PLENARIA V: USO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA PRODUCCIÓN SILVÍCOLA	147
Uso de la biotecnología en la producción silvícola <i>Roberto Ipinza</i>	149
Mejoramiento de plantaciones de eucaliptos con biotecnología <i>Luis San Martín</i>	155
Aprovechamiento de los residuos de la industria forestal <i>Guillermo Schaffeld</i>	161

La diversidad genética y su relación con la biotecnología de plantas y especies forestales <i>Víctor M. Villalobos</i>	167
SESION PLENARIA VI: ASPECTOS LEGALES SOBRE LA PRODUCCION DE PLANTAS TRANSGENICAS EN CHILE	179
Legislación y normativa nacional que regula la liberación de material transgénico en la agricultura <i>Carmen Cabrera</i>	181
PROGRAMA NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL	183
Ideas y sugerencias para la elaboración de un programa nacional para el desarrollo de las biotecnologías silvoagropecuarias en Chile <i>Albert Sasson</i>	185
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	189
Conclusiones y recomendaciones <i>Antonio Hargreaves</i>	191
ANEXOS	197
ANEXO 1. PROGRAMA DE LA CONFERENCIA	199
ANEXO 2. PARTICIPANTES	203

DISCURSOS DE INAUGURACION

DISCURSO PRONUNCIADO POR EL SR. ISAAC MALDONADO, DIRECTOR REGIONAL DEL INIA-CRI QUILAMAPU

Es motivo de gran orgullo recibir en esta región y en este auditorio a tan distinguido grupo de expertos en un tema que no sólo sustentará parte de nuestros sueños de futuro, sino que será básico en el desarrollo del sector silvo-agropecuario nacional.

Como resultado de lo antes mencionado, y consciente de la importancia de esta Conferencia, debo señalar a ustedes que se han desplegado los mejores esfuerzos para la realización de este evento, donde no es posible omitir el importante apoyo del señor Ministro de Agricultura Don Emiliano Ortega R., del Consejo de Innovación Agraria, de la FAO y del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), como conductores en la elaboración del Programa Nacional de Biotecnología.

En la organización de esta reunión se ha contado con esfuerzos compartidos por la institucionalidad regional, aquí se debe mencionar la Universidad de Talca, Universidad Adventista, Universidad del Bío-Bío, Universidad de Concepción y los profesionales del Centro Regional de Investigación (CRI) Quilamapu. Todos ellos han he-

cho un esfuerzo conjunto, para brindar a ustedes las mejores condiciones y facilidades en la realización de vuestro trabajo. Además, hacemos presente que por sobre la noble labor antes mencionada, también se busca que esta actividad sea sólo el inicio de una acción mancomunada en la exploración, elaboración y obtención de los resultados que la biotecnología ha de entregar a estas regiones, y donde nuestro necesario y explícito interés en sumar esfuerzos es básico, para avanzar en la dirección y magnitud que las condiciones actuales lo requieren.

No hay duda que es fácil anunciar trabajos colaborativos, buscar una complementación, o establecer alianzas, sin embargo, hacer esto realidad será lo único que tendrá sentido o valor. Para ello, las decisiones que se deben tomar en estos días constituirán la base sobre la cual se elaborarán proyectos específicos, y donde cada uno de los actores regionales ha de exponer sus fortalezas en las áreas que mejor domina, sin caer en los excesos de no aprovechar inteligentemente las complementaciones nacionales e internacionales.

En tal sentido, y al encontrarnos las diferentes instituciones en la preparación de esta Conferencia, hemos sido capaces de descubrir las fortalezas de nuestros pares que confiamos aprovechar en lo inmediato. Por esto es que deseamos dar a ustedes la tranquilidad de que agotaremos todos los esfuerzos que sean necesarios, para conformar equipos interdisciplinarios de científicos e investigadores, fuertes y competitivos, tanto en el medio nacional como en el internacional, porque si bien históricamente pocos espacios se nos han entregado y mucho se ha hecho, es que esperamos no se nos dé menos para así entregarlo todo.

Al respecto, respaldando la afirmación, aprovecho la oportunidad de agradecer la presencia en este evento de los señores representantes de FAO, con quienes nos une un largo trabajo conjunto en el desarrollo de proyectos muy exitosos. En tal sentido, deseo destacar y agradecer que se haya otorgado a INIA el Premio Eduard Saouma 1994-1995, por la excelencia en la ejecución del proyec-

to Control Biológico del Pulgón Ruso del Trigo, ejecutado por los colegas Marcos Gerding, del CRI Quilamapu, y Hernán Norambuena, del CRI Carillanca; este trabajo fue seleccionado entre todos aquellos que la FAO apoya en el mundo, lo que nos llena de orgullo y satisfacción.

Dicho premio será recibido por el señor Marcos Gerding el 20 de octubre en la Conferencia Inaugural de la Sesión Plenaria de los países miembros de FAO, al cumplir esta institución 50 años de abnegada y fructífera labor. Esperamos optar al próximo concurso con un proyecto en biotecnología, el que sin duda ha de disputar el primer lugar del ranking.

Señores conferencistas, que vuestro trabajo sea fructífero; para ello cuentan con todas las facilidades que esté a nuestro alcance otorgarles.

¡Muchas gracias!

DISCURSO PRONUNCIADO POR EL SR. ANTONIO HARGREAVES, DIRECTOR DE INVESTIGACION DEL INIA

Es para el Director de Investigación del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), especialmente grato representar al Presidente Ejecutivo del INIA, Sr. Gonzalo Jordán Fresno, en la ceremonia inaugural de esta importante Conferencia. Nosotros, como institución de investigación dependiente del Ministerio de Agricultura, hemos estado permanentemente preocupados de incorporar a nuestro quehacer herramientas de avanzada que se traduzcan en una más eficiente realización de trabajos científicos y en la obtención de productos tecnológicos de alto nivel competitivo en el ámbito internacional.

Todos entendemos que la razón que animó al Sr. Ministro de Agricultura a lanzar esta iniciativa dentro de las medidas ministeriales, es que existen en Chile diferentes grupos de científicos que están trabajando en y con biotecnologías, para distintos propósitos. La urgente necesidad de aunar los esfuerzos en esta materia hizo que se cristalizara esta medida en un solo programa, al cual, entre todos nosotros le daremos forma al término de esta reunión. El Minis-

terio ha depositado la responsabilidad de coordinar este proyecto en el INIA, quien a su vez ha formado un equipo de investigadores y representantes de diversas instituciones afines, para llevar a cabo la tarea en el bien entendido de que se trata de un programa de cobertura nacional.

El INIA tomó este liderazgo por dos razones fundamentales: (1) por ser la institución de investigación del Ministerio y que tiene cobertura nacional; y (2) porque la biotecnología debe necesariamente estar ligada a la obtención de productos agropecuarios y forestales. El programa de fitomejoramiento del INIA, a lo largo del país y en distintos rubros ha contribuido de manera significativa al aumento sostenido que han tenido los rendimientos. Las actividades de biotecnología tienen un destino estratégico ligado estrechamente a este programa, cual es la aceleración en la obtención de nuevas variedades y creación de éstas con distintas condiciones de calidad, según las cada vez más altas exigencias de los mercados.

Hoy día se reconoce a la agricul-

tura chilena como una de las más desarrolladas en América Latina. El país posee rendimientos promedios, en la mayoría de los cultivos alimenticios básicos, comparables a los de países desarrollados. Una situación análoga se observa en la fruticultura y silvicultura. Este sitio se ha logrado gracias a las bondades agroclimáticas de nuestro país y a su favorable situación fitosanitaria, pero fundamentalmente, gracias a la capacidad que han tenido los científicos, empresarios y técnicos chilenos para introducir tecnologías desde los países desarrollados y adaptarlas exitosamente a nuestra particular realidad.

En estas condiciones, el incremento de la productividad se hace cada vez más difícil, sobre todo, por el rápido cambio que está ocurriendo en cuanto a protecciones y patentes, lo que dificulta el intercambio de información y encarece el sistema productivo. Este hecho es particularmente relevante en el sector hortofrutícola, dado que éste depende fundamentalmente de variedades generadas en el extranjero, por las cuales debemos pagar royalties cada vez mayores, por un número creciente de ellas. Esta situación hará disminuir en el futuro nuestra competitividad en los mercados internacionales, ya que representará un costo adicional

para nuestros productos exportables. Por otra parte, el creciente desarrollo de las biotecnologías y el patentamiento a que las técnicas biotecnológicas están sujetas, hacen cada vez más difícil acceder libremente a la tecnología extranjera.

Por esta razón, es indispensable desarrollar nuestra capacidad para generar tecnologías. Ello no sólo nos permitirá su uso en el país y en el extranjero, sino que también fortalecerá nuestra capacidad de negociación frente a la inminente apertura de los mercados.

En el contexto señalado, el INIA ha recibido una importante inyección de recursos provenientes del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), que han permitido reforzar la capacidad instalada de laboratorios a lo largo del país, con la adquisición de equipos de alta tecnología para desarrollar trabajos en biotecnología. A su vez, varios de nuestros investigadores han tenido la oportunidad de capacitarse, obteniendo grados de master (M.Sc.) o doctor (Ph.D.), o informalmente a través de diferentes actividades de visitas a centros de investigación avanzada del mundo, como también con la venida de expertos internacionales al país, para incorporar alguna técnica específica, de una for-

ma eficaz y rápida.

Estos esfuerzos tienen una razón de ser. Desde hace poco más de un año el INIA está cambiando su estructura de orientación de la investigación, obedeciendo a las nuevas y renovadoras señales de apertura y segmentación de los mercados a nivel mundial, que necesariamente exigen una mayor competitividad como país en los distintos ámbitos de la economía. La agricultura, con mayor razón, debe construir y encontrar las alternativas de competencia como actividad exportadora. El sector productor necesita con urgencia, respuestas a estos nuevos desafíos, requiere diversificar su producción y la creación de nuevos productos, necesita productos limpios de contaminantes y alternativas para reducir los costos de producción, necesita homogeneidad de productos y, por último, necesita herramientas para luchar en la contingencia y seguir ofreciendo al país una importante actividad económica.

En este campo, junto con la potenciación de las capacidades científicas del país, desarrollando a fondo su inteligencia y creatividad, las biotecnologías juegan un rol que es determinante para el éxito que ellos puedan tener. Por su parte, el INIA ha entendido que las res-

puestas a muchos de estos desafíos está en la profundización del conocimiento de los procesos biológicos y la manipulación de ellos. Esto significa incrementar definitivamente la investigación más básica, o mejor dicho, más estratégica, buscando el justo equilibrio, dando respuesta también a la contingencia o a las necesidades de más corto plazo. Este esquema ha sido decididamente apoyado por el Sr. Ministro de Agricultura, como Presidente del Consejo del INIA, y por la inmensa mayoría de sus investigadores, quienes, al igual que muchos otros científicos del país han entendido que ésta es la alternativa más eficaz.

La reciente promulgación de la Ley 19.342 que regula los derechos de los obtentores de nuevas variedades vegetales, constituirá un incentivo directo para que científicos y técnicos chilenos, tanto del sector público como privado, se aboquen a generar nuevas variedades o a continuar introduciendo al país variedades generadas y protegidas en el extranjero. A su vez, la reciente nominación del INIA como Curador Nacional de Recursos Fitogenéticos, ha dado a estos recursos la importancia que deben tener en el sentido de configurar una fuente importante de germoplasma, que puede tener insospechadas repercusiones en

nuestro quehacer como país generador de productos nuevos. Para ello, necesitamos con urgencia visualizar con claridad cual será el destino y uso de esos recursos. En esto, nuevamente la biotecnología constituye una herramienta fundamental.

Teniendo conciencia del incipiente estado de desarrollo que las biotecnologías tienen en el país, y del reducido grupo de científicos que actualmente realiza trabajos en el área silvoagropecuaria, este Programa Nacional, concebido por lo menos a 10 años plazo, deberá necesariamente contemplar la formación y capacitación de recursos humanos, e incentivar a un grupo importante de científicos chilenos que hoy se encuentran trabajando en el extranjero para que se incorporen a la puesta en marcha del Programa, ya sea volviendo a nuestro país o colaborando desde sus actuales sedes.

Entendemos, sin embargo, que el INIA por sí solo no puede enfrentar esta tarea, y es por eso que se ha invitado a participar a este Programa Nacional a las universidades y a otros institutos de investigación del sector silvoagropecuario. Por esta razón, valoramos profundamente la iniciativa del Ministerio de Agricultura, y el apoyo del Gobierno de Chile y de la FAO

para la materialización de este evento.

En el diseño del Programa se reevaluarán los objetivos del mejoramiento genético de especies vegetales y animales bajo los nuevos escenarios mundiales, y se hará una evaluación de la disponibilidad de las modernas técnicas biotecnológicas, incluida la ingeniería genética, para poder determinar la factibilidad económica de enfrentar estos desafíos.

No quiero dejar de enfatizar el desafío que representa para el país la conservación y el uso de los recursos genéticos. Hoy día la diversificación de los productos agropecuarios es una tarea a la que se enfrentan todos los países del orbe. Basta mencionar que de las casi 300.000 especies de plantas superiores existentes en el mundo, sólo 300 constituyen la base de la alimentación mundial. Esto significa que existe un tremendo potencial para introducir al cultivo nuevas especies, para buscar nuevos usos a las ya domesticadas, o para identificar en ellas genes que puedan ser usados en beneficio de la humanidad. En este sentido, Chile tiene una situación muy particular, puesto que, si bien es cierto nuestra flora es relativamente reducida (no más de 4.000 especies), ella posee un alto grado de

endemismo, es decir, un alto número de plantas que sólo crecen en nuestro territorio, y por lo tanto, hay allí un potencial especial para el desarrollo de nuevas especies o de otros usos para nuestras plantas.

Por otra parte, es cada vez más difícil acceder a germoplasma extranjero, ya que la mayoría de los países firmantes de la Convención de la Biodiversidad han declarado los recursos genéticos como patrimonio transable, es decir, como un bien susceptible de negociar. Esto significa que el germoplasma no estará más disponible para el libre intercambio y nos obligará a caracterizar muy bien el propio, para conocer en profundidad de qué elementos de negociación disponemos.

Hemos decidido que el Programa Nacional de Biotecnología contemple tanto a la biotecnología animal como a la biotecnología vegetal y forestal, las plantas ornamentales, las especies medicinales, aromáticas y las especies forestales, tanto nativas como introducidas.

La conferencia que hoy iniciamos se ha llenado de grandes expectativas, tal vez superiores a los que realmente podamos obtener. En-

tendemos que no es fácil para un grupo de escogidos científicos internacionales empaparse de las necesidades de nuestro país en poco tiempo.

Sin embargo, creemos que esta oportunidad, inédita en la historia científica chilena, dará tribuna para la discusión científica del más alto nivel, y esperamos que durante este intercambio profesional, en tres días intensos de trabajo, pueda clarificarse el camino por donde seguir y encauzar las iniciativas científicas de nuestro país, llegando en lo posible a establecer una escala de prioridades que nos orienten para la asignación de los siempre escasos recursos.

Chile ha dado un paso significativo. La Comisión de Ciencia y Tecnología del Congreso ha entregado los lineamientos generales y sugerido la entrega de un fuerte apoyo al desarrollo científico, creando una política de innovaciones creciente y permanente, que debe ser fomentada para permitir que las empresas nacionales se mantengan en condiciones de competitividad en un mercado internacional tremendamente competitivo. Así, se ha fijado la meta de aumentar el porcentaje del gasto en investigación y desarrollo desde el 0.8% del PGB que se

calcula hoy, hasta una cifra de por lo menos el doble, para consolidar un crecimiento sostenido de nuestra economía.

Hago votos para que esta reunión sea exitosa. En la preparación de ella ha sido determinante la participación de destacados científicos chilenos, como por ejemplo, el Dr. Carlos Muñoz S. de INIA La Platina, y de científicos extranjeros como el Dr. Víctor Villalobos de FAO, quienes con el apoyo de muchas otras personas han logrado el ob-

jetivo de realizar este evento.

Esta Conferencia se ve materializada con la decidida colaboración de quien es hoy nuestro anfitrión, el CRI Quilamapu del INIA, cuyo personal ha desplegado un inmenso esfuerzo para asegurar el éxito.

Necesitamos la opinión de todos y cada uno de los que estamos aquí, por el bien de nuestra comunidad científica y por el futuro del país.

¡Muchas gracias!

DISCURSO PRONUNCIADO POR EL SR. SANTIAGO FUNES, REPRESENTANTE REGIONAL ADJUNTO DE FAO EN CHILE

No puedo ocultar un sentimiento de alegría personal que quisiera antes que nada compartir con ustedes. Represento a una organización que cumple hoy, 16 de octubre de 1995, cincuenta años de existencia. Todos los aquí presentes, permítanme expresarlo así, somos parte de la historia de medio siglo de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. También celebramos hoy el Día Mundial de la Alimentación, que este año tiene como lema "Alimentos para Todos", con todo lo enigmático que puede tener ese lema hoy, en 1995, si es que miramos el pasado, echamos una mirada al presente y si es que pensamos en el futuro.

Celebrar los cincuenta años de la FAO en Chile no es, por otra parte, una celebración cualquiera. La FAO debe mucho a Chile. Este país ha honrado todos y cada uno de los compromisos que suscribió con nuestra organización, desde que se incorporó a los gobiernos que la integran.

A lo largo de muchos años y por voluntad del gobierno, hemos po-

dido aprender juntos con los productores chilenos en la pesca, en el bosque, en la agricultura y en la ganadería; nosotros percibimos una larga relación de aprendizaje compartido con los habitantes rurales de esta nación. En algún momento Chile pudo necesitar para su desarrollo rural, agrícola, pesquero y forestal, información y conocimientos que no estaban disponibles dentro de las fronteras nacionales y que existían en otras partes del mundo. Entonces como ahora, la FAO ha tratado siempre de estar al alcance de las necesidades nacionales en el desarrollo sectorial.

Permítanme ustedes mencionar a un hombre que honró a la FAO en su momento y que la sigue honrando en su relación con ella, a un ciudadano chileno, Don Hernán Santa Cruz, que no solamente benefició con su participación y su inteligencia a la FAO, sino al conjunto del sistema de las Naciones Unidas. Don Hernán Santa Cruz supo transmitir, si cabe decirlo así, chilenidad a la FAO; supo enriquecerla desde Chile, y contribuir para que las expresiones y experiencias de la ruralidad chilena

estén presentes en la vida de nuestra Organización.

Celebro, pues, con ustedes, los cincuenta años de la FAO, no sólo en esta Conferencia de Planificación del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal, sino también lo celebro muy especialmente en este país, que ha sido fuerte sostenedor de la vida y de los logros de nuestra Organización.

El señor representante del Presidente Ejecutivo del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y el Director Regional del Instituto se han referido a la contribución de la FAO en el actual proceso de elaboración del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal que Chile necesita. Agradezco esas menciones a la modesta colaboración que estamos prestando, concertada en muy corto tiempo. Han transcurrido no más de 9 meses entre el momento en que el Ministro de Agricultura, Don Emiliano Ortega, solicitó a la FAO una cooperación en esta materia, hasta este instante en que nos enorgullecemos de hacer posible la presencia de distinguidos científicos internacionales que completan el cuadro de representantes del mundo de la ciencia y la tecnología, que hoy van a comenzar sus deliberaciones. Ello

muestra que cuando hay interés, cuando hay voluntad de todas las partes, somos capaces de ofrecer un servicio de calidad con prontitud y oportunidad en relación con las exigencias actuales. En esto reside también el esfuerzo de modernización de la FAO conducido por su Director General, el Sr. Jacques Diouf.

Distinguidos científicos y tecnólogos que están presentes en esta conferencia, desearía evocar el carácter complejo de los desafíos que se enfrentan al tratar de definir, en estos días que transcurren, el posible horizonte de un fortalecimiento de la actividad nacional en materia de biotecnología.

En ese sentido, no debería resultar extraño recordar aquí, en términos de esa complejidad, el estudio de un científico hace alrededor de veinte años, en torno a los trabajos del matemático Gödell, del músico Bach y del artista Escher. Armonías y disonancias ocurren permanentemente en la construcción científica, como consecuencia tanto de la exigencia interna de cada ciencia como de su inevitable referente social e histórico. El horizonte de reflexión y trabajo es alterado por las tensiones que provienen de los reclamos y circunstancias sociales. Los planos y las dimensiones se combi-

nan tanto como las expectativas y las posibilidades. Lo probable se articula con incertidumbres, que no provienen exclusivamente del discurso científico sino también del incierto devenir de las sociedades humanas, de los valores en juego, de los criterios con los que se juzga en cada caso lo conveniente y lo necesario, lo permanente y lo transitorio.

Si consideramos toda la pujanza y creciente fortaleza que experimenta en estas décadas el esfuerzo en materia de biotecnología; el amplio campo de aplicaciones y tecnologías de producción que surgen a diario; las promesas de una próxima década plena de resultados utilizables en la producción agrícola comparable a los diez años anteriores en cuanto a biotecnología aplicada a la salud humana, tenemos que con todo ello, las instituciones públicas y privadas ocupadas del desarrollo, de la investigación o de la enseñanza en aspectos biotecnológicos; los profesionales y técnicos que se le vinculan; los productores usuarios actuales o potenciales de desarrollos biotecnológicos, no están exentos de cierto margen de incertidumbre acerca de qué hacer, de porqué hacerlo y de cómo realizarlo en el futuro.

En efecto, no existen demasiadas

certidumbres sobre lo que va a ser la agricultura dentro de veinticinco años. Sabemos en una apreciable medida que no va a ser la misma que tenemos hoy. En la actualidad, en muchos lugares del planeta se registra una transformación profunda en el aprovechamiento de los recursos naturales para la producción alimentaria y de materias primas provenientes del trabajo en el campo, en los bosques y en las pesquerías. Además, sabemos que para millones de seres humanos en las áreas rurales constituyen amenazas cotidianamente vividas, el agotamiento de los recursos productivos a que tienen acceso, y las crecientes presiones sobre esos recursos por potenciales usuarios, así como por otros sectores de la sociedad interesados en su protección y preservación. Mencionemos, asimismo, la incentivación del comercio agrícola y alimentario internacional; al papel asignado a la comercialización como mecanismo central de crecimiento, junto con la apertura de fronteras a mercados regionales y subregionales y un relativamente mejor contexto para el comercio mundial.

Otros numerosos elementos, de los que no están excluidos una creciente incidencia del conocimiento como insumo básico para el éxito de la actividad y los negocios

en el campo, proporcionan un cuadro ambivalente, de nuevas posibilidades y también de nuevos desafíos. Con frecuencia, en lugar de alegrarnos, esta transición genera a muchos, y particularmente a varios millones de seres humanos que trabajan sus parcelas en todo el mundo, una cierta dosis de temor, una cierta dosis de incertidumbre.

Sabemos también que la agricultura dentro de veinticinco años, deberá haber satisfecho el desafío de proporcionar alimentos suficientes a una población que será diez veces más grande de lo que fue a principios de este siglo. Sabemos que no es sólo la agricultura la responsable de resolver las condiciones esenciales para atender ese desafío, en el sentido de que las decisiones importantes corresponden a actores que normalmente se ubican en sectores administrativos y de política distintos del rubro agrícola.

En la actualidad, parece asunto asumido que en el planeta hay capacidad de recursos físicos y humanos para alimentar a toda su población, ahora y dentro de veinticinco años. No obstante, 800 millones de seres humanos no tienen acceso a los alimentos básicos que necesitan, a causa de que carecen de ingresos suficientes

para obtenerlos. Una buena cantidad de millones de personas, centenares de millones de niños, nacen condenados hoy a la desnutrición crónica y a sobrevivir, acaso, en condiciones de penuria e inseguridad alimentaria. Sin cambios radicales en la distribución del ingreso, en la promoción de las actividades agrícolas sostenibles, y en la generación de empleos no agrícolas en las áreas rurales, parece igualmente cierto que dentro de dos décadas la cifra de personas con riesgo de inseguridad alimentaria y afectadas por desnutrición será, al menos, del mismo orden de magnitud que la actual.

Las certidumbres, entonces, nos vienen más notoriamente del lado de los desafíos a superar; implican esferas más amplias que la del sector agrícola y alimentario, suponen determinaciones sociales acerca de las condiciones y calidad de vida en las áreas rurales, y decisiones políticas que tienen que ver con el rumbo y el destino de las sociedades nacionales y de la humanidad en su conjunto.

Observamos asimismo otros cambios, y tendencias. El señor representante del Presidente Ejecutivo del INIA acaba de llamar nuestra atención hacia una de ellas, relativa a la posibilidad de que los re-

sultados de ciencia básica adquirirán más y más un carácter mercantil, a partir de su patentamiento y como parte de nuevas formas de protección y reconocimiento de los derechos de propiedad intelectual. Tendencia sin duda ausente en nuestros horizontes de hace treinta años atrás, en cuyo contexto era imposible pensar en un futuro con acceso restringido a los productos de ciencia básica, en función de la capacidad de adquisición de un mercado de bienes y servicios. De prosperar esa tendencia, y teniendo en mente que el componente conocimiento es y será crecientemente fundamental para el desarrollo y la sostenibilidad de los diversos sistemas de producción agrícola, pecuaria, forestal y pesquero, tendrán que superarse obstáculos adicionales. De manera especial, dificultades para las producciones de los pequeños y medianos productores rurales.

En esas y otras condiciones y desafíos, Chile se plantea, y no seguramente desde la nada, ordenar su esfuerzo en un horizonte de medio plazo en materia de biotecnología agropecuaria y forestal. Lo hace por razones prácticas inmediatas y también estratégicas. Tenemos la impresión de que se trata de un esfuerzo que vale la pena de ser considerado prioritario, por motivos económi-

cas, sociales e incluso de carácter político. Tenemos asimismo la impresión de que es un momento oportuno para ese planteamiento.

Los éxitos de los últimos años en cuanto a incorporación de tecnología y a modernización de los sistemas productivos en el sector agrícola y forestal han sido notables. El desafío estratégico reside en mantener la competitividad de los productos nacionales en mercados domésticos e internacionales, a cuyo abastecimiento concurrirán más productores de un mayor número de países. La biotecnología puede hoy y podrá seguramente mañana, ofrecer alternativas viables para alcanzar niveles superiores de competitividad en condiciones crecientemente exigentes. Es, asimismo, comprensible que la oferta o la disponibilidad en biotecnología se asocie cada día de manera más notable con la atracción de inversiones hacia las áreas de producción agropecuaria y forestal.

Por otra parte, la sostenibilidad de las producciones nacionales, considerada en relación con la seguridad y la regeneración de la base de recursos disponibles, podría verse favorecida en buena medida por resultados razonablemente esperables de un esfuerzo apropiado, en orientación, en duración

y en recursos disponibles, de biotecnología.

En poco tiempo más, Chile estará experimentando nuevas posibilidades y desafíos al completarse las gestiones para su incorporación a zonas de unión aduanera y de libre comercio de nivel subregional y regional. En esos nuevos contextos, la producción y el comercio evolucionan en términos de las ventajas comparativas y en relación con las capacidades nacionales para aumentar constantemente las ventajas competitivas, diversificando el uso de los recursos. Con frecuencia, se establecen plazos de alrededor de una década para acceder a una situación de arancel cero para muchas de las producciones agrícolas.

En el transcurso de esos plazos, que no son mayores de diez o quince ciclos de un cultivo de secano, deben realizarse las inversiones, las transformaciones tecnológicas y el cambio en los patrones de cultivo y uso del suelo, las aguas y la cubierta vegetal, de lo que depende en gran parte la sobrevivencia de actividades económicas en las áreas rurales que han sido tradicionales y deben convertirse en competitivas a nivel internacional. Del mismo modo, los arreglos de libre comercio internacional suelen acompañarse de

medidas vinculantes en aspectos ambientales, de preservación de los recursos naturales. Y, asimismo, suelen incluir -como en el caso de los Acuerdos de la Ronda Uruguay del GATT- formas internacionalmente aceptables de estimulación, inversión y transferencia de recursos de fomento hacia las áreas y sistemas de producción agrícola.

Como resultado de los cambios en los patrones de comercio internacional, nuevas formas de protección no arancelarias adquieren mayor importancia. De manera que es a nuestro juicio muy oportuno que las instituciones públicas y privadas chilenas hayan decidido coincidir y establecer un territorio de esfuerzos compartidos en torno al desarrollo indispensable de las opciones biotecnológicas, que el país y sus productores requieren ahora y requerirán en el futuro de medio plazo. Se trata, en el fondo, de que cuando sean necesarias, las alternativas estén efectivamente disponibles y su acceso no se vea limitado por el origen de su desarrollo, o de su costo de importación, o de complejos y delicados procesos de adaptación a realidades diferentes de las que motivaron su aparición inicial.

Permítannos ustedes unas breves consideraciones acerca del marco

institucional para el esfuerzo futuro en materia de biotecnología agropecuaria y forestal. Es obvio que debe encontrarse el conjunto de arreglos necesarios para articular sinérgicamente complementariedades, funciones normativas (de creciente importancia en esta materia) e iniciativas de desarrollos tecnológicos vinculadas a las expectativas y señales de los mercados nacionales e internacionales.

Quizás resulte conveniente preguntarse primero por la materia y después por la institucionalidad pública y privada que la va a hacer posible. Sería tal vez incorrecto definir a priori la institucionalidad pública y privada para luego derivar la materia sobre la cual versará el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Una vez ordenados los temas principales, sustantivos, establecidas las prioridades y los resultados esperables a corto y medio plazo, sería posible encontrar el marco institucional flexible y eficiente que el Programa requiera. El arreglo institucional debe permitir la evolución de esfuerzos nacionales articulados en relación con una política pública para la biotecnología agropecuaria y forestal que involucre a los sectores gubernamental, privado, académico, de investigación y transfe-

rencia, a los productores, a sus organizaciones y empresas, en su diseño, ejecución, monitoreo y evaluación.

Sería preciso, asimismo, ampliar el acceso a la tecnología moderna a un mayor número de productores rurales, es decir, alcanzar una modernización ampliada y más justa desde el punto de vista social con aportes de la biotecnología. Se trataría de evitar que los beneficios de la innovación científica y tecnológica se concentren en un sector, en un grupo de sistemas productivos o de empresas o en tipos de productores. La situación actual permite esperar que la ciencia y la tecnología favorezcan la modernización de los sistemas de producción pequeños, cuyos usuarios con frecuencia usan su propia lógica y estructuras decisionales, y tienen derecho a buscar su continuidad una mayor competitividad y rentabilidad. Los pequeños productores, por otro lado, tienen mucho que ver con las posibilidades de preservación de la base de recursos naturales de un país, especialmente de parte de los recursos genéticos de los cuales va a depender en el futuro la humanidad para sus necesidades de desarrollo en general y de la biotecnología en particular.

La Conferencia que hoy se inicia

debería examinar el importante asunto de dónde posicionar el esfuerzo nacional en materia de biotecnología. ¿Cuáles son las líneas de investigación prioritarias, cuáles las áreas de desarrollo profesional y de reforzamiento de la capacidad institucional, pública y privada? ¿Por qué son ésas las prioridades y no otras, en un ambiente de creciente complementariedad y competencia internacionales? En este aspecto, las opciones deberían incluir refuerzos a la capacidad nacional de generación, de adaptación y/o de adopción de conocimientos en función de las necesidades previsibles en lo interno, y tener en cuenta, igualmente, la posibilidad de oferta de conocimientos, tecnologías y servicios afines hacia el exterior.

Nuestra Organización desea y aguarda los mejores resultados de

este ejercicio para la formulación del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Entre otros aspectos importantes, esperamos que la experiencia de Chile pueda enriquecer las posibilidades de la FAO para atender necesidades similares de otros países en desarrollo, particularmente en América Latina y el Caribe, en materia de elaboración y revisión de las políticas nacionales en biotecnología agropecuaria y forestal. En la región existen muchas expectativas, que seguramente darán paso a ejercicios nacionales y subregionales de selección de alternativas de política, así como posteriormente, de mecanismos apropiados de cooperación entre países en desarrollo.

¡Muchas gracias!

**DISCURSO PRONUNCIADO POR EL SR. SIGISFREDO
SCHEUERMANN,
SECRETARIO REGIONAL MINISTERIAL DE AGRICULTURA
DE LA VIII REGION**

El señor Ministro de Agricultura, quien se encuentra fuera del país, me ha encargado entregarles a todos ustedes un saludo de bienvenida a esta Conferencia de Planificación del Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Al mismo tiempo, darles a conocer que por razones del cargo y de las obligaciones que le corresponden, lamenta no estar presente en este día de inauguración de la Conferencia.

No cabe duda que los oradores que me antecedieron abordaron con mucha propiedad el tema central que preocupa a todos los participantes en esta Conferencia, por lo que me limitaré solamente a expresar algunas ideas en torno a él. La biotecnología, por ser de importancia crucial para el futuro de nuestros pueblos, ha sido materia de preocupación del Ministerio de Agricultura del Gobierno de Chile, y ha sido incluido como materia especial dentro de lo que fueron los 48 medidas anunciadas por el Gobierno en marzo pasado, destinadas a promover la transformación definitiva de la agricultura,

para hacerla más competitiva dentro de los mercados en los próximos años.

En primer lugar nos preocupa, y es necesario tener presente, que la generación y el dominio de las biotecnologías así como de otras nuevas tecnologías (del grupo de energía nuclear, de informática, la microelectrónica, los nuevos materiales), tienen, sin duda, una alta incidencia y significación económica y ambiental. Estas tecnologías contribuyen a disminuir, o a eliminar, en muchos casos, la importancia que han tenido hasta ahora los recursos naturales y el clima que, por general, conforman lo que nosotros hemos denominado o se hace llamar las ventajas comparativas de los países. Esta situación tiene una vital importancia para los procesos productivos que enfrenta el sector silvoagropecuario, puesto que los países desarrollados están "adquiriendo estas ventajas" a partir del dominio de estas tecnologías. Esta nueva condición afectaría a muchos de los productos tradicionales que constituyen la base alimentaria de

muchas naciones pobres y en vías de desarrollo.

De manera que lo que aquí se va a tratar en el plano científico, tiene que ser colocado dentro de un contexto de análisis que resguarde, como decía el señor representante de la FAO, el derecho de los agricultores más pequeños de poder tener acceso a estos instrumentos, que son poderosísimos en el proceso de producción competitiva.

Creemos que es justo preguntarse si con el uso de las biotecnologías y otras tecnologías nuevas, no ocurrirá lo mismo que pasó con la llamada Revolución Verde de los años '50. Todos ustedes saben que el impacto de esas tecnologías en los países del mundo fueron bastante diferentes. En aquellos países donde existían sistemas agrícolas homogéneos, el impacto pudo ser observado por casi toda la población productora. Sin embargo, en países que tenían una estructura agraria en ese entonces bastante heterogénea, como la que existe hoy día en muchos países, incluyendo al nuestro, el impacto que tuvieron esas tecnologías, fue en cierta medida, un paso para ir agrandando las diferencias en la capacidad de producir y de competir de los productores más

pequeños. Deseamos poder tener presente esta reflexión en el diseño de un plan de biotecnología que, sin duda, será la base para que el país pueda cimentar una estructura productiva con mayor capacidad de competitividad.

Nosotros nos alegramos que esta inauguración ocurra precisamente en este día, en que FAO celebra el "Día de la Alimentación Mundial", y los 50 años de existencia. Yo debo agradecer, en nombre del Ministerio, las afectuosas palabras y referencias hacia nuestro país que ha tenido el señor representante de FAO. Esperamos seguir respondiendo de la misma manera, puesto que es necesaria la colaboración de todos los países que integran la tarea conjunta de FAO.

No quiero extenderme más, sólo desear a los participantes, a los científicos nacionales e internacionales y a nuestras visitas, en el nombre del Ministerio de Agricultura y también en nombre del Gobierno Regional de esta Región del Bío Bío, que estos tres días sean muy fructíferos. Esperamos que al final de esta jornada puedan entregarnos un esbozo de lo que será el Programa de Biotecnología. El señor Ministro ha comprometido para el día 20 la presencia de todas las autoridades del Ministerio,

así como también del sector privado, para escuchar las conclusiones que ustedes nos den a conocer.

Entonces, en nombre del Ministro de Agricultura y del Ministerio de Agricultura, doy por inaugurada esta Conferencia.

¡Muchas gracias!

**SESION PLENARIA I:
USO DE LA BIOTECNOLOGIA EN LA PRODUCCION
PECUARIA**

ESTADO DE LA BIOTECNOLOGIA PECUARIA EN CHILE

José Francisco Cox
Universidad de Concepción
Chillán, Chile

Introducción

La integración del país a mercados internacionales ha impuesto como desafío la urgente adecuación del aparato productivo y científico-tecnológico a las condiciones de intercambio que se establecerán. En ese contexto, los sistemas pecuarios probablemente experimentarán un significativo estrés productivo que, según los análisis existentes, demandará reestructuraciones más o menos profundas, de manera de permitir un aumento de la competitividad en subsectores amenazados y un fortalecimiento del potencial productivo en aquellos que poseen ventajas comparativas naturales. De acuerdo al Ministerio de Agricultura, el aparato científico-tecnológico del país debería contribuir activamente en el suministro de soluciones tecnológicas que permitan la consolidación de una producción animal eficiente y rentable.

Existe consenso a nivel internacional de que la biotecnología producirá transformaciones profundas en los sistemas productivos a través de la modificación de las bases mismas en funciones productivas. En el ámbito pecuario esta realidad ha sido reconocida a nivel local, lo que se ha traducido en la preparación de diferentes laboratorios, básicamente a nivel de las universidades, para establecer una infraestructura de personal y equipos que permita asumir estos desafíos, pero de manera aislada, con recursos extremadamente limitados y sin asumir la situación país (Cuadro 1 y 2). El Programa Nacional de Biotecnología tiene la gran posibilidad de agrupar a los investigadores en torno a temáticas comunes, de relevancia nacional y dentro de un contexto productivo establecido por el gobierno y el sector privado, lo cual facilitará la utilización productiva del conocimiento.

Para focalizar el problema resulta apropiado definir qué se entiende por biotecnología pecuaria. De acuerdo a la propuesta original del equipo coordinador que está estructurando el Programa, se la definió como la utilización de organismos vivos para hacer o modificar productos a fin de mejorar plantas y animales o desarrollar microorganismos para usos específicos. Aún cuando esta definición deberá ser perfeccionada en el trabajo de las comisiones para acoger las posibilidades tecnológicas de manipular la salud, bienestar y potencial biológico de producción de los animales, parece existir con-

senso en que el lanzamiento del Programa está dirigido a dar una proyección productiva a la tecnología de ADN recombinante y a la manipulación genética de microorganismos, gametos, embriones e individuos.

El avance nacional hacia la utilización práctica de la tecnología del ADN y de la manipulación del flujo de genes, presupone el desarrollo equilibrado de las numerosas técnicas que permiten que la manipulación del ADN sea expresada en una función productiva, muchas de las cuales tienen un impacto productivo *per se*.

Cuadro 1. Laboratorios activos en biotecnología de aplicación pecuaria (Area Reproducción y Genética Animal) en investigación y docencia.

Laboratorio	Institución	Jefe de Laboratorio	Línea principal de investigación	Especies prioritarias	Biotécnicas de mayor importancia
Reproducción animal	Fac. Ciencias Veterinarias, U. de Chile U. Católica de Temuco Fac. Ciencias Veterinarias, U. de Chile	Mónica de los Reyes Marcelo del Campo Jorge Correa Renato Gaitica	Fecundación de gametos bovinos <i>in vitro</i> Tecnología de gametos y embriones en camélidos y salmónidos Tecnología de gametos y embriones	Bovinos Camélidos, Salmónidos Bovinos Camélidos Ovinos	Crioconservación, fecundación <i>in vitro</i> , micromanipulación de gametos, cultivo de tejidos, transferencia de embriones Crioconservación, fecundación <i>in vitro</i> , micromanipulación de gametos, cultivo de tejidos, transferencia de embriones. Crioconservación, fecundación <i>in vitro</i> , micromanipulación de gametos, cultivo de tejidos, transferencia de embriones. Crioconservación, micromanipulación
Biología de la reproducción	INTA U. de Chile Fac. Medicina, U. de la Frontera	Miguel Llanos Raúl Sánchez Jennie Risopatrón	Función de espermatozoides Fecundación de gametos bovinos <i>in vitro</i>	Salmónidos Bovinos	Fecundación <i>in vitro</i> , cultivo de tejidos, transferencia de embriones
Biología celular	INTA, U. de Chile Fac. Química y Farmacia, U. de Concepción	José Minguel María Imschenezki	Crioconservación de espermatozoides Reproducción celular	Salmónidos Caprinos, Moluscos	Crioconservación Secuenciación, hibridación, cromatografía, anticuerpos mono y policlonales
Tecnología de la reproducción	Fac. Medicina Veterinaria, U. de Concepción	José F. Cox Alejandro Sta. María	Tec. de gametos y embriones en rumiantes	Bovinos, Ovinos y Caprinos	Crioconservación, fecundación <i>in vitro</i> , micromanipulación de gametos, cultivo de tejidos, transferencia de embriones.
Fisiología animal	Fac. Medicina Veterinaria, U. de Concepción	Sergio Recabarren	Inmunomodulación de la reproducción	Caprinos y Ovinos	Anticuerpos monoclonales y policlonales, RIA

Cuadro 2. Laboratorios activos en biotecnología de aplicación pecuaria (Area Salud y Nutrición Animal) en investigación y docencia.

Laboratorio	Institución	Jefe de Laboratorio	Línea principal de investigación	Especies prioritarias	Biotécnicas de mayor importancia
Virología	Fac. Ciencias Veterinarias U. de Chile	María Orefelia Caledón	Aislamiento y diagnóstico viral	Bovinos Equinos	Inmudiagnóstico
Inmunología	Fac. Ciencias Veterinarias U. de Chile	Arturo Ferreira	Desarrollo de reactivos y método inmunológicos	Bovinos Aves Porcinos Mamíferos	Cultivo de tejidos, anticuerpos mono y policlonales, biología molecular Técnicas moleculares
Microbiología	Fac. Ciencias Veterinarias U. de Chile Fac. Ciencias U. Austral de Chile	Consuelo Borie Juan Fruze, Ximena Rojas, Justo Zamora Germán Reinhardt	Diagnóstico microbiológico Diagnóstico microbiológico, desarrollo de ELISA y vacunas Diagnóstico virológico	Bovinos, Ovinos	Técnicas de diagnóstico e inmudiagnóstico
Biología molecular	Fac. Ciencias U. Austral de Chile INTA, U. de Chile INTA, U. de Chile	Guillermo Figueroa Gastón Rosselot	Diagnóstico bacteriano Inmunodetección de toxico, control nutricional de expresión génica Ecología parasitaria en rumiantes	Rumiantes, Porcinos Salmónidos	Técnicas de diagnóstico e inmudiagnóstico Técnicas moleculares de diagnóstico Cultivos celulares, secuenciación, hibridación, anticuerpos mono y policlonales Técnicas moleculares de diagnóstico
Ciencias biológicas	Fac. Ciencias Veterinarias, U. de Chile	Pedro Cabas	Patología molecular, biología celular y molecular	Caprinos, Ovinos, Bovinos Salmónidos	Sin información
Patología animal	Fac. Ciencias Veterinarias, U. de Chile	Gustavo Fariás	Respuesta inmune a antígenos proteicos en salmónidos	Salmónidos	Cultivos celulares, anticuerpos mono y policlonales, inmudiagnóstico Sin información
Inmunología	Fac. Ciencias, U. Austral de Chile	Hugo Folch	Estructuración de lípidos	General	
Química, farmacología y lípidos.	INTA, U. de Chile	Alfonso Valenzuela			

Tal cual se describirá posteriormente, la biotecnología puede influir sobre la producción animal a través de muy diversas áreas que, como ejemplo, pueden pasar por la utilización de alimentos manipulados genéticamente para aumentar el aporte específico de nutrientes, la colonización del tracto digestivo por microorganismos nuevos que permitan una mejor utilización de forrajes de baja digestibilidad, la utilización de anticuerpos para modificar vías metabólicas de interés, y el uso de técnicas moleculares para perfeccionar los sistemas de diagnóstico de enfermedades y la calidad de las vacunas para programas de medicina preventiva. También están las áreas de utilización de estas técnicas para la identificación de genes y para la inducción de mutaciones con interés económico, y para incorporar marcadores bioquímicos que permitan mejorar la eficiencia de los procesos selectivos. Es decir, influir en cada una de las etapas que constituyen el ciclo productivo.

En este sentido, los investigadores que representaron a una parte significativa del aparato científico-tecnológico activo en el área de la producción animal (ganadería, avicultura y piscicultura) existente en el país, contribuyeron a describir la actividad del área y, repre-

sentantes de los mismos centros, acordaron en consenso un número de prioridades basadas en el contexto económico, productivo y social y, en la infraestructura y recursos disponibles.

II. Laboratorios y líneas de investigación activos

De acuerdo a la información disponible, se puede apreciar en los Cuadro 1 y 2, que el nivel de desarrollo es en general escaso y en ciertas áreas como genética y nutrición casi inexistente. Aun cuando la información disponible demuestra que hay un número de investigadores que publican activamente en revistas científicas de circulación internacional, es evidente que el soporte en recursos de personal, equipos y financiamiento es extremadamente limitado, como también lo es la vinculación de la investigación con el sector productivo.

Las fuentes de financiamiento de la investigación en el área derivan básicamente del programa FONDECYT, en bastante menor proporción del programa FONDEF y con frecuencia, de fondos institucionales concursables de apoyo a la investigación. Estos últimos, generalmente de monto muy restringido (Cuadros 3 al 7).

Cuadro 3. Proyectos en ejecución en biotecnología pecuaria del INTA, Universidad de Chile, de acuerdo a sus áreas temáticas.

Area temática	Título del proyecto	Monto (miles de \$)
Inmunodetección	Desarrollo de técnicas de inmunodetección de compuestos tóxicos, presentes en insumos en alimentación animal: mollarosina en harina de pescado	30.000
	Desarrollo de técnicas de inmunodetección de compuestos tóxicos presentes en carnes: B adrenérgicos	3.000
Tecnología de gametos	Aumento de la motilidad de espermatozoides de salmón y trucha	10.000
	Criopreservación de gametos en salmónidos	20.000
Diagnóstico en Salud Animal	Desarrollo de kits de diagnósticos para patógenos bacterianos en salmónidos	10.000
TOTAL		73.000

Fuente: Información de los fondos concursables y comunicación personal con investigadores responsables de los proyectos.

Cuadro 4. Proyectos en ejecución en biotecnología pecuaria de la Universidad de Chile, de acuerdo a sus áreas temáticas

Area temática	Título del proyecto	Monto (miles de \$)
Fecundación <i>in vitro</i>	Comparative study of fertilization in animals	8.000
	Estudio comparativo de la penetración espermática a través de las cubiertas oocitarias	30.000
	Liberación de acrosina en espermatozoides de toro	4.000
Inmunología	Producción de reactivos y métodos inmunológicos para el diagnóstico de enfermedades en vertebrados	232.693
Virología	Diarrea viral bovina	3.685
Microbiología	Dinámica de la transmisión de ECEH en niños con SHU y contactos. Caracterización genética molecular de cepas aisladas de pacientes, contactos y reservorios animales.	14.873
TOTAL		293.251

Fuente: Información de los fondos concursables y comunicación personal con investigadores responsables de los proyectos.

Cuadro 5. Proyectos en ejecución en biotecnología pecuaria de la Universidad de Concepción, de acuerdo a sus áreas temáticas

Area temática	Título del proyecto	Monto (miles de \$)
Fecundación <i>in vitro</i> y cultivo de tejidos	Relación entre la capacidad fecundante <i>in vitro</i> de espermios caprinos y su potencial reproductivo <i>in vivo</i> .	35.000
Fecundación <i>in vitro</i>	Desarrollo de un test de penetración espermática múltiple en zonas pelúcidas en caprinos	2.400
Tecnología de embriones	Comparación de métodos de superovulación en cabras	2.400
Inmunomodulación	Desarrollo de anticuerpos monoclonales y policlonales para la manipulación de los ejes gonadotrófico y somatotrófico en rumiantes.	10.000
TOTAL		49.800

Fuente: Información de los fondos concursables y comunicación personal con investigadores responsables de los proyectos.

Cuadro 6. Proyectos en ejecución en biotecnología pecuaria de la Universidad de la Frontera, de acuerdo a sus áreas temáticas

Área temática	Título del proyecto	Monto (miles \$)
Fecundación <i>in vitro</i>	Evaluación de la capacidad fecundante <i>in vitro</i> de espermatozoides de toros.	
Fecundación <i>in vitro</i>	Mecanismos moleculares de la reacción de acrosoma en toros.	
TOTAL		4.000

Fuente: Información de los fondos concursables y comunicación personal con investigadores responsables de los proyectos.

Cuadro 7. Proyectos en ejecución en biotecnología pecuaria de la Universidad Austral de Chile, de acuerdo a sus áreas temáticas

Area temática	Título del proyecto	Monto (miles \$)
Tecnología de embriones	Crioconservación de embriones de bovinos, ovinos y murinos.	10.000
	Superovulación y transferencia de embriones en camélidos sudamericanos.	25.000
Fecundación <i>in vitro</i>	Fecundación <i>in vitro</i> de ovocitos de camélidos	5.000
Inmunodiagnóstico	Etiopatogenia de la diarrea neonatal ovina en el Sur de Chile.	40.000
	Pesquisa de agentes virales involucrados en enfermedades respiratorias del ternero	40.000
	Respuesta inmune a antígenos proteicos e identificación de enfermedades bacterianas.	20.000
ELISA e inmunodiagnóstico	Control de Brucelosis y Leucosis	20.000
Técnicas moleculares e inmunodiagnóstico	Antigenicidad genética y diagnóstico de Brucella.	10.000
TOTAL		170.000

Fuente: Información de los fondos concursables y comunicación personal con investigadores responsables de los proyectos.

III. Programas de postgrado específicos

En la actualidad no existen programas de doctorados específicos para el área pecuaria. Los programas disponibles son ofrecidos por las Universidades de Chile, Católica de Santiago, de Concepción y Austral de Chile (Cuadro 8) en un contexto desvinculado de la problemática pecuaria. Esta pue-

de ser una de las razones por la cual existe un escaso número de investigadores activos en esta área formados en universidades nacionales.

IV. Prioridades reconocidas.

Se entiende que los problemas tecnológicos del área podrán ser asumidos fortaleciendo el sistema científico-tecnológico y la vincula-

ción con el sistema productivo del país. Por lo mismo, las prioridades que se exponen a continuación como tecnológicas y complementarias son interdependientes y deberían ser asumidas en forma paralela.

Tecnológicas.

Area de Reproducción Animal. Se debería consolidar y desarrollar la capacidad científico–tecnológica disponible en lo siguiente:

La producción y conservación de semen y embriones en especies de interés económico, como herramienta de apoyo a la optimización de la eficiencia productiva de la ganadería.

El establecimiento de la tecnología *in vitro* de embriones para utilizar sus potencialidades en el diseño de estrategias que aumenten la competitividad de la ganadería bovina, ovina y caprina.

La incorporación de la tecnología de la micromanipulación de gametos y embriones, para utilizarla en estrategias de manipulación del progreso genético para caracteres de importancia económica en rumiantes (p.e. clonaje, microinyección).

La incorporación de técnicas inmunológicas y moleculares para la manipulación de la fertilidad y del potencial reproductivo de re-

baño en rumiantes, como estrategia para aumentar la eficiencia productiva (p.e. manipulación del eje gonadotrófico).

La incorporación de técnicas de diagnóstico como apoyo al manejo reproductivo en animales de producción.

Genética Animal.

El desarrollo de técnicas de identificación de genes deletéreos.

El desarrollo de técnicas de identificación de marcadores moleculares para el apoyo en esquemas de selección.

La utilización del mapeo genético en especies autóctonas para la identificación de genes de interés, por medio de sondas desarrolladas para otras especies en el país y en el exterior.

El establecimiento de un programa de animales transgénicos para caracteres de interés.

Salud Animal.

La generación de productos y métodos para el diagnóstico de enfermedades virales, bacterianas, parasitarias, micóticas y otras, tales como anticuerpos mono y policlonales, generación de antígenos celulares o fracciones antigénicas naturales o recombinantes.

El desarrollo de vacunas naturales (celulares, fracciones), recombinantes y sintéticas para programas de profilaxis.

El desarrollo de inmunomoduladores con fines profilácticos y terapéuticos.

Nutrición Animal.

La detección de compuestos tóxicos en insumos utilizados en nutrición animal.

El desarrollo de agentes homeorréticos y otros con el fin de manipular la partición de nutrientes hacia funciones animales de interés económico.

La identificación y/o modificación de la microflora ruminal e intestinal para el aumento en la eficiencia de la utilización de nutrientes. La identificación de agentes nutricionales moduladores de la expresión génica.

Cuadro 8. Disciplina y número de alumnos de los programas de doctorado disponibles en el país.

Programa - Universidad	Disciplina	N° de Alumnos	
		Actual	Potencial
U. Católica de Chile, Fac. Ciencias Biológicas. Ph.D. en Ciencias Biológicas, mención Biología Celular y Molecular.	Biología molecular, celular y bioquímica	27	40
U. Católica de Chile, Fac. Ciencias. Ph.D. en Ciencias Biológicas, mención Ciencias Fisiológicas.	Fisiología, patología y reproducción animal	7	15
U. de Chile, Fac. Ciencias. Ph.D. en Ciencias, mención Biología.	Biología molecular, celular y bioquímica	34	50
U. de Chile, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Ph.D. en Bioquímica.	Biología molecular, celular y bioquímica	19	24
U. de Chile, Fac. Ciencias. Ph.D. en Ciencias, mención Biología.	Reproducción y fisiología animal, nutrición	7	14
U. de Concepción, Fac. Ciencias Biológicas. Ph.D. en Ciencias, mención Bioquímica.	Biología molecular, celular y bioquímica	11	20
U. de Concepción, Fac. Ciencias Biológicas. Ph.D. en Ciencias Biológicas, mención Ciencias Fisiológicas.	Fisiología animal	10	20
U. Austral de Chile, Fac. de Ciencias. Ph.D. en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular	Biología molecular, celular y bioquímica	15	18

La identificación y desarrollo de neofluentes de alimentación animal, a partir de la transformación biológica *in vitro* de insumos por medio de microorganismos.

De apoyo al programa científico-tecnológico.

Entrenamiento especializado de los recursos humanos disponibles y formación de nuevos cuadros.

Fortalecimiento de los programas de postgrado en el área.

Establecimiento de mecanismos de vinculación entre los centros de investigación y desarrollo tecnológico y el aparato productivo.

Programa de inversión en equipamiento dirigido específicamente al desarrollo de soluciones tecnológicas para el sector pecuario.

Fomento de actividades de información e intercambio entre los diferentes laboratorios nacionales, de manera de establecer una masa crítica que permita consolidar el

programa biotecnológico en el área

Fomento de la carrera de investigación en el área.

Fomentar actividades de intercambio con el exterior, para facilitar la inserción de los aparatos científico-tecnológico y productivo en el contexto internacional, en la búsqueda de soluciones productivas para la ganadería.

Agradecimientos

El autor agradece la contribución de Macarena Vio G., del Consejo para la Innovación Agraria; de Erika Salazar S., del Instituto de Investigaciones Agropecuarias; y de los investigadores Arturo Ferreira y Gastón Rosselot, por coordinar la recolección de información de las subáreas Salud y Nutrición Animal. Asimismo, se agradece el interés por los investigadores de los diferentes centros universitarios y del Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

**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 *Aristolelia 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.

RELACION ENTRE LA INVESTIGACION, DOCENCIA Y EL SECTOR PRIVADO EN EL AREA DEL CULTIVO DE TEJIDOS

Ruperto Hepp

Universidad de Concepción

Chillán, Chile

El presente trabajo pretende dar a conocer la relación que ha existido entre la docencia, la investigación y el sector productivo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

El Laboratorio de Cultivo de Tejidos inició sus actividades en el año 1985, siendo su objetivo principal la realización de investigación en cultivos hortofrutícolas, que en ese momento se presentaban como una alternativa interesante de exportación, tales como arándano, cerezo, alcachofa y espárrago.

En la creación de este laboratorio participaron financieramente la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción y la Facultad de Agronomía, sin embargo, administrativamente dependió de la Dirección de Investigación. Esta asociación persistió hasta el año 1987, en que pasó a depen-

der exclusivamente de la Facultad de Agronomía.

Durante este período se realizaron diversos proyectos de investigación, algunos de los cuales se señalan en el Cuadro 1.

Desde el momento que el laboratorio quedó adscrito a la Facultad de Agronomía, se inició un plan de apertura para cumplir además otras funciones como la de docencia, permitiendo a alumnos de la carrera de Agronomía realizar memorias de título. En cuanto a la extensión se inició la importación de material certificado de arándanos desde el estado de Oregon, con el propósito de reproducirlo y satisfacer la demanda del sector productivo por plantas de buena calidad de este frutal menor.

El vínculo con el sector productivo implicaba establecer un sistema expedito, ágil y eficiente, ajeno a la burocracia universitaria. Así se

creó, en la Facultad de Agronomía en el año 1988, la Empresa Productora de Plantas PROPLANT, con asiento en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos. Esta tuvo la autonomía para realizar convenios con el sector productivo, contratación de personal, multiplicación de plantas, fijación de precios de venta, etc. Esta situación se ha mantenido hasta el día de hoy.

Otros factores que condujeron a la formación de PROPLANT fueron la falta de fondos para habilitar el laboratorio, la necesidad de ocupar el tiempo muerto, la presión

del sector productivo por plantas de frutales (frutilla, arándano) de buena calidad, y la necesidad de cumplir con convenios de producción de plantas contraído con empresas agrícolas antes de la separación de la Dirección de Investigación.

Los creadores y responsables del proyecto, un fitopatólogo, un especialista en fruticultura y un fitomejorador, se vieron en la necesidad de solicitar un préstamo bancario para habilitar el proyecto de producción de plantas, actuando la Universidad como aval y aportando además con la infra-

Cuadro 1. Principales proyectos de investigación realizados en el laboratorio de cultivo de tejidos. Período 1984-1986.

Fuente de financiamiento	Tema
DIUC	<p>Propagación <i>in vitro</i> de portainjertos frutales.1984.</p> <p>Multiplicación clonal de plantas vasculares y no vasculares mediante cultivo de tejidos. 1985.</p> <p>Micropropagación, organogénesis y embriogénesis somática en espárrago y alcachofa. 1986.</p>
CONICYT - FONDECYT	<p>Micropropagación <i>in vitro</i> de portainjertos y variedades de guindo dulce y agrio.1985.</p> <p>Micropropagación del arándano y murtillo como potenciales recursos frutícolas de exportación.1985.</p>

estructura existente que no era usada en un cien por ciento. A partir de ese momento, el proyecto cumplió con los plazos establecidos para devolver el préstamo, el que fue cancelado en su totalidad al cabo de dos años. Actualmente el proyecto cubre los gastos de contratación de mano de obra, material fungible, importación de material vegetal, asistencia de los participantes a congresos, incentivos, realización de docencia y tesis de grado.

La creación de PROPLANT ha permitido :

(1) Vinculación Universidad sector productivo, básicamente a través de:

- venta de plantas de frutales menores de alta calidad sanitaria (20.000 plantas/ año)
- participación en el programa de certificación de plantas de frutilla (PROPLANT-SAG-empresa)
- convenios de multiplicación de especies frutales, con material proporcionado por empresas agrícolas (vid, frambuesa, frutilla) y forestales (álamo)
- establecimiento de jardines de variedades de arándano en diferentes zonas del país (desde Llay-Llay a Valdivia), y de frutilla en la Octava Región
- convenios de asistencia técnica

ca con empresas agrícolas en el establecimiento y manejo de huertos de arándano.

(2) Participación en proyectos de investigación financiados directamente o en conjunto con otros organismos.

(3) El desarrollo de algunas de las investigaciones señaladas en el Cuadro 2 fueron tema de tesis de título para alumnos de la carrera de Agronomía.

(4) La inclusión, a partir de 1990, en el plan de estudios de la carrera de Agronomía de las asignaturas de mención Introducción a la Biotecnología e Introducción a la Virología Vegetal, que hacen uso de la infraestructura del laboratorio.

Numerosas empresas se han relacionado de una u otra forma al Laboratorio de Cultivo de Tejidos a través de PROPLANT. Entre ellas podemos citar: Hortifrut, Alifrut, Cofranca, Agrícola y Forestal Rio Bueno, Agrícola Llahuén, Berries La Unión, Forestal Ñancul, Korvan, Agrícola Pal-Pal, Forestal Casino, Agrinova, Agrícola Millahue y Probosque, entre otras.

En noviembre de 1991 un incendio arrasó el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, provocando la pérdida total del equipamiento, instrumental, material didáctico, material fungible y plantas *in vitro*:

(180.000 plantas de arándano y un ciento de plantas madres de frutilla libres de virus).

La Universidad de Concepción, consciente de la importancia que había logrado alcanzar el Laboratorio en el ámbito agrícola, decidió invertir en su reconstrucción. En agosto de 1993 se inauguraba el nuevo edificio, que cuenta con una superficie de alrededor de 200 metros cuadrados. Este laboratorio cuenta con nuevas dependencias, que han permitido desarrollar áreas como la de producción de anticuerpos monoclonales, gracias a un proyecto FONDECYT titulado "Detección por serología del agente causal de la marchitez amarilla de la remolacha".

En resumen, en los 10 años de vida del Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción se han podido conjugar en forma armónica las tres funciones universitarias:

- docencia
- investigación
- extensión

La relación con el sector productivo ha permitido el ingreso de recursos importantes para seguir implementando el laboratorio y satisfacer así las demandas de innovación tecnológica.

Cuadro 2. Principales proyectos de investigación realizados desde 1988

Fuente de financiamiento	Tema
DIUC - PROPLANT	Caracterización del camote: micropropagación y estudios electroforéticos. 1989.
Facultad Agronomía- PROPLANT	Producción de callo en <i>Aristolelia chilensis</i> . 1988. Micropropagación de <i>Eucalyptus</i> (<i>E.globulus</i>). 1988.
FONDECYT - PROPLANT	Determinación de los virus que afectan a la frutilla silvestre <i>F. chiloensis</i> . 1988. (Selección de clones tolerantes a virus y propagación <i>in vitro</i>) Relación agua-producción en frutales. 1990. (Producción de plantas de arándano <i>in vitro</i> para ensayos de riego).
FONTEC - PROPLANT	Selección y micropropagación de ecotipos de rosa mosqueta. 1995
PROPLANT	Cultivo <i>in vitro</i> en el género <i>Puya</i> . 1994. Selección de clones y multiplicación <i>in vitro</i> en frutilla blanca de Contulmo. 1995. (Selección, producción meristemática de plantas madres). Selección y propagación <i>in vitro</i> del papayo de la zona costera de Ñuble. 1995.

Referencias

- Campos, J. 1995. Cultivo *in vitro* en el género *Puya*. Tesis de grado. Universidad de Concepción, Fac. Agronomía, Chillán, Chile.
- Kukulczanka, K. y B. Czastka. 1989. Propagation of some species of the Bromeliaceae family cultured *in vitro*. Acta Horticulturae 251: 167-172.
- Tapia, M. 1987. Organogénesis y regeneración *in vitro* de plantas de ajo (*Allium sativum* L.). Simiente 57(3):103-104.
- Tapia, M. 1987. Tubérculos meristemáticos radiculares: un nuevo explante obtenido por micropropagación *in vitro* de ajo (*A. sativum* L.). Simiente 57(3): 104.
- U.S. Department of Agriculture. 1980. Proceedings of the conference on nursery production of fruit plants through tissue culture - applications and feasibility. ARRNE-11 Beltsville, Maryland, USA.

USO ACTUAL Y POTENCIAL DEL CULTIVO DE TEJIDOS: EXPERIENCIAS EN EL CIAT

William M. Roca
CIAT
Cali - Colombia

I. Estrategias para el desarrollo de la biotecnología en el CIAT

La biotecnología en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) se inicia en 1978 con las aplicaciones más prácticas del cultivo de tejidos, como un modo de contribuir a la solución de problemas específicos de propagación, especialmente de la yuca o mandioca (*Manihot esculenta*), una fuente muy importante de calorías en el trópico. Posteriormente, en 1985, el CIAT dio un paso importante, estructurando el uso de biotecnología mediante la creación de la Unidad de Investigación en Biotecnología. La creación de esta unidad resultó de una revisión externa que tuvo el CIAT. Nos planteamos las estrategias para lograr el objetivo principal de la Unidad: la incorporación de herramientas biotecnológicas modernas en el mejoramiento de plantas, sobre todo para aumentar la eficiencia y lograr objetivos normalmente recalcitrantes a las metodologías convencionales.

Las estrategias planteadas en 1985 cubrieron un rango amplio de actividades:

1) Contribuir al desarrollo de la capacidad institucional en biotecnología. La Unidad de Biotecnología constituye el mecanismo más importante para integrar estas tecnologías en el repertorio técnico científico del CIAT. Tres competencias básicas fueron desarrolladas: genética molecular, bioquímica molecular y transferencia de genes. La infraestructura de laboratorios necesaria acompañó al desarrollo de estas tres competencias básicas.

2) Establecimiento de mecanismos efectivos para monitorear desarrollos científicos básicos a nivel global y para adquirir la información relevante. Como sabemos en biotecnología este tema es crítico. Se establecieron redes de biotecnología enfocadas a cultivos específicos, tomando como modelo la red de biotecnología de arroz coordinada por la Fundación Rockefeller. Es así como en 1988 se crea la Red de Biotecnología de Yuca y el año 1990 la Red de

Biotecnología aplicada a los frijoles o porotos.

3) Desarrollo de proyectos de investigación colaborativos, incluyendo tanto a instituciones de países desarrollados como en vías de desarrollo. Esta estrategia es importante para contribuir al desarrollo institucional de América Latina en biotecnología.

Algunos de los proyectos colaborativos que se establecieron fueron: la construcción del mapa molecular de porotos en la Universidad de Florida y Universidad de California; desarrollo de microsatélites para el mapeo y la caracterización de la yuca; técnicas de "fingerprinting" de ADN para estudios de la variabilidad de la *Piricularia* del arroz; identificación de genes de la cianogénesis de la yuca; etc.

Como resultado de esta cooperación internacional, el CIAT pudo acceder rápidamente a las tecnologías más avanzadas de marcadores moleculares, las que han sido implementadas para diferentes usos con plantas, como también con microorganismos. Entre estas tecnologías, se cuentan los RFLPs, RAPDs, SCARs, y los AFLPs, que acaban de ser publicadas por primera vez en enero de 1996 por la Cía Keygene. Los AFLPs actualmente se están utilizando en el

CIAT para la caracterización y el análisis de recursos genéticos. En cuanto a los mapas genómicos moleculares, el mapa del arroz desarrollado en la Universidad de Cornell está siendo usado en el CIAT, con arroz y con la gramínea forrajera *Brachiaria*. Estamos usando el mapa molecular de porotos, no sólo para marcar algunos genes de importancia agronómica, sino también como base para desarrollar el mapa del fréjol tepari (*Phaseolus acutifolius*). Dado que la yuca es una especie de poco interés para los laboratorios de países desarrollados y bastante huérfana de conocimiento básico, el CIAT tomó el liderazgo de desarrollar el mapa molecular completamente. Actualmente tenemos ya el primer mapa de la yuca conteniendo 300 marcadores entre RFLPs, RAPDs, microsatélites y cDNAs.

Otra estrategia importante para la aplicación de la biotecnología en el CIAT es su focalización a tópicos de alta prioridad. Este es un proceso dinámico, multi e interdisciplinario que relaciona a los usuarios inmediatos de las tecnologías como los fitomejoradores, pero también a disciplinas socioeconómicas. En el caso de la yuca por ejemplo, se han precisado temas de aplicación biotecnológica incluyendo tanto problemas

bióticos como de calidad, teniendo en cuenta la importancia relativa de diversas regiones y su posible impacto en rendimiento como en la utilización y comercialización.

El proceso de priorización ha sido llevado hasta el nivel del pequeño agricultor a través de la red de biotecnología de la yuca. Esa red es un ejemplo interesante para compatibilizar los intereses de los usuarios con la de los científicos, que no siempre son los mismos. Actualmente, como consecuencia del impulso dado por esta red existen unos 35 proyectos aplicados a yuca en diferentes países. Una reunión científica cada dos años sirve para que los científicos, usuarios y donantes discutan los avances en biotecnología de la yuca y se identifiquen áreas y temas de aplicación prioritaria.

En los últimos años se han desarrollado aplicaciones de metodologías celulares y moleculares a diferentes problemas y desafíos en el CIAT. Desde aplicaciones en el área de la diversidad genética, principalmente a aspectos de la conservación de germoplasma, caracterización de la variabilidad genética, estudios de la relación entre patógeno y hospedero, hasta la manipulación genética incluyendo la identificación de genes de resistencia y su transferencia a va-

riedades y material de fitomejoramiento mediante cruza inter-específicas o tecnología de transformación.

II. Uso del cultivo de tejidos en el mejoramiento de plantas

Propagación clonal

El cultivo de meristemas y la micropropagación han servido para la eliminación de virus y para aumentar las tasas de multiplicación de plantas de propagación vegetativa. En el caso de la yuca, los métodos tradicionales permiten tasas de multiplicación de sólo 1:10 al año. Mediante la micropropagación se incrementa la tasa de multiplicación geoméricamente. Estas tecnologías creadas o adoptadas en el CIAT deben ser aplicables en los programas nacionales. China es quizás el primer país en el que un programa nacional adaptó esta tecnología, logrando la multiplicación masiva de variedades mejoradas de yuca y su distribución a las diferentes provincias del sur de China. Esta tecnología se está usando también en varios países de América Latina y en Africa.

Producción de haploides doblados

Tenemos un trabajo cooperativo

con Roberto Alvarado del INIA, Chile; César Martínez y Zaida Lentini del Programa de Arroz del CIAT para el uso de doble-haploides de arroz como un medio de acelerar la producción de variedades mejoradas. Un tema de aplicación ha sido la tolerancia al frío, pero también la calidad de grano. Un requisito para que estas tecnologías sean usadas en el mejoramiento es lograr su masificación. Actualmente en el CIAT se puede cultivar 10,000 anteras /día/persona lo cual se traduce en 250.000 anteras por semana por la actividad de 5 personas. Esto permite procesar unos 15 cruzamientos por semana o 60 al mes. Los materiales producidos han probado tener resistencia a diferentes problemas bióticos y factores de calidad mejoradas sin pérdida del rendimiento.

Un factor importante a considerar en la adopción de estas tecnologías es su factibilidad económica. Luis Sanint del Programa de Arroz del CIAT, realizó un estudio sobre costos del cultivo de anteras para diferentes tipos de materiales y el número de éstas que se pueden producir por semana, comparados con el método de pedigree. El ahorro en dólares respecto al método de pedigree puede variar de 14% hasta el 26% en los casos que se estudiaron, dependiendo de los

genotipos procesados. Este estudio indica cómo las tecnologías pueden ser implementadas bajo diferentes circunstancias, y la necesidad de capacidades de laboratorio mínimas para poder lograr los objetivos propuestos. Estos trabajos se están desarrollando a través de una red de fitomejoradores y cultivadores de tejidos de arroz en América Latina.

El cultivo de anteras se aplica, además, en el estudio y estrategia de manejo de la *Piricularia* del arroz. Esta enfermedad es la más importante en el cultivo de éste, causando pérdidas millonarias. Esto se debe fundamentalmente a la gran variedad del patógeno, lo cual repercute en la vida corta (2-3 años) de las variedades resistentes nuevas, en la mayoría de las zonas productoras de arroz en el mundo.

Hace 5-6 años, gracias al trabajo colaborativo de César Martínez del CIAT con el ICA de Colombia, se generaron dos variedades llamadas Oryzica Llanos 4 y 5 que hasta la fecha mantienen su resistencia a *Piricularia*. Nos pusimos la meta de investigar las causas genéticas de la resistencia estable de estas variedades; que ocurre no solamente en Colombia sino en Brasil y en zonas arroceras de África y Asia. El uso de marcadores

moleculares permitió hacer el "fingerprinting" molecular del patógeno, estudiar la genética y dinámica del hongo, para luego asociar esta información a nivel molecular con los genes de resistencia en la planta. Este proyecto incluye varios componentes: del CIAT, del Programa de Arroz, intervienen el fitomejoramiento y la producción de haploides doblados y, de la Unidad de Biotecnología, el uso de marcadores moleculares para los genes de resistencia; de la Universidad de Purdue, el estudio de la diversidad genética del hongo; y de la Compañía Dupont, el clonaje de genes de resistencia. El proyecto recibe el apoyo de la Fundación Rockefeller. Los resultados obtenidos sugirieron que en lugar de buscar genes de resistencia a razas individuales del hongo, el fitomejorador podría identificar y piramidar genes que confieran resistencia a familias del hongo. El "fingerprinting" molecular permite agrupar varias razas en grupos de familias con características similares. El Dr. Joe Tohme ha identificado marcadores moleculares del mapa de arroz ligados a genes que confieren resistencia a familias enteras del hongo. Más adelante, la incorporación de resistencias mediante cruza podrá ser complementado por la transformación genética.

Cruzamientos interespecíficos

La biotecnología también tiene un papel clave en el caso de *Phaseolus*, donde existen varios acervos genéticos. El fréjol común *P. vulgaris* pertenece al acervo primario; luego *P. coccineus* en el secundario; *P. acutifolius* en el terciario; y *P. lunatus* en el cuarto. Conforme nos alejamos del acervo primario, las barreras de incompatibilidad sexual aumentan. Nuestro interés es transferir características de *P. acutifolius* a *P. vulgaris*. *P. acutifolius* posee resistencia e inmunidad a enfermedades como la bacteriosis, a insectos como la *Empoasca* y, sobre todo, gran tolerancia a la sequía, lo cual adolece *P. vulgaris*. El rescate de embriones es la tecnología utilizada en este caso. En los últimos 4-5 años, S.P. Singh del Programa de Frijol del CIAT ha evaluado un gran número de líneas híbridas, y ha seleccionado varias con alta resistencia a bacteriosis y adaptación a suelos pobres. El proyecto continúa con la inclusión de material para las cruza interespecíficas, con resistencia al virus del mosaico dorado y al gorgojo del frijol, *Acanthos celides*.

El cultivo de tejidos en la transgénesis

La capacidad de regenerar plantas completas a partir de células

transformadas es esencial para la aplicación de la ingeniería genética en el mejoramiento de plantas. La regeneración puede ocurrir por la vía de embriogénesis somática o por la inducción de órganos. En los últimos años, el CIAT ha dedicado esfuerzos para adaptar o desarrollar la regeneración de plantas en proyectos de transgénesis. Así, la primera planta transgénica generada fue la leguminosa forrajera *Stylosanthes*, usando *Agrobacterium tumefaciens* como vector; enseguida, Zaida Lentini ha implementado la regeneración y transformación genética del arroz mediante el bombardeo de partículas. Los primeros transgenes incorporados al arroz tipo Indica en el CIAT han sido el gen de la capa proteica y de una proteína mayor del Virus de la Hoja Blanca; ambos genes fueron aislados y clonados por Lee Calvert del grupo de Virología del CIAT. Acabamos de generar las primeras plantas transgénicas de yuca usando la embriogénesis somática y la transformación mediante *A. tumefaciens*. El esfuerzo del CIAT para transformar el frijol progresa significativamente.

Otras aplicaciones.

La apomixis en *Brachiaria*. La *Brachiaria* es una gramínea forrajera importante, sobre todo en Brasil donde fue introducida des-

de Africa. Joe Tohme de la Unidad y John Miles del Programa de Forrajes Tropicales, han identificado marcadores moleculares ligados al gen de apomixis. Nuestro objetivo es aislar el gen de apomixis de *Brachiaria* y transferirlo mediante ingeniería genética a otras especies. Este es un desafío a largo plazo. Una ventaja de la apomixis es el uso de la heterocigocidad de manera continua, es decir acceder a ventajas de semilla híbrida sin necesidad de recurrir a las cruces iniciales cada vez. El siguiente paso en este proyecto será un marcaje molecular de alta densidad. Es decir, saturar con marcadores moleculares la porción de cromosoma de *Brachiaria* que contiene el gen de apomixis. Luego, proceder al clonaje del gen y, a su transferencia a sistemas homólogos (*Brachiaria*) y a especies como arroz. En estos momentos, estamos trabajando en la transformación en *Brachiaria*. Los sistemas de transformación del arroz están funcionando también en *Brachiaria*.

III. El futuro: biotecnología y agrobiodiversidad

El Plan Estratégico del CIAT enfatiza la productividad agrícola usando la experiencia ganada con cultivos alimenticios básicos; también llama al estudio de la base de recur-

tos naturales, enfocado a ciertos agroecosistemas, como las laderas y las sabanas de América Latina.

Confrontar el gran desafío de aumentar el crecimiento agrícola y, a la vez, de mantener la base de recursos naturales, va a depender en gran medida del acceso a los recursos genéticos y a tecnologías y estrategias apropiadas. En el futuro cercano creemos que la biotecnología en el CIAT contribuirá al entendimiento y caracterización de la diversidad genética con propósitos de conservación y de utilización, a la ampliación de la base genética de los cultivos, y a su aplicación en estrategias de fitomejoramiento.

Específicamente, el análisis de la distribución espacial de la diversidad, usando sistemas de información geográfica y marcadores moleculares, nos va a aclarar la dinámica de poblaciones, el flujo de genes entre material cultivado y silvestre y la evolución de éstos acervos. El CIAT mantiene en custodia para los países el germoplasma y los materiales silvestres de *Phaseolus*, de *Manihot* y de un rango de especies de forrajes tropicales. El **mapeo genómico comparativo**, actualmente en desarrollo, permitirá pasar de especies conocidas a especies desconocidas

rápidamente. Por ejemplo, estamos encontrando gran similitud entre el orden y presencia de marcadores moleculares del arroz con la gramínea forrajera *Brachiaria*. Esta homología ayuda a entender la genética de *Brachiaria* sin necesidad de construir un mapa genómico para esta especie; igualmente, el mapa molecular de la yuca (una *Euphorbiaceae*), está siendo usado para entender la genética del caucho.

La racionalización de la conservación *ex situ*, mediante la identificación molecular de duplicados y el desarrollo de las colecciones núcleo (una representación de la diversidad total, en el menor número de accesiones) permite reducir el costo de la conservación y ayuda al manejo y evaluación del germoplasma. La identificación de genotipos duplicados es muy importante en el caso de la yuca debido a su propagación clonal.

En cuanto a la investigación en metodologías de conservación, la colección *in vitro* de yuca mantiene 6.000 accesiones. Después de diez años, esta es una experiencia interesante del CIAT en el manejo de colecciones *in vitro*. Actualmente tenemos avances significativos en la crioconservación de la yuca. En los próximos tres años, la crioconservación se implementará

como tecnología rutinaria para el manejo de germoplasma de propagación vegetativa.

La ampliación de la base genética se constituye en otra área de investigación importante para la introgresión de genes, mediante cruza interespecíficas, y la transferencia de genes mediante transformación. Esta es una forma de enriquecer el acervo genético.

En relación al desarrollo de capacidades nacionales, acabamos de terminar en el CIAT un curso para América Latina sobre el uso de la biotecnología para la conservación de la agrobiodiversidad; éste es el segundo año que se ofrece. En diciembre, se va a ofrecer un curso sobre el uso de AFLPs para el análisis/caracterización de la biodiversidad y el fitomejoramiento.

Estamos trabajando muy fuerte en Sistemas de Información Geográfica y su integración con tecnologías de marcadores moleculares, para el estudio y mapeo de la distribución espacial de la diversidad genética. Se han elaborado ma-

pas de distribución de especies silvestres de *Phaseolus*, algunas especies de *Manihot* y de *Stylosanthes* para América Latina y el Caribe.

El CIAT está planeando un proyecto colaborativo con los países de la región para implementar un laboratorio de biotecnología que sirva a los intereses de los países en el estudio, conservación y valoración de sus recursos genéticos. El mecanismo propuesto consistirá en invitar a destacados científicos y técnicos de los países para períodos de investigación/capacitación/actualización en este laboratorio, sobre temas y materiales de interés directo a los países.

Finalmente, quisiera expresarles nuestro deseo de contribuir en algo al desarrollo del Programa de Biotecnología de Chile. Creemos que el acceso a estas tecnologías es clave para la utilización sostenible de la riqueza de diversidad biológica de los países de la región, y es una herramienta poderosa para la valoración y desarrollo competitivo de su potencial agrícola.

**SESION PLENARIA III:
USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN LA
PRODUCCION AGRÍCOLA Y DIAGNOSTICO DE LAS
ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS**

USO ACTUAL Y POTENCIAL DE MARCADORES MOLECULARES EN FITOMEJORAMIENTO EN CHILE

Patricio Hinrichsen
INIA
Santiago, Chile

I. Introducción

El objetivo de esta presentación es realizar una revisión de las actividades que se están desarrollando en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), en torno a las aplicaciones de algunos marcadores moleculares como herramientas de apoyo al fitomejoramiento. En un sentido amplio, esto involucra desde el estudio de la biodiversidad de los recursos fitogenéticos, para su posterior uso en el desarrollo de nuevas variedades (mejoramiento asistido), hasta la identificación y marcaje de estas variedades ("fingerprinting") para su protección comercial.

En un contexto global, la aplicación de los marcadores moleculares en fitomejoramiento es muy reciente. De hecho, sólo en 1985 se publicaron los primeros trabajos donde se recurrió al uso de los RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) con este propósito. A partir de esta fecha, ha habido un crecimiento explosivo en aspectos como el desarrollo de mapas

genómicos en distintas especies, recurriendo a la identificación de polimorfismos detectados a nivel genómico. Basados en estos mapas, es posible proyectar experimentos que permitirán determinar con precisión la ubicación de los genes responsables de las características de interés para el fitomejoramiento.

En el año 1990 se publicaron una serie de trabajos en los cuales se aplicaba la reacción de PCR para detectar polimorfismos genómicos; esta metodología se denominó RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), y ha sido ampliamente usada en mejoramiento asistido por marcadores. Más recientemente, se ha descrito una nueva metodología que combina las ventajas del PCR aplicadas al RAPD, con la posibilidad de identificar los sitios de restricción polimórficos identificados mediante RFLP; esta técnica ha sido denominada AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), y aunque es de cierta dificultad técnica, ha sido adaptada para diferentes

tipos de estudios, incluyendo la caracterización de germoplasma (diversidad genética), así como el marcaje específico de genes ("gene-tagging"). También ha cobrado gran relevancia el uso de las secuencias de microsatélites o SSR (Short Simple Repeats), como marcadores de polimorfismo. Actualmente, esta tecnología está cobrando una gran importancia, ya que para su detección se ha incorporado el uso de PCR, lo cual facilita bastante su uso como marcador.

Un aspecto muy importante de considerar al elegir una herramienta de trabajo (en este caso, los distintos tipos de marcadores moleculares) es el propósito que se persigue en un determinado estudio. Además, es importante considerar aspectos como si un marcador es "codominante" o "dominante", es decir, si es posible determinar la composición alélica o no, respectivamente. Considerando esto, en el Laboratorio de Biotecnología del Centro Regional de Investigación (CRI) La Platina se ha implementado el uso de RAPD y RFLP con diferentes propósitos. Dado que mediante AFLP se puede obtener una gran cantidad de información altamente reproducible en sólo unos pocos ensayos, se espera montar esta metodología en un futuro próximo.

Uno de los objetivos del trabajo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de La Platina es estudiar diversidad genética de ciertas colecciones de germoplasma chileno que se mantienen en los bancos de germoplasma del INIA, así como también de materiales generados por los programas de mejoramiento. Por otra parte, se ha desarrollado un trabajo incipiente en el uso de marcadores moleculares como apoyo a programas de mejoramiento. Nuestro trabajo en INIA debiera estar focalizado hacia este objetivo, porque es en esta área donde se puede lograr un mayor impacto, tanto a nivel académico como tecnológico.

También ha sido interesante la aplicación de algunos de estos marcadores para hacer identificación varietal, "fingerprinting" de variedades, para marcaje de variedades y también para determinación del grado de pureza de estos materiales. Finalmente, pero no por ello menos importante, existen algunos ejemplos del uso de marcadores moleculares en fitopatología, vinculados al estudio de diversidad genética de patógenos (hongos y nemátodos) para relacionar diferencias en patogenicidad con alguna banda de polimorfismo. En términos generales, la aproximación inicial ha

sido aplicar marcadores conocidos, desarrollados en centros de excelencia, para asistir el fitomejoramiento de ciertas especies de interés local; posteriormente, se deberán establecer grupos de trabajo por cultivo o por tecnologías que permitan avanzar en la identificación de marcadores para resolver problemas muy específicos, de interés nacional o regional, y que no serán enfrentados en el exterior.

Para lograr estos propósitos, cabe destacar la valiosa colaboración en equipamiento y entrenamiento, recibida de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA), mediante la cual se ha concretado la visita de numerosos expertos japoneses, así como la estadia de investigadores chilenos en Japón.

II. Estudios realizados en INIA.

1. Estudios basados en el análisis de perfiles proteicos.

Los estudios realizados en INIA se han centrado en la caracterización de germoplasma vegetal, utilizando principalmente RAPD. Sin embargo, antes de comenzar los análisis directos del genoma (como en RAPD) se recurrió al estudio de perfiles proteicos. En este sentido, y en un orden cronológico, se han desarrollado los siguientes traba-

jos, contando con diferentes fuentes de financiamiento según se indica aunque en la mayoría de los casos se ha recurrido a fondos de Proyectos BID, tanto para la adquisición de reactivos como de equipos:

1.1. Caracterización de leguminosas de grano: se realizaron estudios de diversidad genética en distintas especies de leguminosas de grano, analizando perfiles proteicos totales con distintos tipos de electroforesis de poliacrilamida en medio desnaturalante (PAGE-SDS), tanto lineales como en gradiente; trabajo realizado por E. Peñaloza (INIA-Carillanca) y P. Hinrichsen (INIA-La Platina), con la colaboración de A. Kikuchi, de JICA. Antes de esto, en el curso de un entrenamiento en el NIAR de Tsukuba, Japón, C. Beltrán (INIA-Intihuasi) analizó algún germoplasma de porotos chilenos mediante perfiles proteicos totales.

1.2. Identificación varietal de arvejas estudiando perfiles de proteínas totales de las semillas extraídas en medio desnaturalante y separadas por PAGE-SDS; trabajo desarrollado por P. Hinrichsen en La Platina, en convenio con particulares.

1.3. "Fingerprinting" de variedades de trigo analizando proteínas del

gluten extraídas y separadas en medio ácido (pH 3,0); parte de un proyecto financiado por FIA desarrollado en la Platina; trabajo de X. Opitz y P. Hinrichsen (Figura 1).

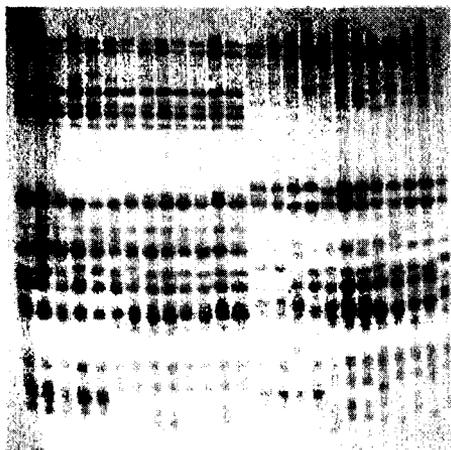


Figura 1. Separación electroforética en medio A-PAGE ácido de gliadinas de trigo. Este tipo de gel ha permitido hacer la diferenciación o discriminación varietal de un gran número de variedades de trigo, ya que cada una de ellas presenta un patrón de bandas características.

1.4. Análisis de gluteninas de alto peso molecular como indicadores de calidad panadera en trigo; trabajo realizado en La Platina por M.H. Castro, N. Hewstone y P. Hinrichsen (financiado por FIA); además, se ha contado con la colaboración del Dr. J. Peña, del

CIMMYT. Posteriormente, se contó con la colaboración del experto de JICA S. Oda (NIAR-Tsukuba, Japón). Cabe destacar que esta línea continúa desarrollándose actualmente, siendo uno de los criterios usados para realizar la selección de los materiales segregantes en INIA-Carillanca.

2. Estudios basados en el análisis de secuencias génicas.

Dadas las limitaciones de trabajar con perfiles proteicos por las características inherentes a este producto de expresión génica (limitado número total de polipéptidos, efecto del medio sobre la expresión génica, etc.), posteriormente se han desarrollado estudios basados en el análisis directo del genoma. Para ello, la metodología más factible de usar ha sido el RAPD, dadas sus características de bajo costo y factibilidad técnica. Sin embargo, también se ha comenzado la aplicación de RFLP para asistir la selección de materiales del programa de fitomejoramiento de papa. El RAPD ha sido aplicado para estudiar diversidad genética de especies como maíz, frutilla, poroto, etc, correspondientes a colecciones de germoplasma chileno. También se han estudiado colecciones de germoplasma mantenido en el INIA, como el jardín de variedades de vides y la colección de

camotes. Además, se ha usado RAPD para hacer "fingerprinting" de variedades en algunas especies (arroz, tomate). Una rápida descripción de estos trabajos se entrega a continuación:

2.1. Estudio de la diversidad genética de porotos de raza Chile analizando la composición molecular de faseolinas e isoenzimas y de polimorfismos de DNA mediante RFLP; trabajo realizado por M. Paredes (INIA-Quilamapu) y V. Becerra (Universidad Adventista de Chile) en la Universidad de California, Davis, California, USA, bajo la dirección del Dr. P. Gepts. Estos trabajos corresponden a sus tesis de postgrado, entre los años 1989-1993.

2.2. Análisis de variabilidad genética del germoplasma chileno de porotos mediante RAPD: trabajo realizado en el Laboratorio del Dr. James Nienhuis, del Depto. de Horticultura de la Universidad de Wisconsin, Madison, por P. Hinrichsen, financiado por FIA. Este fue el primer trabajo en que se aplicó RAPD para estudiar germoplasma chileno, identificándose dos grupos genéticos, correspondientes a accesiones de tipo mesoamericano y accesiones de tipo andino (Figura 2). Recientemente se ha realizado el análisis de una muestra de germoplasma

de poroto de raza Chile mediante AFLP. Para ello, se contó con la colaboración del Dr. Joseph Tohme, y el trabajo fue realizado por P. Hinrichsen y E. Gaitán en el Laboratorio de Biotecnología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

Caracterización de la variabilidad genética de una colección chilena de camote usando RAPD. Se analizó la variabilidad de una colección de camote, con muestras colectadas en el norte y centro del país, además de una serie de variedades introducidas desde el CIP representativas de distintas latitudes. Se corroboró el alto grado de heterogeneidad del material del Centro Internacional de la Papa (CIP) (Figura 3), determinándose dos grandes grupos de germoplasma: variedades de Norte y Centro América, y variedades provenientes de la región Andina.

Los materiales chilenos se incluyeron en el grupo "centroamericano", con excepción de la accesión del norte, que se agrupó con el material andino. Curiosamente, el germoplasma cultivado en Chile central mostró una gran homogeneidad, lo que no concuerda con la alta tasa de variación somaclonal descrita en esta especie. La uniformidad genética de este material (reproducido vegetativamen-

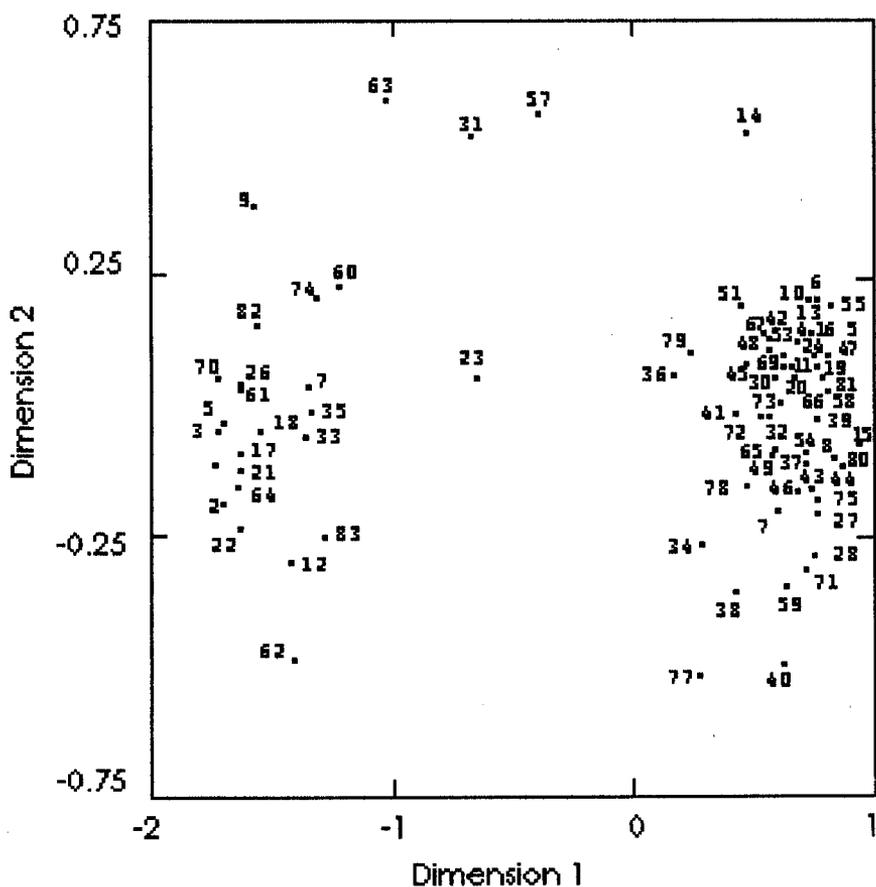


Figura 2. Análisis Multidimensional (MDS) del germoplasma de poroto de Chile, basado en los fragmentos de polimorfismo generados mediante RAPD. Se observan dos grupos correspondientes a germoplasma de origen andino y mesoamericano, respectivamente.

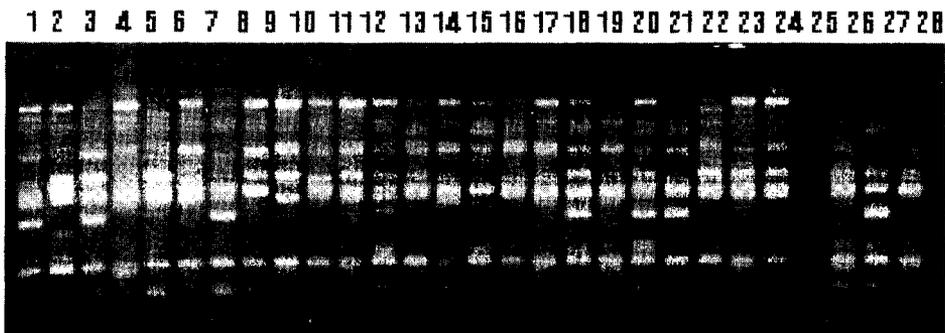


Figura 3. Electroforesis en agarosa al 1,5% donde se han separado los fragmentos de amplificación de ADN de camote, usando un partidor de diseño aleatorio (RAPD). Cada carril corresponde a una accesión diferente, obtenidas del CIP.

te) tiene dos posibles explicaciones: (1) es material introducido al país recientemente, o (2) aunque las accesiones son antiguas en el país, el índice de variación somaclonal es bajo en las condiciones de cultivo. Trabajo realizado por B. Sagredo, P. Hinrichsen, H. López, A. Cubillos y C. Muñoz en el CRI La Platina del INIA.

2.4. "Fingerprinting" de variedades chilenas de arroz mediante RAPD. Se intentó diferenciar las variedades en base a perfiles proteicos, pero estos perfiles resultaron ser idénticos. Por el contrario, fácilmente se encontraron varios partidores de RAPD que entrega-

ron información de polimorfismos entre variedades. El dendrograma preparado con esta información coincidió con las relaciones filogenéticas estimadas en base al estudio de los pedigrís. Trabajo realizado por C. Amigo, R. Alvarado, C. Muñoz y P. Hinrichsen, en el CRI La Platina del INIA.

2.5. Diferenciación de partidas comerciales de semillas de tomate por comparación de "fingerprinting" generado por RAPD. Se compararon los patrones electroforéticos de fragmentos polimórficos amplificados por RAPD, estudiando variedades comerciales cono-

cidas y algunas muestras de origen incierto. Basados en el dendrograma de similitud genética obtenido (Figura 4), se determinó que existía una cierta diferencia entre los estándares varietales y las muestras analizadas. Sin embargo, las distancias genéticas relativas entre muestras y controles del material incógnito no fueron tan grandes como las distancias observadas entre variedades diferentes, por lo que probablemente las partidas comerciales analizadas se tratarían de materiales segregantes mal seleccionados. Trabajo realizado por B. Sagredo y P. Hinrichsen, en el CRI La Platina del INIA.

2.6. Diversidad genética de un jardín de variedades de vid, estudiada mediante RAPD. Desarrollo de un método de fingerprinting de variedades. Se optimizó la metodología de RAPD para determinar diferencias inter e intra especies del género *Vitis*. Los dendogramas resultantes mostraron una clara diferencia entre *V. vinifera* y las otras especies de *Vitis*, usadas como portainjerto. Este trabajo fue realizado en el CRI La Platina del INIA por M. Silva, M.H. Castro y P. Hinrichsen.

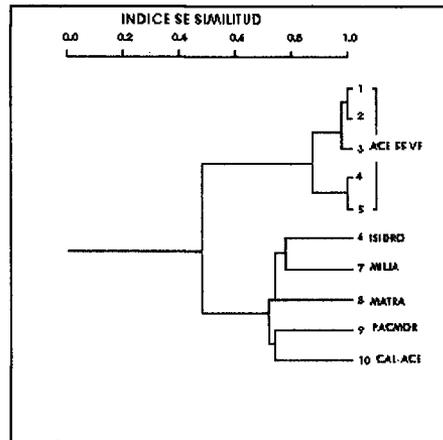


Figura 4. Dendrograma preparado a partir de los polimorfismos generados por RAPD de distintas variedades de tomate. La parte alta del dendrograma corresponde a las muestras de semillas comerciales de la variedad ACE 55 VF (1-5), entre las cuales las muestras 1 a 3 presentaron un fenotipo distinto a los patrones de esa variedad (muestras 4 y 5).

En una próxima etapa, se pretende realizar mejoramiento asistido para desarrollar variedades sin semilla, así como implementar la metodología de análisis de microsatélites, para estandarizar el trabajo con otros grupos en el mundo. Además, con la colaboración de un experto japonés, el

Dr. Kadowaki, de Tsukuba (NIAR), se intentó discriminar variedades de vides mediante el análisis directo de los productos de PCR de fragmentos intergénicos de genes ribosomales 5S, lo cual no entregó suficiente variabilidad a nivel intraespecífico. A futuro se pretende clonar estos genes y secuenciarlos, para definir secuencias específicas para cada variedad, y desarrollar ensayos de "fingerprinting" basados en PCR.

2.7. Diversidad genética de una colección de *Fragaria chiloensis* determinada mediante RAPD. Se han analizado cerca de 90 accesiones de la colección del INIA, usando RAPD. Los resultados han demostrado que aunque existe cierto grado de heterogeneidad genética (que también se verifica por estudios agrobotánicos), no existe un agrupamiento especial que permita diferenciar accesiones de acuerdo a su origen geográfico o características agronómicas. La excepción la constituyen un par de bandas polimórficas que discriminan los materiales según si provienen del sur o del norte, del área comprendida en la colecta del germoplasma. Este trabajo ha sido realizado por J. C. Kuncar y P. Hinrichsen, con la colaboración del experto de JICA Dr. M. Hirai, quien además realizó un RFLP usando una sonda que reconoce genes

ribosomales en diferentes especies vegetales, sin encontrar ninguna diferencia en los patrones de hibridación.

2.8. Mejoramiento asistido de papa para introducir resistencia amplia a insectos y nemátodos usando RFLP. Se cuenta con un conjunto de sondas —originalmente usadas y obtenidas de tomate— que han sido usadas para preparar el mapa genético de *Solanum tuberosum*. En este mapa se han identificado ciertos loci que han sido correlacionados con (1) QTL que incluyen los genes que codifican para la expresión de los tricomas glandulares de tipo A y B (resistencia amplia a insectos) y (2) gen(es) de resistencia a nemátodos. Además, se sabe que existe una asociación entre la presencia de los tricomas de tipo A, y los niveles de la enzima polifenoloxidasa presente en ellos, la cual es fácil de determinar en los materiales segregantes. De esta forma, mediante una determinación enzimática se puede inferir la presencia de los tricomas. Algunas de estas sondas que cosegregan con las características de interés (p.e. sonda CD78 se correlaciona con la presencia del locus *h1* de resistencia a nemátodos), están siendo utilizadas para seleccionar materiales segregantes del programa de mejoramiento de papa, a cargo de J.

Kalazich (INIA-Remehue). Estos trabajos han sido realizados por B. Sagredo, del CRI La Platina, con la colaboración del grupo del Dr. R. Plaisted de la Universidad de Cornell. El financiamiento ha estado basado en un proyecto de CIP-UNIDO, y recientemente se ha obtenido un fondo de la Fundación Mc Knight, en colaboración con EMBRAPA de Brasil, la Universidad de Cornell y North Dakota State University.

3. Uso de marcadores moleculares en sistemas no vegetales.

Aplicaciones de marcadores moleculares en estudios fitopatológicos.

3.1. Caracterización de nemátodos patógenos usando RAPD; trabajo realizado por A. France (INIA-Quilamapu) durante su tesis doctoral en USA.

3.2. Caracterización preliminar de poblaciones de distinta agresividad o patogenicidad de *Meloidogyne*, usando RAPD; trabajo realizado en el Laboratorio de Biotecnología de La Platina por P. Araneda y P. Hinrichsen.

3.3. Diferenciación de cepas de hongos de distinta virulencia mediante RAPDs; trabajo de R. Galdames (INIA-Carillanca).

Aplicaciones de marcadores moleculares en sistemas animales.

Está en evaluación un proyecto para iniciar el estudio a nivel molecular de diversidad genética de los camélidos sudamericanos. Posteriormente se pretende desarrollar un mapa genético de alpaca como modelo de los auquénidos, que permita asistir la selección de individuos con calidad de pelo mejoradas. Este trabajo sería pionero en nuestro país en la aplicación de marcadores moleculares en mejoramiento genético animal, y en él se emplearán marcadores de tipo microsatélites. Es un proyecto que se realizará en el Laboratorio de Biotecnología de La Platina, bajo la dirección de P. Hinrichsen, financiado por el FIA y en colaboración con la Pontificia Universidad Católica y la Universidad de Kentucky.

III. Estudios realizados fuera del INIA

Los ejemplos de la aplicación de los marcadores moleculares en estudios realizados en otras instituciones o centros nacionales son escasos. Estos trabajos han estado orientados a estudiar diversidad genética y a desarrollar "fingerprinting" de variedades. Algunos ejemplos son:

(1) Caracterización de camotes mediante el uso de isoenzimas; trabajo realizado por R. Wilckens, Universidad de Concepción, Chillán.

(2) Caracterización de la colección chilena de papas usando isoenzimas; realizado por A. Contreras, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

(3) Caracterización de ecotipos de pepino dulce usando isoenzimas; trabajo desarrollado por M. Gambardella, Universidad de Chile, Santiago.

(4) "Fingerprinting" de ciertas variedades de vid para vino mediante RAPD; trabajo que se ha comenzado recientemente en la Universidad de Talca.

(5) Caracterización de variedades de vid basado en isoenzimas; se está desarrollando en la Facultad de Agronomía, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

IV. Comentarios finales

- Muchos de los trabajos que se han realizado hasta ahora han sido de carácter preliminar, o bien han estado orientados básicamente a la introducción o adaptación de metodologías para resolver problemas de interés local. Esta es una aproximación válida, pues implica

invertir un menor esfuerzo en el desarrollo de nuevas tecnologías o herramientas, pero necesariamente debe ser seguida de una segunda etapa de formación de cuadros de trabajo capaces de desarrollar toda una línea, desde la identificación de un problema hasta el desarrollo de los marcadores apropiados, y proyectarse hasta el aislamiento de los genes importantes y su introducción en las variedades de interés.

- Nuestro principal aporte debería estar, en el futuro, orientado hacia el apoyo de los diferentes programas de mejoramiento genético, como han sido los casos del estudio de las gluteninas de alto peso molecular que se correlacionan con calidad panadera, o las sondas de RFLP usadas para seleccionar materiales portadores de los QTL de tricomas glandulares, o de genes de resistencia a nemátodos en papa. Esto no implica que se discontinúen los trabajos en áreas como la caracterización de recursos genéticos, ya que no solamente son interesantes y necesarios, sino que además constituyen parte de lo que los mejoradores llaman el

"prebreeding", es decir, la optimización de la selección de los individuos a usar como progenitores.

- Se ha trabajado en cultivos que no siempre son los de mayor importancia. En este sentido creo que deberíamos privilegiar ciertas especies, para profundizar en problemas específicos. En cada cultivo debieran elegirse los marcadores más apropiados sobre la base de toda la información que se dispone, que en algunos casos es abundante.
- Necesitamos contar con grupos de personal muy bien entrenados, con formación en biología molecular, y que colabore íntimamente con los mejoradores. Así también, los mejoradores deben adquirir destreza o conocimientos básicos, de al menos nomenclatura técnica y las ventajas o desventajas de las diferentes tecnologías de laboratorio. Sólo de esta forma, se podrá optimizar el mejoramiento genético asistido.
- Debiera reforzarse el área de análisis estadístico, que hoy en día ha avanzado enormemente y es una herramienta im-

prescindible de análisis. Aparentemente en el medio nacional hay una gran escasez de expertos en esta disciplina. Cabe destacar que esta es una realidad también en otras áreas que son complementarias del fitomejoramiento.

- Debiera estimularse el desarrollo de vínculos con investigadores de otros centros y universidades, a nivel nacional como internacional, trabajando tanto en el ámbito sudamericano, en contacto con instituciones consolidadas en esta área, como EMBRAPA-CENAR-GEN (Brasil), INTA (Argentina), CIAT (Colombia), CIP (Perú), CIMMYT (México), etc., como con grupos de Norteamérica, Europa, Japón, etc.
- Parece imprescindible reforzar las fuentes de información, como por ejemplo: bibliotecas, con información específica para el área biotecnológica y de genética molecular; sistemas computacionales de acceso a bases de datos; financiamiento para asistencia a congresos y cursos de perfeccionamiento, etc.
- Finalmente, me parece impor-

tante decir que los programas de mejoramiento son la base de una pirámide de desarrollo agropecuario, y aunque las herramientas biotecnológicas pueden ser muy poderosas, son sólo un peldaño para lograr

este desarrollo. En otras palabras, estas herramientas de análisis genético cobran sentido únicamente cuando están en íntima colaboración con los respectivos programas de fitomejoramiento.

MOLECULAR MARKERS APPLICATIONS IN PLANT BREEDING IN CHILE

Peter M. Gresshoff

University of Tennessee
Knoxville, USA

The purpose of this paper is to give a general overview of the potential of molecular markers in plant breeding and biotechnology. Most of the work that we conduct in my laboratory deals with the application of molecular markers in soybean analysis, so in my talk most of the examples will refer to soybean research.

We study different characteristics of nodules, the symbiotic structure of the root, where atmospheric nitrogen is transformed into ammonium. This process has an important agronomic and environmental meaning, because as you know, plants require nitrogen, and nitrogen participates in protein formation, that later is the feed of humans and animals. This analysis of the symbiotic process has been very significant in the last 10 to 15 years. We know that legumes produce an exudate which is recognized by soil bacteria; these bacteria (belonging to the *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*

genus) produce nodulation factors which induce cellular division in legumes. The bacterial analysis has been very prolific mainly because a bacterium like *Rhizobium* probably has only three to four thousand genes, it is haploid and can have insertional mutation by transposable elements like Tn5. On the other hand, plant is diploid and sometimes polyploid (tetraploid or hexaploid as in the case of alfalfa and wheat, respectively) and require a long time for generation. They also have a large number of genes (perhaps 25.000) with many of them being repeated in multi-genic families.

It is very important to keep in mind that legumes have very much DNA. For example, soybean has one billion base pairs of DNA per haploid nucleus, which is about one third of human genome. Peas have 4 billion, so here genetic problems are bigger because genome is larger. It is important to analyze more the genome of

legume plants in order to understand the interactions between the microbe and the plant. Nitrogen fixation is not only important to the plant, but also to the crop that follows in the fields next growing period. For example, oats sown in a field that previously had soybean without nodulation, leaving little if any residual nitrogen, is very different in growth to oats sown after a supernodulation soybean, which fixed more nitrogen, that helped not only its own growth, but also that of the subsequent crop. In summary, nitrogen fixation and nodulation are important processes and it is essential to study the genetic contribution of the plant.

In the last one hundred years classical plant breeders have been very instrumental in the development of new varieties. We all talk of the Green Revolution, and we have seen the substantial food increases that have been produced for the world. Classical plant breeding was and is done with visual markers for phenotypic characteristics. This process is founded in the idea that if you cross the good with the better, and later go to the field and you select the best, you will develop successfully a new variety. This process works, but it takes much time, usually ten years to produce a new

homozygotic variety for a given trait; it uses much space and time, too. This is the reason why in the last ten years, we have had the need to use molecular markers for plant breeding.

As a very universal classification there are four types of molecular markers. The first type is the restriction fragment length polymorphism (RFLP), that uses either cloned genomic DNA or cDNA as probes and restriction nucleases to recognize specific, and possibly variant, cleavage sites in target DNA. This technique has been used for the last ten years to characterize several plant genomes. The second type is PCR, polymerase chain reaction, which has many advantages including speed and low demand of materials. It characterizes specific DNA regions by primer (oligonucleotides used to initiate DNA synthesis) driven DNA amplification through a cyclic temperature process. PCR itself is specific, but can be made general through the use of shorter arbitrary primers, which detect multiple regions. These methods are called DAF, RAPD or AP-PCR. The third type of markers is the microsatellite. The fourth type is the isoenzyme marker, which is a protein marker. We are not going to talk about

them, but is necessary to mention them.

When we talk of RFLP, we are usually looking at the need for autoradiography; we can detect mobility differences of restriction fragments among different genotypes.

Restriction fragments analysis usually is slow and yields few information points. Usually one can see one, two or maybe three bands. In many cases the probe does not detect polymorphic markers. This technology requires radioactivity which in many laboratories is difficult to get. Notwithstanding, the advantage of these markers is their co-dominant nature, so in general, they are more efficient to analyse the heterozygous state.

The second type of markers are those based on PCR but use arbitrary primer technology. The most commonly used method is called RAPD. It is easy to do, but has some problems with low information density (at most 10 bands are seen per primer), data are not very reproducible, really short primers (less than 9mer) and higher annealing temperature (greater than 45°C) cannot be used, and final gels are not permanent. Another method,

called DAF (DNA amplification fingerprinting), overcomes all the problems. The advantage of these markers are that they are fast, require very little starting material, and the technology itself is very simple. The reaction usually is in very small volume, about twenty microliters. DNA in the sample together with the primers is amplified in a thermocycler that amplify specific DNA regions. Then amplification products are separated by gel electrophoresis. In our laboratory, we use polyacrylamide gel which is very thin (0,45 mm). The advantage of polyacrylamide gel electrophoresis is its greater resolution, therefore giving a better DNA separation and more data points. This is the same technology that is used for sequence studies of DNA. It does not require radioactivity because DNA products are stained by silver, it can be used in many countries of the world and at a relatively low cost. Another advantage is that the gel can air-dry easily, therefore the gel and DNA pattern can be preserved for a long time. With agarose gels it is necessary to take a picture because the bands start diffusing and are lost.

Now, what are the uses of molecular markers?. The most effective uses are in variety differentiation, genetic diversity

analysis and marker assisted selection (MAS). For example, they are important in backcross selection of normal and transgenic plants. Another use is the map based cloning (MBC), also called cloning by phenotype, or positional cloning. To evaluate the use of molecular markers in variety distinction a molecular pedigree was compared with a known pedigree. We did a study where we took the genomic DNA of soybean, some of them bred for resistance to cyst nematode, and compared data obtained from DAF and RFLP, and checked how reliable and efficient the data were, as compared with the pedigree. We observed that the DAF and RFLP dendrogram have a high coincidence, over 90%, with the pedigree known by breeding. We observed individuals in the same lessons from this analysis. First, the DAF analysis required only seven primers for this dendrogram. Second, RFLP analysis required 53 probes because the RFLPs only give two to three bands each time. On the other hand, DAF patterns give between 40-100 silver-stained bands depending upon the gel used. Thus, multiplex techniques, like DAF and AFLP, provide effective means to determine the genetic and evolutionary relatedness for a diversity of species.

The second area of work for markers is in marker assisted selection. This is important for agronomy and provides the linkage point between molecular biology and agronomy. The advantage of marker assisted selection is that it is independent of the environment. Plant breeders know that in a bad season phenotypic selection is deficient; it is difficult to differentiate susceptible from resistant genotypes, or if the fungus attacked the plants. Molecular markers are independent of the plants age. For example, if you are working with *Vitis vinifera* or *Pinus radiata*, it is not necessary to wait ten to twenty years in order to determine plant phenotype (say for wood growth or wine stability). With molecular markers you can search the genetic characteristics within a few days after germination or in the bud of a tree. However, you first need to know the correlation or association between the inheritance of the molecular marker and the phenotype. This may require some investment in time and money, but the initial investment is valuable as the resulting map is forever, and, for the entire species being studied. Another advantage is that you can utilize only part of the plant, for example, the embryo or part of the primary leaf. All these advantages reduce the time required for plant

breeding and selection.

Molecular markers are very efficient for backcross conversion needed to introgress new traits into established elite lines. This was done with a backcross selection in soybean. Usually the objective of plant breeding is to obtain a superior plant, but this plant may not have some desirable genetic characteristics, for example, fungus resistance; this genetic resistance might be present in a wild plant, a weed that is good for nothing but has this resistance gene. In the usual crossing or breeding it is utilized a cross between the parents, but in the first generation (F1) we have 50% of the genome we are looking for. Therefore it is necessary to make several backcrosses to the desired parent in order to recuperate the gene in a homozygous state with as little as possible of the bad DNA of the wild parent. This take about six to eight generations to substitute most of DNA. In the first generation, the F1 hybrid was backcrossed with the elite parent; in this case we know statistically that we are going to have 25% from the donor genome and 75% from the good parent; in the next generation this is going to be 12,5%, then 6,25% in the next backcross. These are statistical averages; this is what we explain to our students when we

teach them genetics in plant improvement. Notwithstanding when we see the genetic structure, using total genome analysis with molecular markers, we see that there is an unequal distribution in the genome because during meiosis plants did not put exactly the same amount of DNA from each of the grandparents in the pollen. Therefore, we see that there is a distribution that is not exactly the statistical average.

Because of this distribution you can see that really there are some plants that have less DNA from the unwanted parent, and thanks to this molecular situation we can select different plants. So here the backcross is done with a newly selected plant, known for its underrepresentation of the donors genome. This results in a new distribution in the subsequent generation, gaining more than one generation in efficiency of backcross conversion and introgression of a new trait.

Using this technology, a biotechnology company from Madison, Wisconsin, has achieved backcross conversions using seven traits attaining more than 99% of homozygosity in the genome in about two years. No plant breeder is able to introduce five or seven genes to get a new homozygous

variety in such a short time. So, classical breeding together with molecular technology can generate genetic transfer of traits without recombinant DNA technology.

The third area of application of molecular markers is the cloning-by-phenotype or positional cloning. The idea is that when we have a gene, whatever it may be, close to it could be a linked molecular marker, such as a RFLP or a PCR/DAF marker. For example, in soybean the supernodulation gene was closely linked to several markers based in PCR/DAF or RFLP, that enabled us to select for this trait. The steps for positional clonation are these: first you have to detect the phenotype, determine its genetics, see if it is a monogenic or polygenic trait. This approach can be used in either genetic situation, but it is easier with monogenic traits. The second point is detection of the linkage between the molecular marker and phenotype; usually this is done in segregant populations. The third stage is to detect molecular markers that flank or that are by the side of the target gene which we achieve through recombination analysis.

Once we have this, we proceed to isolate a long piece of DNA (usually as large as 100-300 Kb) that includes the flanking markers. This procedure usually is done by cloning in yeast artificial chromosomes (YACs) or in bacterial artificial chromosomes (BACs). After cloning it is necessary to detect whether the candidate YAC or BAC encodes a cDNA. After screening for this piece of cDNA it is necessary to go back and check that the candidate clone is really functional. We introduce a molecular clone into a mutant (presumed recessive) phenotype in order to correct it with the dominant allele. In this stage transformation is very important because we are coming back to the plant.

In conclusion, this short overview demonstrates (1) that many types of molecular markers are available, (2) that some technologies and approaches have advantages, (3) that these have numerous potential applications and, most importantly, (4) that all serious plant breeding and improvement programs around the world, including Chile, require this approach to be adaptable to changing demands of the market and the environment.

SITUACION DE LA BIOTECNOLOGIA EN LOS CULTIVOS TROPICALES

Jacques Meunier
CIRAD
Montpellier, France

El Centro de Cooperación Internacional de Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD) es un organismo científico francés especializado en la agricultura de las regiones tropicales y subtropicales. Su misión es la de contribuir al desarrollo de estas regiones, mediante investigaciones, realizaciones experimentales, capacitación, información científica y técnica.

Por esta razón, esta ponencia tratará sobre los cultivos tropicales, y más especialmente los cultivos perennes. Se discutirán, principalmente tres puntos: en primer lugar, el estado de la ciencia en lo que concierne a los cultivos tropicales; en segundo lugar, la situación de las biotecnologías en los países en vías de desarrollo; y por último, algunas ideas sobre los problemas y los mitos que se encuentran frecuentemente a propósito de las biotecnologías.

I. La biotecnología aplicada a los cultivos tropicales.

Desde el punto de vista de las biotecnologías, las plantas tropicales no son diferentes de las demás. Casi con todas las especies de importancia económica mayor como el arroz, la yuca, el maíz, la mandioca, el maní o el algodón se obtuvieron notables resultados en materia de multiplicación vegetativa *in vitro*. El CIRAD está también implicado en numerosas investigaciones en fases más o menos avanzadas relacionada con la biología celular, análisis genómico y transferencia de genes, los cuales se han desarrollado en cooperación con los Centros Internacionales y de las Universidades del Norte. Estudios similares se han realizado con cultivos perennes industriales. Por ejemplo, se multiplica *in vitro*, a nivel industrial, café, plátano, frutas y especies forestales como *Eucalyptus*, *Acacia*, *Teca*, *Casuarilla*, etc.

Se han crioconservado numerosas especies como el cocotero, la pal-

ma aceitera o el café. Se dispone de mapas genómicos avanzados para cacao, caña de azúcar, caucho y plátano. Al respecto, señalamos que la cartografía de la caña de azúcar podía parecer un trabajo ambicioso debido al alto número de cromosomas de esta planta (más de 120); sin embargo, gracias al mapa y a los genes del maíz y al explorar el fenómeno de sintenia, resultó posible obtener un primer mapa con numerosos marcadores en un plazo de dos años.

Con respecto a la ingeniería genética, los trabajos permanecen todavía en estados preliminares y conciernen, por ahora, la puesta a punto de métodos de transformación, construcciones genéticas y primeras manifestaciones de marcadores clásicos. Las primeras prioridades tratan sobre la introducción de resistencias a los insectos y a los virus. Se han regenerado plantas transformadas para algodón y cítricos.

II. La situación de las biotecnologías en los países en vías de desarrollo

Si se deja a un lado los Centros Internacionales de CGIAR (CIMMYT, CIAT, ICARDA, IRRI, ICRISAT, etc.) que son lugares de excelencia donde se puede producir lo mejor en términos de biotec-

nologías, y con excepción de algunos países recientemente industrializados que optaron por una política de "biotecnología adelantada" (Brasil, Malasia, México, Tailandia), se observa que, en general, existen numerosos laboratorios en los países en vías de desarrollo. Estos laboratorios se limitan, la mayoría de las veces, a la puesta en marcha de tecnologías básicas en el ámbito del cultivo *in vitro* y con dos objetivos mayores: la capacitación en el marco de las universidades, y la multiplicación de masa en el marco de proyectos de desarrollo. Estos laboratorios lograron relevantes resultados para la multiplicación de los plátanos (entre 200 y 400 millones de plantas *in vitro* producidas en total en El Ecuador, Colombia, Filipinas, Tailandia...), el café también es micropropagado en laboratorios en Costa Rica, en Colombia o en Uganda, y la palma aceitera en Malasia, Indonesia o Costa de Marfil. Sin embargo, se trata de producciones en masa y los objetivos son más de tipo económico que científico. Además, muchos laboratorios construidos en base a una sencilla transferencia de tecnología, en el marco de cooperaciones bilaterales, experimentan serias dificultades técnicas y financieras para asegurar un funcionamiento normal.

III. Problemas y mitos.

El problema más común en materia de biotecnología es seguramente la ausencia de objetivos. Así, se confunden los métodos con las metas, las herramientas con los productos. A falta de objetivos claramente definidos, se oculta el análisis de los aspectos técnicos, económicos y sociales; es decir, las cuestiones esenciales relativas a cómo hacerlo, a qué costo, con qué consecuencias. Por otro lado, la palabra "biotecnología" por sí misma resulta generadora de ciertos mitos. En primer lugar, existe la creencia, aún viva en algunos, de que esta herramienta permitirá proporcionar soluciones fáciles y rápidas a numerosos problemas. Es cierto que las biotecnologías ofrecen relevantes e interesantes potencialidades pero no si se consideran de forma aislada. Por ejemplo, resulta poco probable que las biotecnologías proporcionen grandes adelantos a una especie cultivada, si no se integran en un programa de mejoramiento genético fuerte y estructurado, y si resulta relativamente fácil realizar ingeniería genética sobre modelos, resulta mucho más primordial transferir un gen de interés agronómico en un genotipo de valor.

Desgraciadamente existen laboratorios construidos para desarrollar

el cultivo *in vitro* que ni siquiera tienen plantas para multiplicar. Peor todavía, ocurre, de forma insidiosa, que mediante el juego de las competencias presupuestarias, los programas de mejoramiento sean limitados e inclusive abandonados, para dedicarse a las biotecnologías.

En otra área, a menudo se menciona el interés de técnicas tales como la conservación *in vitro* y la crioconservación para preservar la diversidad genética. Sin negar el interés de estos métodos, estamos obligados a constatar que, por ahora, muchas veces estas prácticas terminan en una reducción de la variabilidad. En primer lugar, porque la tecnología no se domina aún lo suficientemente bien y sigue siendo muy "selectiva" a nivel celular, inclusive a nivel de genotipo. Además, los trabajos se limitan, por lo general, a algunos genotipos -los más interesantes o de más valor-, dejando de lado una relevante cantidad de material supuestamente de menor interés a falta de medios, de voluntad o de organización adecuada.

Un segundo mito frecuente es que las biotecnologías son demasiado sofisticadas y demasiado caras para los países en vías de desarrollo. La mayoría de los Estados tropicales no tienen ni las

infraestructuras ni los científicos capacitados para poder usar las biotecnologías eficazmente, pero pareciera que se trata más de un problema de organización a nivel nacional o regional que de una falta de capacitaciones o de medios.

En relación a los costos, es importante comparar los de las biotecnologías con los de los métodos tradicionales, antes de decidir que método usar.

Las plantas perennes necesitan ensayos de gran tamaño (media a una hectárea por familia) durante largas temporadas (20 a 30 años). En estos casos, se concibe que los marcadores moleculares pueden proporcionar una ventaja económica considerable en la acumulación los genes interesantes y la selección precoz de los genotipos a conservar.

Al contrario, la identificación de genotipos ilegítimos podría evitar, mantener y difundir genotipos no deseables, como ha ocurrido en ciertas plantaciones de árboles de caucho o de palma.

Por último, quedan los grandes debates-controversias sobre los riesgos, biológico, económico, sociológico, enlazados con la introducción de estas tecnologías en las sociedades en vías de desarrollo.

No obstante, en este ámbito muchas afirmaciones no poseen ningún fundamento científico.

Los riesgos biológicos existen, no se deben negar ni subestimar. Estos resultan difíciles de estimar en términos absolutos y aún más en términos relativos, dado que lo que importa, en efecto, es el riesgo (inevitable) que la sociedad puede aceptar respecto a otros riesgos (la pobreza, por ejemplo).

Las consecuencias sociales y económicas resultan muy difíciles de prever. Se necesitan estudios serios de prospectiva, y lo peor, no es seguro. La retrospectiva puede también ayudarnos. Se observará, por ejemplo, que los adelantos realizados en los últimos 30 años, que a menudo van mucho más allá de lo que se puede esperar de las biotecnologías, no han modificado fundamentalmente las estructuras de las producciones, y que las grandes mutaciones que pudieron haber ocurrido (palmera, cacao) se encuentran más enlazadas con las políticas agrícolas y sociales de los Estados, que con los adelantos científicos propiamente tal.

En conclusión, reafirmamos nuestra convicción del interés de las biotecnologías para los países en vías de desarrollo. Tal vez es en

estas mismas regiones donde la utilización de las biotecnologías debería ser prioritaria como una forma de hacer frente a los grandes debates globales, como la alimentación, el medio ambiente o la sustentabilidad del desarrollo, dado que son los países en vías de desarrollo los que presentan los problemas más graves (problemas de producción para satisfacer la demanda de una población creciente; de sistemas de cultivos a menudo demasiado extensivos; de protección contra enfermedades y plagas; problemas de conservación de la biodiversidad, más rica en la zona intertropical que en cualquier otra parte; problemas de protección del medioambiente, de los suelos y agua). Estos países tienen también cier-

tas ventajas comparativas, no sólo en términos de costo de la mano de obra, sino también en términos de potencial de producción y de progreso (plantas oleaginosas, frutos, etc.).

No creemos que la biotecnología pueda resolverlo todo, pero esta herramienta tiene que desempeñar su papel en la investigación para el desarrollo. Sin embargo, su uso debe ser racional y justificado en el marco de proyectos de investigaciones multidisciplinarias y coherentes cuyos objetivos se adaptarán a las necesidades efectivas de las sociedades del Sur. Por lo tanto, es necesario incluir en los grupos de reflexión a especialistas de otras áreas, en particular, economistas, sociólogos y políticos.

USO PRACTICO Y MASIVO DE MARCADORES MOLECULARES EN CEREALES. APUNTES Y PERSPECTIVAS DEL CIMMYT

Diego González de León

CIMMYT

México D.F., México

I. Introducción

Para los fines de esta conferencia, se expondrá la experiencia que se ha tenido en el CIMMYT en cuanto a la aplicación de los marcadores moleculares. Estas descripciones pueden ayudar a los grupos aquí presentes, a darles una idea de cómo se está organizando, como se definen prioridades, y hacia dónde se dirige la aplicación de esta tecnología en el CIMMYT.

El Centro Internacional de Mejoramiento en Maíz y Trigo (CIMMYT) se ha dedicado en los últimos treinta años al mejoramiento del maíz y el trigo para el mundo tropical y subtropical. Su gran impacto a través del mundo, en cuanto al germoplasma mejorado distribuido sería el tópico de otra charla. En los últimos cinco años ha habido un cambio de política importante en el CIMMYT, en lo que se refiere a las tecnologías para el fitomejoramiento, con la fundación de los nuevos Laboratorios de Biotec-

nología Aplicada. Estos laboratorios se organizaron alrededor del de genética molecular aplicada, más adelante se agregaron los laboratorios de Ingeniería Genética y, más recientemente, el de Biología Molecular Aplicada y el de Citología y Embriología Moleculares Aplicadas.

El objetivo global de nuestro trabajo es, por una parte, proveer al fitomejoramiento de metodologías más eficaces mediante la utilización de técnicas modernas de biotecnología, y por otra, proveer asistencia técnica y académica a los asociados de CIMMYT, esto es, los programas nacionales del mundo en desarrollo, en la aplicación de las biotecnologías.

Estos mandatos los hemos puesto en marcha a través de tres grandes actividades:

(1) Evaluación y Adaptación de Tecnologías
En la evaluación y adaptación de

tecnologías a nuestras condiciones y problemáticas locales, tuvimos el desafío de adaptar técnicas moleculares al uso a gran escala. Los problemas de mejoramiento genético, cualesquiera que sean, son problemas de grandes números, y hemos dedicado parte de nuestro esfuerzo a implementar tecnologías que permitan aplicarse a gran escala. Desarrollamos estas tecnologías sin usar isótopos radioactivos para reducir los problemas múltiples asociados a éstos, así como para facilitar su transferencia a otros laboratorios. El Manual de Protocolos de Laboratorio se ha distribuido en forma gratuita a cerca de 200 laboratorios que lo han pedido. Por otro lado, hemos escrito varios programas de computación, unos con el fin de verificar y controlar la cantidad de los datos genéticos que recogemos en nuestros experimentos, otros con el fin de calcular los costos operativos del laboratorio para mantenerlos en un mínimo. Recientemente contratamos a un Biometrista para trabajar en nuevas metodologías para el mapeo de loci de caracteres cuantitativos (QTLs) utilizando marcadores moleculares.

(2) Capacitación y Transferencia de estas tecnologías

En esta área tenemos planeados cursillos. El primero se impartirá a

fin de noviembre de este año. Este durará dos semanas y será financiado por ITMI, la Asociación Internacional de Mapeo de las Triticáceas, PIONEER HiBred y CIMMYT. Por otro lado, hemos tenido bastante éxito y popularidad con el entrenamiento de científicos visitantes que vienen por unos días y hasta por año y medio. También hemos participado en varias redes internacionales para el uso de marcadores moleculares. En esta ocasión limitaré mi exposición a explicar como estamos organizados en el Laboratorio de Genética Molecular Aplicada (AMGL). Nuestros asociados primarios son, por supuesto, los programas de Trigo y Maíz del CIMMYT, pero también tenemos algunas colaboraciones con otras instituciones privadas, internacionales y nacionales.

(3) Investigación Colaborativa

En el área de investigación colaborativa el objetivo principal del Laboratorio de Genética Molecular Aplicada es identificar segmentos genómicos de interés para los programas de maíz y trigo, y utilizar marcadores moleculares para manipular y transferir estos segmentos de líneas donadoras a otras en vías de mejoramiento. Desde hace un año y medio empezamos en el CIMMYT a aplicar el concepto de Selección Asistida

por Marcadores (SAM) para la resistencia a insectos y la tolerancia a la sequía en maíz. También hemos hecho algunos estudios, pero más bien superficiales en el conocimiento de la diversidad genética del maíz y del trigo utilizados en CIMMYT.

II. Definición de prioridades

Para decidir en que problemas enfocarnos y definir las prioridades, tenemos criterios muy estrictos:

Primero que nada, las prioridades reales, aquellos problemas de mejoramiento más urgentes, las definen realmente los fitomejoradores de CIMMYT, no las definimos nosotros. Nosotros aplicamos los criterios siguientes para decidir cuando es pertinente aportar soluciones por vía de la biotecnología aplicada. Se consideran:

- La importancia del aspecto en cuestión para los clientes del CIMMYT (criterio derivado de las prioridades dictadas por los fitomejoradores).
- La falta de soluciones adecuadas mediante las tecnologías tradicionales.
- La posibilidad de solucionar el problema mediante la biotecnología, y

- La ventaja estratégica de intentar solucionar el problema en el CIMMYT.

Después de analizar la lista de prioridades de los mejoradores, deducimos una nueva lista que cumpla con los cuatro criterios arriba mencionados. Por ejemplo, en el Programa de Trigo hemos seleccionado y estamos trabajando en la genética de la resistencia durable a la roya de la hoja. En el Programa de Maíz, del cual voy a presentar algunos ejemplos con mayor detalle, la biotecnología ha tenido un mayor impacto. La razón de esto es simplemente que las herramientas de marcadores moleculares para esta especie tienen ya un desarrollo de diez años, contra solo dos en el caso del trigo. Por consecuencia, ha habido un avance mucho más rápido en el estudio de este cultivo en muchos laboratorios. En los últimos tres años nos hemos dedicado al estudio de la resistencia a insectos, la tolerancia a la sequía y, recientemente, en un proyecto financiado por el Reino Unido, a la resistencia a la pudrición de la mazorca. Tenemos también una colaboración con el Gobierno de Francia en el estudio de la resistencia al rayado del maíz (MSV). Los proyectos obviamente reflejan los objetivos y las prioridades definidas por los mejoradores. Tene-

mos también una actividad de alto riesgo en colaboración con el Gobierno de Francia, en la cual estamos trabajando con *Tripsacum*, un asociado silvestre del maíz que puede reproducirse asexualmente por medio de semillas, esto es apomícticamente. El objetivo será producir un maíz apomíctico, que permita simplificar la disponibilidad de híbridos heteróticos para los campesinos de bajos recursos.

III. Marcadores Moleculares

En cuanto a los marcadores moleculares hemos desarrollado más que nada la aplicación de los RFLPs a gran escala, porque pensamos que son una tecnología muy robusta que permite obtener resultados bastante confiables. No estamos muy seguros de la utilidad de los RAPDs todavía, por lo menos en lo que concierne al maíz; en trigo si los hemos usado para estudios genéticos con bastante éxito, pero después de modificar al ADN genómico total de tal suerte que contenga un mínimo de secuencias repetitivas.

Una de las consideraciones en la elección de RFLP es el costo (Ragot, M. and D.A. Hoisington. 1993. Molecular markers for plant breeding: comparisons of RFLP and RAPD genotyping cost. Theoretical

and Applied Genetics 86:985-984). Hemos demostrado que el método no radioactivo con digoxigenina basado en la quimioluminiscencia es más barato que el que usa radioactividad con ^{32}P y es bastante más barato que el de los RAPDs.

Ejemplos de la aplicación de los marcadores moleculares al estudio de la genética de caracteres cuantitativos.

La mayoría de los caracteres para los cuales se ha pensado en una solución por medio de marcadores moleculares son relativamente complejos y probablemente multigénicos. Es preciso enfatizar primeramente un punto muy particular del cual depende el éxito de la genética molecular aplicada: la precisión de las mediciones del carácter estudiado, y el mejoramiento, en ensayos replicados en diferentes ambientes y años. Siendo el problema fundamentalmente de genética, precisa contar con poblaciones genéticas derivadas de cruza entre líneas puras que difieran significativamente en la expresión del carácter a estudiar. Por un lado se construye un mapa de ligamiento de marcadores moleculares a partir de los genotipos para estos marcadores de cada individuo F_2 . Típicamente, cada individuo F_2 es autopo-

linizado para producir una familia F_3 que servirá para realizar las pruebas de campo para el carácter o caracteres en particular. A veces es preciso aumentar la semilla de cada familia F_3 por cruzamiento planta a planta de unas veinte plantas de una familia, para asegurar así la disponibilidad de semilla para todos los ensayos. En CIMMYT utilizamos un diseño en lattice con 2 ó 3 repeticiones, en dos ambientes diferentes y, de ser posible, en dos años diferentes. Los valores promedio del carácter de cada familia F_3 representan una medida del fenotipo de la planta madre F_2 original. Utilizando varios simples y no tan simples algoritmos, se puede establecer segmentos del genoma delimitados por marcadores particulares, dentro de los cuales se declara, con un grado de significancia establecido, la presencia de un QTL, esto es de un factor genético que contribuye a la expresión del carácter medido.

Es evidente por lo tanto que si no se tiene una forma de medir el carácter con gran precisión en toda la población no es posible llegar a conclusiones útiles, por no decir válidas. Muchas de las técnicas de evaluación de caracteres para el fitomejoramiento, sin dejar de ser efectivas, generalmente sólo atienden parte de la distribución

de fenotipos segregantes especialmente de valores intermedios. Serán muchos, por lo tanto, los fitomejoradores que se decepcionarán al saber que para algunos de los caracteres más difíciles de evaluar, no existirá una solución por medio de marcadores moleculares hasta que se resuelva el problema mismo de la evaluación precisa del carácter, cualquiera que sea su costo.

Consideremos el ejemplo de la floración en maíz. En maíz se ha encontrado que si se mejora la sincronización entre la floración masculina y la femenina, uno puede tener una tolerancia mayor a la sequía, en términos de rendimiento de grano, cuando ésta ocurre en el momento de la floración. Variedades que tienen poca sincronía floral bajo condiciones de estrés hídrico tienden a rendir poco, obviamente, porque el polen sale mucho antes de los pelos del choclo. Si bien es un carácter de simple y precisa medición, en programas donde se necesitaría seleccionar por esta sincronía floral, generalmente no se cuenta con las condiciones apropiadas de irrigación para realizar estos trabajos bajo niveles de estrés hídrico bien controlados. Además se requiere que el período seco durante el cual se lleva a cabo el experimento esté totalmente desprovisto

de lluvias ocasionales, que provocarían la pérdida de los datos para ese ciclo. Por lo tanto, decidimos trabajar en el nivel molecular, haciendo un estudio de poblaciones F_2 en segregación usando RFLPs, y encontramos que ésta característica de sincronía floral está determinada por seis factores o QTLs, tal vez siete, en el genoma del maíz. Este mapa genético del maíz tropical, el primero que se ha hecho, nos ha permitido plantear un proyecto ya en curso de transferencia de segmentos genómicos que confieren una buena sincronía floral a líneas que requieren de esta característica para poder ser introducidos a regiones con mayor sequía durante el período de floración. Este proyecto cumple con todos los criterios de selección definidos más arriba.

Otro problema que hemos estado estudiando bastante a fondo, es el problema de la resistencia a insectos barrenadores del maíz, sobre todo aquellos que atacan las hojas en el período temprano del crecimiento de la planta. Para este estudio se requiere realizar infestaciones generales en campos muy grandes, en ensayos replicados, realizar evaluaciones por expertos que pueden decidir cual es el daño causado por el insecto. También se requiere un laboratorio muy grande de cría de insectos,

para poder producir millones de larvas que se necesitan para infestar grandes cantidades de plantas en cada ciclo (dos ciclos al año en CIMMYT). Es evidente que los programas convencionales de mejoramiento de la resistencia a este tipo de insectos son muy caros, largos y laboriosos.

En este caso, y a pesar de que existe una solución convencional, hemos decidido usar los marcadores moleculares para tratar de ayudar a los mejoradores a llevar a cabo su tarea más rápido. Aquí, sin embargo, el panorama del mapeo de los QTLs es mucho más complicado de lo que vimos en el caso de la sincronía floral. Existe un gran número de QTLs que parecen controlar la resistencia al insecto, y algunos de estos QTLs tienden a ser detectados en un ambiente pero no en otro, en un año pero no en otro, aumentando así la dificultad de la interpretación de los resultados para su aplicación. La existencia de QTLs "poco consistentes" no quiere decir que estén finamente controladas por el ambiente y que entran en operación según el ambiente y el tipo de infestación. Estos ejemplos demuestran dos cosas importantes, el de sincronía floral, donde se tiene una consistencia muy clara de los factores de resistencia de un ambiente a otro y, la susceptibilidad al ataque

bién un máximo de loci provenientes de la línea recurrente a mejorar. En estos momentos estamos haciendo las autofecundaciones de las plantas BC_2F_1 seleccionadas por marcadores y cruza entre estas plantas para medir en el campo durante el próximo ciclo de invierno, cual ha sido la magnitud de la mejoría en la resistencia a insectos después de la selección asistida por marcadores.

La selección asistida por marcadores

En la Figura 1 se muestra como estamos aproximándonos al problema de la selección de factores múltiples en un programa de mejoramiento por retrocruza, usando marcadores moleculares. Se tiene que pasar, forzosamente, por una etapa de mapeo genético con pruebas de campo de familias F_3 que representan a los individuos F_2 , para medir con precisión el carácter adecuado. Este parece ser mucho trabajo, pero en CIMMYT podemos realizar un mapa genético del maíz con unos 150 marcadores, es decir, una densidad genética de aproximadamente 10 cM, en dos meses y medio, por lo tanto, no es una etapa limitante para nosotros. Quiero enfatizar que la utilización de marcadores moleculares no necesariamente simplifica enormemente el trabajo. Muchas veces se requiere

varios pasos, en los cuales hay que analizar con marcadores moleculares; necesitan etapas de ensayos replicados en el campo y cruza con probadores para determinar si las variedades que estamos produciendo han recuperado su habilidad combinatoria.

Dentro de este complejo esquema hay muchas consideraciones que modulan sus posibilidades de éxito: el tamaño de poblaciones que se pueden utilizar, las estrategias de los cruzamientos que podemos hacer, los protocolos experimentales robustos, la logística de laboratorio y de campo, etc. Las poblaciones usadas en los ejemplos anteriores son de entre 250 a 500 individuos, caracterizadas en el laboratorio para 150 marcadores. Por supuesto, hay que reducir el costo de estas operaciones. Queremos una aplicación de una biotecnología rápida y de bajo costo, por lo tanto, tenemos que alejarnos de sistemas que dependen de la hibridación del DNA, como lo son los RFLPs y pasar a sistemas que dependan más de la reacción en cadena de la polimeraza (PCR), y si es posible eliminar las separaciones en gel, que probablemente es el cuello de botella más grande en este tipo de aplicaciones.

En resumen, debemos pasar a una

escala mayor. En este momento, nosotros podemos obtener en CIMMYT 18.000 genotipos diferentes, cada dos días, con un equipo de tres personas. Eso es una aplicación masiva de los RFLP; es relativamente costosa, pero se puede obtener rápidamente mucha información. Sin embargo, tenemos que pasar realmente a una etapa mayor, de miles, para poder aplicar este tipo de tecnologías al fitomejoramiento en rutina. Por supuesto, surge la necesidad de la automatización de ciertas operaciones lo que aumentará los costos enormemente, y que por lo tanto afectará la transferencia de este tipo de tecnologías a clientes de CIMMYT.

IV. Epílogo

En conclusión, quiero recalcar de nuevo que el trabajo de apoyar los programas de mejoramiento genético con marcadores moleculares es posible sólo si se cuenta con un programa adecuado al mejoramiento. Otro factor que hemos descubierto con dolor ha sido el de análisis de datos; éstos son probablemente los que llevan más tiempo en este tipo de aplicaciones. En este sentido, las metodologías nuevas de biometría que se han estado aplicando a este tipo de análisis, están evolucionando

muy rápido y requieren de expertos en la materia.

Consideramos que el trabajo en marcadores moleculares es un trabajo que, a gran escala, requiere medios relativamente fuertes y es extraordinariamente laborioso y tedioso; no es algo que quisiéramos que nuestros fitomejoradores hagan y una proposición que tenemos en el CIMMYT es la de evolucionar hacia un laboratorio de servicios. Poseer un laboratorio regional que pueda hacer exclusivamente el trabajo tedioso de marcadores moleculares. Nuestra obligación es proporcionar el material vegetal y el laboratorio regional proporcionará los datos moleculares en segregación de los segmentos cromosómicos, y el biotecnólogo en conjunto con el mejorador, correlacionarán los resultados genotípicos con los resultados fenotípicos para la aplicación en fitomejoramiento. Es indudable que para llevar a cabo este plan es necesario contar con laboratorios grandes y a gran escala.

Quiero recordar que la biología molecular no será una fuente directa de variedades, pero es imperativo que esté integrada a un programa tradicional de mejoramiento que es realmente el que apuntala este tipo de trabajo. Sin

embargo, estas tecnologías son muy poderosas para ayudar al fitomejorador en la selección de variedades mejoradas, y para aportar soluciones novedosas a problemas de fitomejoramiento. Nosotros concebimos un grupo de trabajo en el cual el genetista molecular es simplemente un eslabón, con un laboratorio de apoyo, dentro de un equipo multidisci-

plinario, en el que entran una serie de especialidades además del fitomejorador.

Finalmente, quiero agradecer a muchos de los colaboradores que hemos tenido en CIMMYT tanto dentro de los Laboratorios de Biotecnología Aplicada como, por supuesto, de los Programas de Maíz y de Trigo.

SITUACION ACTUAL Y POTENCIAL DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES EN CHILE

Guido Herrera

INIA

Santiago, Chile

Las enfermedades de las plantas tienen distintos orígenes, pues pueden ser causadas por hongos, bacterias, nemátodos o por virus. En general, la identificación de enfermedades causadas por hongos no ha sido gran problema desde el punto de vista taxonómico. Estos se pueden observar fácilmente en una lupa o en un microscopio de luz; lo que permite estudiar el tipo de micelio, sus estructuras reproductivas y todos los elementos necesarios para realizar un estudio taxonómico.

En un grado superior de complejidad están las bacterias. Sin embargo, existen también pruebas específicas de laboratorio para la identificación de estos patógenos. En el caso de micoplasmas y virus, los métodos de identificación se hacen cada vez más complicados. Estos últimos son partículas microscópicas, no observables a simple vista en condiciones de campo sólo se observan los síntomas que causan. Por esta razón, y por largo

tiempo, los virus se han estudiado no por sus características mismas, sino indirectamente a través de su sintomatología. Por ejemplo, para identificar un virus que afectaba a un frutal, era necesario pasarlo a un huésped herbáceo, donde éstos microorganismo producen síntomas característicos. Esta situación se complicaba aún más, ya que había virus que en un mismo huésped daban la misma sintomatología, otros podían dar distinto tipo de sintomatología en distintos huéspedes, o diferentes virus a la vez podían dar el mismo tipo de sintomatología.

Otro método muy utilizado en virología para la identificación de virus fue la injertación. Para virus de frutales se injertaban en los distintos huéspedes, y estos una vez injertados debido a su susceptibilidad a la enfermedad daban síntomas muy específicos. Con este tipo de métodos la identificación de una enfermedad virosa tomaba fácilmente años.

El desarrollo de la prueba ELISA y su utilización masiva en la identificación de virus pareció solucionar el problema del largo tiempo que necesitaban los métodos biológicos. La prueba ELISA, considera en el caso de los virus los siguientes pasos: purificación del virus, inyección de este a conejos, producción de anticuerpos en los conejos y , finalmente, la identificación de estos anticuerpos, que eran específicos para este tipo de partículas. Este procedimiento permitió disminuir el tiempo de identificación de años a prácticamente días. En algunos casos, para la identificación de virus se usó sueros policlonales, eso significa que los antisueros podían identificar distintos sectores de las moléculas del virus. Posteriormente, el desarrollo de la tecnología permitió el uso de sueros monoclonales que eran mucho más particulares y eran un epíteto del virus específico que se podía identificar. Esta tecnología permitió avanzar rápidamente en el campo de la identificación de un virus y diferenciación de razas.

Sin embargo, aun cuando la prueba ELISA pareció ser la solución, los virólogos y fitopatólogos comprobaron que la identificación de éstos microorganismos era más compleja. Un virus en particular no es sólo un grupo específico de par-

tículas, sino más bien, un enjambre de ellas. Diferencias en proporción de los tipos de partículas; puede significar virus o razas diferentes de un mismo virus. En la práctica, esto significa relaciones serológicas asociadas. Un suero específico no solamente puede identificar un virus en particular, sino también, en algunos casos puede identificar razas de virus cercanos, pero que causan enfermedades diferentes. También se observaron reacciones no específicas de la prueba ELISA, debido a una cierta reactividad con componentes sanos de las plantas. Este panorama, en muchos casos, más que simplificar los sistemas de identificación, los complicó.

No obstante, como siempre ocurre, se desarrollaron nuevas metodologías asociadas a la biotecnología. Una de estas metodologías es lo que se llama el PCR, que en realidad ha solucionado un poco todos los problemas que causaba la prueba ELISA, dando una mayor eficiencia, una mayor sensibilidad y certeza en el diagnóstico de las distintas enfermedades.

Los virus son en realidad un capsómero de proteínas que va rodeando a un ácido nucleico. Este es el que lleva la información genética. Si vemos el ácido nu-

cleico del virus esquemáticamente, en realidad es una secuencia de éstas, varios miles de bases que van dando la información para la formación de la cápsula, asociación con el huésped, capacidad de infección y capacidad de asociarse o no asociarse a un vector determinado.

Por ejemplo, el caso de la enfermedad de Sharkas o Plum POX Virus (PPV), se han diseñado oligos que se aparean a sectores específicos de la secuencia del ARN viral. El sector intermedio queda con una secuencia específica, de PPV y ausente en otro virus. Por tanto, si se transcribe este sector de ARN en ADN y se amplifica en un termociclador, se obtiene suficiente material como para evaluarlo en una electroforésis. En ese sentido, este tipo de tecnología supera largamente a todo lo que es la transmisión en huéspedes o la prueba ELISA.

El método de transcripción reversa seguido de PCR fue efectivo para la identificación inequívoca de PPV. Esta grave enfermedad de los frutales de carozo es el problema viral más importante de este cultivo en Europa. Para su identificación por primera vez en el continente americano fue imprescindible la utilización de tecnologías altamente

confiables.

Otra enfermedad identificada en nuestro laboratorio mediante la misma tecnología es el virus causante de la Tristeza de los Cítricos (CTV). Esta enfermedad aparentemente ha estado presente en nuestro país por largo tiempo, sin embargo en los dos últimos años se ha intensificado su efecto. Actualmente, se presentan productores con infecciones de 40-50 % en sus plantas. La utilización de RT-PCR fue esencial para un diagnóstico confiable, y así se descarta la posibilidad de confusión con otro tipo de enfermedades presentes en el campo.

Estos últimos meses se ha trabajado con un viroide que afecta al cultivo del pepino dulce conocido como "Potato Spindle Tuber Viroid" (PSTV). Los viroides, a diferencia de los virus, no están rodeados por un capsómero de proteínas, sino que corresponden al ácido nucleico desnudo. Dada su naturaleza complican bastante el diagnóstico en términos de generación de sueros. En esta situación con este tipo de tecnología PCR, utilizando secuencias específicas del viroide, podemos llegar también a una identificación bastante rápida y precisa.

En la actualidad se han identifica-

do dos nuevos viroides en el país: PSTV en pepino dulce y el viroide causante de la Xiloporosis en cítricos. Esto es muy importante, porque la sintomatología que presenta la xiloporosis se puede confundir en algunos casos con el Virus de la Tristeza de los Cítricos en condiciones de campo. Muchos extensionistas confunden ambos virus, sin embargo a través de PCR nosotros podemos distinguir absolutamente cuándo una planta está siendo afectada por xiloporosis de aquellas que están siendo afectadas por Tristeza, o incluso plantas que tienen ambos factores.

Basado en estos antecedentes y mirando un poco hacia adelante, creo que hay tres puntos interesantes que se pueden discutir en relación con la biotecnología en el campo de la sanidad vegetal. Primero, gran parte de la tecnología

o de la información disponible en el extranjero tiene un componente biotecnológico. Segundo, la ausencia de grupos que utilizando los métodos biotecnológicos abarquen, en forma coordinada y sistemática, la identificación de patógenos en las plantas. Apparentemente, el único grupo que se ha gestado y orientado en estos aspectos es el del CRI La Platina de INIA.

Finalmente, me parece que el país necesita desarrollar un grupo multidisciplinario de técnicos, fitopatólogos y biotecnólogos, para poder estudiar y establecer este tipo de tecnologías, y traducir las experiencias que se están logrando en el extranjero, adaptarlas y utilizarlas en los términos, o de acuerdo a los problemas que a nosotros nos están afectando.

USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL DIAGNOSTICO PATOLOGICO

Chuck Niblett

University of Florida
Gainesville, USA

Se ha hablado mucho en esta Conferencia de la parte científica; yo le voy a dar un poco de filosofía a algunas de las preocupaciones, interrogantes e intereses que tiene nuestro equipo de expertos. Estamos muy impresionados con la educación, capacitación y el compromiso de los científicos chilenos con quienes nos ha tocado participar. A mi modo de ver hay cierta confusión sobre el rol de nuestro equipo en este Plan. Algunas personas quieren mucho detalle, que nosotros tomemos todas las decisiones y que les demos una ruta. Están equivocados. Ustedes son profesionales. La única diferencia entre ustedes y nosotros, los miembros del equipo de extranjeros, es la posición de su ciencia en estos momentos; la de ustedes está en vías de desarrollo, la nuestra es más madura. En este sentido, hay dos tipos de ciencia, la buena y la mala. Nosotros solamente queremos la buena. Así que con vuestra ciencia en vías de desarrollo, es algo más emocionante y estimulante. Si nosotros mos-

tramos esa ruta que algunas personas están esperando, van a estar muy felices al comienzo, pero mas tarde van a enojarse con nosotros porque les habremos robado su creatividad y su originalidad. Les habremos dicho cómo pensar, y ese no es nuestro trabajo, ustedes son profesionales y tienen derecho a hacerlo por sí solos.

Pienso que nuestra responsabilidad es ayudarles a crear marcos dentro de los cuales puedan trabajar como pintores, pero son ustedes los que deben pintar, porque la pintura viene del corazón, de la mente, de la situación dónde uno se encuentra en un momento. Yo no puedo pintar por ustedes. Nosotros queremos trabajar con ustedes y crear marcos, dentro de los cual puedan trabajar y nosotros colaborar. Ese es mi primer punto, esa es nuestra misión.

El segundo punto tiene que ver con la colaboración, con la cooperación. Si la competencia es sana todos competimos, porque el ha-

cerlo nos hace trabajar más eficazmente, más efectivamente día tras día. Pero demasiada competencia o ésta mal pensada puede dañar. Vuestra ciencia está creciendo más rápido que sus fuentes de financiamiento, así que todos están compitiendo por los mismos fondos reducidos. Quizás eso está inhibiendo la colaboración y su productividad, su ciencia y la velocidad a la cual están avanzando. La mayoría de las ideas buenas tienen buenos padres, pocos aquí somos genios o abejas reinas, somos trabajadores. Nos despertamos en la mañana, vamos al trabajo, pero si nos escondemos en nuestras oficinas o laboratorios perdemos el estímulo de nuestros colegas a nivel local, nacional e internacional, en esa situación realmente no podemos competir en el escenario mundial. Solamente a través de la cooperación y de la investigación cooperativa es que podemos avanzar, si trabajamos con colegas internacionales y nacionales, si crecemos como individuos y científicos, y nuestras perspectivas aumentan astronómicamente, nuestro trabajo es más estimulante y a la larga somos más felices con él.

Así que nuestro consejo es que en primer lugar piensen en su ciencia, porque eso es importante y eso va a durar más que ustedes; su

misión aquí es muy corta, pero tienen la oportunidad de contribuir. En segundo lugar deben pensar en su misión y, finalmente, deberían pensar en ustedes mismos.

Ahora deseo hablar un poco de ciencia. No voy a plantear nada nuevo, sólo voy a decirlo de una manera diferente. Los marcadores moleculares y otras técnicas se están usando cada vez más para diagnósticos de enfermedades. En este sentido, podemos preparar sistemas de anticuerpos monoclonales, policlonales, "primers" especiales, sondas de hibridización para detectar todos los grupos patógenos que afectan a las plantas. Esto se está usando a diario en todos los países del mundo, es algo rutinario, pero existe un peligro. Todos lo usamos para diagnosticar Chagras, Tristeza; es entretenido, rápido, fácil, publicable, pero es caro. De manera que tenemos que asegurarnos de que sea realmente necesario.

El PCR se usa en forma rutinaria siendo cien veces más sensible en el caso de Tristeza de los Cítricos, pero es cincuenta a cien veces más caro que ELISA. Se pueden analizar sólo unas pocas muestras diarias con PCR, en primer lugar por el costo y también por la preparación de las muestras. Esta es una desventaja que puede ser limitante

al elegir y usar la tecnología más apropiada para llegar a nuestros objetivos. En este sentido, un ejemplo muy simple y útil fue el desarrollado en la Universidad de Florida. Cuando diagnosticamos podemos usar los cuerpos de inclusión, que son estructuras únicas producidas en la célula afectada. Este diagnóstico necesita solamente un microscopio de luz, muy común en los países en vías de desarrollo, y un buen técnico. Tienen que haber buenas manos; es fácil, rápido y se pueden diagnosticar infecciones en la misma planta para muchos virus diferentes. Pero no es "sexy", emocionante, publicable ni muy popular. Nosotros lo desarrollamos en la Universidad de Florida e hicimos un enlace entre el pasado y la nueva tecnología, en la cual involucramos a varios colegas lo que es otra ventaja del trabajo colaborativo: tomamos las decisiones en conjunto, ahorramos tiempo, dinero, y normalmente las decisiones son mucho más basadas en la ciencia.

Ahora les voy a presentar algunos aspectos de la investigación realizada por nosotros con el virus de la "Tristeza de los Cítricos". Los cítricos son muy importantes en el Estado de Florida, Estados Unidos, pues su producción contribuye anualmente con 8.000 millones de

dólares a la economía del Estado. Tenemos 100 millones de árboles y la Tristeza está causando tristeza en Florida. Dentro de los cítricos, las diferentes variedades de naranjas constituyen el 80% de lo que se cultiva en Florida. Un 80% de la producción es procesada y se pone en conservas o en contenedores como jugo, y solamente un pequeño porcentaje se vende como fruta fresca. Ahora, eso está cambiando un poco, porque se paga más por el producto fresco. Así que la calidad, la apariencia de la fruta es más importante.

La Tristeza, el nombre lo dice: la situación es triste para la planta como para el productor. Los síntomas pueden variar desde unos puntitos blancos en una hoja hasta la muerte de un árbol maduro, dependiendo del ataque y de la cepa. Para ver la sintomatología necesitamos dos cosas: en primer lugar, una cepa de Tristeza que sea capaz de causar la reacción de declinación rápida y el patrón de la naranja agria. La presencia y combinación de ambos factores matará al árbol. En Florida, aproximadamente 3.000 árboles están muriendo al año por estas cepas de declinación rápida.

El virus de la Tristeza existe en otras partes del mundo además de Florida. Por ejemplo, entre los años 1940 y 1950 se murieron aproxi-

madamente 40 millones de árboles cítricos en Argentina y Brasil. Entre los años 1940 y 1980 hubo un control muy efectivo de los vectores, ya que esta epidemia partió por una movilización de los vectores desde el sur de Brasil hacia el norte de Argentina y hacia el sur de Venezuela. En España, se predice que para el año 2.000 morirán 20 millones de árboles. Además de las cepas de declinación rápida, existen otras cepas menos severas y que producen otro tipo de daño, por ejemplo, en Colombia se produce un acanalado del tronco o de las ramas y un efecto sobre el tamaño de la fruta.

La Tristeza de los Cítricos es un virus de plantas típico, de ARN, que es atípico en su tamaño. Es el virus más grande que se conoce entre los que afectan a vegetales, tiene un genoma de 19.960 nucleótidos y es muy complejo y variable.

Yo creo que soy la única persona en el mundo al cual la Tristeza de los Cítricos da alegría en realidad, pues me da la razón para seguir trabajando, me hace feliz. Cuando se replica un virus vegetal forma la hebra complementaria de ARN, por lo tanto, durante una etapa oculta su replicación tiene ácido nucleico de doble hebra. Como el virus de la Tristeza es muy lar-

go, es difícil de purificar y mantenerlo intacto, por esto nosotros hemos tratado de purificar el ARN de doble hebra. Las cepas diferentes (cepa suave T30 y la cepa muy agresiva T36) tienen un patrón diferente en su ARN de doble hebra, lo que se puede utilizar para distinguir una cepa de la otra.

Ya conocemos la secuencia del virus que utilizamos como primers (con oligonucleótidos), para realizar la transcripción reversa en el PCR, para luego introducirlo en un plasmido y hacer que la bacteria nos produzca el ARN. Una vez que obtenemos el ADN podemos secuenciarlo y obtener la secuencia aminoacídica. La cepa suave y la agresiva tienen diferencias en aminoácidos. Por lo tanto, podemos decir que la T30 y la T36 en Florida son diferentes.

Hemos aislado cepas de diferentes países que nosotros utilizamos como biblioteca viral; por ejemplo, cepas de Francia, España, Colombia, China, Sudáfrica, las cuales han sido secuenciadas. Las secuencias de estas cepas indican algunas diferencias en arginina. Con la secuencia de genes vemos que las cepas suaves, las de declinación rápida y las que producen acanalado de los troncos son bastante similares entre los grupos que producen síntomas similares, pero

diferentes entre los distintos grupos (suave, declinamiento, acanulado).

Tenemos que tener cuidado con la confiabilidad de la información, ya que estamos trabajando solamente con el 3,5% del genoma total del virus. Lo que determinamos es que los genes de la proteína de la envoltura codifican un aminoácido en la posición 124 que, en las cepas suaves, corresponde a una fenilalanina y en las más agresivas es tirosina. Observamos que un anticuerpo monoclonal (MCA13) desarrollado por nosotros reacciona con las cepas agresivas, pero no con las suaves, mientras que los anticuerpos policlonales reaccionan con ambas. En resumen, hicimos PCR, secuenciación de los genes, para después preparar anticuerpos monoclonales.

Recientemente, publicamos la secuencia del virus y creo que hubo alrededor de 14 autores en nuestra publicación, porque todo el mundo ha contribuido con algo, todos tienen crédito en lo que se ha logrado, especialmente en mi laboratorio. Hay una tesis de doctorado en la cual se descubrió diferencias entre tirosina y fenilalanina, y se comparó para esa diferencia la posición 124 y cambios puntuales del aminoácido entre las cepas muy agresivas y las más sua-

ves. Además, se vió que el tipo reconocido por MCA 13 tiene sólo una diferencia puntual, un sólo aminoácido diferencia a las cepas suaves de las agresivas en esta región. El MCA 13 es un excelente reactivo que permite diferenciar la mayoría de las cepas muy agresivas, pero no puede detectar algunas de las cepas más leves porque detecta sólo esa mutación muy puntual. En cambio, los anticuerpos policlonales van a detectar todas las cepas, es decir, si uno quiere diagnosticar la presencia de un virus Tristeza tiene que utilizar anticuerpos policlonales, pero si quiere diferenciar una cepa por su agresión tiene que utilizar anticuerpos monoclonales.

Comenzamos entonces, a través de la biología molecular, a analizar la distribución mundial del vector eficiente del virus Tristeza. Este se originó probablemente en China, desde donde se trasladó a Sudáfrica y después a Sudamérica. El vector (pulgón) llevó el virus y se ubicó en Centroamérica. En el año 1989 se encontró el áfido también en Costa Rica, por lo cual nos empezamos a poner nerviosos en Estados Unidos. En la región del Caribe hay 400 millones de cítricos, por lo tanto, uno puede imaginarse lo que va a ocurrir si una cepa muy agresiva de Tristeza llega a esta área. En Florida, existen al-

rededor de 25 millones de cítricos; Cuba tiene aproximadamente 45 millones; México tiene alrededor de 200 millones de cítricos. Básicamente esta área está esperando el movimiento del áfido. Pero este pulgón ya está aislado en Nicaragua, por lo que nuestra esperanza trabajo y en el que hemos gastado mucho dinero es que no llegue a USA. En abril de 1993 se reportó el áfido en la Base Naval de Guantanamo en Cuba. Cuando yo estaba en España conocí al director del Instituto de Investigaciones Científicas de Cuba. España y Cuba siempre mantienen muy buenas relaciones, y en esa ocasión fuimos a Cuba a un encuentro, visitamos Guantanamo y con los colegas cubanos no fue difícil encontrar un gran número de áfidos en esa región. Nos gustó mucho y estamos muy contentos de colaborar con los colegas cubanos, que tienen muy buena infraestructura y están muy bien organizados.

Las principales productoras de cítricos en Cuba están ubicadas en Jagüey Grande; ahí está alrededor del 40% de la producción. La distancia entre esta empresa productora de cítricos y Florida es de 250 millas. No podríamos decir cuán lejos está de Cancún, Veracruz y Cornina, pero es solamente una distancia de tormenta. Aho-

ra, tomamos los virus y los comparamos con la colección que había en Beltsville para los genes de proteínas, y tratamos de predecir si es que había dos tipos de cepas. La respuesta fue positiva, había dos tipos de cepas en Cuba. Ellos habían hecho realmente un muy buen trabajo implementando y mejorando la tecnología de España para una producción de germoplasma, libre de enfermedades cítricas, para tratar de controlar el virus de la Tristeza en su país. Probablemente la mayoría de sus cepas resistentes se han originado en Estados Unidos, o en Europa después de la epidemia de los años '60. Nuevamente estamos haciendo algo así como patología forense. Las cepas que comprometen tallos son de muy baja incidencia en Cuba. Nosotros no las tenemos en Estados Unidos, y el áfido se está moviendo hacia nosotros. Al revés, nosotros en Estados Unidos tenemos cepas de un decaimiento rápido que no están en Cuba ni en México.

En España el áfido se demoró catorce años (1978 a 1992) para diseminar el virus al 90% de las plantas. En la Isla Reunión, se demoró un año para infectar al 96% de las plantas y dos años para infectar el 100%. Por lo tanto, el virus se disemina y el áfido se mueve muy rápido. Esta situación tam-

bién ha sido comparada en otros experimentos y localidades. Se ha determinado que el áfido positivo tiene una velocidad de transmisión muy grande, en cambio, el *Toxoptera citricida* tiene una alta y rápida diseminación de las cepas. Lo que nos preocupa es si transmite más ciertas cepas, o si llega a una mayor población o si se mueve en distancias más cortas, cómo se mueve o si es que puede llevar cepas más severas. Sabemos también que el *T. citricida* es un vector muy eficiente de otros potivirus que ya fueron descritos como muy importantes para los frutales y hortalizas.

Como ven, estamos haciendo la biología molecular, estamos secuenciando el genoma. No sabemos cuáles de los genes que participan, con excepción de los de proteínas, son interesante. Hay genes de proteínas que no sabemos para qué los tiene el virus, no sabemos si son recombinaciones con proteínas del huésped, pero tenemos otros genes conocidos y buscamos en ellos cuáles son las posibles fuentes de resistencia.

Los trabajos de Roger Beachy y otros, que trabajaron con copias de ADN del gen de proteínas de envoltura, nos demuestran el proceso de producción de plantas resistentes: introducción del gen a

un vector y amplificación para luego transferir este gen en forma de ADN a un cultivo, a un tejido vegetal con *Agrobacterium*, a través de electroporación u otras técnicas. Luego de la introducción del gen viene el proceso de regenerar el tejido en un medio especial, y así tenemos una planta que expresa el gen viral, pero sin embargo, no podemos entender por qué esa planta puede ser resistente.

El virus de la Tristeza tiene muchos genes y esperamos que uno de ellos pueda ser útil para ello. El trabajo de Beachy en el virus del Mosaico del Tabaco es muy ilustrativo al respecto. En el tomate esta técnica funcionó muy bien. En las papas existe un gen de resistencia para el virus X, y el Y. Esta resistencia es traspasada al huésped y posteriormente se hereda como gen único dominante. En los cítricos, otro colaborador en la Estación Experimental de Cítricos, está haciendo estudios de tejidos e incorporando los genes del virus de la Tristeza.

Estamos tratando de poner combinaciones de genes y esperamos que esto nos permita estar preparados para cuando llegue el áfido y el virus a Florida, para que nuestros cítricos estén siempre contentos.

INGERPRINTING DE PLANTAS Y HONGOS CON MICROSATELITES

Günter Kahl

Johann Wolfgang Goethe Universität
Frankfurt, Alemania

Las secuencias repetitivas del genoma de los eucariotes, aparentemente inútil, es en realidad de gran utilidad. Entre el 88 y el 95% de nuestro genoma humano está compuesto por ADN repetitivo. No se sabe en realidad por qué está ahí, ni cuál es su función específica. En las plantas, la situación es muy parecida y se estima que el ADN repetitivo fluctúa entre el 15 y el 99%, dependiendo de la especie.

Los elementos repetitivos de ADN pueden caer en dos categorías bastante amplias: uno es el tipo de secuencias repetitivas en "tandem", que se disponen una detrás de la otra como son los microsatélites, y el otro es el de las secuencias repetidas que están dispersas a través del genoma, por ejemplo, los transposones. Los microsatélites son unidades de alrededor de 20 pares de bases, constituido por un di-, tri- o tetranucleotido repetido varias veces, por ejemplo: CACACACACA-

CACACACACA. Esta unidad de secuencia se organiza en "tandem" y se encuentra dispersa a través del genoma. Esta secuencia puede estar en realidad en el genoma humano, animal, de las plantas o de los hongos.

El procedimiento técnico de cómo trabajar con secuencias repetidas es realmente fácil. Se prepara ADN de la planta, del hongo, etc., y usando enzimas de restricción se fragmenta en millones de pedazos. Posteriormente, estos millones de fragmentos se separan, de acuerdo al tamaño, en un gel sometido a un campo eléctrico. Los fragmentos de ADN se transfieren a un papel de nitrocelulosa obteniéndose sobre éste una imagen idéntica de la que uno tenía sobre el gel anteriormente. Para explorar esta situación y detectar los microsatélites presentes en el genoma se toma un microsatélite (óligo que se puede sintetizar en el laboratorio), se marca con un isótopo radioactivo o con un pro-

ducto no radioactivo y se procede a incubar la sonda marcada. Esta sonda hibridiza los fragmentos homólogos del ADN en estudio obteniéndose el "fingerprint".

I. Usos del "fingerprinting" de microsátélites

Los microsátélites pueden ser utilizados muy eficazmente para discriminar entre especies, por ejemplo tomate, garbanzo o diferenciar genotipos dentro de una especie. Nosotros estamos trabajando con el garbanzo en un gran proyecto con Pakistán, Túnez y Turquía, en que estamos utilizando los microsátélites para diferentes propósitos. Como ustedes saben, las diferentes variedades de garbanzos tienen distinto tamaño, que se pueden discriminar fácilmente. Algunos genotipos de variedades de garbanzo no podían diferenciarse por características morfológicas, pero al usar microsátélites se pudo detectar una gran cantidad de polimorfismos en las distintas muestras analizadas. Con este tipo de marcador, el fitomejorador puede eliminar duplicados en su material, o tratar de seguir un determinado carácter o un determinado gen, en su esquema de cruzamiento o de retrocruzamiento.

En cruzamientos, se tiene que te-

ner cuidado con los patrones observados en las plantas progenitoras; en este momento se obtuvo la generación F_6 , y estamos tratando de explotar esta distribución de "fingerprinting" en las generaciones. Además, deben tenerse en cuenta las mutaciones meióticas y posibles ligamientos. Este último fenómeno se puede usar para seleccionar plantas por un determinado carácter, por ejemplo, resistencia a *Ascochyta rabiei*.

En este caso, no sólo puede hacerse "fingerprinting" en la planta huésped, sino también se puede monitorear la diversidad genética en la población del hongo. Específicamente, en *Ascochyta* está ocurriendo una gran cantidad de mutaciones en la población del hongo, donde para determinar diferentes genotipos de éste puede realizarse "fingerprinting".

Con este tipo de estudios podemos tener una proyección de cómo se va a comportar el patógeno en diferentes países. También nos sirve para entender la variabilidad del hongo dentro de una sola lesión. Por ejemplo, variabilidad en el punto de infección y en el punto de necrosis del tejido como consecuencia de ésta. En una sola lesión se encontró hasta ocho tipos de genotipos del hongo. Ahora, si estudiamos el genotipo de la plan-

ta y la asociación con un patotipo de virulencia o agresividad, se podría establecer un tipo de agresividad específico a un genotipo de la planta. Hasta el momento, esto no ha tenido éxito y lo único que hemos visto es una enorme diversidad genética en el campo, pero no hemos podido asociar un genotipo específico con un tipo seleccionado de especial agresividad o virulencia. Lo que sí podemos hacer es seguir y establecer los mapas de distribución de los distintos genotipos en un país. En los países evaluados nadie sabía que existía esta diversidad. Lo único que conocían es que había más o menos infecciones pero no el por qué. Se pudo observar también que en las regiones donde había una alta rotación de huéspedes, existía también una alta diversidad del patógeno. En conclusión, la rotación del huésped crea una gran diversidad en la población fungosa como respuesta al huésped cambiante.

Una vez establecido este mapa se pudo determinar una frontera al país vecino de Túnez, Argelia. Y lo que encontramos es que además de los dos genotipos que ocurren en la frontera entre Túnez y Argelia, aparece un tercer genotipo en Túnez originado en Argelia. Hace dos años atrás lo trajeron de esta área, donde sufrieron una pérdi-

da de casi 100% de sus cultivos de garbanzos. Esto es particularmente serio porque en las montañas hay muchos campesinos que cultivan huertos pequeños de garbanzo para su propio consumo. La aislación del patotipo de ese genotipo apareció como extraordinariamente agresivo, por lo tanto, tuvimos que recomendar a los granjeros vecinos, donde existió el brote de este patotipo, que sembraran variedades de garbanzo más resistente. Este análisis sirve como una predicción de lo que va a ocurrir con este hongo, donde el material genético va cambiando en el tiempo y en el espacio.

Una desventaja del "fingerprinting" de ADN, es que hay una alta inestabilidad de algunas de estas bandas, por lo tanto, hay que asegurarse que la banda de interés es realmente una banda estable. Debido a la inestabilidad del microsatélite se buscó otra técnica donde se utiliza los microsatélites como "primers" para PCR. Ahora vemos que la variación intraespecie es menor. ¿Por qué ocurre eso?. Porque el garbanzo probablemente tiene una historia de cruce de 7.000 años y esto ha resultado en una población muy homogénea, por lo tanto, no hay grandes polimorfismos en el garbanzo por isoenzimas, morfología, o RAPDs. Aquí tenemos que dise-

ñar nuevas estrategias, utilizamos un enfoque mixto en el cual usamos un "fingerprinting" anclado, un microsatélite anclado, en comparación a otro primers es simplemente un operón con una secuencia arbitraria, en que uno hace una cosa aleatoria, que es lo que llamamos RAPDs. Una técnica similar fue utilizada en la búsqueda de resistencia a *Fusarium* con bastantes buenos resultados.

Lo que a nosotros nos gusta utilizar es, la generación de sitios de microsatélites marcados. Con esta técnica uno debe tener un clon de microsatélite, para después secuenciar todo y diseñar los primers para las secuencias que lo flanquean. Estas secuencias flanquean la región que a uno le interesa y nos permiten detectar un mayor polimorfismo. Nuestra capacidad de detectar polimorfismo

con esta técnica ha aumentado en 50 veces.

La utilización de esta técnica nos permite, primero hacer un "screening" del genoma por polimorfismo, para posteriormente caminar sobre el cromosoma y aterrizar sobre un punto particular dentro de este, con el objetivo de atrapar un gen responsable, por ejemplo, de la resistencia a *Ascochyta rabiei* en garbanzo.

Existe una nueva técnica que nos permitirá expandir la información que entrega el patrón del RAPDs convencional. Con ésta se puede expandir en un factor de diez o más el resultado de los RAPDs. Lo que se hace es transferir los fragmentos de ADN amplificados por PCR del RAPD, a una membrana de nitrocelulosa; después se hibrida con una sonda oligonucleotídica tipo microsatélite.

**SESION PLENARIA IV:
PRODUCCIÓN DE PLANTAS TRANSGENICAS**

PRODUCCION DE PLANTAS TRANSGENICAS: LA SITUACION CHILENA

Loreto Holuigue

Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile

La transgénesis es una tecnología que permite la introducción directa de un número discreto de genes en una planta, constituyéndose en una herramienta poderosa para el mejoramiento genético de variedades (Joshi y Joshi, 1991). De particular interés resultan los avances logrados con transgénesis para introducir resistencia genética a patógenos e insectos en cultivos de interés agronómico (Gasser y Fraley, 1989; Gasser y Fraley, 1992; Baulcombe, 1994).

Es importante destacar que la obtención de un producto transgénico comercializable requiere un esfuerzo prolongado en el tiempo de un equipo interdisciplinario de científicos, fundamentalmente biólogos moleculares, fitopatólogos y mejoradores genéticos.

En Chile, la transgénesis es una tecnología de incipiente desarrollo. Para realizar un análisis crítico de la situación en que se encuentra esta tecnología en nuestro país,

se presentarán en primer lugar los proyectos que se están realizando en Chile, y en segundo lugar se analizarán las principales limitaciones para un mayor desarrollo de esta tecnología.

I. Proyectos de transgénesis en Chile

Estos proyectos se han clasificado en tres grupos, los que a continuación se describen:

Proyectos para producción de plantas transgénicas

Estos proyectos tienen como objetivo final la obtención de un producto comercializable mejorado genéticamente. De este tipo de proyectos hay sólo tres en desarrollo en Chile, los que se describen brevemente en el Cuadro 1.

De la experiencia obtenida en el desarrollo de este último proyecto, considero importante destacar los principales factores que a mi

juicio contribuyen al éxito de un proyecto en transgénesis que se realice en Chile. Uno de estos factores es el monto global del proyecto, el cual debe ser lo suficientemente alto como para permitir crear o adaptar la infraestructura de laboratorios, cámaras de cultivo e invernaderos, así como la contratación del personal necesario para la realización del proyecto. Al respecto, es importante considerar que un proyecto de transgénesis que pretenda llegar hasta producto final requiere al menos de unos 6 años de investigaciones y evaluaciones. Otro factor de gran importancia, es la activa interacción que debe existir entre biólogos moleculares y mejoradores genéticos, la cual debe manifestarse desde la etapa de gestación del proyecto. En efecto, es importante que los mejoradores genéticos establezcan las

prioridades en el carácter a introducir para cada cultivo, mientras los biólogos moleculares evalúan la factibilidad de introducir este carácter por una vía directa de transgénesis.

Proyectos que implican evaluación de material transgénico producido fuera del país

Chile se ha convertido en un país de interés para la evaluación de material transgénico. En algunos casos, la evaluación del material es realizada por investigadores chilenos, como es la situación del proyecto "Cultivo de soya (*Glycine max* L. Merrill): evaluación de genotipos, tecnología de manejo agronómico, potencial productivo y agroindustrial en Chile", llevado a cabo por profesionales de la Facultad de Agronomía de la P. Universidad Católica de Chile.

Cuadro 1. Resumen de proyectos para la producción de plantas transgénicas

Título y Director del proyecto	Instituciones Participantes	Fuente Financiamiento Período y Monto Total
<p>Introducción de resistencia al virus del mosaico de la sandía II en melón, usando técnicas de transformación genética Director: Carlos Muñoz S.</p> <p>OBJETIVOS: (1) Carácter a ser introducido: resistencia al Virus del Mosaico de la Sandía tipo II (WMVII). (2) Transgenes: genes de la proteína de la cubierta del virus. (3) Caracterización agronómica del aislado chileno del WMVII. Clonamiento de la proteína de la cubierta (CP). (4) Construcción de genes quiméricos con la secuencia del gen de CP. (5) Desarrollo metodología para transformación de variedades comerciales de melón usando <i>Agrobacterium tumefaciens</i>. (6) Evaluación de líneas transgénicas para su resistencia a la infección viral.</p>	<p>INIA-La Platina</p>	<p>FONDECYT 1995-1997, US\$ 115,000</p>
<p>Transformación genética en papas para resistencia a virus e insectos Director: Carlos Muñoz S.</p> <p>OBJETIVOS: -Carácter a ser introducido: resistencia a los virus PVX y PVY -Transgenes: genes de proteínas de la cubierta de los virus PVX y PVY RESULTADOS: - Construcciones genéticas: Obtenidas del INTA Argentina - Transformación de plantas de papa: Líneas transgénicas obtenidas por transformación mediada por <i>Agrobacterium</i>, seleccionadas por resistencia a kanamicina (confirma por gen de selección NPTII) - Análisis molecular de plantas transgénicas: Los transgenes están siendo detectados en el DNA de las líneas transgénicas por PCR. - Propagación en invernadero y evaluación de resistencia de líneas transgénicas: Líneas transgénicas están siendo propagadas en invernadero y comenzarán a ser evaluados para resistencia en invernadero.</p>	<p>INIA La Platina</p>	<p>BID US\$ 15,000</p>

<p>Utilización de ingeniería genética para la producción de plantas transgénicas de papa (<i>Solanum tuberosum</i>) con resistencia a bacterias patógenas</p> <p>Director de proyecto: Alejandro Venegas; Director alterno: Loreto Holuigue</p>	<p>P. U. Católica de Chile, Facultades de Cs Biológicas y Agronomía, INIA La Platina INIA Remehue</p>	<p>FONDEF 1993-1997 US\$ 1,125,000</p>
<p>OBJETIVOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Carácter a ser introducido: resistencia a bacterias (<i>Erwinia carotovora</i>) -Transgenes: genes de proteínas y péptidos con actividad (lisozima de pollo, SB37 análogo sintético de la cecropina B de <i>Hyalophora cecropia</i> y atacina ácida de <i>Hyalophora cecropia</i>) <p>RESULTADOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Construcciones genéticas obtenidas del CIP: (1) CaZAT: promotor doble 35S del CaMV, secuencia codificante de la atacina ácida, 3' NOS. (2) CaZC38: promotor doble 35S del CaMV, secuencia codificante de SB37, 3' NOS. (3) CaZCHL: promotor doble 35S del CaMV, secuencia codificante de la prelisozima de pollo, 3' NOS. - Construcciones genéticas desarrolladas: (1) 35SWSPAT: promotor doble 35S CaMV, enhancer traduccional W de TMV, péptido señal de endoquitinasa de papa, secuencia codificante de atacina ácida, 3' NOS. (2) 35SW5PC38: promotor doble 35S CaMV, enhancer traduccional W de TMV, péptido señal de endoquitinasa de papa, secuencia codificante de SB37, 3' NOS. - Transformación de plantas de papa. (cv. <i>Desirée</i>): 240 líneas transgénicas -transformación mediada por <i>Agrobacterium</i> de explantes de tallo, seleccionadas por resistencia a kanamicina - Análisis molecular de plantas transgénicas: (1) Los transgenes están siendo detectados en DNA de las líneas transgénicas por PCR. (2) La expresión de los genes está siendo detectada por análisis de RNA (Northern) y de proteínas (Western). Se obtuvieron anticuerpos policlonales contra lisozima de pollo en conejo. - Evaluación in vitro de actividad antibacteriana en plantas transgénicas: La actividad antibacteriana en extractos de líneas transgénicas se evalúa por inhibición de crecimiento bacteriano. Se utilizan dos cepas locales de <i>Erwinia</i> (<i>E. carotovora</i> spp. <i>carotovora</i>, strain M, y <i>E. carotovora</i> spp. <i>carotovora</i>, strain 6r1), aisladas de plantas infectadas en el campo (Centro Regional de Investigación Remehue, INIA). Se utiliza tejido liofilizado de líneas transgénicas y plantas no transformadas. La bacteria crece en un medio líquido que contiene una determinada cantidad de tejido liofilizado como única fuente de carbono. Después de 24 horas se mide crecimiento bacteriano por recuento de colonias en medio Kelman sólido. Hasta la fecha se ha logrado detectar actividad bactericida en 6 líneas transgénicas (1 con atacina, 3 con lisozima y 2 con cecropina). - Propagación y evaluación de resistencia en líneas transgénicas en invernadero... Se han estandarizado dos técnicas para evaluación de resistencia en invernadero. Una de ellas detecta la capacidad de brotación de trozos de tubérculo infectados con <i>Erwinia</i>. La otra técnica evalúa síntomas de pie negro en esquejes crecidos en suelo infectado con distintas diluciones de la bacteria. Resultados preliminares con ambas técnicas han permitido detectar resistencia en unas pocas líneas transgénicas. Se utiliza como control plantas no transformadas. - Evaluación en campo... Los ensayos de campo se realizarán en dos ambientes diferentes, Osorno y Santiago (41° SL y 33° SL). Se evaluará resistencia y características agronómicas de algunas líneas transgénicas seleccionadas, siguiendo las regulaciones establecidas en Chile para la evaluación de material transgénico. - Proyecciones hacia el sector productivo: Introducción de un producto transgénico resistente en el programa de certificación de semillas del INIA. 		

Proyectos básicos que involucran transgénesis como herramienta

En el campo de la biología molecular vegetal es muy frecuente el uso de plantas transgénicas como herramientas para el estudio de expresión de genes *in vivo*. Actualmente en Chile hay uno de estos proyectos en desarrollo (Cuadro 2). Aún cuando este tipo de proyectos no pretende la obtención de productos mejorados genéticamente, su desarrollo ayuda considerablemente en la implementación de esta tecnología y a la formación de personal adiestrado en ella.

II. Limitaciones y recomendaciones para el desarrollo de transgénesis en Chile

Las principales limitaciones para el desarrollo de esta tecnología en el país han sido la masa crítica de científicos formados en las disciplinas necesarias, y la escasez de recursos frescos de cuantía para la gestación de proyectos interdisciplinarios.

Masa crítica

Para que el país pueda desarrollar la biotecnología vegetal a un nivel competitivo internacionalmente, es necesario que cuente con científicos y expertos formados al mejor nivel en las disciplinas que confluyen en la biotecnología.

Cuadro 2. Proyectos básicos que involucran transgénesis.

Título y Director del proyecto	Instituciones Participantes	Fuente Financiamiento Período y Monto Total
Activación de genes de defensa a patógenos en plantas: rol del ácido salicílico como mediador en la actividad génica Director del proyecto: Loreto Holuigue	P. U. Católica de Chile Fac. de Cs. Biológicas Institut für Genbiologische Forschung, Berlín GmbH	FONDECYT 1993-1998

Para evaluar la capacidad científica existente en nuestro país, es importante considerar la información recopilada en el documento "Antecedentes y Directrices para el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal". Ahí se puede concluir que el número de grupos de trabajo, que cuentan con científicos formados al más alto nivel (Ph.D. y M. Sc.), es redu-

cido (Cuadro 3). Particularmente interesante es el análisis de las proyecciones existentes a mediano plazo, lo cual se refleja en el número de estudiantes de Ph.D. que actualmente trabajan en proyectos de aplicación biotecnológica (Cuadro 3). De esta información se desprende que la capacidad de formación de estudiantes de los programas de Doctorado nacionales

Cuadro 3. Número de científicos con grado de doctor, alumnos de doctorado actuales y potenciales que desarrollan en Chile proyectos con potencial aplicación biotecnológica para el sector silvoagropecuario.

	Nº Doctores	Nº Alumnos Doctorado actual	Nº Alumnos Doctorado Potencial
Potencial			
Botánica	6	6	14
Fisiología Vegetal y Animal y Recursos Genéticos	5	6	15
Biología Molecular, Celular y Bioquímica	25	16	34
Patología Vegetal y Animal	3	4	12
Mejoramiento Genético	5	0	5
Reproducción Animal	0	0	0
Nutrición	2	4	8

1/Reproducido de cuadro 16 del documento "Antecedentes y Directrices para el Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal".

es limitado. Particularmente crítica es la situación en algunas disciplinas, como por ejemplo en Mejoramiento Genético y Fitopatología, disciplinas esenciales para el desarrollo de biotecnología vegetal. En consecuencia, es importante fomentar en las facultades de agronomía del país el desarrollo de programas de postgrado en estas disciplinas. Asimismo, en disciplinas básicas como biología molecular, celular y bioquímica, donde existe un número adecuado de programas de postgrado, es importante fomentar la inserción de estos alumnos en proyectos de aplicación biotecnológica.

Además de la capacidad de formación de científicos, otro factor que es determinante en la masa crítica, es el número de cargos permanentes en universidades y centros de investigación. Este es un problema de difícil solución, particularmente en las universidades chilenas. Es importante que este Programa Nacional contemple medidas que favorezcan la creación o el fortalecimiento de grupos de investigación en las disciplinas requeridas para biotecnología vegetal.

Recursos para la gestación de proyectos interdisciplinarios

Para realizar proyectos en biotec-

nología vegetal, particularmente para el desarrollo de un producto transgénico, es necesario contar con fondos concursables apropiados. Estos fondos deben ser importantes en cuantía, de manera de permitir el trabajo de un equipo multidisciplinario. Además, en los criterios de asignación de estos recursos es importante considerar que por su naturaleza, los proyectos de transgénesis no pueden ofrecer el desarrollo de un nuevo producto a corto plazo.

Referencias

- Baulcombe, D. 1994. Novel strategies for engineering virus resistance in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5: 117-124.
- Gasser, C.S. and Fraley, R.T. 1989. Genetically engineering plants for crop improvement. *Science*, 244, 1293-1299.
- Gasser, C.S. and Fraley, R.T. 1992. Transgenic crops, *Sci. Amer*, 62-69.
- Joshi, R.L. and Joshi, V. 1991. Strategies for expression of foreign genes in plants. *FEBS Lett.* 281(1,2): 1-8.

USOS POTENCIALES DE LA INGENIERIA GENETICA

Günter Kahl

Johann Wolfgang Goethe Universität
Frankfurt, Alemania

La tecnología genética actual tiene tres cuellos de botella. El primero, es la limitación del grupo de genes disponibles. El segundo es la introducción de los genes en algunas especies que no son susceptibles a la infección por *Agrobacterium*, ya que el rango de huéspedes posibles a usar en este método de transferencia de genes es limitado. Para ampliar este rango es necesario diseñar y trabajar con otras técnicas llamadas "Técnicas Directas de Transferencia de Genes", que permitan la transferencia de genes a plantas por medios físicos o por medios químicos. El tercer problema tiene que ver con la regeneración de plantas. En un informe reciente, se mencionaba que sólo 25 plantas de cultivos importantes se pueden regenerar sobre la base de protoplastos. De manera que si tomamos en cuenta que no hay un número suficiente de genes, y que sólo una cantidad limitada de plantas se pueden regenerar en base a protoplasto, la situación no

es tan auspiciosa. Sin embargo, a pesar de estas deficiencias, la ingeniería genética nos ha permitido lograr varias cosas sorprendentes en este último tiempo.

Usos potenciales de la ingeniería genética

Un uso de la ingeniería genética es la obtención de plantas transgénicas con resistencia a insectos. En esta área, la Universidad de Talca ha estado trabajando en el aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus thuringensis*, portadoras de toxinas específicas con actividad insecticida. Esta es un área en la que Chile puede hacer un aporte a la comunidad científica internacional. Ya ahora estamos estudiando alrededor de 1.600 cepas de *Bacillus thuringensis* en el mundo. La resistencia genética contra insectos y virus es simple, y en la mayoría de los casos es monogénica, comparada con la resistencia a hongos que es más compleja y difícil de trabajar en

ingeniería genética.

El enfoque actual en resistencia a patógenos es no transferir un sólo gen, por ejemplo, quitinasa o glucanasa, sino transferir varios para hacer una pirámide de genes que nos puedan dar una mayor protección. Por ejemplo, introducir el gen de la glucanasa y los genes de quitinasa para que su acción conjunta en la planta evite la penetración del hongo.

Además, si introducimos un solo gen a la planta, una mutación puede inactivar su efecto, pero si se introducen dos genes independientes en el genoma de la planta transgénica, es más difícil la adaptación del hongo. Ahora, si hay una pirámide de genes, quizás con diferente regulación, sería casi imposible que el hongo afecte a la planta. Los fitomejoradores han hecho esto por mucho tiempo; en ingeniería genética se está usando este mismo concepto ahora.

Otra área donde la ingeniería genética de plantas podría tener, a futuro, un papel importante es la tolerancia al estrés, por ejemplo, la transferencia, al tomate, de un gen de un pez del Artico que le confiere tolerancia al frío. La tolerancia a la sequía es más difícil de lograr, pero también se está trabajando en este aspecto. En rela-

ción a tolerancia a altas temperaturas, se sabe bastante del gen del "shock" térmico, su regulación, su estructura, los factores que los hacen funcionar, sin embargo, ningún laboratorio ha logrado hacer ingeniería de plantas para obtener plantas tolerantes a calor, aunque en Israel hay un grupo interesado en este tema. Otro ejemplo es la tolerancia a la salinidad; un trabajo se realizó en Tucson, Arizona, USA, en plantas de tabaco. La herencia de la tolerancia a salinidad es monogénica y el origen del gen es bacteriano. Las plantas transgénicas de tabaco resisten 250 mM de sal. En Chile, el nivel de NaCl es aproximadamente 80 mM por lo cual estas plantas podrían tener una muy buena adaptación.

Otra área que promete bastante a futuro, es el uso de la ingeniería genética para producir plantas de usos farmacéuticos, mejoramiento de la calidad de fruta, sabor, mayor período de almacenamiento, y mejoramiento de la calidad nutritiva. En relación a este último punto, se puede complementar, mediante ingeniería genética, la composición nutritiva de las plantas comestibles. Por ejemplo, en Estados Unidos se sintetizó y transfirió un gen a la papa para mejorar su calidad proteica. Las proteínas de ésta son deficientes en

metionina, por lo cual no es un alimento balanceado. La transformación genética de la papa con un gen que codifica para una proteína con un alto contenido de metionina ha superado esta deficiencia. Lamentablemente, el aumento no fue lo suficientemente significativo para que la estrategia diera sus frutos.

A futuro genes sintéticos, en vez de genes aislados de la naturaleza, podrían ser usados para mejorar la calidad nutritiva de muchos productos agrícolas. Sin embargo, esta estrategia presenta dos problemas: el primero es la expresión del gen; el segundo, es el lugar de inserción de éste. En la transferencia de un gen aún nadie puede determinar *a priori* el lugar preciso donde se va insertar. En Europa y Estados Unidos están trabajando en el envío de genes a áreas específicas, a blancos muy precisos donde se pueden activar; de manera que la investigación de la determinación de un blanco es un tema muy importante ahora.

Otro tema de relevancia es la producción de cultivos de proteínas (albúmina) y carbohidratos farmacéuticos. También se está trabajando en la producción de polímeros degradables de plásticos,

tema muy importante en los países europeos. Ya se ha demostrado que se pueden producir plásticos degradables en plantas de tabaco transgénicos. También, se puede sintetizar sustancias químicas especiales, que pueden cambiar la composición de los ácidos grasos de una planta o producir plantas ornamentales nuevas. Por ejemplo, en Holanda existen cuatro o cinco laboratorios involucrados en la generación de nuevos tipos de patrones de colores de flores de petunia.

Un último ejemplo a comentar es lo denominado "plantas secuestradoras", cuyo objetivo es limpiar el ambiente. Por ejemplo, el gen de metalotioneína de la rata que atrapa metales pesados, como mercurio y cadmio, ha sido transferido a ciertas plantas.

El aumento de la producción de plantas modificadas genéticamente en el mundo ha sido notorio. En 1993 teníamos sólo 320 ensayos de plantas liberadas a campo, comparado con más de 700 que existen hoy en día, siendo las compañías privadas las que han contribuido mayoritariamente a estos ensayos, en comparación con el sector público.

**SESION PLENARIA V:
USO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA PRODUCCION
SILVICOLA**

USO DE LA BIOTECNOLOGIA EN LA PRODUCCION SILVICOLA

Roberto Ipinza

Universidad Austral de Chile

Valdivia, Chile

I. Introducción

En esta exposición me referiré a la situación actual del mejoramiento genético en Chile y los pasos futuros. Explicaré cómo hemos llegado hasta acá, cuál es el camino que es necesario recorrer, cuál es el cronograma de desarrollo tecnológico operacional y, por último, cuáles son los desafíos para el siglo XXI, en relación al mejoramiento genético y a la biotecnología.

II. Declaración y Principios.

El mejoramiento genético es una herramienta dinámica de la silvicultura; la biotecnología es un instrumento que podría ser importante para el desarrollo del país.

La Cooperativa de Mejoramiento Genético (CMG) reúne a las 18 empresas forestales más importantes de este país, como asimismo a la Corporación Nacional Forestal (CONAF) y al Instituto Forestal (INFOR).

La meta principal de CMG es maximizar tanto la productividad del sitio como las ganancias genéticas por unidad de tiempo.

III. Situación actual

En 1996 la CMG cumplirá veinte años de vida. Durante este período el programa se ha regido por un modelo básico de mejoramiento; hemos obtenido importantes ganancias genéticas; realizado lo que se ha denominado "silvicultura familiar"; hemos intentado colocar los mejores genes disponibles en los sitios de mayor calidad y estamos, en estos momentos, con un desafío: establecer esquemas de manejo *ad hoc* para las familias y clones respectivos.

Las especies más importantes con las que estamos trabajando en mejoramiento genético son: *Pinus radiata*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus nitens* y *Nothofagus alpina*.

El modelo básico para la especie

Pinus radiata comenzó a desarrollarse en 1976, con una intensa selección de esta en la raza local. Se inició el programa con la elección de 50 árboles "plus" por empresa, y en la actualidad existen aproximadamente más de mil árboles "plus" seleccionados, que son el sustento de los programas de mejoramiento en la primera generación de *Pinus radiata*.

En 1983 comenzó el programa de mejoramiento del raulí y hoy día la CMG posee el único huerto semillero clonal de esta especie. En 1988, la CMG comenzó su programa de mejoramiento genético para la especie *Eucalyptus* spp. en forma paralela al programa del INFOR. Hoy la CMG posee 5 huertos semilleros de *Eucalyptus globulus* y 1 de *Eucalyptus nitens*, lo que viene a sumarse a los 26 huertos semilleros de *Pinus radiata* y 1 de *Nothofagus alpina*.

El modelo básico corresponde a un ciclo de selección recurrente. Estamos, en estos momentos, en la última etapa de la primera generación y enfrentando los desafíos de la segunda.

Las pruebas genéticas constituyen la parte medular del programa de mejoramiento genético; tenemos ensayos de progenie, de polinización abierta y polinización contro-

lada. La superficie actual de ensayo que posee la CMG es de aproximadamente mil hectáreas, lo que da una idea de la importancia que tiene el programa de mejoramiento en Chile.

En esta primera generación las ganancias genéticas en volumen de la especie *Pinus radiata* son del 12%; esto considerando como base la semilla común que se utilizaba antes que entraran en producción los huertos. Al cosechar los mejores clones del ranking, valorados y establecidos a través de los ensayos de progenie, tenemos alrededor del 22% de ganancia en volumen. Ahora, si elegimos los 10 mejores árboles del huerto, tenemos aproximadamente un 23%, y si son los 5 mejores sobrepasamos el 25% de ganancia genética en volumen.

Actualmente, las empresas cosechan su semilla con identificación familiar y la plantación se realiza en la misma forma, es decir, por bloques familiares. La familia también se puede conseguir conociendo al padre y a la madre, lo que se denomina "semilla familiar de cruzamientos controlados". Cuando la semilla es escasa y de alto valor, se utiliza un sistema de amplificación a través de la propagación vegetativa vía setos.

La variabilidad de las plantaciones familiares provenientes de semilla de polinización abierta es bastante alta, ya que los bloques mantienen $\frac{3}{4}$ de la varianza genética aditiva, y prácticamente toda la varianza genética no aditiva.

Las empresas realizan un análisis de rentabilidad de sus sitios y llevan los genes de mayor calidad a los mejores sitios. El modelo cooperativo que se utilizó en Chile proviene de la Universidad - Industria de Carolina del Norte (USA). Este modelo ha funcionado a partir de 1976, y desde el nacimiento de la CMG a la fecha, se han producido alrededor de siete toneladas de semilla mejorada.

En las especies que la CMG trabaja en la actualidad, se han realizado selecciones a través del método de árboles de comparación. Los árboles seleccionados se han llevado, mediante injertación, a bancos clonales y huertos clonales de polinización abierta. La semilla de estos árboles se ha viverizado y se ha llevado a ensayos manteniendo la estructura familiar.

Estos ensayos han permitido depurar los huertos de primera generación. Las empresas han intercambiado material probado en cada región, y a raíz de ello se han originado los huertos semilleros de

generación 1,5 ha. Entre los años 1988 y 1989, las empresas comenzaron a realizar cruzamientos controlados con sus bancos clonales, los que dieron origen a semilla de polinización controlada, y a su vez, a ensayos de progenie de polinización controlada. De éstos se seleccionarán, posteriormente, los individuos más importantes que formarán la segunda generación.

En los aspectos biotecnológicos existen algunas empresas más avanzadas que otras; tal es el caso del Grupo Arauco, quienes han desarrollado avanzados protocolos de micropropagación en pino y eucalipto.

En Nueva Zelanda existen dos empresas líderes en el campo de la micropropagación de *Pinus radiata*: la Fletcher Challenger Limited, que utiliza la organogénesis para establecer sus plantaciones clonales, técnica que se encuentra totalmente operativa. La otra empresa es la Carter Holt Harvey, que está desarrollando la embriogénesis somática para establecer sus plantaciones clonales aunque esta técnica aún se encuentra en desarrollo.

IV. Desafíos para el siglo XXI

Los desafíos para el próximo siglo

son los siguientes:

- Seguir realizando la selección continua.
- Desarrollo de técnicas clonales operacionales
- Utilización de la biotecnología para mejorar las ganancias por unidad de tiempo.
- Búsqueda de formas avanzadas de organización
- Buscar una integración de los distintos niveles de investigación en el mejoramiento genético.

(1) Chile posee, aproximadamente, un millón de hectáreas de plantaciones obtenidas con semillas no mejoradas. La selección continua sobre esta superficie permite mantener la variabilidad genética y las altas intensidades de selección usadas aumentan la probabilidad de obtener árboles "plus" de alto valor genético.

(2) El desarrollo de técnicas operacionales se encuentra en una etapa aún incipiente en *Pinus radiata*. En *Eucalyptus globulus* se encuentra avanzada la técnica de estaquillados mediante setos y la de micropropagación.

(3) En relación al papel de la biotecnología en aumentar las ganancias por unidad de tiempo, tenemos que el uso de marcadores genéticos promete alcanzar aho-

rros de cuatro a cinco años en la rotación de especies de pino y eucalipto. Esto se debe a que no son necesarias las pruebas clonales.

(4) Las empresas que exhiben más adelantos en biotecnología forestal supeditan sus acciones de mejoramiento genético, viverización de plantas, silvicultura, en términos estratégicos, a dicha disciplina.

(5) Para optimizar el aprovechamiento de las especies que trabajan las empresas miembros de la CMG son necesarios los estudios de procedencias, el mejoramiento genético clásico, las técnicas de reproducción vegetativa y el establecimiento de los mapas genéticos, a nivel del ADN.

V. Conclusión

La biotecnología es un instrumento útil para el aumento tanto de la productividad del sitio como de las ganancias genéticas por unidad de tiempo, si ésta se aplica dentro de un programa de mejoramiento cooperativo. La coordinación y la integración son condiciones necesarias para que esta tecnología pueda ser un real aporte al sector forestal.

Creemos que en una primera fase se puede aplicar la técnica de

organogénesis para aumentar las ganancias genéticas en plantaciones forestales. En una segunda etapa se deberán estudiar las técnicas de mejoramiento genético asistido por marcadores genéticos y, en una tercera etapa, resulta muy atractivo para la industria forestal la transformación genética, en ca-

sos como la incorporación de genes a pino que simplifique la configuración de la lignina lo que permitiría reducir los costos en el proceso de obtención de celulosa; o incorporar genes al pino que lo hagan resistente a la polilla del brote, entre otros beneficios.

MEJORAMIENTO DE PLANTACIONES DE EUCALIPTOS CON BIOTECNOLOGIA

Luis San Martín

Forestal Agrícola Monteáguila S.A.

Los Angeles, Chile

I. Introducción

La ingeniería genética en el área forestal ha tenido un desarrollo destacable en la última década. Aún cuando las producciones de madera y fibra no están listas para ir al mercado, como ocurre con tomate, papas, trigo, cebada y algodón, algunas especies forestales como pinos, álamos y eucaliptos, están comenzando a ser modificadas.

La biotecnología es una buena herramienta para que los mejoradores puedan alcanzar sus objetivos en forma anticipada y eficiente. Cuando las compañías forestales inician sus programas de plantación, es fácil generar ganancias mediante selección de las mejores fuentes de semilla, obteniendo los mejores árboles, para posteriormente propagarlos. Hasta aquí, no parece económicamente razonable aplicar nuevas tecnologías. Sin embargo, invertir en investigación y desarrollo nos per-

mitirá disponer de más opciones en el futuro.

II. Beneficios

Un programa de mejoramiento involucra muchos ciclos de selección de familias genéticamente variables; elección de aquellas que poseen máximos valores acordes con los objetivos del programa de mejoramiento; mezclas entre ellos para producir un nuevo grupo de árboles de los cuales se originará un valor superior. En cada generación los beneficios son capturados por las plantaciones, mediante propagación clonal o generando semillas en los huertos semilleros. Como estos pasos toman tiempo y costo, la biotecnología nos podrá ayudar en los siguientes términos:

Mapas genéticos con sus correspondientes marcadores, nos permitirán reducir la necesidad de ensayos de terreno y permitir que las semillas puedan ser probadas

para otras características, tales como volumen, densidad y propiedades pulpables, las que no se expresan mientras el árbol no esté maduro. Adicionalmente, se obtendrá una alta seguridad en los resultados. Los científicos han demostrado que el potencial de esta técnica es muy grande en programas genéticos, aunque requiere de costosos laboratorios y conocimiento apropiado. Los marcadores tienen otro uso importante en el monitoreo de la diversidad genética en las poblaciones mejoradas.

Las posibilidades de mejoramiento forestal a través de tecnologías de DNA recombinante, son de gran ayuda para un programa de mejoramiento genético. Si una determinada secuencia de DNA puede ser asociada con una característica fenotípica deseada, el mejorador podrá adelantar su proceso de selección. En mejoramiento convencional, deberá esperar varios años para ver expresado el resultado.

Micropropagación o embriogénesis. Todos quisiéramos ver establecidos nuestros mejores individuos. Esto es realizado sólo mediante propagación vegetativa. Esta forma beneficia preferentemente a especies de *Eucalyptus*, álamos y sauces, pero no con mu-

chas especies de coníferas. Existen muchas experiencias en torno a técnicas de cultivo de tejido para rejuvenecer material y almacenar tejidos en estado juvenil, y de ahí generar un gran número de plantas mediante micropropagación o embriogénesis somática. La experiencia ha demostrado que la multiplicación a gran escala por esta vía es menos económica que la propagación por estacas.

III. Eucaliptos para producción de fibra

El Grupo Shell ha establecido plantaciones de eucaliptos en Sudamérica (Chile y Uruguay). Cada proyecto dispone de su propio programa de mejoramiento genético, y ambos son asesorados por la unidad de investigación que dispone Shell en Londres. Esta unidad está interesada en todas las áreas de investigación en biotecnología, pero ha centrado su atención en la modificación genética (GM), por su alto potencial en el incremento de productividad en las plantaciones. Las posibilidades para GM son:

Tolerancia a herbicidas. Durante los primeros años de establecimiento, los eucaliptos son muy sensibles a la competencia con malezas. Estas pueden controlarse en forma mecánica o química. El

glifosato, conocido como Roundup, es un herbicida de amplio espectro en control de malezas, ambientalmente aceptable y produce mínimos efectos sobre el suelo y erosión. Sin embargo, no es selectivo para eucaliptos y no es fácil de usar después de la plantación. Si los árboles fuesen transformados genéticamente, podrían tolerarlo, entonces el manejo sería muy fácil y las malezas podrían controlarse en el momento más adecuado, sin retardar el crecimiento de la plantación. Shell tiene licencia para el gen resistente a glifosato (Monsanto) y está en proceso de evaluación de eficacia de *Eucalyptus grandis*. En estos momentos se está iniciando el proceso para *E. globulus*.

Modificación/reducción de lignina. El beneficio de la producción de pulpa química es muy sensible a la variación del contenido de lignina en la madera. Árboles con más lignina "soluble" debieran requerir menor proceso químico y energía. Utilizar tecnología GM para regular o modificar la biosíntesis de lignina generará beneficios importantes, sin alterar la forma del árbol o resistencia a alguna enfermedad. Shell está evaluando esta tecnología con Zenecca.

Resistencia al frío. Los eucaliptos

pueden tolerar un amplio rango de estreses ambientales, sin embargo, esto los deja muy vulnerables a daños por plagas, enfermedades y frío. Este último, especialmente luego de un período de calor y cuando los árboles están creciendo activamente. Proteínas anticongelamiento se expresan en algunos árboles, por lo tanto, si ellas pueden ser transferidas a eucaliptos, permitirán extender su distribución en un rango mayor de sitios.

IV. Modificación genética en eucaliptos

El concepto de GM es simple y más que dominio de la ciencia, requiere de implementaciones adicionales. Para ser llevada a cabo, la técnica debe estar disponible a un costo razonable. Nosotros debemos mantener la propiedad intelectual y satisfacer todas las regulaciones gubernamentales y de opinión pública, en el sentido de demostrar que lo que estamos haciendo es ambiental y socialmente responsable.

Existe una buena oportunidad de incrementar el abastecimiento mundial de madera proveniente de plantaciones, pero estas inversiones deben realizarse sobre la base de proyectos viables, capaces de permanecer en el largo plazo.

En este momento, el costo de aislar genes o adquirir la licencia de compañías agroquímicas es más alto que lo que una empresa forestal normal (40.000 ha) puede recuperar. Por ejemplo, Monsanto destinó US\$ 25 millones para desarrollar el gen resistente a glifosato.

El desarrollo de la biología molecular está protegido por patentes. Por lo tanto, será necesario pagar algunos derechos y licencias para acceder a esta tecnología. Esto es común para algunas empresas industriales, pero muy nuevo para forestales y genetistas. Las plantaciones forestales no serán la excepción a las reglas de liberación de genes mediante evaluaciones de ensayos en terreno, antes de aprobar su uso comercial.

Asumiendo que podrían existir menos implicancias para *E. globulus*, por ser una especie introducida que no podría relacionarse con especies de nuestra flora nativa, y que no es una especie para consumo alimenticio, deberá demostrarse que el riesgo de producir un impacto ambiental negativo será bajo. Así las posibilidades futuras de introducción de GM se incrementarán sólo si los responsables realizan el mejor trabajo posible.

V. Estrategia para modificación

La validez de un programa de GM se basa en que la modificación debe estar expresada en un nivel determinado, pero no podríamos esperar que ocurra en la generación posterior (heterosis, si los padres son usados en huertos semilleros). De esta manera, la única posibilidad es a través de propagación clonal. Adicionalmente, esta tecnología ofrecerá mejores resultados en clones operacionales ya probados, a los cuales se les adicione el gen determinado. Esto, indudablemente, influirá en la estrategia de los mejoradores, puesto que en el largo plazo deberán incorporar árboles GM en sus poblaciones mejoradas, y capturar beneficios a través de propagación clonal.

Estas consideraciones han permitido definir nuestra estrategia en el sentido de que la tecnología GM será aplicada sólo a clones operacionales o con potencial para ello, y que posean un alto nivel de enraizamiento.

Los pasos involucrados en nuestro proceso de modificación genética son:

- Establecer los clones en invernaderos de East Malling, UK.
- Establecer cultivos micropro-

pagados de estos clones.

- Introducir el gen de interés en tejidos obtenidos de las plantas micropropagadas, usando el sistema basado en *Agrobacterium tumefaciens*. Uno de los genes marcadores selectivos permitirá que algunas células modificadas sean seleccionadas para la etapa siguiente, mientras que las no modificadas no tendrán desarrollo.
- Crecimiento de cultivos modificados y regeneración de un follaje *in vitro*.
- Multiplicación mediante micropropagación, para producir un grupo de gametos GM de cada clon.
- Evaluar plantas resultantes para determinar las líneas que expresen el gen introducido en el nivel deseado. Esto será desarrollado inicialmente en invernaderos.
- Evaluación en el campo, mediante un ensayo UK.
- Liberación en el campo, donde los clones serán evaluados de acuerdo a las normas de cada país (EGG en Chile y Egr en Uruguay).

VI. Avances actuales

(1) Propagación inicial. Se han desarrollado las técnicas básicas de manejo de plantas en invernade-

ro, se dispone de procedimientos claros para importar, propagar y exportar clones de eucaliptos. Se continúa afinando las técnicas y podemos anticipar que tenemos los requerimientos necesarios para nuestro programa GM, para todas nuestras especies e híbridos de importancia comercial.

(2) Micropropagación. Junto a otras organizaciones se desarrollaron los procedimientos de micropropagación para clones de eucalipto. Se han estudiado *E. grandis*, *E. globulus*, *E. nitens* y algunos híbridos Egr x Ecam, Egr x Eter, Egr x Euro y Egr x Enit. La mayoría puede ser multiplicado y enraizado *in vitro*.

(3) Modificación genética de tejidos. Disponemos de un gen vector (GUS) que es compatible con todos los tipos de *Agrobacterium tumefaciens* y un gen marcador (NPTII). Bajo selección entre todas las especies y clones estudiados, al menos 20% de los explantes produce callo GM. Esto es aceptable para fines prácticos.

(4) Regeneración de follaje. Explantes de eucaliptos provenientes de plantas de semillas pueden ser inducidos para producir meristemas apicales con un medio determinado, sin embargo, nosotros hemos creado material

proveniente de clones de Egr. Este aspecto tiene nuestra máxima atención en la actualidad.

(5) Producción de plantas GM. Se generaron las tres primeras líneas de Egr de semillas durante 1992. Se realizaron los ensayos pilotos en Sitting-bourne entre junio – octubre de 1993. Estas líneas GM tuvieron los genes GUS y NPTII; líneas no modificadas y plantas de semillas fueron usadas como control. El objetivo de este ensayo fue

observar la uniformidad en la expresión de los genes en plantas modificadas y el comportamiento de su crecimiento; fue instalado con la autorización del gobierno inglés. Las plantas crecieron muy bien y los genes se expresaron uniformemente dentro de los rametos de cada línea. En junio de 1995 se instaló otro ensayo con Egr, donde se pudo constatar la uniformidad de la expresión del gen y la homogeneidad del crecimiento de los rametos.

APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA FORESTAL

Guillermo Schaffeld

Universidad del Bío-Bío
Concepción, Chile

I. Introducción

Este trabajo analiza el caso del aprovechamiento de residuos forestales mediante compostación. Para situar el problema, es conveniente establecer algunos lineamientos generales de como se pueden utilizar ciertos residuos o "desechos" provenientes de la actividad agrícola, agroindustrial y silvoforestal.

Una de las vías para aprovechar los residuos forestales primarios es la obtención de energía; de hecho en Chile hay empresas que están usando aserrín de pino para producir vapor, proceso que se denomina "energía verde". Por lo tanto, aquí se tiene una vía que no tiene relación con la biotecnología, pero es importante.

También se puede aprovechar la celulosa y la lignina, presente en los residuos vegetales, mediante ciertas transformaciones biológicas para obtener glucosa, principal-

mente, y a partir de ella elaborar una serie de productos químicos. Esta vía de obtención de productos se ha llamado "sucroquímica" para diferenciarla de la petroquímica, ya que la primera usa carbohidratos en vez de recursos fósiles para obtener energía y materiales. En este campo cabe mencionar la investigación técnico-económica para producir etanol principalmente como combustible.

Actualmente, si bien las tecnologías están relativamente desarrolladas aún falta mucho por hacer debido a dos problemas: uno es el aspecto comercial, y el otro, es el tecnológico. En relación al primer aspecto todavía es más económico producir alcohol a partir de carbohidratos tales como melaza y almidones: en este caso el costo de fabricación es 50% del costo de producción del etanol vía lignocelulósicos. Pero aun se mantiene el interés y, de hecho, en Latinoamérica se ha desarrollado un programa de desarrollo y se ha

formulado un proceso particular ya patentado para producir etanol a partir de residuos lignocelulósicos; este es un proyecto conjunto realizado por España, Argentina, Chile, Brasil, Guatemala y Uruguay, pero que actualmente no es rentable dado el actual precio del petróleo.

Otra alternativa es usar algunos residuos agrícolas, por ejemplo, la paja de trigo para obtener, a partir de un proceso hidrolítico fermentativo, ácidos orgánicos, como el ácido propiónico, que tiene bastante utilidad en la industria de los alimentos pero también en el campo agrícola, como preservante de granos. En Chile, este producto tendría un mercado de 500.000 kilos al año, incluida la industria de harina de pescado, que actualmente lo está ocupando para evitar el crecimiento de *Salmonellas* sp. en las harinas.

Otra alternativa es usar un abundante residuo de la actividad forestal, el aserrín de pino, en mezcla con los Residuos Industriales Líquidos (RIL). Al combinar estos dos materiales tan disímiles se desarrolla un proceso microbiológico aeróbico semicontrolado conocido como "compostación" que produce humus. Esta práctica genera beneficios tanto económicos como ambientales.

Como se puede apreciar, las posibilidades de aprovechar los residuos agrícolas son amplísimas.

I. Compostación

Dado que inicialmente no se disponía de mucha información los datos recolectados sirvieron para ajustar parámetros y en función de ellos recalcular y rediseñar los procedimientos para después aplicarlos a mayores volúmenes de operación.

Usualmente, para apreciar el comportamiento de la compostación, las variables que se miden con una frecuencia adecuada para determinar la evolución de la pila son la temperatura y el pH, pero el mejor indicador es la temperatura.

En general, se ha observado que, una vez que comienza la actividad microbiana, en menos de cinco días se alcanza una temperatura bastante alta, de 60 - 70 °C, la que después baja levemente a 50 y 55 °C. A este nivel se mantiene por algún tiempo hasta que la pila se estabiliza. Normalmente, después de treinta días no es necesario mantener las pilas extendidas, procediéndose a formar unos conos en los cuales la actividad

microbiana sigue. Durante esta etapa la extensión de la superficie disminuye, por lo tanto, se reducen los costos de operación e inversión.

Durante el proceso de fermentación es muy importante la razón carbono-nitrógeno. Se recomienda que esta sea del orden de 50 a 30 y para mantenerla se puede agregar urea. También se puede ajustar el proceso agregando, de acuerdo a un cronograma, varias camionadas o lotes de RIL y así mantener una buena relación carbono-nitrógeno y conseguir que la compostación evolucione satisfactoriamente para obtener un producto de acuerdo a las características específicas para el humus.

En estos procesos es conveniente medir, en las primeras etapas de la investigación, la actividad microbiana cuantificando los microorganismos termófilos y los mesófilos. Esto sirve para conocer en forma global el comportamiento, a nivel de las especies microbianas, de la pila de compostación. Para la conducción de un proceso de producción rutinario esto no es necesario, al menos en forma frecuente.

Alternativamente, en vez de urea o RIL se puede agregar, al aserrín, pescado descompuesto y entero.

Si bien el sólido de pescado no se puede mezclar en aserrín tan fácilmente como el RIL, también se puede obtener un producto estabilizado y la evolución de la compostación es satisfactoria. Si se caracteriza el proceso de compostación en término de los diferentes tipos de microorganismos se detecta: mesófilos aerobios, termófilos aerobios, mesófilos anaerobios, termófilos anaerobios, xilanolíticos, lignolíticos y celulíticos.

Es interesante apreciar que en el RIL de pescado también aparecen todas estas especies, esto debido a que donde se obtuvo el RIL, en la Bahía de San Vicente, existen algunas industrias que tienen que ver con la actividad forestal que contaminan el agua de mar, que es la que se usa para arrastrar el pescado desde la yoma del barco hasta la planta.

II. Desarrollo de la investigación

A continuación se describe el proyecto ejecutado en colaboración con la Corporación para el Desarrollo Industrial de la Región del Bío-Bío (CIDERE BIO-BIO). El objetivo de este proyecto es aprovechar el aserrín de pino que es un abundante desecho de la actividad forestal en la Octava Región y RIL de la industria de harina de pes-

cado. De hecho, estas dos actividades económicas son las que generan la mayor cantidad de divisas para el país fuera del cobre.

Se comenzó haciendo un análisis y caracterización de ambos residuos, para continuar con el proceso de "compostación", que se puede realizar en forma muy simple con pilas, asegurando la aireación y la homogenización de los componentes y microorganismos que participan en el proceso.

Hay que tomar en cuenta que uno de los principales componentes del aserrín es el carbono, y por otro lado que del RIL de la industria de harina de pescado es posible preparar una mezcla que sustente un crecimiento microbiano adecuado para conseguir un producto final, tipo humus, que pueda servir como enriquecedor del suelo en diferentes lugares de la Octava Región.

Como RIL se escogió uno de los residuos más contaminante y voluminoso, residuo que se obtiene después de descargar el pescado y pasarlo por una batería de filtros y que es bastante concentrado en nitrógeno (0,5%) y posee un volumen de agua adecuado para suplementar la humedad necesaria para el "compost". Durante el proceso de fermentación o de transformación biológica el porcentaje

de humedad debe fluctuar entre 50 y 60% para obtener un producto de buena calidad.

Para poder tener un estándar y algunas cuantificaciones es conveniente poseer métodos para diseñar las mezclas y poder reproducir los experimentos tanto a nivel piloto como a escala comercial o industrial.

Luego es necesario monitorear ciertas variables relevantes para conocer y controlar el proceso de compostación. Las variables más importantes para un buen desarrollo de las poblaciones microbianas son: la temperatura, humedad, pH y la razón carbono-nitrógeno. También es necesario tener una caracterización que permita determinar cuántos microorganismos termófilos y mesófilos hay tanto en la materia prima como en el "compost" resultante del proceso de fermentación.

La metodología utilizada para desarrollar la experiencia piloto consiste en armar pilas de unos 45 metros cúbicos (20 m de fondo; 1,5 m de frente y 1,5 m de altura) de aserrín a los cuales se les añade el RIL que proviene de la industria pesquera. También se estudió el efecto de la aplicación de la urea en el proceso de compostación como una forma de aumentar la

velocidad de fermentación.

III. Resultados y proyecciones

El "compost" obtenido posee buenas características como humus. Las pruebas de terreno en ciertos predios agrícolas de suelos pobres indicaron que se han obtenido resultados agrobiológicos aceptables con este "compost".

Otro punto interesante es que al agregar el RIL al aserrín, generalmente, en menos de una hora desaparecía el olor tan desagradable que tienen estos residuos. Por lo tanto, este proceso, además, sirve como eliminador del olor del RIL.

A partir de los experimentos piloto se ha establecido un protocolo de producción de "compost" a escala comercial. Se dispone de un proceso estandarizado para llevar esta actividad a los diferentes predios en que se ha estado aplicando. Este proceso está todavía en etapa experimental o exploratoria. Justamente, en la etapa de difusión de la tecnología se ha logrado trabajar con industrias pesqueras por un lado y con algunas empresas del sector forestal-maderero por otro. En estos momentos hay empresas que operan con pilas de 300 m³ y 1.000 m³.

En ciertos casos se ha tenido que

trasladar aserrín a los sitios de la industria pesquera, y en otros casos se ha tenido que trasladar el RIL mediante camiones cisterna, a las empresas forestales. Generalmente, las que tienen más terreno disponible para hacer las canchas de las pilas "compost" son las empresas que tienen que ver con el sector forestal, pero afortunadamente también, incluso en Talcahuano, hay plantas pesqueras que tienen predios a la orilla del mar, que les permite manejar volúmenes importantes de aserrín.

En estos momentos se están evaluando tecnologías de composición más automatizadas y mecanizadas; pero ellas tienen el inconveniente que eleva los costos de operación.

Actualmente se está intentando trabajar con "purines", una mezcla de orinas y excretas de ganado semiconfinado, residuos que también se producen en grandes cantidades y a veces causan serios problemas de manejo y contaminación en el predio agrícola.

Agradecimientos

Este proyecto fue posible gracias al patrocinio, financiamiento y apoyo logístico de CIDERE BIO-BIO, VIII Región.

Referencias

- Baker, K.H. and Herson D.S. Bioremediation. New York, N.Y. Mc Graw- Hill 1994.
- Savage, G.M. Composting of Industrial Wastes In: Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal (Freeman Ed.) Mc. Graw-Hill New York, 1989.
- Toth, S.J. 1973. Composting Agricultural and Industrial Organic Wastes. In: Symposium: Processing Agricultural and Municipal Wastes (Inglett Ed.) AVI Publishing Company. Westport, Conn.

LA DIVERSIDAD GENETICA Y SU RELACION CON LA BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS Y ESPECIES FORESTALES

Víctor M. Villalobos
FAO
Roma, Italia

El objetivo de mi presentación es compartir con ustedes algunas reflexiones relacionadas con la conservación y uso racional de los recursos genéticos vegetales, independientemente de que estemos hablando de especies perennes o especies de ciclos cortos, como son las plantas anuales. Voy a tratar de resumir algunos de los conceptos y preocupaciones que como científico he tenido a lo largo de mi carrera, y que creo pudieran de alguna manera contribuir en algo a lo que hemos venido discutiendo sobre el particular.

Quisiera iniciar esta presentación haciendo un reconocimiento y de alguna manera pagar un tributo al investigador empírico de la agricultura, me estoy refiriendo al agricultor, el cual a través de muchas generaciones, propiamente desde el origen de la agricultura, ha seleccionado escrupulosamente las plantas que son útiles para diversos fines, llámense estos alimento, vestido, construcción, sa-

lud, etc. En ese sentido, el agricultor ha seleccionado, conservado y perpetuado por milenios la diversidad genética en armonía con las demás especies que han habitado el planeta.

Sin embargo, a partir de la segunda mitad de este siglo la agricultura se ha tornado en una actividad agresiva y altamente extractiva, debido en gran medida a una creciente presión poblacional y en consecuencia a una mayor demanda de los mercados, caracterizados por su alta competitividad y selectividad en la búsqueda de productos de mejor calidad.

Esta agricultura tiene sus fundamentos en el alto uso de la tecnología. Por ejemplo, la agricultura de grandes extensiones que está relacionada con la utilización de monocultivos, generalmente híbridos. Sabemos que estos cultivos incrementan los rendimientos, son muy eficientes en cuanto a la productividad por hectárea,

pero también conocemos que esta alta uniformidad trae asociada una alta vulnerabilidad a enfermedades, plagas y otros factores adversos. Este tipo de agricultura también ha influido fuertemente en la tecnificación, las grandes extensiones demandan de maquinaria, de implementos para una eficiente y rápida cosecha. Asociado con este desarrollo han surgido diversas tecnologías de postcosecha que, sin duda, han modificado mucho la agricultura actual y lo seguirán haciendo en el futuro.

Aunado a lo anterior, es necesario mencionar como un adelanto tecnológico, la industria de los pesticidas para el control fitosanitario, control de patógenos, plagas y otros enemigos de las plantas cultivadas.

Los elementos antes indicados, asociados a la demanda y al crecimiento de la humanidad en el planeta, han modificado la agricultura actual y en muchos casos han roto el equilibrio de una agricultura sustentable. El beneficio que ha tenido ésta agricultura ha sido, sin duda, los grandes incrementos del rendimiento. Creo que Chile es un buen ejemplo. Aquí se han obtenido importantes incrementos en la producción de algunos cereales tales como trigo, arroz y maíz. En los años cuarenta, al

menos en México, la producción y rendimiento de maíz se cuadruplicó gracias al uso de nuevos genotipos seleccionados. Lo más representativo de estos aumentos de la producción por el uso de alta tecnología es el resultado de la Revolución Verde, durante los años 1970 y 1980, donde los cereales se vieron favorecidos por estos paquetes tecnológicos.

Sin embargo, es necesario resaltar que no todo ha sido beneficioso. Aparte de la vulnerabilidad de los cultivos, el consumo mundial de pesticidas se ha incrementado en forma alarmante. Es así como en 1993, el 26% de los pesticidas producidos mundialmente fueron consumidos por los países en vías de desarrollo. El costo de estos productos alcanzó los 4.000 millones de dólares. El análisis de los datos de 1993 refleja un importante incremento en la producción de trigo a nivel mundial, el cual se ve incrementado en el 4.3% con relación al año anterior, y en 3.8% relacionado con las especies de raíces y tubérculos, de gran importancia para países en desarrollo, principalmente el continente africano.

Posiblemente ustedes coincidan conmigo en que, si bien este somero análisis acerca de la agricultura nos da indicios de los logros

y los costos de diferente índole, también existen otros factores de difícil control y que afectan directamente a la agricultura. Me estoy refiriendo al crecimiento incontrolado de la población humana en la tierra, y nuestra limitada capacidad técnica y agrícola para apoyar este crecimiento. Bastaría pensar que hace treinta años la población mundial en el planeta era de 3 millones de habitantes; en 1990 era de 5.300 millones, y se espera una población de 7.200 millones de habitantes para el año 2010. Este crecimiento, como ustedes pueden apreciar, ha ido muy desfasado en relación a otros crecimientos, y sobre todo, con relación a la disponibilidad de alimentos. Tal vez lo más impactante de este complicado problema, es que el 94% de todo este crecimiento poblacional se va a dar en los países en desarrollo, países que hoy día tienen serias deficiencias de alimentos, de salud y que, sin duda, no llegan a satisfacer sus necesidades primarias actuales.

En este sentido es importante preguntarnos cómo ha venido respondiendo la agricultura a ese proceso de crecimiento de la población humana, y analizar si en 1995 se produce alimento para todas las personas que actualmente habitamos el planeta.

La producción de alimentos en 1995 es un 20% mayor que la de 30 años atrás. Esta afirmación permite concluir que existe alimento para todas las personas del planeta, si éste se distribuyera en forma equitativa. Sin embargo no están distribuidos equitativamente. La verdad es que los problemas de hambruna en algunos países no son de producción, sino que de distribución. Estados Unidos tiene un consumo per cápita de 3.600 calorías diarias, en Europa el consumo diario de calorías es de 3.500 por persona. Esta situación es comparada con lo que está ocurriendo en países del sur del Sahara, en Africa, donde hay un consumo promedio de 2.700 calorías, o en Bangladesh y la India donde existe un consumo diario de 2.600 calorías para ambos países. Entonces concluyo que el problema actual es un problema de distribución más que de producción, y que su solución no es motivo de discusión para este foro.

Frente a este problema, la situación de distribución de alimentos obedece a otra serie de decisiones, de políticas, las cuales están fuera del tema y por cierto de nuestras posibilidades de resolver. Sin embargo, efectivamente tenemos márgenes importantes de producción, y el hombre mismo a través

de sus procesos de mejoramiento de tipo convencional, ha venido acumulando conocimientos, ha venido conservando los genes. Hoy día se tiene mucho más herramientas al alcance y disposición, para que con mayor exactitud podamos identificar aquellos caracteres que nos son benéficos y poderlos manipular. Hoy podemos concentrar con cierta precisión genes en plantas y animales, los cuales se pueden expresar para beneficio directo del hombre incrementando la producción. Indudablemente, ustedes saben que hay techos fisiológicos y genéticos que obedecen a procesos bioquímicos y que no permiten un crecimiento constante de la producción. Unidos a estos problemas que determinan o limitan el crecimiento, existen otros que el hombre ha creado a través de sus sistemas de producción. Por ejemplo, el monocultivo, que si bien permite un incremento en el rendimiento unitario, ejerce también una fuerte presión de selección que hace que las plantas sean más productivas, pero a la vez más vulnerables a enfermedades, plagas y a factores adversos.

Otro aspecto a considerar en ciertos cultivos es el de la salinidad del suelo en algunas áreas, sobre todo aquellas de irrigación. La alta salinidad de los suelos está disminuyendo los rendimientos totales

de algunos cultivos, al margen de los famosos techos fisiológicos y/o genéticos.

Otro proceso que debemos tomar en cuenta para la futura disponibilidad de alimentos, es el crecimiento de la desertificación y la erosión de los suelos. México es uno de los ejemplos más claros. Hoy día casi el 70% del país está clasificado como zona semiárida; posiblemente, en el pasado este país era rico en bosques naturales. Esta situación de crecimiento del desierto es muy dramática, sobre todo en los países del sur del Sahara, en donde año a año una gran cantidad de hectáreas se pierden en forma irreversible por este proceso.

Finalmente, deseo hacer énfasis en la situación del uso y abuso de los pesticidas. Los compuestos químicos no sólo están generando nuevas resistencias para los enemigos de las plantas, sino también están eliminando los enemigos naturales de las pestes, de los insectos. Pero lo más importante es la acumulación de compuestos químicamente muy estables, que contaminan los ríos y los suelos, reduciendo la producción.

Las biotecnologías, sin duda, pueden ser usadas para solucionar algunos de los aspectos discutidos

anteriormente. En la actualidad existe un gran número de técnicas que pueden ser usadas, quizás podamos agregarle otras, sobre todo en lo que se refiere a marcadores moleculares. Es importante señalar que esta tecnología está disponible, que ha sido producto de la investigación, que en Chile, una alta proporción de ellas son conocidas y usadas hoy en día. En este cuadro aparecen desde las formas más simples, que son la multiplicación de plantas mediante cultivo de tejidos, hasta tecnologías complejas como son las de ADN recombinante.

La micropropagación, en el concepto moderno del cultivo de tejidos, deberá estar combinada con la eliminación de patógenos, fundamentalmente virus. Se ha mencionado que en Chile por años se ha venido multiplicando material por cultivo de tejidos, pero que ha habido muy poca preocupación por las condiciones sanitarias de los materiales. Pienso que una cosa está asociada con la otra, debido a que si no se toma en cuenta la eliminación de patógenos, especialmente virus, el cultivo de tejidos es tan eficiente para multiplicar plantas como para multiplicar enfermedades.

En los últimos años ha habido una reconsideración respecto al papel

del cultivo de tejidos en el mejoramiento genético, debido a un mayor entendimiento de aspectos fundamentales, como la diferenciación celular, y los procesos genéticos y bioquímicos que la determinan. De esta manera, en los últimos cinco años ha sido factible realizar, en forma masiva, embriogénesis somática de soya que hace siete años era posiblemente un sueño. Lo mismo está ocurriendo con embriogénesis somática de especies forestales. Entonces, considerando este nuevo escenario, es posible rescatar algunas de las tecnologías del cultivo de tejidos, los que pueden ser usados en los procesos de mejoramiento de cultivos de plantas anuales y de perennes, incluyendo las forestales. El cultivo de anteras es un buen ejemplo, la fusión y regeneración de plantas a partir de protoplastos y la variación somaclonal también lo son. Este último proceso es poco entendido, por lo cual su uso trae un resultado incierto. Posiblemente, en el futuro, el entendimiento de éste nos puede permitir su control, y de esta forma, ampliar la base genética de algunos cultivos que son, sin duda, importantes.

Otro aspecto importante es la conservación de germoplasma mediante el uso de la biotecnología. Existen varias técnicas moleculares usadas en la caracterización de

germoplasma, que son muy importantes para los trabajos de mejoramiento genético, pero poco hemos discutido sobre las bondades de la conservación *in vitro*, y eventualmente la crioconservación. El Dr. Rocca mencionó en su presentación que el programa más antiguo en conservación *in vitro* era el Programa de Yuca del CIAT; desde hace once años, se ha mantenido bajo condiciones asépticas una colección de plantas que se propagan vegetativamente, y que por ser precisamente la representación de la diversidad genética, muchos genotipos o fenotipos no podrían sobrevivir en un campo experimental. El método es menos costoso y tiene menor riesgo de pérdida, que un Banco de Germoplasma *in situ*.

Finalmente, otra tecnología que ofrece amplias perspectivas es la ingeniería genética. Esta tecnología nos puede ayudar a mejorar o a manipular en forma directa los genes que confieren características de utilidad para las especies agrícolas.

El abanico de tecnologías que acabo de mencionar es de gran importancia para la comunidad científica mundial, pero también ha provocado interés económico en las empresas biotecnológicas que operan en el mundo. En este sen-

tido, existen muy pocas empresas que hoy día están generando ganancias a través de la venta de productos en biotecnología; pero hay una gran cantidad de millones de dólares en inversión y obviamente están esperando retribución, a través de la venta de esos productos.

Si analizamos la lista de los cultivos que son de prioridad para las empresas biotecnológicas, vemos que muchos que son endémicos, importantes y que tienen una relación cultural con la mayoría de los países, no figuran en esa lista. En realidad existen muy pocas especies en las cuales las empresas privadas han orientado sus baterías y puesto todas sus capacidades tecnológicas, porque esperan, que a través de la venta de los productos puedan recuperar sus inversiones en un tiempo razonable.

Pero entonces queda la pregunta ¿De toda la diversidad, de los cultivos de los cuales nuestros países dependen o tienen mucha afinidad, o relaciones culturales y que tienen características medicinales o productivas, no están contemplados por las empresas?. Este es un elemento más a considerar en el desarrollo de la biotecnología propia, nacional. Si estamos esperando que los productos o los logros de la biotecnología lleguen a esos

cultivos de importancia local, va a pasar mucho tiempo, y por otro lado, si esperamos que cuando lleguen podamos tener acceso, ellos van a ser muy caros. De ahí que debemos empezar a pensar en nuestras prioridades nacionales y poner en la lista, posiblemente, el tamarugo, la quinoa y otros cultivos que sabemos que no van a ser tocados por esas empresas, o por otras universidades, cuyos intereses no están propiamente en la misma dirección que los nuestros. El cultivo de tejidos, sin duda ha trascendido la investigación en relativamente corto tiempo; desde los primeros descubrimientos a la aplicación práctica, yo creo que no han pasado más de 15 años. Pienso que algo similar puede ocurrir, o está ocurriendo, en el caso de la biología molecular. Quiero resaltar el hecho de que la micropropagación, que trascendió rápidamente del ámbito científico a uno meramente comercial, hoy, nos lleva a considerar que cualquier empresa que esté relacionada con la multiplicación de plantas, si no contempla este proceso bajo las condiciones de calidad y grandes volúmenes, estaría fuera de mercado.

En este aspecto, quiero hacer mucho énfasis en la relación entre ciertos cultivos y la biotecnología. Por ejemplo, en banano la canti-

dad de plantas que se ha producido en los últimos diez años y la disponibilidad de la tecnología de micropropagación, en forma eficiente, no ha rebasado los 6 a 7 años, en los cuales países como Costa Rica han duplicado en 4 años su superficie cultivada, gracias a la disponibilidad de las plantas. No estamos analizando si eso es bueno para la economía, es una decisión política que se tomó en un tiempo y tiene un costo ambiental. Gracias a la disponibilidad de las plantas producidas por cultivos de tejidos, el país decidió duplicar su producción de bananos de exportación y hoy día, después de 5 años, es el segundo productor mundial después de Ecuador. Esto es importante señalarlo, porque ahí se asocia la disponibilidad de una tecnología con una decisión política y un interés comercial; y en un corto tiempo como son 5 años, se puede valorar el impacto económico.

Otro ejemplo es el proyecto realizado en Jordania, cuyo objetivo fundamental era establecer plantaciones de vid. La FAO financió la obtención de las plantas libres de virus producidas por cultivo de tejidos. La vida del proyecto era de 2 años, pero no era factible en este tiempo llevar las plantas a este nivel, de ahí que se decidió comprarla en condiciones asépticas. Se ob-

tuvieron en Francia, se establecieron los materiales y se hizo un pequeño laboratorio con la capacidad para recibir material, el cual fue desmantelado una vez que se recibió el material y que se llevó a vivero, de esta forma se pudieron establecer 60.000 plantas en un corto período.

Las ventajas de mover grandes volúmenes de material vegetal de un país a otro son, entre otras, ventajas fitosanitarias que se apoyan al existir la garantía de que los materiales están libres de enfermedades, y se facilitan todos los trámites. Eso es factible gracias a la disponibilidad de estas técnicas. Entonces, esto es algo que también debemos tomar en cuenta, ya que con la globalización económica, la importación y el intercambio de materiales se va a requerir de un mecanismo mucho más sano, en términos fitopatológicos, para el intercambio y la introducción de materiales a los países, así como más expedito en los asuntos administrativos.

Otro ejemplo es un proyecto realizado en Vietnam en el cual se pretendía influir en el proceso de mejoramiento a través del cultivo de anteras de arroz, y es muy satisfactorio ver como los materiales producidos *in vitro* realmente tienen un impacto en el campo.

En el mundo existen 4.4 millones de accesiones, las cuales están distribuidas de diferente forma. Por ejemplo, Estados Unidos tiene 750.000 accesiones. En toda América Latina tenemos 441.000 accesiones y los Centros Internacionales, cuyo mandato es la conservación, son depositarios de las colecciones mundiales de sus rubros. Los tres Centros establecidos en América Latina suman 510.000 accesiones almacenadas.

Al mencionar estos datos, hay que considerar varios puntos. Primero, que los países en desarrollo que están pobremente representados en los centros de conservación de germoplasma, por razones que podemos discutir, son los que han donado a la humanidad esta diversidad. Sin embargo, hoy día, afortunadamente el germoplasma se ha almacenado fuera de esos centros de origen ya que de otra forma habrían desaparecido. Pero ahora es importante considerar que debido a que tenemos tecnologías, específicamente métodos biotecnológicos que hacen que cualquier gen cobre valor diferente, debemos tomar en cuenta la necesidad de tener acceso libre a ese germoplasma, pero igualmente retribuir a los países donadores de este el mismo reconocimiento y beneficios que a los países donadores de tecnologías.

En la distribución de este germoplasma ocurre la paradoja de que los países donantes de la diversidad genética son los menos desarrollados tecnológicamente. Entonces debemos pensar que en un futuro, para hacer uso a través de los métodos más avanzados de esta diversidad de genes, ésta debe estar muy directamente asociada con la disponibilidad de las tecnologías, por lo cual nuestros países deben desarrollarlas.

Estos materiales están en su mayoría conservados en forma de semillas y se encuentran en bancos de germoplasma de corto, mediano y largo plazo. En éstos se mantiene esta diversidad con mucha eficiencia. Sin embargo, aquí hemos venido discutiendo sobre la posibilidad y la potencialidad de utilizar la biotecnología para la conservación de germoplasma.

Quisiera referirme al hecho de que los 4.4 millones de accesiones, únicamente 37.000 existen en condiciones *in vitro*. ¿Por qué?, ¿Es que la biotecnología no sirve para conservar el germoplasma?, ¿Es realmente muy costoso? o como se ha indicado, ¿tiene muchos riesgos?. Pienso que esto se debe a que donde está la diversidad no está la tecnología, y que en consecuencia, esta tecnología tiene que desarro-

llarse en los países que poseen la diversidad. Por ejemplo, en el banco de germoplasma de la Universidad de Lovaina, Bélgica, existe una colección mundial de bananos y plátanos con cerca de 1.000 accesiones, de las que aproximadamente el 60% pertenece a la parte de Asia y Africa, y el resto representa la diversidad genética de estas dos especies de América. No podemos todavía beneficiarnos del 60% de la diversidad genética, debido principalmente a la presencia de un virus, en el que a pesar de que se ha venido trabajando muy intensamente, no está claro si existe una técnica suficientemente desarrollada que pueda detectar su presencia en el germoplasma. En Australia hay un grupo fuerte trabajando con este virus, lo mismo en Montana, Estados Unidos.

La verdad es que la conservación *in vitro* tiene sus problemas, riesgos y sus costos. De ahí que se ha impulsado recientemente la utilización de la crioconservación como uno de los métodos de conservación por tiempo indefinido. Hay resultados muy importantes en algunas especies: podríamos destacar a la yuca, el clavel, el café, el banano y algunas palmáceas.

Existen 3.400 millones de hectáreas forestales en el mundo, lo que

representa el 26% de la superficie arable del planeta. En muchos países, principalmente la parte tropical de América, esa área forestal está siendo destruida en forma bastante acelerada. Tal vez podríamos pensar que es debido a la agricultura y aquí vuelvo a referir el caso de Costa Rica que conozco. Debido a la expansión del banano hay una relación muy directa con la disminución de la superficie boscosa. En este aspecto, hemos estado perdiendo una gran diversidad. Existe la tecnología, la posibilidad de caracterizar el material, también la posibilidad de almacenarlo. Esto es un reto muy importante que tenemos que tomar en cuenta.

Cuando se piensa en las plantaciones, se considera que la biotecnología va a apoyarlas o impulsarlas. Posiblemente así sea; aquí hemos tenido presentaciones muy importantes al respecto. Lo que deseo resaltar es que hoy en día, de los 100.000 millones de hectáreas plantadas que existen en el planeta, sólo se cubre el 7% de la demanda mundial. Como resultado hemos seguido explotando las plantaciones forestales de tipo natural para abastecer el 93% del consumo mundial de papel.

En cuanto a los problemas en el mejoramiento de las especies fo-

restales, pudiéramos concentrarnos en dos aspectos fundamentales. Los largos intervalos generacionales, que de alguna forma limitan los programas de mejoramiento de tipo convencional, que son muy pocos en el mundo (tal vez uno de los más viejos es el de la *Criptomelia* de Japón). Creo que en la mayoría de los países avanzados, el mejoramiento no debe llevar más allá de 60 a 70 años. La otra limitación es que los criterios de selección, en especies donde están presentes los caracteres poligénicos con mucha influencia de factor ambiental, hacen muy difícil poder desarrollar un buen mejoramiento de tipo convencional.

Ya existen algunos resultados importantes relacionados con la multiplicación por cultivo de tejidos en algunas especies. Hoy día disponemos de protocolos para más de 1.000 especies en cultivo de tejidos, de donde las especies forestales cada vez cobran mayor relevancia. El problema de la relación juvenilidad en tejidos adultos sigue siendo lo más importante; nos encantaría tener un sistema que permitiera clonar individuos a partir de las partes adultas de los árboles, sin embargo, siempre ha habido el problema pues en la medida que el explante proviene de un individuo más adulto, su capaci-

dad y habilidad regenerativa va disminuyendo. De ahí que tengamos que depender de explantes juveniles, los cuales no garantizan en una alta proporción las características de un individuo adulto.

En este aspecto pudiera pensarse que en el corto plazo la biotecnología va a jugar un papel más importante en el mejoramiento de especies forestales. El uso de marcadores moleculares que aquí se ha señalado puede rendir frutos. Seguimos hablando de correlaciones entre algún marcador y las características totales de un árbol "plus". Aspectos como el control de calidad, criterios de selección relacionados con los programas de mejoramiento, pudieran ser motivo de estudio en función de estas correlaciones. Más a largo plazo, la ingeniería genética debería jugar un papel importante, específicamente podríamos pensar en un proyecto de ingeniería genética orientado a la esterilidad masculina, la esterilización de los conos, por ejemplo, y producir semilla de mejor calidad. Otro aspecto que debe ser considerado seriamente es mejorar las técnicas de cultivo de tejidos por embriogénesis somática. Esta, sumada a la semilla artificial, debería ser una de las metas a buscar. Así se podrían establecer en un futuro plantaciones con mayor ganancia

genética. Finalmente, respecto a la ingeniería genética para resistencia a insectos, vimos algunos resultados de resistencia a herbicidas, tengo mis dudas en cuanto a si debería ser uno de los objetivos para un programa tan ambicioso como puede ser la transformación de especies forestales, pero obviamente ustedes tienen mucho más autoridad al respecto.

Quiero cerrar mi intervención señalando que no toda la agricultura extensiva va a ser la solución para incrementar los rendimientos, porque no todo es plano; tenemos que tener tecnologías para todo ese mosaico de características agronómicas de todos los países y de todas las partes agroecológicas del planeta, de ahí que debe haber alternativas de solución para cada una de esas poblaciones. Esto está especialmente asociado con la gente joven, que se está preparando para solucionar todos los problemas que hemos indicado aquí.

El fitomejorador, la persona que hace más arte que ciencia, que sabe distinguir entre una planta y el futuro, es fundamental para la biotecnología. Si no está este importante elemento, la biotecnología es sólo una tecnología más que va a terminar en un artículo científico. La recomendación es

que empecemos a pensar en grupo. Un biólogo molecular tiene que buscarse un buen agrónomo, o un buen agrónomo tiene que

buscarse un buen biólogo molecular, para que de esa unión se obtengan resultados realmente satisfactorios.

LEGISLACION Y NORMATIVA NACIONAL QUE REGULA LA LIBERACION DE MATERIAL TRANSGENICO EN LA AGRICULTURA.

Carmen Cabrera
SAG
Santiago, Chile

A partir de la aplicación de recombinación genética en el año 1973 por Cohen y Bayer en USA, se ha observado en estos últimos años un interés por ingresar material transgénico a países del hemisferio Sur.

En Chile, se ha hecho sentir su ingreso bajo la forma de semilla destinada a multiplicación, evaluación de la modificación genética, para luego ser exportada.

Frente a esta presión de ingreso y con la intención de mantener un conocimiento oficial de ellos, se han adoptado las siguientes medidas.

I. Establecimiento de normas regulatorias para la internación de material vegetal transgénico.

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), entidad oficial encargada de regular el ingreso de material vegetal, optó por recurrir a la legislación vigente de Protección

Agrícola. De este modo, a través del Decreto Ley N° 3.557/80, dictó la Resolución N° 1927/93, que establece las normas para regular la internación de material vegetal transgénico. En ella se señala lo siguiente:

- Se autoriza el ingreso caso a caso a través de una Resolución dictada por el Departamento de Protección Agrícola, la que establece el lugar de cuarentena.
- La semilla debe ser reexportada o destruída, según corresponda.
- El material debe estar en una última etapa de estudio de su transgenia, situación que debe ser certificada a través de un documento otorgado por la entidad competente del país de origen, en el cual se señale que el material no fue nocivo al medio ambiente ni a la agricultura, durante las sucesivas liberaciones a campo.
- Debe cumplir una cuarentena de cultivo, y posterior a la cosecha el suelo permanecerá en

observación por el SAG durante 6 – 12 meses, dependiendo de la especie y el tipo de modificación genética sufrida.

II. Creación de un comité asesor permanente del Ministerio de Agricultura.

En octubre de 1993, el Ministerio de Agricultura creó el "Comité Asesor para la Liberación de Organismos Transgénicos" (CALT), como una instancia de consulta y apoyo técnico que asesora al SAG, que actualmente representa la única dependencia con autoridad legal para controlar el manejo de plantas transgénicas.

El CALT se constituyó oficialmente el 22 de noviembre de 1993; lo conforman especialistas representantes de los Ministerios de Agricultura y Salud, de Institutos de Investigación Agrícola y de varias Universidades. Cada uno de sus integrantes fue nombrado por el Sr. Ministro de Agricultura, tienen carácter permanente, deben mantener la confidencialidad de los antecedentes técnicos que reciben, y están facultados para incorporar, cuando las circunstancias así lo aconsejan, a otros especialistas.

Al amparo de la citada Resolución N° 1927/93 y con la asesoría técnica del CALT, el SAG ha autorizado la internación de siete especies de semilla transgénica, con las siguientes modificaciones genéticas:

Tomate: Modificación que le otorga larga vida.

Canola (raps): Modificaciones genéticas que le otorgan resistencia a herbicidas glufosinato de amonio (Basta), glifosato (Roundup) y alto contenido de ácidos grasos.

Maíz: Modificado para resistir a los herbicidas Basta, Roundup y a insectos lepidópteros.

Soya: Modificado para resistir a los herbicidas Basta, Roundup y alto contenido de ácidos grasos deseados.

Trigo: Con modificación que le otorga resistencia a los herbicidas Basta, Roundup.

Tabaco: Con resistencia al virus PVY (*Potato Virus Y*), raza necrótica.

Remolacha: Con resistencia al herbicida Basta

**PROGRAMA NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA
AGROPECUARIA Y FORESTAL**

IDEAS Y SUGERENCIAS PARA LA ELABORACION DE UN PROGRAMA NACIONAL PARA EL DESARROLLO DE LAS BIOTECNOLOGIAS SILVOAGROPECUARIAS EN CHILE

Albert Sasson
Subdirector General
UNESCO

I. Políticas Generales

Para un país abierto al comercio internacional que ha adoptado un sistema de economía liberal, la inversión tecnológica es hoy indispensable para enfrentar la creciente competencia en los mercados regionales y mundiales. Ello permite basar la ventaja competitiva ya no en una mano de obra barata, sino en otro tipo de ventajas como son el ofrecer productos de mejor calidad y una mayor diversidad de productos derivados de la innovación tecnológica. Esto permite, además, añadir valor agregado a las materia primas de manera de transformar al país en un exportador de productos más sofisticados y elaborados. Esta estrategia es la que están utilizando la mayoría de los países del Sudeste Asiático que han basado el desarrollo de su agricultura en un fuerte desarrollo agroindustrial lo que les ha permitido, posteriormente, dar un gran salto hacia la industrialización general del país. To-

dos estos países han dado prioridad, en sus planes de desarrollo, al establecimiento de una fuerte infraestructura en el área científico-tecnológica, creando universidades e institutos de investigación especializados, y dando un fuerte impulso a la capacitación de la mano de obra.

Las biotecnologías ofrecen la posibilidad de ser usadas como una de las herramientas para el logro de los objetivos anteriormente planteados, es decir, agregación de valor a la materia prima, diversificación de las exportaciones y aumento de la calidad de las mismas. Lo anterior no implica que las biotecnologías sean las únicas herramientas utilizables para estos propósitos, ni que las tecnologías tradicionales dejen de jugar un rol importante en este proceso. Más bien, ellas representan una complementación que permite aumentar la rapidez y eficiencia en el logro de los objetivos que se planteen.

II. El Programa Nacional de Biotecnología

¿Por qué es necesario un Programa Nacional? Porque cuando los recursos son escasos y el sector productivo aún no es capaz de asumir íntegramente las responsabilidades de la investigación-desarrollo, la mejor manera de enfrentar el desafío tecnológico es a través del fortalecimiento de la formación técnica y de un buen esfuerzo coordinador que articule los distintos laboratorios existentes, tanto entre ellos como con el sector productivo. El Programa debe no sólo dirigir la investigación hacia objetivos concretos, sino que debe considerar mecanismos de estímulo para que los investigadores del país se incorporen al desarrollo de actividades orientadas a los objetivos planteados, es decir, aumento de la calidad, agregación de valor, y diversificación de la producción.

¿Por qué un Programa Silvoagropecuario? A pesar de que las técnicas biotecnológicas tienen aplicación en muchos campos como la medicina, la farmacología, la industria minera y otras, por la naturaleza de Chile parece ser que las biotecnologías agropecuarias tienen un potencial mayor, dado que el país ha orientado su agricultura fundamentalmente hacia el

sector exportador. Además, las biotecnologías aplicadas al sector silvoagropecuario se encuentran en un estado de desarrollo que permite la obtención de resultados a plazos menores. Por otra parte, está libre, en la mayoría de los casos, de las restricciones éticas que afectan la aplicación de estas tecnologías al campo de la salud humana.

Dado las particularidades que presenta la agricultura chilena a lo largo de sus diversas zonas agroclimáticas, parece indispensable que el Programa no sólo considere el desarrollo de proyectos nacionales, sino que también de proyectos regionales que atiendan las necesidades de desarrollo de regiones, pero sin perder de vista el marco de política nacional que necesariamente el Programa debe contemplar. Esto significa que deben formularse proyectos específicos que, como ya se ha dicho, pueden ser de carácter nacional o pueden atender las necesidades regionales de acuerdo a los objetivos planteados como estratégicos en las regiones que se desarrollen y a los equipos de trabajo disponibles.

¿Cómo concebir el Programa, sus componentes y sus proyectos específicos? Parece obvio que los componentes planteados en el Pro-

grama, es decir, formación y capacitación de recursos humanos, apoyo a la investigación y a la infraestructura física, promoción de la interdisciplinaria y de la transferencia de tecnología, el foro técnico de discusión, información y difusión de los adelantos científicos y los incentivos para estimular a los investigadores, son adecuados para satisfacer las necesidades mínimas del Programa. Sin embargo, los proyectos específicos, tanto de carácter nacional como regional, deben contemplar plazos de ejecución y resultados esperados.

III. Prioridades

La priorización debe contemplar tanto los rubros productivos como las tecnologías susceptibles de utilizar y, de manera muy importante, los recursos adicionales de que dispondría para la puesta en marcha del Programa. Parece claro que, dada la naturaleza de las actividades agropecuarias chilenas, el proyecto debe priorizar, para una primera etapa las actividades orientadas a los rubros exportables. Por ejemplo, en el área hortofrutícola podría priorizarse la uva de mesa y la uva para vino, ya que ellas representan un importante rubro de exportación. Alternativamente, se podría querer incentivar la exportación de algún

rubro que actualmente no se exporte y para el cual el país posea ventajas competitivas favorables. Tal podría ser el caso de la leche, donde la biotecnología podría ser utilizada para el diagnóstico de las enfermedades del ganado, para producir y utilizar hormonas de crecimiento, para mejorar la alimentación del ganado, etc.

En una segunda etapa el Programa podría incluir rubros orientados al mercado interno para la sustitución de importaciones. Tal sería el caso del arroz donde las biotecnologías disponibles son de fácil y rápida aplicación en la obtención de nuevas variedades mejoradas. Tal vez este tipo de proyectos, destinados a rubros del mercado interno, deban tener bases fuertemente regionales.

En el sector forestal las biotecnologías son particularmente útiles para mejoramiento genético, dado el largo ciclo biológico de las especies forestales. Por ejemplo se pueden utilizar la clonación de plantas "plus", mediante micropropagación, que representa una de las biotecnologías de más bajo costo. En el sector forestal habría que poner énfasis en la diversificación de las especies cultivadas, poniendo énfasis en la utilización de especies nativas, ya que en estas especies el trabajo está menos

desarrollado y requiere de mayores estudios básicos. Un proyecto que considere especies nativas debe estar destinado al repoblamiento de las áreas ya explotadas, lo que tendría un fuerte efecto en disminuir el impacto ambiental negativo actualmente visible producto del acelerado desarrollo de la industria forestal en el país. También el programa debe contemplar usos alternativos para el recurso forestal, como son la obtención de esencias y resinas.

Los proyectos de carácter nacional tal vez puedan estar orientados más que a un rubro específico a una especialidad dentro de la biotecnología. Por ejemplo, podría formularse un gran proyecto para reforzar las capacidades de distintos laboratorios a lo largo del país en cultivo de tejidos. O podría formularse un proyecto de diagnóstico de enfermedades, ya sea utilizando anticuerpos monoclonales o técnicas de PCR. Otro proyecto nacional podría decir relación con uso de marcadores genéticos para identificación de germoplasma nativo lo que le permitiría al Programa agregarle valor al rico y diverso germoplasma disponible en el país. Otro proyecto podría estar destinado a mejorar el ambiente,

con el objeto que el país pueda dar garantías de que los productos exportables están siendo producidos sobre una base sustentable. Un proyecto como este debe contemplar el tratamiento de aguas servidas para su reutilización en el regadío, la degradación de los residuos de la industria ganadera, la degradación de residuos de la industria forestal, etc.

Un ejemplo notable de este tipo de trabajo es lo desarrollado por Nueva Zelanda, que ha implementado, en un breve plazo y a un bajo costo, diversas biotecnologías que permiten vender al país como uno de ambientes sanos y sostenibles en el tiempo.

IV. Recursos para la puesta en marcha del Programa

Se estima que una cifra mínima dada la naturaleza del país y el tamaño del sector silvoagropecuario, sería de unos 4 a 5 millones de dólares por año. Este monto no necesariamente debe provenir en su totalidad del erario nacional, sino que deben buscarse mecanismos de cofinanciamiento con el sector privado y/o con organismos internacionales de financiamiento.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Antonio Hargreaves

INIA

Santiago, Chile

Me ha tocado la misión no siempre fácil de tratar de sintetizar, resumir y sacar algunas conclusiones de una reunión de tres días, en la cual se han tocado varios temas, si bien es cierto todos orientados en la misma línea biotecnológica, pero cada uno de ellos con su identidad propia.

El primer día planteé el temor de que a lo mejor las expectativas que se habían cifrado para esta reunión habían sido demasiado altas, y tal vez no pudiéramos llegar a conclusiones muy claras y precisas. Mi impresión y la de los consultores y asistentes, después de haber terminado esta Conferencia, es que las expectativas puestas en ésta se han cumplido. Es cierto que no ha sido fácil conseguir el consenso en algunas de las materias, y eso es entendible por la diversidad y número de científicos que participaron en este evento. Sin embargo, hay algunos aspectos que quiero destacar; por ejemplo, ha habido una sólida entrega e intercambio de información entre los científicos chilenos y los

miembros de la misión que hoy día nos acompañan. Otro aspecto relevante es que en estos días de reunión, hemos logrado un gran "input" de información para la estructuración en conjunto del Programa. Sin embargo, existe por parte de la misión una preocupación bastante importante por la falta de tiempo para elaborar un Programa de tal envergadura, y de tanta importancia para el país. A pesar de esta situación, el coordinador de la misión de expertos, el Dr. Víctor Villalobos, está confiado que el trabajo podrá ser finalizado y presentado al Ministerio de Agricultura, como fue planificado previamente.

Entendemos también que el documento puede incluir algunas imprecisiones, o informaciones incompletas en algunos aspectos, pero eso no debiera preocuparnos mayormente, ya que sabemos que están allí todos los lineamientos necesarios para abordar esta empresa.

Me gustaría rescatar un concepto

vertido por el Dr. Chuck Niblett, quien mencionó que ellos (la misión) no pretendían decirles a los científicos chilenos lo que tienen que hacer, cómo lo tienen que hacer y hasta dónde tienen que llegar. Este planteamiento nos debería hacer reflexionar en el sentido de que eso es verdad. Creo que mucho depende ahora de la posición y la decisión que tomemos nosotros como científicos chilenos para llevar a cabo esta empresa. Lo que sí es importante, es que la misión nos ha entregado ciertos lineamientos generales, la experiencia de cada uno de ellos en sus distintas especialidades, y su conocimiento del ambiente internacional en biotecnología, y esto nos va a ayudar definitivamente a no cometer errores en un plan de la envergadura que pensamos abordar. De modo que en ese sentido, nosotros valoramos el apoyo que nos ha entregado esta misión de expertos internacionales. Yo creo y estoy cierto que nosotros sabremos cumplir a cabalidad lo que nos queda por delante, que es la parte más importante, es decir, consolidar este Programa y hacerlo permanente en el tiempo.

Los expertos nacionales e internacionales han manifestado su preocupación por una falta de coordinación entre los científicos y las instituciones chilenas que están

haciendo trabajos en biotecnología. En este sentido, yo quisiera hacer un serio y muy fuerte llamado a todos quienes llevarán a cabo, o que estarán implicados en este plan, para trabajar coordinadamente y en forma multidisciplinaria. Con el trabajo aislado no se va a llegar a ninguna parte y no vamos a ser capaces de consolidar lo que estamos haciendo. Tenemos que llevar esto con una visión más colaborativa, una visión de país y podremos, de esa forma, potenciar la excelencia que podamos alcanzar, lo que depende sólo de nosotros.

Un aporte importante que discutimos ayer durante la reunión con la misión, es que la ciencia hoy día en el mundo se está manejando en un solo lenguaje, que es el inglés. Así, para que Chile pueda insertarse y complementarse con los distintos institutos o distintas organizaciones de investigación avanzada a nivel del mundo, tiene que ser necesariamente mediante el inglés. El trabajo de la ciencia en el mundo es en inglés, y esa es una realidad.

Pasemos ahora a lo discutido en esta Conferencia. En el tema de las aplicaciones de la biotecnología a la producción animal se ha detectado que existen pocos grupos que están trabajando. Sin em-

bargo, éstos tienen un buen nivel de preparación, un buen nivel de trabajo, aunque con limitaciones fundamentalmente de recursos humanos y de integración entre las distintas instituciones. También hay un problema de recursos financieros para poder llevar a cabo los trabajos.

Como conclusiones de todos los aspectos discutidos en la sección de Biotecnología Animal, es necesario destacar y profundizar un mayor desarrollo de la tecnología con el ADN. Por ejemplo, no hay trabajos en el país de marcadores genéticos, pero sí los hay en genética de poblaciones. Por esto, una tarea inmediata podría ser la incorporación de la biotecnología dentro del mejoramiento genético animal.

Otra área que debe reforzarse es la diversificación de especies para aumentar la producción pecuaria. Al respecto, la transgenia o transformaciones genéticas en animales pareciera ser uno de los caminos a seguir. El manejo de la microflora a nivel ruminal, para hacer animales más eficientes en la utilización de forrajes, sobre todo de forrajes más toscos, es otra línea de trabajo a considerar en el futuro cercano. La manipulación y la micromanipulación de embriones es también una alternativa vi-

gente en estos momentos, sólo falta masificarla de una manera bastante más efectiva de lo que se está haciendo en estos momentos. Por último, en relación al diagnóstico de enfermedades, hay que seguir trabajando; si bien es cierto existen algunos antecedentes en el país, hay que avanzar bastante más en esta línea, por ejemplo en el área de anticuerpos monoclonales.

En el cultivo de tejidos, las presentaciones incluyeron una completa revisión de los laboratorios de esta área que están funcionando en Chile. Se está trabajando en distintos cultivos anuales, frutas, plantas ornamentales, hortalizas, plantas forestales. Sin embargo, existen pocos trabajos relacionados con las especies que están en peligro de extinción o con las especies nativas o endémicas chilenas. La técnica de cultivo de tejidos debe, necesariamente, conectarse con el mejoramiento de plantas y con la transformación genética. Tenemos que hacer este trabajo más científico y se debería evolucionar más hacia la biología celular para ampliar el conocimiento de los procesos involucrados en esta técnica.

El cultivo de tejidos podría tener un rol importante en la conservación de germoplasma, en la in-

ducción de variabilidad genética, en la transformación genética, etc. En este campo hay una gran necesidad de trabajos cooperativos entre los laboratorios nacionales y de conexiones internacionales. Por ejemplo: hay alrededor de 10 ó 12 laboratorios privados en el país que están trabajando en propagación o en cultivo de tejidos, y un poco más de 20 laboratorios insertos en las universidades e institutos. Sin embargo, esta técnica debería orientarse definitivamente hacia la biología celular, y los trabajos de investigación deben tener un objetivo y llegar a un producto determinado.

Los marcadores se visualizan como una herramienta clave para el desarrollo del Programa de Biotecnología. Los distintos usos de los marcadores moleculares se han discutido largamente y están incluidos en los estudios de biodiversidad, en el apoyo a la selección de plantas en los programas de mejoramiento, en transformaciones genéticas, y en la identificación de variedades con el "fingerprinting", y otros. Es necesario que se conozca a cabalidad su necesidad, aprender cómo usarlos, a priorizar y masificar su uso, dependiendo del objetivo del trabajo que se esté realizando. También es muy importante iniciar trabajos en el establecimiento de tec-

nologías más fundamentales, por ejemplo, clonación de genes.

Es importante señalar que esta tecnología, esencial y fundamental, necesita de investigadores de alto nivel, y en este sentido el capital humano es muy escaso. Se ha detectado, por ejemplo, que los científicos que se preparan en el extranjero y vuelven al país, se desvinculan no solamente del lugar de origen donde obtuvieron su especialización sino también del medio local, porque no encuentran un nicho donde poder desarrollar lo que han aprendido.

Si bien es cierto esta investigación más básica es extremadamente relevante, no hay que perder de vista el interés del Gobierno, y es que este Programa de Biotecnología tenga un efecto en la producción agrícola, en un plazo razonablemente rápido. Los marcadores moleculares deben, necesaria y urgentemente, ligarse a la genética de plantas y a la genética de animales, logrando una adecuada coordinación de los distintos especialistas. Este trabajo debe enfrentarse desde un principio con miras hacia la automatización, porque normalmente es un trabajo largo y, a veces, bastante tedioso.

Para hacer estudios de biodiver-

sidad y conservación, es necesario saber primero si existe diversidad genética y dónde se localiza, para poder implementar políticas de conservación. En este sentido, los marcadores moleculares pueden jugar un rol muy importante, y aquí hay que diferenciar dos cosas: la orientación comercial, se quiere lograr más homogeneidad en los productos de exportación, y desde el punto de vista del mejoramiento y recursos genéticos se requiere preservar la diversidad. De modo que esta suerte de antagonismo tiene que tener su punto de equilibrio en los trabajos que se realicen. Está también la recomendación de crear varios centros regionales con distintos niveles de especialización, pero tal vez con un gran centro que desarrolle técnicas en marcadores moleculares a nivel nacional. Y no olvidar que los marcadores moleculares están sujetos a patentamiento, en el caso de Chile esto es fundamentalmente importante.

Respecto a transformaciones genéticas, los laboratorios que están haciendo transgénesis en el país son relativamente pocos. Ahora bien, se debe entender que para hacer transgénesis o para hacer transformaciones genéticas hay que tener genes, y estos deben estar libres de patentes, por lo tanto, en este sentido, se tiene que trabajar

bastante más en la identificación de estos genes en materiales chilenos.

El Programa Nacional debe necesariamente recomendar la capacitación, y las acciones necesarias para interesar a investigadores más jóvenes en aspectos de la biología celular. Es necesario que la ciencia se haga más atractiva para todos los jóvenes universitarios.

Otro aspecto de gran importancia para el país es la orientación de la biotecnología y la ingeniería genética hacia la postcosecha, la fisiología de esta, dado nuestro carácter de país exportador.

En términos generales existe el consenso de buscar todas las posibilidades de financiamiento para poder potenciar este plan. En la medida que se presente un plan consolidado como país, con un objetivo bastante más dirigido y orientado, las posibilidades se van a hacer una realidad.

El Programa Nacional contempla una cierta cantidad de recursos. Se han manejado algunas cifras, pero hay que entender que éstas no son para desarrollar la biotecnología en Chile. Yo la visualizo para sentar las bases y crear un ambiente propicio, para de ahí despegar en

una línea de trabajo. No significa combinación de técnicas que vayan a reforzar el mejoramiento genético de especies forestales. Aquí se debe tratar de acortar los períodos de mejoramiento y de selección. De nuevo la transgénesis en especies nativas está más bien dejado de lado. Se ha trabajado mucho en especies de interés comercial en la parte forestal, y queda un poco la interrogante si eso debiera enfatizarse como una necesidad del país.

Yo no quisiera terminar estas palabras sin reiterar mis especiales agradecimientos a quienes nos

acogieron en estos días, en la persona del Director del Centro Regional de Investigación Quilimapu, el señor Isaac Maldonado. Agradecer también a los consultores internacionales, por su dedicación, su profesionalismo, su interés en colaborar con nosotros. A los científicos chilenos, a todos los que han participado, tanto desde la audiencia como aquéllos que realizaron una presentación.

Finalmente, espero que este Programa Nacional tenga una cristalización bastante sólida, consolidada y con recursos.

ANEXOS

ANEXO 1. PROGRAMA DE LA CONFERENCIA

LUNES 16 DE OCTUBRE

17:00-18:00

Inscripción de los participantes

18:30-19:30

Inauguración Conferencia de Planificación

Discursos de Inauguración

Sr. Isaac Maldonado I. Director Regional INIA-CRI Quilamapu.

Sr. Antonio Hargreaves B. Presidente Subrogante INIA.

Sr. Santiago Funes. Representante de FAO para Chile.

Sr. Sigisfredo Scheuermann, Representante del Ministerio de Agricultura, SEREMI de Agricultura VIII Región.

MARTES 17 DE OCTUBRE

PRESENTACION PROGRAMA NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y FORESTAL

09:00-09:45

Presentación del Programa Nacio-

nal de Biotecnología Agropecuaria y Forestal de Chile
Víctor Villalobos (FAO)

SESION PLENARIA I: USO DE LA BIOTECNOLOGIA EN LA PRODUCCIÓN PECUARIA

10:15-13:00

Estado de la biotecnología pecuaria en Chile

José Francisco Cox (U.de Concepción, Chile)

Uso de los marcadores moleculares en la producción pecuaria
Norberto Butendieck (INIA, Chile)

La biotecnología animal: sus usos actuales y potenciales
Eduardo Casas (U. of Wisconsin, USA)

Discusión sobre Biotecnología Animal

SESION PLENARIA II: EL CULTIVO DE TEJIDOS EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

14:30-18:00

El cultivo de tejidos vegetales en la producción agrícola

Juan Velozo (*U. Católica de Chile, Chile*)

Relación entre la investigación, docencia y el sector privado en el área del cultivo de tejidos.

Ruperto Hepp (*U. de Concepción, Chile*)

Uso actual y potencial del cultivo de tejidos. Experiencias en el CIAT.
William Rocca (*CIAT, Colombia*)

Discusión sobre Cultivo de Tejidos

MIÉRCOLES 18 DE OCTUBRE

SESION PLENARIA III: USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN LA PRODUCCION AGRICOLA Y DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES DE PLANTAS

09:00-13:00

Uso actual y potencial de marcadores moleculares en fitomejoramiento en Chile

Patricio Hinrichsen (*INIA, Chile*)

Molecular markers applications in plant breeding in Chile
Peter Gresshoff (*U. of Tennessee, U.S.A.*)

Situación de la biotecnología en los cultivos tropicales
Jacques Meunier (*CIRAD, Francia*)

Uso práctico y masivo de marcadores moleculares en cereales. Apuntes y perspectivas del CIMMYT
Diego González de León (*CIMMYT, México*)

Situación actual y potencial de los marcadores moleculares en el diagnóstico de enfermedades en Chile

Guido Herrera (*INIA, Chile*)

Uso de los marcadores moleculares en el diagnóstico fitopatológico.

Chuck Niblett (*U. of Florida, U.S.A.*)

"Fingerprinting" de plantas y hongos con microsátélites

Günter Kahl (*J.W. Goethe Universität, Alemania*)

Discusión sobre Marcadores Moleculares

SESION PLENARIA IV: PRODUCCIÓN DE PLANTAS TRANSGÉNICAS

14:30-15:00

Producción de plantas transgénicas. La situación chilena.

Loreto Holuigue (*U. Católica de Chile, Chile*)

Usos potenciales de la ingeniería genética

Gunter Kahl (J.W. Goethe Universität, Alemania)

Discusión sobre Plantas Transgénicas

JUEVES 19 DE OCTUBRE

SESION PLENARIA V : USO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA PRODUCCION SILVICOLA

08:30-11:00

Uso de la biotecnología en la producción silvícola

Roberto Ipinza (U. Austral de Chile, Chile)

Mejoramiento de plantaciones de eucaliptos con biotecnología

Luis San Martín (Forestal y Agrícola Monteáguila S.A., Chile)

Aprovechamiento de los residuos de la industria forestal

Guillermo Schaffeld (U. del Bío-Bío, Chile)

La diversidad genética y su relación con la biotecnología de plantas y especies forestales

Víctor Villalobos (FAO, Italia)

SESION PLENARIA VI : APECTOS ECONÓMICOS, POLITICOS Y ÉTICOS DE LA BIOTECNOLOGÍA

11:00-13:30

Legislación y normativa nacional que regula la liberación de material transgénico en la agricultura
Carmen Cabrera (SAG, Chile)

Discusión sobre Diagnóstico de Enfermedades

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

VIERNES 20 DE OCTUBRE

11:30

Ceremonia de clausura

ANEXO 2: LISTA DE PARTICIPANTES

Abalos, Marta
Instituto Forestal (INFOR)
Huérfanos 554, Santiago, Chile
Fono (56) 2-639 79 11
Fax (56) 2-638 12 86

Acuña P., Hernán
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42- 21 11 77
Fax (56) 42- 21 78 52
E-Mail:hacuña @quilamapu.inia.cl

Alvarado A., José Roberto
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: ralvarad@quilamapu.
inia.cl

Luis, Apiolaza
Universidad Austral de Chile
Casilla 567, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 15 11
Fax (56) 63-22 12 33
E-Mail: pseeman@valdivia.uca.
uach

Arellano, Carlos
FAO
Casilla 10095
Bandera 150, Santiago
Fono 2-699 10 05

Fax 2-696 01 07

Aylwin, Arturo
Forestal Millalemu, Chile
Fono (56) 42-22 42 62
Fax (56) 42-22 40 20
E-Mail: fmillale@reuna.cl

Barbosa, Sebastião
FAO, Chile
Fono (56) 2-699 10 05
Fax (56) 2-696 01 07

Barrientos, Leticia
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: Ibarren@carillanca.inia.cl

Bastías M., Elizabeth
Universidad de Tarapacá
Casilla 6-D, Chile
Fono (56) 58-22 41 57
Fax (56) 58-22 67 37

Becerra V., Viviana
Universidad Adventista
Casilla 7-D, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 20 03
Fax (56) 42-22 64 00

Bonilla E., Walter

INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: wbonilla@quilamapu.
inia.cl

Borroto, Carlos
AGPC
FAO, ROMA
Fax 39-6-573 00 007

Butendieck, Norberto
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: nbutendi@carillanca.
inia.cl

Cabrera, Carmen
Servicio Agrícola y Ganadero
(SAG)
Avda. Bulnes 140, Santiago, Chi-
le
Fono (56) 2-698 84 23
Fax (56) 2-672 18 12

Cardemil, Liliana
Universidad de Chile
Las Palmeras 3425, Ñuñoa, San-
tiago
Fono (569) 2-678 73 26
Fax (56) 2-271 29 83
E-Mail: icardemi@abello.dic.
uchile.cl

Casas, Eduardo

University of Wisconsin
WI 53796, Madison, USA
Fono 608-263-4319
Fax 608-262-5157
E-Mail: casas@calshp.cals.
wisc.edu

Correa S., Jorge
Universidad Austral de Chile
Casilla 527, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28
E-Mail: jcorrea@valdivia.uca.
uach.cl

Courad, Pedro
EUROCHILE
Hernando de Aguirre 1549,
Providencia, Santiago, Chile
Fono (56) 2-204 93 63
Fax (56) 2-274 15 11

Cox, José Francisco
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chi-
le
Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Cruz A., Magdalena
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: mcruz@quilamapu.inia.cl

De Brujin, Johannes
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52

Del Pozo L., Alejandro
INIA, CRI Quilampu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: adelpozo@quilamapu.
inia.cl

Donoso, Raúl
Universidad Adventista
Casilla 7-D, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 20 03
Fax (56) 42-22 64 00

Ehrenfeld, Jorge
Universidad Austral de Chile
Casilla 527, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28

Escaff, Moisés
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: @platina.inia.cl

Felmer, Ricardo
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: rfelmer@carillanca.inia.cl
Folch, Hugo
Universidad Austral de Chile

Casilla 527,Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28

Funes, Santiago
FAO
Bandera 150, piso 10, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-696 02 16
Fax (56) 2-696 01 07

Galdames G., Rafael
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: rgaldame@carillanca.
inia.cl

Gambardella C., Marina
Universidad de Chile
Sta. Rosa 11315, Paradero 32
La Granja, Santiago, Chile
Fono (56) 2-678 57 29
Fax (56) 2-678 57 00
E-Mail: mgambard@abello.dic.
uchile.cl

González de León, Diego
CIMMYT
Lisboa 27, Colonia Juárez
Apartado Postal 6-641, 06600
México
D.F., México
Fono 52-5-726 90 91
Fax 52-5-726 75 85

Gresshoff, Peter M.
Institute of Agriculture Plant

Molecular Genetics (OHLD)
University of Tennessee
P.O. Box 1071
Knoxville, TH 37901-1071, U.S.A.
Fono 615-974-8841
Fax 615-974-2765

Hargreaves, Antonio
INIA Presidencia
Casilla 1607, Correo 9, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-225 21 18
Fax (56) 2-225 87 73
E-mail: ahargrea@presidencia.
inia.cl

Hepp, Ruperto
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chi-
le
Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Hernaíz L., Santiago
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42- 21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: shernaiz@quilamapu.inia.cl

Herrera, Guido
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: gherrera@platina.inia.cl
Hinrichsen, Patricio
INIA, CRI La Platina

Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: bminia@ibm.net.

Holmberg, Germán
INIA, CRI Remehue
Casilla 24-0, Osorno, Chile
Fono (56) 63-23 35 15
Fax (56) 63-23 77 54
E-Mail: gholmber@carillanca.
inia.cl

Holigue B., Loreto
Universidad Católica de Chile
Avda. Portugal 35, Santiago, Chi-
le
Fono (56) 2-222 45 16
Fax (56) 2-222 55 15

Infante E., Rodrigo
Universidad de la Frontera
Casilla 54-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-25 26 30
Fax (56) 45-25 31 77
E-Mail: frutic@werken.ufro.cl

Ipinza, Roberto
Universidad Austral de Chile
Casilla 527, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28
E-Mail: ripinza@valdivia.uca.
uach.cl

Iraira, Sergio

INIA, CRI Remehue
Casilla 24-0, Osorno, Chile
Fono (56) 63-23 35 15
Fax (56) 63-23 77 54
E-Mail: siraira@remehue.inia.cl

Jahn B., Ernesto
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: ejahn@quilamapu.inia.cl

Jaureguiberry, Beltrán
VETERQUIMICA
Casilla 81, Los Cerrillos, Santia-
go, Chile
Fono (56) 2-557 40 04
Fax (56) 2-557 40 04

Junot M., Julio
Universidad del Bio Bio
Casilla 447, Concepción, Chile
Fono (56) 42-22 35 15
Fax (56) 42-21 06 31

Kahl, Gunter
Johann Wolfgang Goethe
Univesitat
Frankfurt, Alemania
Fono 069-7982-9266
Fax 069-7982-9268
E-Mail:
Kahl@em.uni.frankfurt.d400.de

Kalazich, Julio
INIA, CRI Remehue
Casilla 24-0, Osorno, Chile

Fono (56) 63- 23 35 15
Fax (56) 63- 23 77 54
E-Mail: jkalazic@remehue,inia.cl

Klee G., Germán
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Santiago
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: gklee@quilamapu.inia.cl

Kramm M., Víctor
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: vkramm@quilamapu.
inia.cl

Loewe, Verónica
Instituto Forestal (INFOR)
Huérfanos 554, Santiago, Chile
Fono (56) 2-639 79 11
Fax (56) 2-638 12 86

Madariaga B., Ricardo
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: rmadaria@quilamapu.
inia.cl

Maldonado I., Isaac
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52

E-Mail: imaldona@quilamapu.inia.cl.

Marchant, Alejandro
Universidad Adventista
Casilla 7-D, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 20 03
Fax (56) 42-22 64 00

Massardo V., Francisca
Universidad de Santiago
Santiago, Chile
Fono (56) 2-681 25 75
Fax (56) 2- 601 21 08

Mera, Mario
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: mmera@carillanca.inia.cl

Meunier, Jacques
CIRAD-CP
Bp 5035
34032 Montpellier
Cedex 1, Francia
Fono 67-61 58 84
Fax 67-61 59 86
Telex 480762F

Meza-Basso, Luis
Universidad de Talca
2 Norte 685, Talca, Chile
Fono (56) 71-22 72 24
Fax (56) 71-22 46 75

Montecinos, Marcelo
EUROCHILE

Hernando de Aguirre 1549,
Providencia, Santiago, Chile
Fono (56) 2-204 93 63
Fax (56) 2-274 15 11

Montenegro B., Adolfo
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: amontene@carillanca.inia.cl

Moreno, Hilda
Universidad Tecnológica Vicente
Pérez Rosales
Brown Norte 290, Ñuñoa, San-
tiago, Chile
Fono (56) 2-274 54 32
Fax (56) 2-223 88 25

Muñoz S., Carlos
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: bioinia@ibm.net.

Neira, Roberto
Universidad de Chile
Sta Rosa 11130, La Pintana, Chile
Fono (56) 2-678 14 39

Niblett, Chuk
University of Florida
Gainesville, FL 32611, Florida,
USA
Fono 904-392-3814

Fax 904-392-6532
E-Mail: cln@gnv.ifas.ufl.edu.

Obando, Maritza
BIOFOREST S.A.
Edificio Prales, of. 410, Valdivia,
Chile
Fono (56) 63-21 38 01
Fax (56) 63-21 54 74

Orellana, Patricio
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Ormeño, Juan
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: jormeño@platina.inia.cl

Pantoja, Patricio
COOPRISENSEM
Chile
Fono (56) 64-23 96 89

Paredes C., Mario
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: mparedes@quilamapu.inia.cl

Peña F., Eduardo
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Peñaloza H., Enrique
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: epeñaloz@carillanca.inia.cl

Peréz, Erika
Universidad Austral de Chile
Casilla 527, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28

Prehn R., Doris
Universidad Católica de Chile
Avda. Vicuña Mackenna 4860,
Santiago, Chile
Fono (56) 2-552 23 75
Fax (56) 2-552 60 05

Rámirez G., Carlos
Universidad Austral de Chile
Casilla 527, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 14 18
Fax (56) 63-22 15 28

Reyes C., María Antonieta
Universidad Católica de Chile
Avda. Vicuña Mackenna 4860,
Santiago, Chile
Fono (56) 2-552 23 75
Fax (56) 2-552 60 05

Riess, Carmen
Servicio Agrícola y Ganadero
(SAG)

Avda. Bulnes 140, Santiago, Chile
Fono (56) 2-698 84 23
Fax (56) 2-672 18 12

Riquelme R., Hernán
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: hriquelm@quilamapu.inia.cl

Roca, William
Centro Internacional de Agricultura
Tropical (CIAT)
Apartado Aéreo 6713, Cali, Co-
lombia
Fono 57-2-445 00 00
Fax 57-2-445 02 73

Rodríguez, Roberto
Universidad de Concepción
Casilla 2407, Apartado 10, Con-
cepción, Chile
Fono (56) 41-23 49 85
Fax (56) 41-24 02 80

Rosselot P., Gastón
Instituto de Nutrición y Tecnología
en Alimentos
Universidad de Chile
Macul 5540, Macul, Santiago, Chile
Fono (56) 2-678 14 39
Fax (56) 2-221 40 30
E-Mail: grossell@uec.inta.uchile.cl

Ruiz J., Emilio
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77

Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: eruz@quilamapu.inia.cl

Sabja, Ana María
BIOFOREST S.A.
Edificio Prales, of. 410, Valdivia,
Chile
Fono (56) 63-21 38 01
Fax (56) 63-21 54 74

Salazar S., Erika
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: bioinia@ibm.net.

Salvo G., Haroldo
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: hsalvo@carillanca.inia.cl

San Martín C., Luis
Forestal Monteaguila S.A.
Casilla 32-D, Los Angeles, Chile
Fono (56) 43-31 63 31
Fax (56) 43-32 32 09

Schaffeld G., Guillermo
Universidad del Bio Bio
Concepción, Chile
Fono (56) 41-31 43 64
Fax (56) 41-31 38 97

Seeman, Peter
Universidad Austral de Chile

Casilla 567, Valdivia, Chile
Fono (56) 63-22 12 32
Fax (56) 63-22 12 33
E-Mail: pseeman@valdivia.u-
ca.uach.cl

Serri, Humberto
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Scheuermann, Sigisfredo
Secretario Regional Ministerial
de Agricultura VII Región
Serrano 529, Concepción, Chile
Fono-Fax (56) 41-22 72 01

Sierra, Carlos
INIA, CRI Intihuasi
Casilla 36-B, La Serena, Chile
Fono (56) 51-22 32 90
Fax (56) 51-22 70 60

Sills, Gavin
INIA, CRI Carillanca
Casilla 58-D, Temuco, Chile
Fono (56) 45-21 57 06
Fax (56) 45-21 57 06
E-Mail: carillan@arauco.reuna.cl
Suzuki, Shigeru
INIA, CRI La Platina
Casilla 439, Correo 3, Santiago,
Chile
Fono (56) 2-541 72 23
Fax (56) 2-541 76 67
E-Mail: platina@reuna.cl.

Tapia, Maritza
Universidad de Concepción
Vicente Méndez 595, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 63 33
Fax (56) 42-22 15 07

Tay U., Juan
INIA, CRI Quilamapu
Casilla 426, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 11 77
Fax (56) 42-21 78 52
E-Mail: jtay@quilamapu.inia.cl

Valenzuela, Juan
Universidad Adventista
Casilla 7-D, Chillán, Chile
Fono (56) 42-21 20 03
Fax (56) 42-22 64 00

Veloza, Juan
Universidad Católica de Chile
Alameda 340, Santiago, Chile
Fono (56) 2-686 26 37
Fax (56) 2-222 55 15
E-Mail: mjordan@genes.bio.puc.cl

Verdugo, Gabriela
Universidad Católica de Valpa-
raíso
Casilla 4-D, Quillota, Chile
Fono (56) 33-31 05 24
Fax (56) 33-31 32 22

Villalobos, Víctor
Centro de Investigación y de Estu-
dios
Avanzados del I.P.N.

Unidad Irapuato
Apdo. Postal 629, Irapuato 36500,
Gto. México
Fono 52-462 51 600
Fax 52-426 45 846

Zuñiga, Margarita
Servicio Agrícola y Ganadero
(SAG)
Avda. Bulnes 140, Santiago, Chile
Fono (56) 2-698 84 23
Fax (56) 2-672 18 12