ISSN 0719-4358

INNOVAGRO

CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

REVISTA DE EXTENSIÓN DE LA ESCUELA DE AGRONOMÍA DE LA UC TEMUCO

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y FITOQUÍMICO DE ESPECIES VEGETALES NATIVAS RECOLECTADAS EN LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA

- IDENTIFICATION OF *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not, TELEOMORPH OF *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desm., THE CAUSAL AGENT OF BLACKLEG OF OILSEED RAPE (*Brassica napus* L.) IN CHILE.
- LOS MAPUCHE: DISPONIBILIDAD PREHISPÁNICA DE GERMOPLASMA VEGETAL.
- INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN PLÁNTULAS MICROPROPAGADAS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.).

N°8, Diciembre 2017

Dirección:
Dr. Alejandro Velásquez B.

Editor en Jefe:
Dr. Alejandro Velásquez B.

Comité Editor:
Dr. Marcelo Toneatti B.
Dra. Claudia Castillo R.
Dra. Ximena Araneda D.
Dra. Gina Leonelli C.
Dr. Jaime Solano S.
Dr. Orlando Andrade V.

Recepción de trabajos, revisión y 1ª selección:
Dra. Claudia Castillo R.
Daniza Morales U.

Diseño, diagramación y edición:
Daniza Morales U.

Publicación electrónica y página web:
Daniza Morales U.

Secretaria:
Srta. Rocío Burgos T.

Universidad Católica de Temuco, Escuela de Agronomía. Rudecindo Ortega 02950, Edificio Cincuentenario, 3er piso. Fono: 045-2205521, 045-2205534

Edición Digital

Chile, Temuco, Diciembre 2017

Índice

	Página
Valorización y promoción de *Gunnera tinctoria* (Nalca) mediante un manejo sustentable y el desarrollo de productos con valor agregado para la Agricultura Familiar Campesina de Carahue.	7
Uso de la mezcla compost-biocarbón en suelos agrícolas y su rol en la rizosfera, nutrición de cultivos y propiedades del suelo.	13
Rol del metabolismo mitocondrial y su relación con la fotosíntesis y la resistencia a aluminio (Al^{3+}) en arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivado en el sur de Chile.	15
Identification of *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not, teleomorph of *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desm., the causal agent of blackleg of oilseed rape (*Brassica napus* L.) in Chile.	22
Inoculación con hongos micorrícicos arbusculares en plántulas micropropagadas de papa (*Solanum tuberosum* L.).	31
Análisis bromatológico y fitoquímico de especies vegetales nativas recolectadas en la región de La Araucanía.	36
Los Mapuche: disponibilidad prehispánica de germoplasma vegetal.	44
Estándares de calidad e inocuidad para hortalizas frescas con calidad específica asociada al origen en la Región de La Araucanía	49

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

AGRONOMÍA

UC TEMUCO | *Ingenieros de la Vida*

agronomia.uct.cl /

PALABRAS DEL EDITOR
INNOVACIÓN TECNOLÓGICA Y DESARROLLO AGROPECUARIO

La actividad agropecuaria desde sus inicios ha estado sometida a la permanente creatividad del hombre para generar los alimentos y productos necesarios para asegurar la subsistencia de la humanidad, y al mismo tiempo, se puede argumentar que bajo esta dinámica la agricultura contribuyó al desarrollo de las civilizaciones y a la posterior consolidación de los asentamientos humanos. En los últimos tiempos de nuestra historia contemporánea, la cantidad y calidad de los alimentos demandados por los consumidores han exigido al sector agrícola, en diversas situaciones, hacer uso de innovadoras tecnologías para cumplir con los estándares impuestos por el mercado, junto con optimizar el beneficio económico de los productores. Esta situación se encuentra en una constante evolución, y es función, por un lado, de los cambios en los requerimientos de los consumidores y por otro, de la disponibilidad de nuevas tecnologías como resultado de los últimos avances científicos del sector agropecuario. Actualmente, es posible observar una serie de tecnologías innovadoras en la agricultura, concebidas desde diversas disciplinas, cuya integración ha permitido generar revolucionarias soluciones agronómicas. Entre las más destacadas se pueden señalar: bioingeniería, robótica, nanotecnología, ingeniería genética, biotecnología en la nutrición y reproducción animal, técnicas electromagnéticas aplicadas en la reproducción y producción animal, uso de marcadores moleculares para el mejoramiento genético animal y vegetal, técnicas avanzadas de propagación vegetal, nutra-genómica, fármaco-ingeniería, sistemas avanzados de riego automatizado, granjas inteligentes, percepción remota, sistemas geoespaciales de referencia, agricultura de precisión, técnicas moleculares para el diagnóstico de enfermedades en vegetales y en animales. Todas estas tecnologías innovadoras, en mayor o menor grado, han impactado favorablemente a la agricultura, y han revolucionado al sector agropecuario, mostrando un posicionamiento creciente y cada vez más agresivo del punto de vista comercial. En este contexto, se debe considerar que Chile es un país que basa el éxito de la actividad agropecuaria en las exportaciones, cuyos mercados de destino son altamente exigentes, por lo cual la industria ha tenido que realizar fuertes inversiones en tecnología e innovación, lo que le ha permitido asegurar calidad y cantidad, bajo estrictas normas de producción, trazabilidad y comercialización. Junto con explorar nuevos productos y mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos actualmente en explotación, debemos enfocarnos en el futuro en cómo somos capaces de dar un mayor "valor agregado" y cómo podemos plasmar innovación a nuestros productos agroalimentarios (diferenciación), en comunión con el mercado, las nuevas tecnologías y con una efectiva ciencia para el sector agropecuario.

No obstante, los innegables atributos de estas nuevas tecnologías, existen diferentes posiciones a este respecto; algunos sectores ven con preocupación su acelerada irrupción en la actividad agropecuaria, arriesgando en algunos casos componentes de sustentabilidad, inocuidad

alimentaria, perturbaciones en variables agroecológicas, daño a la biodiversidad, contaminación ambiental, perjuicio económico, efectos sobre la estructura del capital social y alteraciones en dimensiones fundamentales de la interculturalidad presente en nuestra agricultura. Bajo esta mirada, existe una legítima inquietud referida a la posibilidad de perder o poner en riesgo algunas de las más ricas tradiciones y costumbres emergidas desde la tierra y el hombre que vieron nacer la agricultura en nuestra civilización, y en lo particular, aquellas desarrolladas y asentadas en nuestro país. Bajo esta perspectiva, no podemos olvidar un componente fundamental en esta red de factores, el cual considera aspectos sociales e interculturales de la agricultura de nuestra tierra. La precaria vinculación, las significativas brechas económicas, y la baja disponibilidad de recursos para el acceso a la información que se puede observar en la Agricultura Familiar Campesina, establecen un sustrato multidimensional complejo del punto de vista económico y social, el cual deberá ser tomado en consideración a la hora de incorporar tecnologías innovadoras y/o cuando se desee transferir conocimiento a este sector. Entonces, es legítimo el surgimiento de interrogantes tales como: ¿Hacemos posible que esta revolución tecnológica se establezca con igualdad de oportunidades a todos los niveles económicos y sociales de nuestra agricultura? ¿Es posible incorporar nuevas tecnologías revolucionarias sin perder o afectar significativamente las tradiciones agrícolas de nuestra tierra? ¿Cuál será el grado de dependencia futura de los sistemas productivos respecto a estas nuevas tecnologías una vez adquiridas? ¿Cuál será la aceptabilidad o grado de adaptabilidad y resiliencia del sector agropecuario frente a la avasalladora revolución científica y tecnológica que inexorablemente se nos ofrecerá permanentemente? Respuestas simples y consensuadas en todas sus dimensiones parecieran no existir, y los debates referentes podrían no tener fin. Sin embargo, la búsqueda de un equilibrio bajo una armonización entre la aplicación de estas nuevas tecnologías y una agricultura tradicional coherente con las actuales y futuras exigencias, sería un camino viable a considerar para establecer una agricultura moderna, con equidad social, eficiente y sustentable ecológicamente.

El compromiso futuro de los diferentes actores involucrados en estos desafíos, deberán tener una mirada responsable y proactiva, con una proyección agronómica orientada hacia la modernización, considerando una intensificación sustentable de los agroecosistemas. Por otro lado, los organismos gubernamentales e instituciones pertinentes en materia de investigación, deberán establecer una agenda progresiva en el desarrollo de políticas para fomentar I+D+i, tanto para financiar proyectos como para preparar los agentes involucrados en su capacidad de investigar y gestionar procesos de I+D+i, salvaguardando simultáneamente una infraestructura idónea, la calidad de la preparación y la retención del capital humano avanzado. No es suficiente como país sólo incrementar el presupuesto de la nación en investigación (mayor % PIB) para alcanzar un nivel desarrollado en esta materia, sino que también, como se esbozó precedentemente, debemos estar preparados en cuanto a la capacidad humana para realizar I+D+i (cultura de lo que es hacer ciencia), contar con instituciones que posean directrices claras, coherentes y consolidadas para este propósito, junto con disponer de un sector privado que asuma riesgos y que se atreva a invertir en I+D+i.

Finalmente, este complejo escenario de alta demanda científica y tecnológica, plantea desafíos de gran rigurosidad profesional a los futuros Ingenieros Agrónomos, quienes deberán enfrentar y resolver problemas del agro en forma pluridimensional, con el apoyo de diversas e innovadoras estrategias tecnológicas. Para ello, deberán contar con competencias sólidas e idóneas en el ámbito conceptual, procedimental y actitudinal. Deberán saber identificar los problemas, analizar y proponer soluciones ingeniosas e integradoras, teniendo como insumos de solución, por un lado, sus propios conocimientos y capacidades resolutivas, y por otro, la disposición de una gran gama de alternativas tecnológicas y diversos procedimientos agronómicos, bajo un contexto de paradigmas inamovibles de la naturaleza. Todo este comportamiento profesional deberá ser llevado a cabo en un marco ético y legal, que procure una sustentabilidad social, económica y ecológica de los sistemas agropecuarios.

Dr. Alejandro Velásquez Briceño
Director Revista INNOVAGRO
Universidad Católica de Temuco

Valorización y promoción de *Gunnera tinctoria* (Nalca) mediante un manejo sustentable y el desarrollo de productos con valor agregado para la Agricultura Familiar Campesina de Carahue

La conservación y gestión sustentable de la naturaleza forma parte de la nueva agenda de desarrollo global para los próximos 15 años adoptada en la Asamblea General de las Naciones Unidas en septiembre de 2015, reflejando así el consenso universal existente en torno a la necesidad de cuidar la diversidad biológica de nuestro planeta. Chile, con características geográficas y ecológicas excepcionales, está avanzando en el desarrollo y consolidación de instrumentos para la conservación de la naturaleza y especialmente, en la Región de La Araucanía, donde especies nativas que han servido como fuente alimentaria y medicinal cobran importancia y a través de su estudio se han revalorizado, diversificando su uso y haciéndolo atractivo al consumo masivo.

Una de estas especies es *Gunnera tinctoria* (nalca), de la cual existe escasa información, no ha sido sujeta de estudio y se pretende a través de la propuesta analizar, estudiar *in situ* y entregar un valor agregado a su uso actual que nos permita revalorizarla como producto alimentario y desarrollar un protocolo de manejo sustentable de la especie para su propagación y protección.

La comunidad Mapuche Mateo Nahuelpán posee su arraigo e identidad sociocultural asociada al *lafken mapu*, espacio de significación y prácticas relacionadas con la recolección de diversos productos que forman parte de la alimentación y la salud de los *lafkenche*.

Uno de los productos que aún permanece en el borde costero, especialmente en los roquerías y menocos es la nalca. Más que un uso comercial, las nalcas para esta comunidad forman parte de las vivencias familiares desde antaño, en las que se realizaban viajes al sector del cerro para traer este preciado elemento el cual era usado como remedio (*lawen*), tintura y uso gastronómico hasta la actualidad. En la Región de La Araucanía, la nalca se comercializa su parte área o pecíolo por vendedores ambulantes y en ferias comunales, a nivel nacional llegan a la feria de Lo Valledor de Santiago donde se distribuyen al comercio informal; su valor fluctúa entre los $1000 y $1500 dependiendo de la altura y diámetro del pecíolo. Se consumen sus pecíolos crudos, sus hojas son utilizadas en la cocina chilota para cubrir y envolver preparaciones pero no son comercializadas, en algunas comunidades se ha procesado el pecíolo obteniendo jugo de nalca que se ha dado a conocer con degustaciones en algunas ferias locales sin llegar a ser masificado aún.

A través del proyecto de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) del Ministerio de Agricultura se pretende en primera instancia conocer y proteger el desarrollo *in situ* de la especie a través de un seguimiento y elaboración de un protocolo de manejo sustentable, rescatar el uso tradicional de la nalca tanto de consumo como uso en tintorería artesanal y lograr innovar con la nalca en algunas preparaciones gastronómicas que le otorgue diversificación y pueda ser más atractiva a los consumidores, desde el punto de vista de su valor salud y como parte del Patrimonio Agroalimentario, Cultural e Histórico del Territorio Lafkenche.

Información: Dra. Gina Leonelli C., ginalc@uct.cl
Proyecto FIA PYT 0703
(2017-2019)

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

DOCTORADO
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRODUCCIÓN ANIMAL ACUÁTICA | PRODUCCIÓN ANIMAL TERRESTRE

PRODUCCIÓN VEGETAL

CONTACTO
Dirección del Programa
Facultad de Recursos Naturales
Universidad Católica de Temuco
Campus San Juan Pablo II
Rudecindo Ortega 02950, Temuco

Fono: +56 45 2 205511/513
E-mail: doctoradocienciasagropecuarias@uct.cl
Web: doctorado-cs-agropecuarias.uct.cl

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
Universidad Católica de Temuco
ACREDITADO 2018-2019
Comisión Nacional de Acreditación CNA Chile

/Ciencias Agropecuarias

/CsAgropecuarias

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

CONICYT
Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica

ARAUCANÍA APROLECHE A.G.

GOBIERNO REGIONAL DE LA ARAUCANÍA

SEMINARIO INTERNACIONAL

CALIDAD DE LA LECHE BOVINA Y SU IMPACTO COMERCIAL

PROYECTO VINCULACIÓN CIENCIA EMPRESA (VCE6000008) CONICYT REGIONAL

15:00-15:30	**Inscripciones**
15:30-15:45	**Palabras de bienvenida** Dr. Carlos Lüders Post Vicerrector de Investigación y Postgrado.
15:45-16:15	**Alcances y perspectivas del proyecto Vinculación Ciencia Empresa asociado al mejoramiento del contenido de proteína en la leche** Dr. Alejandro Velásquez Briceño Académico Escuela Agronomía UC Temuco. Director Proyecto Vinculación Ciencia Empresa (VCE6000008).
16:15-17:00	**Implementación de un sistema de pago por atributos de calidad en la leche cruda de Argentina** Profesor Eduardo Baravalle Médico Veterinario. Docente Departamento de Producción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral.
17:00-17:15	**Coffee break**
17:15-18:00	**Pago por calidad de leche en Chile, evolución y su impacto en las lecherías** Dr. Juan Pablo Keim San Martín Académico Instituto Producción Animal. Universidad Austral de Chile.
18:00-18:15	**Ronda de preguntas y finalización del seminario**

22 Junio/ 15:00 h.

Auditorium Edificio Cincuentenario Campus San Juan Pablo II UC Temuco

CONICYT PROYECTO VINCULACIÓN CIENCIA EMPRESA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Esta iniciativa es financiada con recursos de la provisión FIC del gobierno regional de La Araucanía

UNIVERSIDAD CATOLICA DE TEMUCO

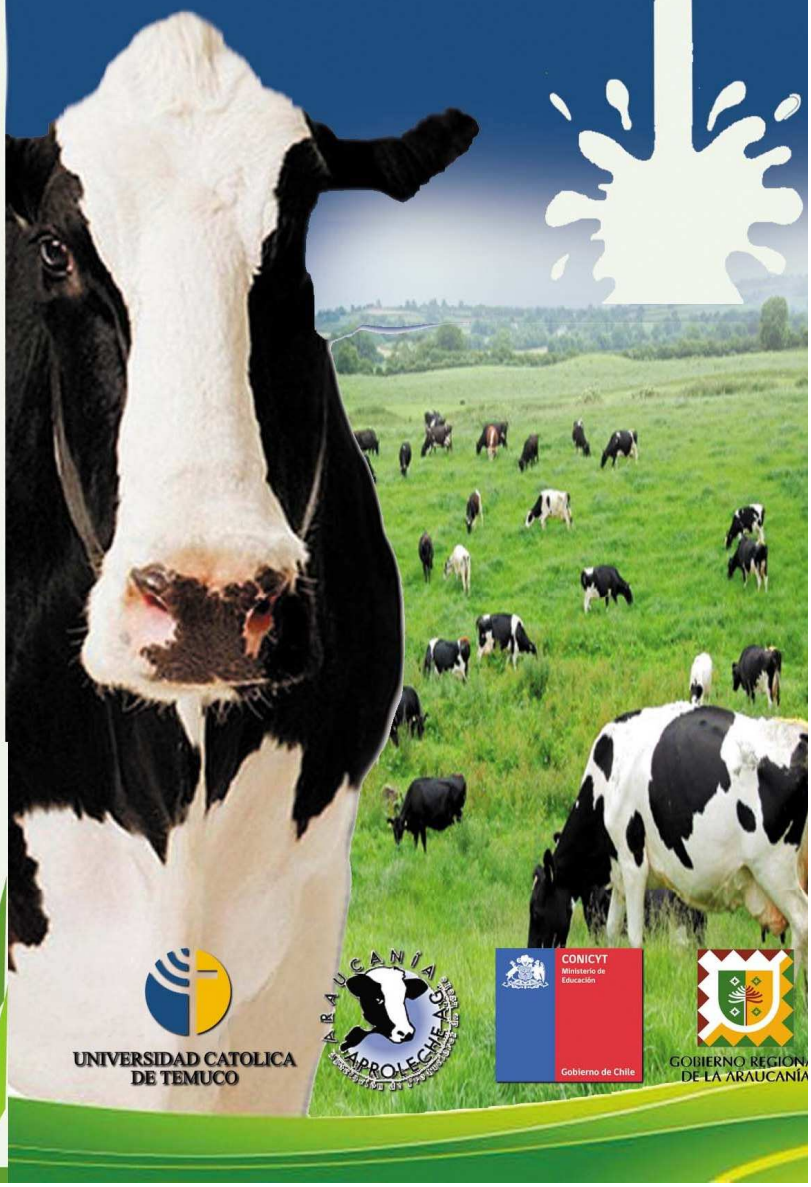
ARAUCANÍA APROLECHE A.G.

CONICYT Ministerio de Educación Gobierno de Chile

GOBIERNO REGIONAL DE LA ARAUCANÍA

Dr. Alejandro Velásquez Briceño
Teléfono: (56) 45 2553929
Campus San Juan Pablo II,
Avenida Rudecindo Ortega 02950
Edificio Cincuentenario Of. 312
Casilla: 15D Temuco, Chile
Mail: avelasquez@uct.cl

PROYECTO VINCULACIÓN CIENCIA EMPRESA CONICYT REGIONAL VCE6000008



UNIVERSIDAD CATOLICA DE TEMUCO

ARAUCANÍA APROLECHE A.G.

CONICYT Ministerio de Educación Gobierno de Chile

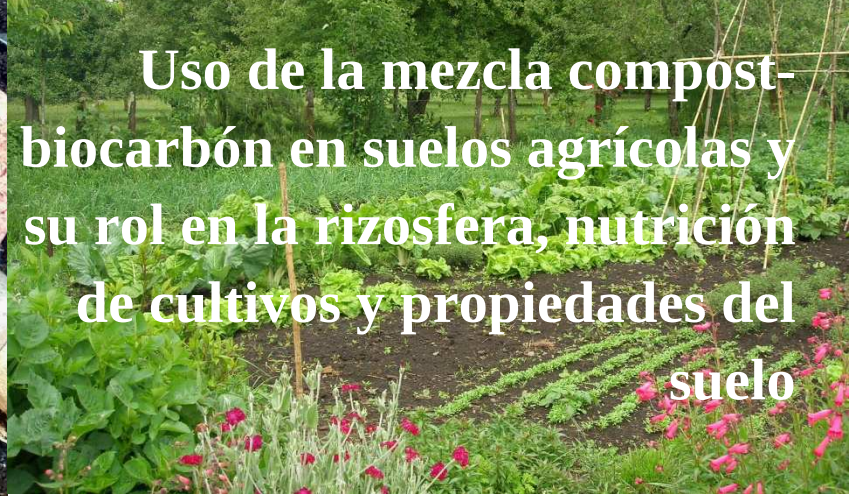
GOBIERNO REGIONAL DE LA ARAUCANÍA

Desarrollo de plataforma de trabajo conjunto entre la UC TEMUCO y APROLECHE para la generación de un aditivo alimenticio para incrementar la concentración de proteína verdadera en la leche bovina.

La baja concentración de proteína verdadera (PV) presente en la leche bovina, es una problemática derivada de la ineficiencia del uso de compuestos nitrogenados en la nutrición de vacas lecheras, no existiendo estrategias nutricionales eficaces ni aditivos alimenticios que permitan incrementar de una forma permanente y segura el contenido de PV en la leche bovina. Por lo tanto, la necesidad de encontrar un aditivo nutricional que eleve los contenidos de PV en la leche a partir de especies vegetales de Chile con altas concentraciones de compuestos bioactivos es uno de los principales objetivos de este proyecto.

OBJETIVO GENERAL

Fortalecimiento del capital social regional del sector lechero, mediante el establecimiento de una plataforma de trabajo conjunto entre la UC Temuco y APROLECHE ARAUCANIA A.G. para establecer a mediano y/o largo plazo un bioproducto que permita incrementar el contenido de proteína verdadera de la leche.



Uso de la mezcla compost-biocarbón en suelos agrícolas y su rol en la rizosfera, nutrición de cultivos y propiedades del suelo

La utilización de enmiendas en suelos agrícolas es una práctica habitual en la agricultura, dado que contribuyen al mejoramiento de las características físicas, químicas y biológicas del suelo. En este sentido, el uso de compost y biochar o biocarbón (BC) son buenas alternativas dadas sus propiedades nutricionales y fisicoquímicas. Sin embargo, el compost presenta una rápida mineralización por la microbiota del suelo, mientras el biocarbón posee escaso valor nutritivo en relación a los requerimientos de algunos cultivos. Una alternativa frente a estos aspectos es realizar procesos de co-compostaje, el cual es un tratamiento biológico en el que microorganismos mesófilos y termófilos usan materia orgánica (MO) como sustrato, utilizando además un agente agregante como BC, obteniéndose un material nutricionalmente equilibrado y con una MO más estabilizada que evita la rápida degradación.

En vista a los antecedentes mencionados, el proyecto definió como objetivo general "estudiar el efecto de la aplicación de una mezcla compost-biochar en suelos con diferente contenido de MO sobre las comunidades microbianas a nivel de la rizosfera, establecer el efecto sobre el desarrollo radical y captación de nutrientes en trigo y evaluar la influencia de las enmiendas en parámetros de sustentabilidad del suelo como son la fertilidad, agregación y parámetros biológicos".

Dentro de las actividades realizadas se elaboró biocarbón de cascarilla de avena a 300°C.

Posteriormente, se procedió a realizar compost de manera tradicional utilizando insumos intraprediales como estiércol de oveja y paja de avena. Además, se realizó un proceso de co-compostaje durante 144 días, incluyendo biocarbón en distintos porcentajes en la mezcla. Terminado el co-compostaje, se caracterizó el aporte nutricional de las enmiendas. Posteriormente, las enmiendas fueron aplicadas en diversos ensayos tanto en sustrato como en suelos, con el fin de evaluar su efecto en la adquisición de nutrientes, arquitectura, crecimiento radical y exudación de ácidos orgánicos a nivel de la raíz en trigo, cultivo utilizado como planta modelo. Conjuntamente, se evaluaron propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos.

Los resultados obtenidos dan cuenta de un efecto positivo frente a la aplicación de las enmiendas con BC en las dosis más altas de BC como agente agregante en el co-compostaje. Se observó un aumento en la biomasa aérea y radical y una mayor eficiencia en la nutrición del cultivo. En relación al suelo, varios parámetros físicos, químicos y biológicos se vieron beneficiados con las enmiendas co-compostadas. Los resultados obtenidos en este proyecto poseen implicancias para la agricultura familiar campesina, dado que la utilización de enmiendas intraprediales disminuyen el uso de fertilizantes sintéticos, promoviendo una agricultura más sustentable.

Información: Dr. Gustavo Curaqueo Fuentes: gcuraqueo@uct.cl

Proyecto FONDECYT Iniciación 1140508 (2015-2017).

Rol del metabolismo mitocondrial y su relación con la fotosíntesis y la resistencia a aluminio (Al^{3+}) en arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivado en el sur de Chile.

El aluminio (Al) es un importante factor de estrés abiótico que puede limitar la productividad de muchas especies cultivadas alrededor del mundo. El Al puede incrementar su biodisponibilidad en suelos ácidos (pH<5,5) característicos en el sur de Chile, y que se les conoce con el nombre de Andisoles, que son típicamente ácidos y contienen considerable Al intercambiable (saturación de Al>20%). Bajo esta condición de acidez se genera la forma más tóxica de aluminio (Al^{3+}) y origina que este ión esté altamente disponible en la solución del suelo. El Al^{3+} puede provocar inhibición del crecimiento, desarrollo y funcionalidad de las raíces afectando posteriormente el rendimiento y calidad de los cultivos. La fitotoxicidad de Al^{3+} puede inducir alteraciones a nivel celular, afectando las biomembranas, induciendo desórdenes enzimáticos, perturbaciones en la síntesis de ácidos nucleicos, así como también la absorción, translocación y la utilización de otros elementos minerales importantes como Ca, Mg, Fe y P, provocando estrés oxidativo y finalmente apoptosis. Por otro lado, la toxicidad por Al^{3+} en especies como *Vaccinium corymbosum* y *Camellia sinensis* puede afectar negativamente la fotosíntesis neta, el desempeño fotoquímico del fotosistema II, la conductancia estomática y la transpiración, entre otros parámetros importantes para la productividad. No obstante, las plantas han desarrollado sofisticados mecanismos de resistencia frente a la toxicidad por Al, sin embargo,

estas estrategias son altamente dependientes de la especie o el genotipo. Estos mecanismos de resistencia se basan en: a) la "exclusión del Al^{3+}" en la rizosfera, mediado por la liberación de ácidos orgánicos provenientes del ciclo de los ácidos tricarboxilicos (TCA) cuya función es evitar que el elemento se incorpore a la raíz; y b) basado en la "tolerancia al Al^{3+}" una vez que el elemento tóxico entra al citoplasma celular. En este contexto, el proyecto FONDECYT Iniciación N°11160355 que lidera el Dr. Claudio Inostroza-Blancheteau, profesor Asociado al Departamento de Ciencias Agropecuarias y Acuícolas de la Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Católica de Temuco en colaboración con el Dr. Adriano Nunes-Nesi del Departamento de Biologia Vegetal de la Universidade Federal de Vicosa de Brasil y la Dra. Marjorie Reyes-Díaz del Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales de la Universidad de La Frontera han realizado evaluaciones tendientes a dilucidar y entender el y/o los mecanismos de resistencia a Al en arándano alto (*V. corymbosum* L.) evaluando la exudación de ácidos orgánicos (oxalacetato, citrato, malato y succinato) en cultivares como Brigitta, Legacy y Bluegold. Los resultados han mostrado diferencias significativas en los ácidos orgánicos exudados desde las raíces, siendo oxalacetato el de mayor concentración, seguido de citrato. Estos aniones orgánicos podrían formar complejos con Al^{3+}, con el siguiente orden de efectividad: citrato>oxalacetato>malato, lo que estaría directamente asociado con el nivel de tolerancia a Al^{3+} en diferentes especies de plantas.

El arándano alto es una especie muy importante a nivel mundial, debido a sus altos contenidos de antioxidantes e importantes atributos para la salud. En Chile, el arándano fue introducido en la década de los noventa, y ha presentado muy buenos resultados de adaptabilidad y producción. En la actualidad, la superficie cultivada en nuestro país supera las 16 mil hectáreas, actividad que se concentra principalmente en la zona centro-sur y sur, que se caracteriza por poseer suelos ácidos derivados de cenizas volcánicas recientes (Andisoles), que limitan significativamente el crecimiento y producción de varios cultivos. A pesar de que el arándano alto se adapta bien a los suelos ácidos, aún son insuficientes los antecedentes respecto a los efectos de Al^{3+} sobre los posibles mecanismos y respuestas fisiológicas en esta especie. Es por ello que este estudio busca dilucidar el rol del metabolismo mitocondrial y su relación con la fotosíntesis y la resistencia a Al^{3+} en arándanos cultivados en el sur de Chile.

En este contexto, el ciclo de los ácidos tricarboxilicos (TCA) es un componente fundamental de la respiración mitocondrial, que une la glucólisis y/o la síntesis de malato extra-mitocondrial a la cadena de transporte de electrones en la mitocondria. Se ha reportado que los mecanismos de resistencia a Al están relacionados con la secreción de ácidos orgánicos provenientes del metabolismo de los TCA. El Al^{3+} puede provocar disfunción mitocondrial, inhibición de la respiración celular, reducción de ATP, inducción de especies oxígeno reactivas, colapso del potencial de membrana mitocondrial interna, activación de la

proteasa mitocondrial y finalmente, la inducción de la apoptosis nuclear que resulta en el proceso de muerte celular programada.

Por otra parte, la síntesis de ácidos orgánicos a partir del TCA, donde se han identificado genes que son involucrados en la biosíntesis de citrato a través de la enzima citrato sintasa (CS) y fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), donde se establece que la sobreexpresión individual o simultánea de estos genes produce un aumento en la concentración de ácidos orgánicos como citrato y oxalato en varias especies vegetales. Por otro lado, existen reportes que relacionan la actividad mitocondrial como un factor esencial para una óptima actividad fotosintética en plantas. En el caso de las enzimas del TCA se ha demostrado que estas no tienen solo una función en el ciclo, sino que también, forman parte en la biosíntesis de los ácidos orgánicos para otros procesos que se realizan en las células vegetales, relacionados al rendimiento fotosintético, biomasa vegetal, fotorrespiración, asimilación de nitrógeno, metabolismo de los aminoácidos, regulación de la apertura y cierre estomático en las hojas de las plantas. Una de las enzimas del TCA la malato deshidrogenasa mitocondrial (mMDH), exhibe una mejorada actividad fotosintética y asimilación de CO_2, acompañado de un crecimiento del follaje y una alta acumulación de carbohidratos y de ascorbato (molécula relacionada con el estrés oxidativo) en tomate. En este sentido, se ha descrito que los cambios en las cantidades de las isoformas MDH pueden afectar el flujo metabólico de varios ácidos orgánicos, produciendo efectos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluyendo la resistencia al Al^{3+} y la biodisponibilidad de algunos nutrientes.

Información: Dr. Claudio Inostroza-Blanchetau: claudio.inostroza@uct.cl

Proyecto FONDECYT Iniciación 11160355.

XXVIII JORNADAS EXTENSIÓN AGRÍCOLA
Berries en el Sur de Chile

1er Seminario. Desafíos y proyecciones en el rubro berries a partir de la Agricultura Familiar Campesina de La Araucanía.

09:30	**Inscripciones**
10:00	**Palabras de Bienvenida** Dr. Celso Navarro. Decano de la Facultad de Recursos Naturales de la UC Temuco. Sr. Christian Nuñez. Director Regional INDAP Araucanía. Sr. Antonio Domínguez. Director Chilealimentos A.G. Sr. Francisco Cheuque. Director Comité Técnico de Berries de La Araucanía.
10:30	**"Visión de la Agroindustria con el sector de berries de la Agricultura Familiar Campesina ¿Cómo construir un trabajo conjunto a largo plazo?"** Sr. Antonio Domínguez D., Director Chilealimentos A.G; Presidente de International Raspberry Organization – IRO; Presidente Nevada Chile S.A.
11:30	**Café**
12:00	**"Realidad mundial, nacional y regional en innovación en el rubro frambuesa. Posibilidades de acceso de la AFC a los mercados con productos industrializados innovadores"** Sra. Sandra Bocks S. Gerente Comercial de Vilkun S.A. Directora de Chilealimentos S.A.
13:00	**Ronda de preguntas**
13:30	**Periodo de Mizagun (traer rokiñ)**
15:00	**"Desafíos de la Universidad en la vinculación con la agricultura familiar campesina e indígena. La formación de profesionales íntegros para el futuro del agro regional"** Dra. Gina Leonelli C. Directora de la Carrera de Agronomía UC Temuco.
15:45	**"Situación actual de plaga emergente *Drosophila suzukii* en berries"** Sra. Carmen Gloria Velásquez T. Encargada Agrícola y Forestal SAG Araucanía.
16:30	**"Impacto de los factores climáticos sobre la productividad y calidad en arándanos"** Dr. Claudio Inostroza-Blancheteau. Académico Escuela de Agronomía UC Temuco.
17:00	**Cierre de la actividad**

Organizan

COMITÉ TÉCNICO DE BERRIES DE LA ARAUCANÍA

INDAP Ministerio de Agricultura

REFORMA AGRARIA

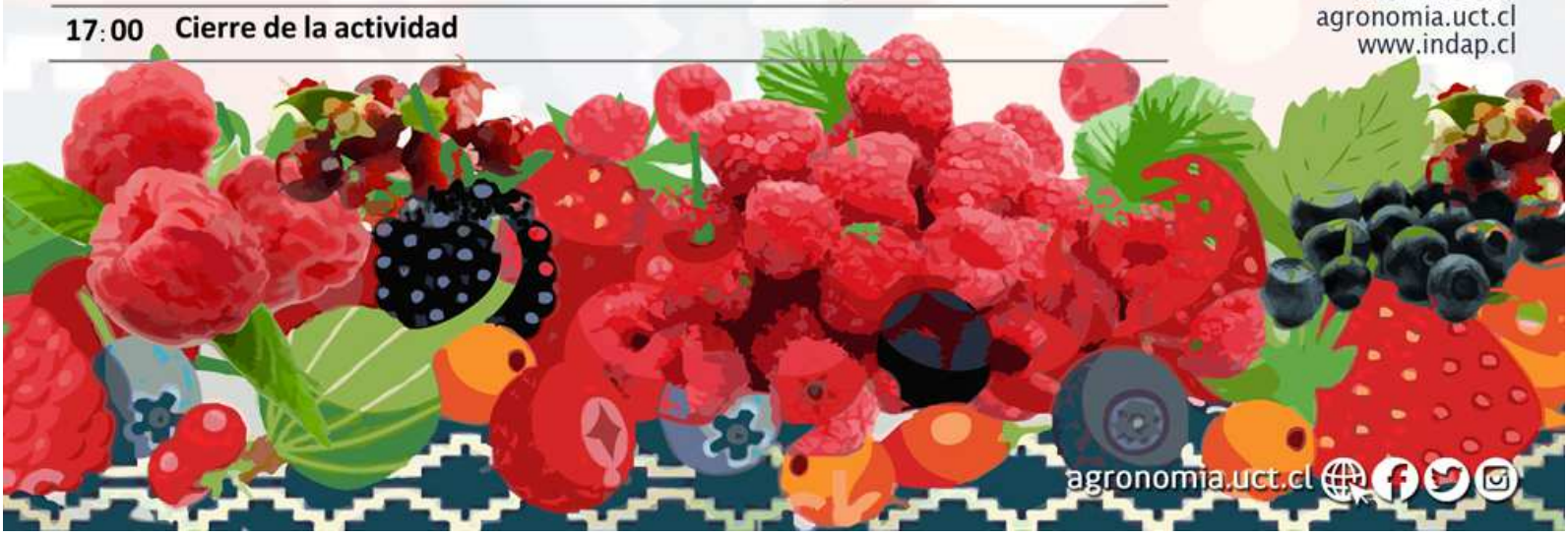
Chilealimentos

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

7 Agosto 2017

Aula Magna UC Temuco
Manuel Montt 056
Temuco

Información:
agronomia.uct.cl
www.indap.cl



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

CONICYT
Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica

ARAUCANÍA APROLECHE A.G.

GOBIERNO REGIONAL DE LA ARAUCANÍA

II SEMINARIO INTERNACIONAL

ESTRATEGIAS Y PERSPECTIVAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA LECHE BOVINA

15:00-15:30	**Inscripciones**
15:30-15:40	**Palabras de bienvenida** Dr. Celso Navarro Cárcamo Decano Facultad de Recursos Naturales Universidad Católica de Temuco
15:40-16:10	**Análisis de las principales estrategias para mejorar el contenido de proteína en la leche bovina** Dr. Alejandro Velásquez Briceño Académico Escuela Agronomía UC Temuco Director Proyecto Vinculación Ciencia Empresa (VCE6000008)
16:10-16:40	**Identificación de especies vegetales con potenciales propiedades bioactivas para incrementar el contenido de proteína verdadera en la leche bovina** Dr. Manuel Chacón Fuentes Investigador Proyecto VCE6000008 Escuela de Agronomía Universidad Católica de Temuco
16:40-17:10	**Metano y productividad animal: resultados preliminares de meta-análisis** PhD MSc Emilio M. Ungerfeld Cientifico en Nutrición de Rumiantes Investigador INIA Carillanca
17:10-17:30	**Coffee break**
17:30-18:15	**Milking machine aspects: elements, functions, settling and impact on milk quality and udder health** PhD MSc Pierre-Guy Marnet Research and development advisor Department of Animal Sciences and Food Products AGROCAMPUS OUEST, Rennes, France
18:15-18:30	**Ronda de preguntas y finalización del seminario**

29 de agosto/15:00

Auditorium Edificio Biblioteca

Campus San Juan Pablo II

CONICYT PROYECTO VINCULACIÓN CIENCIA EMPRESA (VCE 6000008)

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE AGRONOMÍA

Esta iniciativa es financiada con recursos de la provisión FIC del gobierno regional de La Araucanía

Seminario "Suelos y Agricultura"

Perspectivas para la sustentabilidad

MARTES 05 DIC

PROGRAMA

09:00 - 09:30 **REGISTRO**

09:30 - 09:40 **SALUDOS DE BIENVENIDA AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**
Dr. Celso Navarro C. Decano Facultad de Recursos Naturales. Universidad Católica de Temuco
Dra. Ximena Araneda D. Directora Escuela Agronomía. Universidad Católica de Temuco.

09:45 - 10:15 **ROL DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN LOS SUELOS AGRÍCOLAS**
Dra. Claudia Castillo R.
Académica, Investigadora. Universidad Católica de Temuco.

10:15 - 10:45 **LA IMPORTANCIA DE LA CONSERVACION DE LA ESTRUCTURA EN EL ROL DEL SUELO COMO ALMACÉN DE AGUA PARA LA AGRICULTURA**
Dr. José Dörner F.
Académico, Investigador. Universidad Austral de Chile

10:45 - 11:15 **BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA LA SUSTENTABILIDAD DE SUELOS AGRICOLAS**
Dr. Mauricio Schoebitz C.
Académico, Investigador. Universidad de Concepción.

11:15- 11:30 **COFFEE BREAK**

11:30- 12:10 **BIODIVERSIDAD DE MICORRIZAS Y SOSTENIBILIDAD DEL SISTEMA SUELO-PLANTA**
Dra. María del Mar Alguacil G.
Investigadora. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura CEBAS-CSIC. España

12:10- 12:40 **SISTEMA DE INCENTIVOS PARA LA SUSTENTABILIDAD AGROAMBIENTAL DE SUELOS AGROPECUARIOS, EN EL SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO.**
Sr. Angel Centrón L.
Ingeniero Agrónomo. Encargado SIRDS-D Región de la Araucanía. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

12:45- 13:00 **MESA REDONDA Y COMENTARIOS FINALES**

13:00- 13:10 **PALABRAS AL CIERRE**
Dr. Gustavo Curaqueo.
Académico. Investigador. Universidad Católica de Temuco

Organizan

Fondecyt
Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

Auspicia

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO | NÚCLEO DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCCIÓN ALIMENTARIA

Lugar: Auditorio Cincuentenario. Campus Juan Pablo II.
Universidad Católica de Temuco

Informaciones y contacto: gcuraqueo@uct.cl /452-553732

INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS AGRONOMÍA UC TEMUCO

IDENTIFICATION OF *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not, TELEOMORPH OF *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desm., THE CAUSAL AGENT OF BLACKLEG OF OILSEED RAPE (*Brassica napus* L.) IN CHILE

Identificación de *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not, teleomorfo de *Phoma lingam* (Tode: Fr.) Desm., el agente causal de pie negro del raps (*Brassica napus* L.) en Chile

Orlando Andrade[1*], Valeria Sanhueza[1], Leonardo Anabalón[1]
[1]Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco. Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile.
*Email: oandrade@uct.cl; Fono: 45-2553919

RESUMEN
Desde rastrojo de raps canola colectado en el año 2009 en una siembra comercial ubicada en la Región de La Araucanía, en el sur de Chile (38º 36'02" S, 72º 18' 01" O), se detectó la presencia de pseudotecios negros, de 371 a 410 µm de diámetro promedio, mayoritariamente alrededor del cuello de las plantas y en las raíces principales. Bajo el microscopio de luz se observaron ascos cilíndricos o con forma de mazo, con estípite corto, de 108 a 126 µm x 12,5 a 15,7 µm de ancho, de paredes bitunicadas y con ocho ascosporas alineadas en pares. Después de 24 h de mantenidas en cámara húmeda en una placa de Petri, los pseudotecios descargaron ascosporas café amarillentas, cilíndricas a elipsoidales, mayoritariamente con cinco septos, extremos redondeados, de 53,2 a 68,9 µm de largo (63,3 en promedio) y 6,9 a 9,1 µm de ancho (8,0 en promedio). Cultivos mono ascospóricos obtenidos en medio PDA y luego, transferidos a medio agar V8, originaron después de 12 días a 22ºC y bajo condiciones de luz continua, picnidios con picnidiosporas características de *Phoma lingam*, el estado anamórfico de *Leptosphaeria maculans*. Pruebas de patogenicidad realizadas en plántulas de raps canola var. Artus, de 10 días de desarrollo, dieron como resultado el desarrollo de síntomas foliares característicos de pie negro, con abundante producción de picnidios. La amplificación por PCR de la región ITS de los genes ribosomales con los partidores PN3 y PN10, señalaron que el ADN analizado correspondía en todos los casos al hongo *L. maculans*. Una prueba adicional, tendiente a determinar los grupos de patogenicidad a los cuales pertenecen tres de los aislamientos monospóricos obtenidos, indicaron que todos ellos corresponden al grupo PG4-A1. La morfología de los pseudotecios, ascos y ascosporas, el desarrollo de picnidios y picnidiosporas características de *P. lingam* obtenido desde los aislamientos mono ascospóricos y, las positivas pruebas de patogenicidad desarrolladas en plántulas de raps canola, confirmaron la presencia de *L. maculans* (Desm.) Ces. & De Not, estado telomórfico de *P. lingam* (Tode:Fr.) Desm., en cultivos de raps canola en Chile. Este es el primer reporte sobre la presencia de *L. maculans*, fase sexual de *P. lingam*, en Chile.
Palabras clave: pie negro, enfermedades del raps canola, *Leptosphaeria maculans, Phoma lingam*, *Brassica napus* L.

INTRODUCTION

The blackleg of canola is a fungal disease caused by the ascomycete *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces & et de Not., whose anamorph stage is the deuteromycete fungus *Phoma lingam* (Tode: Fr. Desm.). The disease is found wherever canola is growing and is considered one of the most important disease of this crop. Great losses have been reported in France, Australia, and Canada. In Australia reports losses of 68 and 85% on 1972 and 1973, respectively (Barbetti and Khangura, 1999). In Canada, the blackleg is considered the most important disease of canola crops, with losses up to 56% with an average of annual losses over 30 millions of Canadian dollars (Pedras *et al*., 1996). In the UK, losses have been estimated in about €56 million per season (Fitt *et al*., 2006).

The fungus can spread to new cultivated area through contaminated seed. Reports from Australia have shown that a 5.6% of contaminated seed may give rise 19% of plants with symptoms in the field, while a 0.08% gave rise 1.1% of infected plants (Wood and Barbetti, 1977). However, in soils with abundant stubble, infected seed has little importance in the epidemiology, as the infection can be easily produced from infected stubble by direct contact or rain-splashed conidia (Hall, 1992). The main way the fungus initiates the epidemic and spread in the field is by airborne ascospores released from perithecia developed on the stubble (Mahuku *et al*., 1997). The occurrence of ascospores discharge varies from region to region, but it uses to occur when young susceptible plants are present in the field. In Australia, ascospores starts been released from debris in May as a response of autumn rainfall which also coincides with seedling emergence (McGee, 1977). It has also been established that pseudothecia maduration and ascospores discharge start much earlier in high-rainfall areas than in medium- or low-rainfall areas in Australia (Khangura *et al*., 2007). The same situation may occur in Chile as the first symptoms are easily detectable on cotyledons and first canola leaves by the middle of June on the La Araucania region (Andrade, 2009). However, the main difference between Australia and Chile is that in the former, spring canola cultivars are grown over the winter/spring period while in Chile, mostly winter cultivars are grown during a similar period. In western Europe, ascospores are also released throughout autumn/winter period mostly, while in the eastern Europe the main release occurs early in spring after the cold winter (Jedryczka *et al*., 1999).

Both, ascospores and conidia may initiate the infection adhering to the surface of cotyledons or young leaves. Symptoms varies according to the race or pathogenicity group of the fungus (West *et al*., 2001). Thereafter, the fungus may grow biotrophically in the lamella and petiole of the leaves colonizing the hypocotyls and stems. Growing down to the stem base, the fungus produces a constriction just above the ground what may cause a severe seedling blight and therefore a considerable reduction on the plant population. This severe attack is much common in Australia and Canada, but in Europe it is rare (Paul and Rawlinson, 1992). At maturity, the stem base lesion coalesces, crack open and form the typical dry rot of stem collar or crown, where the blackleg, crown canker, collar rot or stem canker name derives (West *et al*., 2001). This necrosis of the stem base disrupts water transport causing premature ripening and sometimes the lodging and death of the affected plants (Davies, 1986). In Chile, stem base lesions on young plants is a quite common symptom, increasing its severity on rainy and cold winter seasons (Andrade,

2009). Stem canker is also a common symptom on canola crops causing a premature ripening of the plants, characterized by a whitish color of the stems. *Leptosphaeria maculans* can also infect *Brassica napus* roots via above- and below-ground sources of inoculum, but its importance under field conditions is unknown (Sprague *et al*., 2007).

The characterization of the pathotypes using *B. napus* differential cultivars, is a widely used method where variation in the virulence of the isolates, is displayed in the form of resistant or susceptible reaction on these cultivars (Pongam *et al*., 1999; cited by Chen and Fernando, 2005). Four differential cultivars of *B. napus* have been used to identify the *L. maculans* pathogenicity groups: cv. Westar which carries none resistance genes (susceptible check); cv. Quinta which carries *RLm1* and *RLm4* resistancxe genes, and cv. Glacier which carries *RLm3* and *RLm2* resistance genes (Balesdent *et al*., 2005). PG-2 are avirulent on cvs. Glacier and Quinta; PG-3 are avirulent on cv. Quinta, but virulent on cv. Glacier; and PG-4 that are virulent on all three cultivars. Thereafter, following the addition of cv. Jet Neuf into this differential set (Badawy *et al*., 1991; Kuswinanti *et al*., 1999; cited by Balesdent *et al*., 2005), the three pathogenicity group were sub divided into A1 to A6 groups or races, each one corresponding to different combinations of alleles of the avirulence (*Avr*) genes. In 2005, Balesdent *et al*. identified new avirulence genes, *AvrLm1* to *AvrLm9* based on the reaction of a new set of canola differentials, proposing a new methodology to homogenize the terminology about *L. maculans* race structure, based on their avirulence (Avr) genes composition.

Leptosphaeria maculans and *L. biglobosa* as well, are both part of the stem canker fungal complex, and are often found in the same infected plant (Rouxel and Balesdent, 2005). In 2003, Mendes-Pereira *et al*., developed a PCR method to differentiate *L. maculans* from *L. biglobosa*.

In 2009, both species were identified from samples collected in the Temuco area of Chile (Dilmaghani *et al*., 2009). However, the analyzed fungal isolates were obtained by inducing hyphal grows from stems or from picnidia, without any reference to the presence of the teleomorphic stage of the fungus. In this study, the presence at southern Chile of *L. maculans*, the teleomorphic stage of *P. lingam*, is described.

MATERIALS AND METHODS

Macro and microscopic analysis of canola stubble, and fungal isolation

Canola stubble collected in 2009 from a commercial crop of cv. Artus located near Vilcún city (38º 36’02” S, 72º 18’ 01” W), the Araucanía Region in Southern Chile, was analyzed under an stereoscope microscope where a small (371 to 410 µm of diameter), round, black bodies with an opening at the top, were observed over the tissue at the base and main roots. Their analysis under a light microscope indicated the presence of pseudothecia. Twenty five asci and 90 ascospores were measured with the micrometric ruler of the microscope (Carl Zeiss, Mod. Standard, phase contrast microscope, Oberkochen, Germany). Small pieces of stubble tissue containing a few pseudothecia were adhered with vaseline at the top of Petri plate caps, pointing downward to a PDA + streptomycin sulfate (200 mg L^{-1}) medium to induce discharge of the ascospores. Once discharged and after 48 h, individual ascospores were identified under a stereoscope microscope within a hood and aseptically transferred to a new PDA medium. The plates were incubated at

26ºC for 10 days and thereafter, mycelium tips were transferred once again to a V8 (200 mL of V8 juice, 1 g of $CaCO_3$, 13 g of agar and 1.000 mL of distilled water) medium, and incubated for 10 days under continuous light at 22ºC to induce picnidia formation. Once picnidia formed, picnidiospores were collected by flooding de Petri plates with 4 mL of sterile distilled water, gently brushed with a glass rod made up of Pasteur pipette, and collected with a micropipette into 2 mL eppendorf sterile tubes. Then, the eppendorf tubes were maintained at -5ºC until use.

Pathogenicity test

Canola plantlets cv. Artus of 7 days grown in sterile Andisol soil in 150 mL polystyrene pots, were inoculated with picnidiospores developed from 3 different monoascosporic isolates in V8 medium, by superficially puncturing one of the cotyledon with the tip of a sterile hypodermic needle, and placing 10 uL of a turbid inoculum over the injury. Two pots with 5 canola plantlets each were inoculated with each one of three monoascosporic isolates. Another pot with the same number of canola plantlets were punctured in the same way and 10 µL of sterile distilled water was placed over each injury as a check. Once inoculated, the pots were placed on a plastic tray with distilled water on the bottom, and covered with a plastic case made of transparent polyethylene to maintain high humidity inside for 48 h. The pots and trays were kept in a greenhouse at 20 to 25ºC with an air conditioner for 15 days.

Molecular identification of *L. maculans*

Genomic DNA from conidial suspension of six monoascosporic isolates, was extracted based on the protocol described by Paolocci *et al*. (1999), with some modifications. Briefly, 100 µL of each conidial suspension was incubated in 300 µL of lysis buffer (200 mM of Tris HCl, pH 7.5; 250 mM NaCl ; 25 mM EDTA; 0.5% SDS), at 65ºC during 30 min for the tissue dissolution. After the incubation, was mixed in vortex and centrifuged for 10 min at 10,000 rpm. For the DNA precipitation, isopropanol was used adding 300 µL to each tube and incubated at -20ºC during the night. Then, they were centrifugated at 10,000 rpm during 5 min. Thereafter, the supernatant was discharged keeping the pellets to which 300 µL of 70% of ethanol was added to wash them. They were centrifuged once again at 10,000 rpm for 5 min. After that, the ethanol was eliminated and 50 µL of deionized water was added to suspend the DNA. It was rehydrated at 4ºC during the night and then was kept at -20ºC until use. The DNA integrity was checked by 1% of agarose gel electrophoresis in TAE (Tris, acetate and EDTA), stained with ethidium bromide (0.5 mg mL^{-1}) (Sambrook and Russel, 2001).

With the purpose to identified *L. maculans* and to discharge the presence of *Leptosphaeria biglobosa*, a PCR reaction was run to amplify the ITS ribosomal gene regions, using the PN3 (5'-CCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATC-3') and PN10 (5'-TCCGCTTATTGATATCGTTAAG) primers (Balesdent *et al*., 2005). Some minor modifications were introduced to the amplification protocol described by Balesdent *et al*. (1998), using a final volume of 13 µL containing 1 µL of the DNA template, 1.5 mM of $MgCl_2$, 0,2 mM of desoxirribonucleotides triphosphate, 1 µM of each primer, and 0.6 U of *Taq* polymerase. The PCR reaction was run in a MultiGene Thermal Cycler, with 37 cycles. Each cycle consisted in 30 s

at 94ºC, 30 s at 58ºC, and 1 min at 72ºC. The amplification products were separated in a 1% agarose gel electrophoresis, in 1x TBE buffer, and visualized in a UV transilluminator previously stained with ethidium bromide (0.5 mg mL^{-1}) (Sambrook and Russel, 2001).

Identification of pathogenicity groups

Three pots with 5 canola plantlets each, of the canola cultivars Westar, Quinta, Glacier, and Jet Neuf, of 10-days growing, were separately inoculated with 10 µL of $1,5x10^7$ conidial suspension of each one of three monoascosporic isolates, into the cotyledons previously punctured once with a sterile 1 mL-syringe needle. A fourth pot of each canola cultivar with the same number of canola plantlets, was punctured in the same way and 10 µL of sterile distilled water was placed over each injury as a check. The pots with the inoculated plantlets were maintained at 24ºC, 90% HR and continuous illumination under growth chamber conditions. Every 2 at 3 days, the primary leaves growing were excised to ensure that cotyledons will expand a remain green until evaluation. Interaction phenotypes (IP) were scored between 14 and 21 days after inoculation, using a scale of 1 at 6 infection classes (IC) (Balesdent *et al*., 2005), where IC1 is the typical hypersensitive reaction; IC2 represents a larger (1.5-3 mm) dark necrotic lesion; IC3 is a non sporulating lesion sharply delimited by a dark necrotic margin that may extend within the lesion, IC4 to IC6 are characterized by gray-green tissue collapse without a darkened margin, and showing no sporulation (IC4), a few pycnidia (IC5), or profuse sporulation (IC&). IC1 to IC3 are considered resistance response and IC4 to IC6 are considered susceptible response.

RESULTS AND DISCUSSION

Macro and microscopic analysis of canola stubble, and fungal isolation

The macro and microscopic observation of canola stubble, revealed the presence of black pseudothecia, of 371 to 410 µm of diameter in average, with protruding ostioles, mostly around the neck of the canes and at the main root were observed (Figure 1). Cylindric to clavate, shortly stipitated, of 108 to 126 µm long x 12.5 to 15.7 µm wide, bitunicated walls, 8 biseriated spored asci were observed under light microscope (Figure 1). After 24 h under moist conditions in a sterile Petri plate, the pseudothecia discharged yellow brown, cylindrical to ellipsoidal, mostly 5 septated, rounded ends ascospores, of 53.2 to 68.9 µm long (63.3 µm in average) x 6.9 to 9.1 µm wide (8.0 µm in average) (Figure 1). The characteristic of pseudothecia, asci and ascospores, matched with the description of *L. maculans* fungus (Punithalingam and Holliday, 1972).

Figure 1. Pseudothecia (A), asci with ascospores (B), and germinating ascospores (C) of *L. maculans*, observed under the stereomicroscope or under the light microscope, on canola stubble collected in Southern Chile.

Monoascosporic cultures obtained first on PDA medium and then transferred to V8 agar medium, gave raise after 12 days at 22ºC and under continuous light conditions, abundant black picnidia, with unicellular, shortly cylindrical, straight picnidiospores characteristic of *P. lingam*, the anamorph stage of *L. maculans*.

Pathogenicity test

The pathogenicity tests carried out on 10-days cv. Arturs oilseed rape seedlings, resulted in the development of characteristic foliar symptoms of blackleg, with abundant production of picnidia over necrotic leave lesions, 25 days after inoculation. Picnidiospores obtained from these picnida, gave rise colonies of *P. lingam* in PDA media.

Molecular identification of *L. maculans*

The amplification of the ITS ribosomal gene region of *L. maculans* isolates, resulted in a fragment between 500 and 600 bp (Figure 2), results that coincide with previous reports for *L. maculans* identification (Balesdent *et al*., 1998; Dilmaghani *et al*., 2009), where a 560 bp fragment identified the presence of the phytopathogenic fungus.

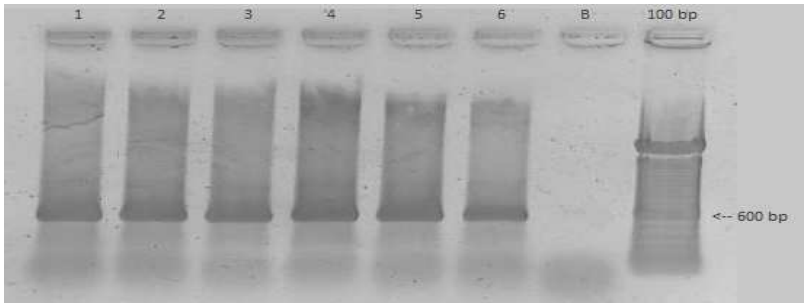


Figure 2. Results of the electrophoretic analysis of PCR products obtained by amplifying the ITS ribosomal gene region of *L. maculans*, using the PN10 and PN3 primers (molecular weight marker of 100 bp (Invitrogen)). The numbers above the lanes (1 to 6) indicates the *L maculans* isolates.

Identification of pathogenicity groups

The test conducted to identify the pathogenicity groups to which three monoascosporic *L. maculans* isolates belong, indicate that all of them belong to the PG4-A1 group. All three isolates resulted virulent on the four differential canola cultivars, which reacted with susceptible responses after 21 days of inoculated into the cotyledons. The cultivars Westar, Quinta, Glacier and Jet Neuf, reacted with infection classes IC 4-5, IC 4, IC 3-5, and IC 4-5, respectively, in the scale of six infection classes (IC) proposed by Balesdente *et al*. (2001).

CONCLUSIONS

The characteristic of the pseudothecia, asci and ascospores observed from canola stubble collected in Southern Chile, and the results obtained on the pathogenicity test, molecular identification, and on the inoculation of a set of canola differentials, allowed one to conclude about the presence of *L. maculans* (Desm.) Ces & et de Not., the teleomorphic stage of *P. lingam*, the causal agent of the blackleg of canola in Chile. This is the first report about the presence of *L. maculans* in Chile.

LITERATURE CITED

Andrade, O. 2009. Informes técnicos 2009. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Carillanca. Temuco, Chile.

Badawy, H.M.A., H.H. Hoppe, and E. Koch. 1991. Differential reactions between the genus *Brassica* and aggressive single spore isolates of *Leptosphaeria maculans*. Journal Phytopathology 131:109-119.

Balesdent, M.H., M.J. Barbetti, H. Li, K. Sivasithamparam, L. Gout, and T. Rouxel. 2005. Analysis of *Leptosphaeria maculans* race structure in a worldwide collection of isolates. Phytopathology 95:1061-1071.

Balesdent, M.H., A. Attard, D. Ansan-Melayah, R. Delourme, M. Renard, and T. Rouxel. 2001. Genetic control and host range of avirulence towards *Brassica napus* cvs. Quinta and Jet Neuf in *Leptosphaeria maculans*. Phytopathology 91:70-76.

Balesdent, M.H., M. Jedryczka, L. Jain, E. Mendes-Pereira, J. Bertrandy, and T. Rouxel, 1998. Conidia as a substrate for internal transcribed spacer-based PCR identification of components of the *Leptosphaeria maculans* species complex. Phytopathology 88:1210-1217.

Barbetti, M.J., and R.K. Khangura. 1999. Managing blackleg in the disease-prone environment of Western Australia. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, 1999. Canberra, Australia.

Chen, Y., and W.G.D. Fernando. 2005. First report of canola blackleg causd by pathogenicity group 4 of *Leptosphaeria maculans* in Manitoba. Plant Disease 89:339.

Davies, J.M.L. 1986. Diseases of oilseed rape. p. 195-236. *In* Scarisbrick, D.H., and R.W. Daniels (eds.). Oilseed rape. Collins. London.

Dilmaghani, A., M.H. Balesdent, J.P. Didier, C. Wu, J. Davey, M.J. Barbetti, L. Hua, O. Moreno-Rico, D. Phillips, J.P. Despeghel, L. Vincenot, L. Gou,t and T. Rouxel. 2009. The *Leptosphaeria maculans – Leptosphaeria biglobosa* species complex in the American continent. Plant Pathology 58(6):1044–1058.

Fitt, B.D., H. Brun, M.J. Barbetti, and S.R. Rimmer. 2006. World-wide importance of *Phoma* stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). European Journal of Plant Pathology 114(1):3-15.

Hall, R. 1992. Epidemiology of blackleg of oilseed rape. Canadian Journal of Plant Pathology 14:46-55.

Jedryczka, M., T. Rouxel, and M.H. Balesdent. 1999. Rep-PCR based genomic fingerprinting of isolates of *Leptosphaeria maculans* from Poland. European Journal of Plant Pathology 105:813-823.

Khangura, R., J. Speijers, M.J. Barbetti, M.U. Salam, and A.J. Diggle. 2007. Epidemiology of blackleg (*Leptosphaeria maculans*) of canola (*Brassica napus*) in relation to maturation of pseudothecia and discharge of ascospores in Western Australia. Phytopathology 97(8):1011-10212.

Mahuku, G.S., P.H. Goodwin, R. Hall, and T. Hsiang. 1997. Variability in the highly virulent type of *Leptosphaeria maculans* within and between oilseed rape fields. Canadian Journal of Botany 75:1485-1492.

McGee, D.C. 1977. Blackleg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of rapeseed in Victoria: sources of infection and relationships between inoculum, environmental factors and disease severity. Australian Journal of Agriculture Research 28:53-62.

Mendes-Pereira, E., M.H. Balesdent, H. Brun, and T. Rouxel. 2003. Molecular phylogeny of the *Leptosphaeria maculans – L. biglobosa* species complex. Mycological Research 107:1287-1304.

Paolocci, F., A. Rubini, B. Granetti, and S. Arcioni. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. Ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28:23-30.

Paul, V.H., and C.J. Rawlinson. 1992. Diseases and pests of rape. Gelsenkirchen-Buer. Verlag Th. Mann. Germany.

Pedras, M.S.C., J.L. Taylor, and V.M. Morales. 1996. The blackleg fungus of rapeseed: How many species?. Acta Horticulturae 407:441-446.

Punithalingam, E., and P. Holliday. 1972. *Leptosphaeria maculans*. Description of Fungi and Bacteria Nº331. Commonwealth Mycological Institute. Ferry Lane, Kew, Surrey. England.

Rouxel, T., and M.H. Balesdent. 2005. The stem canker (blackleg) fungus, *Leptosphaeria maculans*, enters the genomic era. Molecular Plant Pathology 6(3):225-241.

Sambrook, J., and D. Russel. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. NY.

Sprague, S.J., M. Watt, J.A. Kirkegaard, and B.J. Howlett. 2007. Pathways of infection of *Brassica napus* roots by *Leptosphaeria maculans*. New Phytologist 176(1):211-222.

West, J.S., P.D. Kharbanda, M.J. Barbetti, and B.D.L. Fitt. 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. Plant Pathology 50:10-27.

Wood, P. McR., and M.J. Barbetti. 1977. The role of seed infection in the spread of blackleg of rape in Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry 17:1040-1044.

INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN PLÁNTULAS MICROPROPAGADAS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in potato (*Solanum tuberosum* L.) micropropagated plants

Claudia Castillo[1,2]*, Marcela Railaf[1], Nelson Hormazabal[1]
[1]Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco, Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile
[2] Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria (NIPA), Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco.
*Email: ccastill@uct.cl; Fono: 45-2205541.

ABSTRACT
This work aimed to evaluate the feasibility of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation in micropropagated seedlings of Atlantic variety potato. The bioassay was established in pots containing a substrate composed of peat:pearlite mixture inoculated with native AMF, *Claroideoglomus claroideum* and *Rhizoglomus intraradices*. The micropropagated seedlings were obtained by extracting explants from nodal segments that were placed in Murashige & Skoog medium for 30 days in the growth chamber. At 7 days after establishment (DAE), 14 DAE and 21 DAE, AMF root colonization was measured. The roots of the seedlings inoculated with *C. claroideum* had the highest fungal colonization. It is concluded that inoculation in potato with AMF from nodal explants is feasible *in vitro*.
Key words: nodal explants, *Claroideoglomus claroideum, Rhizoglomus intraradices.*

INTRODUCCIÓN
La propagación *in vitro* en plántulas de papa se ha empleado por más de dos décadas para la multiplicación rápida de material libre de enfermedades y virus (Castro *et al.*, 2008) donde a partir de un explante de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas denominadas clones. La transferencia de las plantas de condiciones *in vitro* a *ex vitro* es uno de los momentos más críticos del proceso de micropropagación y la causa de los altos costos de producción. Una alta mortalidad se observa frecuentemente durante el transplante debido, entre otros factores, a una reducida capacidad fotosintética (Van Huylenbroeck y Debergh, 1996). La fertilización del cultivo de papa y captación de nutrientes es muy importante para el crecimiento y desarrollo de la planta y posteriormente, de los tubérculos. El cultivo durante todo su ciclo demanda elevadas dosis de nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio y en menor cantidad calcio y magnesio (White *et al.*, 2007). Algunos microorganismos del suelo como los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) cumplen un rol fundamental al captar, mediante una simbiosis con las raíces de los cultivos, nutrientes que para la planta no están asequibles.

Por lo tanto, mediante la inoculación con HMA se favorece la disponibilidad de nutrientes para la planta mejorando el desarrollo del cultivo y disminuyendo la fertilización química (Grunewaldt *et al.*, 2004). La inoculación con HMA podría mejorar la adaptación de las plántulas producidas *in vitro* que requieren un bio-endurecimiento antes del trasplante (Vestberg *et al*., 2004).
El objetivo del estudio fue evaluar la factibilidad de inoculación con HMA en plántulas micropropagadas de papa (*Solanum tuberosun* L.) variedad Atlantic.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales e invernadero de la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica de Temuco ubicado en el campus San Juan Pablo II. Se trabajó con explantes nodales de papa variedad Atlantic, obtenidos previamente en el laboratorio y reproducidos en medio Murashige & Skoog (MS). El bioensayo se implementó utilizando plántulas de papa obtenidas por micropropagación que tenían 30 d de desarrollo y a las que se le extrajeron tres explantes de segmentos nodales que luego de selladas asépticamente se llevaron a una cámara de crecimiento durante 30 d, con fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad, 200 a 300 $\mu E\ m^{-2}\ s^{-1}$ de iluminación y 22°C de temperatura. Para el trasplante, las plántulas seleccionadas se extrajeron del medio MS y para aclimatarlas, se colocaron en depósitos plásticos de 6 L de capacidad, conteniendo una mezcla turba:perlita (1:1) con una densidad de 54 plántulas por contenedor y donde permanecieron por 15 d. Finalizado el período de aclimatación, se trasladaron por cuatro semanas al invernadero y posteriormente, se inocularon con distintos HMA. Los tratamientos fueron: sustrato control sin inocular (T0), sustrato inoculado con HMA nativos (T1), sustrato inoculado con *Claroideoglomus claroideum* (T2) y sustrato inoculado con *Rhizoglomus intraradices* (T3). El diseño fue completamente al azar con cinco repeticiones y tres cosechas realizadas a los 7 días después del establecimiento (DDE), 14 DDE y 21 DDE. En cada cosecha se evaluó la colonización por HMA en las raíces de las plántulas micropopagadas de papa. La tinción con azul de tripán propuesta por Phillips y Hayman (1970) permitió una estimación visual de la colonización fúngica que se dividió en cuatro categorías: a) (-) sin colonización HMA (Figura 1A); b) (+) zona con colonización incipiente por micelio (Figura 1B); c) (++) trozo de raíz parcialmente colonizado (Figura 1C) y d) (+++) raíz completamente colonizada (Figura 1D).

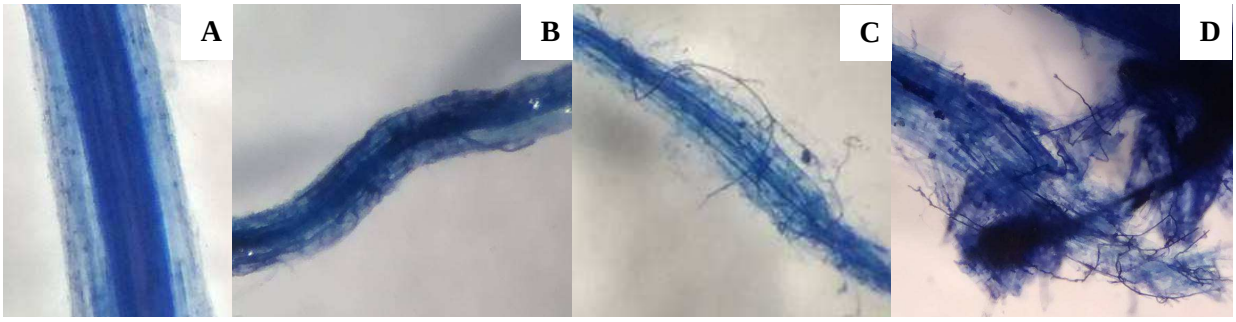


Figura 1. Estimación visual de colonización HMA en plántulas micropropagadas de papa variedad Atlantic: (A) raíz sin colonización HMA; (B) raíz con pequeña zona colonizada por micelio; (C) trozo de raíz parcialmente colonizado; y (D) raíz completamente colonizada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La implementación de un sistema de micorrización *in vitro*, resulta complejo, pues no sólo se debe tratar de desarrollar la plántula, sino también hay que propiciar un correcto crecimiento del simbionte para el establecimiento de la asociación micorrícica. Una de las condiciones fundamentales para que se produzca la simbiosis es partir de un inóculo potente y exento de microorganismos no deseados para lograr éxito en el proceso. Según Wang *et al*. (1993), el crecimiento y la supervivencia de las plántulas podría incrementarse durante la aclimatación si los inoculantes micorrícicos fueran introducidos durante el enraizamiento *in vitro*. Sin embargo, en esta fase existen serias dificultades relacionadas con el establecimiento de la simbiosis debido a los contaminantes que habitan las paredes de los propágulos HMA, al comportamiento del hospedero, el tipo de propágulo micorrícico y por la naturaleza obligada del endófito (Fortín *et al*., 2002).

Al observar la colonización fúngica en las raíces de papa (Cuadro 1), en el control T0, al encontrarse el sustrato estéril no se observó colonización; mientras que, el tratamiento T1 que contenía HMA nativos de suelo, la colonización fúngica fue similar a T3, tratamiento inoculado con *R. intraradices.* Las raíces que presentaron la mayor colonización fueron las de T2, donde las plántulas de papa fueron inoculadas con *C. claroideum*, un HMA aislado de suelos cultivados con hortalizas de la Región de La Araucanía.

Cuadro 1. Colonización por HMA en raíces de plántulas micropropagadas de papa variedad Atlantic.

Tratamientos	7 DDE	14 DDE	21 DDE
T0	-	-	-
T1	+	++	+
T2	+++	++	++
T3	+	+	++

(-) Raíz sin colonización HMA; (+) raíz con pequeña zona colonizada por micelio; (++) trozo de raíz parcialmente colonizado; y (+++) raíz completamente colonizada.

Las plántulas producidas por micropropagación al crecer en un medio rico en nutrientes son delicadas y en consecuencia, las raíces resultan bastante frágiles. En este estudio, al observar la colonización HMA usando la metodología de tinción tradicional (Phillips y Haymann, 1970), la técnica resultó demasiado drástica provocando el rompimiento de algunas raicillas. En consecuencia, se introdujeron modificaciones para el tiempo de tinción de las plántulas crecidas *in vitro*. De esta manera, los trozos de raíces permanecieron en contacto con la solución de KOH por 1 d, luego se lavaron y se dejaron 1 d en agua, esta última se eliminó y se añadió HCl, permaneciendo en contacto con esta solución por 2 h y finalmente, con azul de tripán estuvieron en contacto por 4 h. Así, para la tinción por el método tradicional se requieren aproximadamente entre 5 a 6 d, con las modificaciones se redujo el tiempo a 2,5 d.

CONCLUSIÓN

Es factible la inoculación con HMA en plántulas de papa provenientes de explantes nodales. Sin embargo, la tinción comúnmente usada para visualizar colonización HMA en las raíces de la mayoría de las plantas, resultó demasiado drástica para este tipo de plántulas obtenidas por micropropagación. De aquí que, se recomienda disminuir las horas de contacto de las raicillas con las respectivas soluciones químicas.

LITERATURA CITADA

Castro, D., J. Díaz, N. Montoya y G. Ríos. 2008. Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L), variedad Diacol Capiro, en biorreactores de inmersión temporal y evaluación de su comportamiento en campo. Unidad de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Oriente, Rionegro. Antioquia, Colombia.

Fortin, J.A., G. Bécard, and S. Declerck. 2002. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. Canadian Journal of Botany 80:1-20.

Grunewaldt, G., B. Masadeh, A. Silcora, and H. Von Alter. 2004. Biocontrol of root-knot nematodes using the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the antagonist *Trichoderma viride* in two. Available at https://www.researchgate.net/publication/285828398_biocontrol_of_root_kont_nematode

s_using_the_arbuscular_mycorrhizal_fungus_glomus_intraradices. Accessedd at March 03, March, 2017.

Phillips, J.M., and D.E. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55:158-161.

Van Huylenbroeck, J.M. and P.C. Debergh. 1996. Physiological aspects in acclimatization of micropropagated plantlets. Plant Tissue Culture and Biotechnology 2:136 -141.

Vestberg, M., S. Kukkonen, and K. Saari. 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. Applied Soil Ecology 27(3):243-258.

Wang, H., S. Parent, and A. Gosselin. 1993. Study of vesicular arbuscular mycorrhizal peat–based substrates on symbiosis establishment, acclimatization and growth of three micropropagated species. Journal American Society Horticulture Science 118:896-901.

White, P.J., R.E. Whicatley, J.P. Hammond, and K. Zhang. 2007. Minerals, soils and roots. p. 739-752. *In* Vreugdenhil, D. (ed.). Potato biology and biotechnology, advances and perspectives. Elsevier. Amtersdan.

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y FITOQUÍMICO DE ESPECIES VEGETALES NATIVAS RECOLECTADAS EN LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA

Bromatological and phytochemical analysis of native plants species collected from La Araucanía region

Alejandro Velásquez Briceño[1,2,4], Carlos Lüders Post[3,4], Claudio Inostroza-Blancheteau[1,2], Tomas Alarcón Barrientos[1,4], Jordana Rivero Viera[5], Rodrigo Arias Inostroza[6], Manuel Chacón Fuentes[1,4*]

[1]Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco, Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile
[2]Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria (NIPA), Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco.
[3]Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco.
[4]Proyecto Vinculación Ciencia Empresa (VCE6000008), CONICYT Regional (esta iniciativa fue financiada con recursos de la provisión FIC del Gobierno Regional de La Araucanía).
[5]Rothamsted Research, North Wyke, Okehampton, Devon EX20 2SB, United Kingdom.
[6]Instituto de Producción Animal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
*Email: m.chacon01@ufromail.cl

ABSTRACT

In Chile there is an important interest in the native plants due to their high concentrations of bioactive compounds in leaves, steam or fruits, with biotechnological potential applications. In this framework, the understanding of the plant composition could be a useful tool for enhances the plant production. Hence, the main aim of this research was to analyze the chemical composition of nine species of native plants from south of Chile. A typical bromatological and phytochemical analysis were carried out for evaluate crude protein, fiber (FDN-FDA), fat and ash. Furthermore, alcoholic extract from leaves of plants were performed and analyzed by spectrophotometry and high performance liquid chromatography for analyzing of chlorophylls and alkaloids. Results shown that crude protein were higher in fuchsia and maqui (12.97% and 11.63%). The ethereal extract percentage reached its maximum value for eucalyptus and chaura, with 8.02 and 5.38%, respectively. FDN was higher in avellano (58.36%) y notro (56.52%). Moreover, chlorophylls reached around 0.8 mg g^{-1} in boldo and notro leaves. Finally, HPLC/UV-ESI/MSMS analysis found the alkaloid berberine ((M+)+336.21) in *Berberis microphylla* leaves.
Key words: chemical composition, HPLC/UV-ESI/MSMS, spectrophotometry, chilean plants.

INTRODUCCIÓN

Desde la última década en Chile ha existido un creciente interés en estudiar las propiedades bioactivas de especies vegetales nativas, dada la posibilidad de ser aplicadas en las ciencias animales y en medicina humana. Estas especies vegetales principalmente han sido relacionadas a

características fitoquímicas beneficiosas para el ser humano, y en una segunda instancia, en producción animal (fitofármacos, aditivos nutricionales, prebióticos). Dentro de los principales compuestos que se han vuelto de importancia para el ser humano destacan los antioxidantes, y para el caso de la producción animal, los polifenoles (entre otros). Las plantas naturalmente generan antioxidantes, junto a otros metabolitos secundarios, ya que estos compuestos ayudan a lidiar contra factores abióticos como lo son el estrés por radiación y contra los factores bióticos que bien pueden ser representados por ataques de insectos, hongos o bacterias (War *et al*., 2012). En el área de la producción animal ha despertado un gran interés el estudio de contenidos de polifenoles en especies vegetales (taninos condensados), para mejorar la eficiencia de uso de compuestos nitrogenados en la producción de leche y carne. Estudios recientes indican que especies nativas tales como la murtilla (*Ugni molinae*), el maqui (*Aristotelia chilensis*) y el calafate (*Berberis mycrophylla*) se encuentran en un proceso de domesticación, con fines agronómicos y para aplicaciones biotecnológicas; el mejor representante de este proceso es la murtilla la cual ha comenzado un proceso de domesticación hace 20 años (Chacón-Fuentes *et al*., 2015; 2017). En este sentido, el cultivo de especies nativas se torna una alternativa muy interesante desde el punto de vista de los compuestos bioactivos (Bautista *et al*., 2012; Peña-Cerda *et al*., 2017). Por lo tanto, el principal objetivo de esta investigación fue analizar la composición química de nueve especies de plantas nativas de Chile: avellano (*Gevuina avellana*), boldo (*Peumus boldus*), calafate (*B. microphylla*), chaura (*Gaultheria mucronata*), fucsia (*Fuchsia hybrida*), maqui (*A. chilensis*), michay (*Berberis darwinii*), murtilla (*U. molinae*) y notro (*Embothrium coccineum*), y la especie vegetal introducida eucalipto (*Eucaliptus globulus*). Cabe señalar, que estos resultados corresponden a ensayos preliminares en cuanto al análisis fitoquímico de especies vegetales nativas de Chile, al alero del proyecto Vinculación Ciencia Empresa VCE6000008, CONICYT Regional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del material vegetal

Para esta investigación, nueve especies vegetales nativas, avellano, boldo, calafate, chaura, fucsia, maqui, michay, murtilla y notro, y la especie vegetal introducida eucalipto, fueron colectadas desde la Región de La Araucanía, Temuco, Chile. Hojas a partir de plantas adultas de cada una de estas especies fueron colectadas desde los 4 puntos cardinales y a alturas similares. Luego, estas hojas fueron transportadas al Laboratorio de Bromatología de La Universidad Católica de Temuco y almacenadas a 4ºC hasta su análisis.

Extracción de pigmentos vegetales

Se pesó 0,1 g de hojas de las diferentes especies vegetales especificadas en la sección anterior. Las muestras fueron molidas con nitrógeno líquido mientras una pequeña cantidad de carbonato de calcio fue agregada. Las muestras fueron maceradas con 1 mL de etanol (96%). Luego, las muestras fueron centrifugadas a 13.000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue colectado y depositado en un nuevo tubo eppendorf. Posteriormente, el macerado volvió a ser extraído con 1 mL de etanol durante 5 minutos y el sobrenadante depositado en el mismo tubo eppendorf que

contenía el sobrenadante anterior. Finalmente, las muestras fueron almacenadas en frío hasta su análisis espectrofotométrico.

Extracción de berberina

La extracción fue adaptada de la metodología utilizada por Ruiz *et al*. (2014). Un gramo de hojas de las diferentes especies vegetales fueron molidas y extraídas en 8 mL de HCl 0,1 N y sometidas a ultrasonido por 45 s. Luego, la muestra fue puesta en un agitador orbital por 10 min y centrifugada a 5.000 g. El sobrenadante fue transferido a un tubo de 25 mL y el residuo fue extraído exhaustivamente dos veces con 5 mL del mismo solvente. La neutralización del extracto fue hecha con NH_4OH. Veinte microlitros del extracto fue pasado por una columna Extrelut NT-20, la extracción líquido-líquido fue llevada a cabo usando diclorometano como eluyente. Posteriormente, el solvente fue evaporado en un rotavapor. Finalmente, las muestras fueron resuspendidas en 1 mL de 0,1% de ácido fórmico/acetonitrilo (20:80%) y filtradas antes de su análisis por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC/UV –ESI MSMS) de acuerdo a los propuesto por Ruiz et al. (2010).

Análisis Bromatológico

Determinación de proteína cruda (PC)

Se determinó utilizando el método analítico Kjeldahl. Se pesaron 0,5 g de muestra para luego ser colocada sobre un papel tissue, luego la muestra fue puesta dentro de un tubo digestor (modelo DK 20), y 10 mL de H_2SO_4 concentrado fueron agregados. La muestra fue sometida a ebullición durante 70 min a 400ºC. Posteriormente, la muestra se llevó a un destilador de proteína (modelo UDK 127; Marca Velp Scientifica) donde se destiló durante 4 min sobre 100 mL de ácido bórico y tres gotas de indicador Tashiro. Se tituló con ácido sulfúrico diluido a una concentración de 0,1 N. El resultado se determinó a través de las siguientes fórmulas: nitrógeno en la muestra (%) = ((A x B x 1,4)/C)**;** proteína Cruda (%) = nitrógeno en la muestra * 6,25**.** Dónde: A = volumen del ácido sulfúrico usado en la titulación (mL), B = concentración del ácido y C = peso de la muestra (g).

Determinación de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA)

La fibra detergente neutra (FDN) se determinó digiriendo muestras individuales de 0,5 g en bolsas de filtro durante 60 min en 2 L de solución de FDN, a una temperatura de 100 ± 0,5°C (digestor modelo ANKOM A200), utilizando el protocolo sugerido por el manual ANKOM Technology (2001). Se agregó al comienzo de la digestión 4 mL de alfa-amilasa y 20 g de sulfito de sodio. Las muestras se enjuagaron tres veces con agua hirviendo durante 5 min. La enzima alfa-amilasa se añadió a los primeros dos lavados. Los enjuagues de agua vinieron seguidos por un lavado en acetona por 3 min en un vaso precipitado de 250 mL, y secado en estufa a 100ºC durante 8 h, para finalmente ser pesadas (Van Soest *et al*., 1991). La determinación de la fibra detergente ácida (FDA) se llevó a cabo digiriendo muestras individuales de 0,5 g en bolsas de filtro durante 60 min en 2 L de solución FDA, a una temperatura de 100 ± 0,5°C (digestor modelo ANKOM A200), bajo especificaciones señaladas en el manual ANKOM Technology

(2001). Las muestras se enjuagaron tres veces con agua hirviendo durante 5 min en bolsas de filtro, seguido por un lavado en acetona por 3 min en un vaso precipitado de 250 mL, se secaron en estufa a 100°C durante 8 h para finalmente ser pesadas.

Determinación extracto etéreo (EE)

Se determinó utilizando el método Soxhlet. Para esto 1 g de muestra fue pesado y depositado sobre un papel filtro. La muestra fue envuelta y llevada a una estufa de secado (marca Mermmet) a 105ºC durante 8 h hasta peso constante. Luego, la muestra fue enfriada en un desecador durante 15 min para luego ser sometida a un extractor de grasa goldfisch (modelo 600 lf, Labconco). La muestra se sometió a extracción con éter de petróleo. El resultado se determinó a través de la siguiente fórmula: EE (%) = 100((B – A)/C). Dónde: A = peso del matraz limpio y seco (g), B = peso del matraz con grasa (g) y C = peso de la muestra (g).

Determinación cenizas totales (CT)

La muestra fue sometida a un proceso de incineración en un horno mufla a 550ºC durante 8 h, posteriormente, se sacó la muestra y se dejó enfriar en un desecador. Los resultados totales se expresaron en porcentajes de cenizas en base seca, y se determinaron a través de la siguiente fórmula: CT (%) = 100((A – B)/C). Dónde: A = peso del crisol con ceniza (g), B = peso del crisol (g) y C = peso de la muestra (g).

Análisis por espectrofotometría

Se tomaron 200 µL de muestra extraída para pigmentos de las 10 especies vegetales. Estas muestras fueron diluidas en 1000 µL de etanol (grado HPLC) para la lectura por un espectrofotómetro. La absorbancia de estos extractos fue medida a 665 y 649 nm.

Análisis por HPLC/UV-ESI/MSMS

Los extractos vegetales fueron analizados en un sistema HPLC/UV- ESI MS con las siguientes características: un cromatógrafo líquido Shimadzu Prominence LC-20AD con detector UV/VIS acoplado, Espectrómetro de Masas Applied Biosystems/MDS Sciex 3200 Qtrap equipado con fuente de Ionización por Electrospray Turbo VTM. La separación Cromatográfica se realizó en una Columna RP- C18 Inertsil ODS-3 (2,1 x 150 mm, 3µm), usando un volumen de inyección de 10 µL, un flujo de 0,30 mL/min y temperatura de columna de 30ºC. Las muestras fueron separadas utilizando un gradiente de concentraciones (Cuadro 1) de fase móvil A (ácido fórmico 0,1% en agua) y fase móvil B (ácido fórmico 0,1% en acetonitrilo).

Cuadro 1. Gradiente de fase móvil utilizada para los análisis HPLC.

Tiempo (min)	Concentración A (%)	Concentración B (%)
0,10	70	30
10	70	30
20	50	50
30	50	50
50	0	100
70	0	100
75	70	30
90	70	30

La longitud de onda de trabajo del detector UV/VIS fue de λ= 254 nm. El control del HPLC y espectrómetro se realizó por medio del software Analyst 1.5.1. Las condiciones usadas para la fuente de ionización fueron las siguientes: Cur gas: 20 psi, CAD gas: High, Gas1: 60 psi, Gas2: 30 psi, voltaje de ionización: 4500 V, temperatura: 400°C. El análisis de las muestras se realizó en polaridad positiva, mediante método EMS (Enhanced Mass Scan) que corresponde a un barrido de escaneo general abarcando un rango de masa desde 100-1000 m/z a una velocidad de 1000 Da/s, el cual a su vez se ha asociado (mediante un método IDA, information dependent acquisition) a un EPI (Enhanced Product Ion) que es un barrido entre 50-1000 m/z a una velocidad de 4000 Da/s, el que finalmente entregó una huella de fragmentación de los compuestos de interés.

Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar en una dirección (especies vegetales). Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para la comparación de grupos en cuanto a pigmentos vegetales; para los análisis bromatológicos se utilizó una prueba de Fischer. Los resultados fueron expresados como la media de las mediciones y su respectivo error estándar. Cuando $P \leq 0,05$ se infirió que las diferencias fueron significativas. Para los análisis se utilizó el programa estadístico JMP 5.0.1 ® (SAS Institute, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis bromatológicos muestran que para el porcentaje de proteína cruda las especies nativas fuchsia y maqui alcanzaron las cantidades más elevadas, con un 12,97% y un 11,63%, respectivamente. Por otro lado, el porcentaje de extracto etéreo alcanzó su máximo valor para eucalipto y chaura, con 8,02 y 5,38%, respectivamente. Como se puede observar en el Cuadro 2, los porcentajes más altos en cuanto a FDN fueron para el avellano y notro. Para el caso del contenido de FDA, se destacan los altos valores encontrados en notro, murtilla y boldo.

Cuadro 2. Análisis bromatológico clásico a partir de hojas de nueve especies vegetales nativas y una especie introducida (eucalipto).

Especie vegetal	Proteína cruda (%)	Extracto etéreo (%)	FDN (%)	FDA (%)	Cenizas (%)
Avellano	6,43d	2,10d	58,36a	34,02b	2,98c
Boldo	9,74b	2,60d	38,08c	36,06b	5,95b
Calafate	7,04d	2,69d	39,25c	32,85c	3,85c
Chaura	5,70e	5,38b	38,09c	31,08c	3,71c
Eucalipto	10,53b	8,02a	33,43c	18,81e	6,48b
Fuchsia	12,97a	3,89c	39,53c	18,70e	8,52a
Maqui	11,63a	3,45c	25,60d	22,80d	4,90b
Michay	7,75c	1,51e	44,51b	32,78c	3,50c
Murtilla	7,73c	1,71e	47,40b	35,76b	5,52b
Notro	8,61c	3,80c	56,52a	48,34a	3,27c

Letras diferentes en cada columna significan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza y prueba de Fischer ($P \leq 0,05$).

La Figura 1 indica los resultados obtenidos a partir de la extracción de hojas de las 10 especies vegetales dirigidas a la determinación de pigmentos, particularmente clorofila a y b. La cantidad encontrada de la forma clorofila a+b fue significativamente más alta en las hojas de notro y boldo, las cuales alcanzaron valores cercanos a 0,8 mg g^{-1}, mientras que la concentración más baja de estos pigmentos se encontró en hojas de avellano con un valor de 0,2 mg g^{-1}. Sin embargo, en la relación de clorofila a/b (Figura 1B), el maqui, chaura, calafate y eucalipto, alcanzaron los valores más altos con 5 mg g^{-1}, 3,8 mg g^{-1}, 4 mg g^{-1} y 6 mg g^{-1}, respectivamente. Finalmente, las extracciones dirigidas a la obtención de alcaloides mostraron que ninguna de las 10 especies analizadas presentó niveles detectables de este tipo de metabolitos, a excepción de hojas de calafate en las cuales se pudo identificar la masa de 336,21 y un patrón de fragmentación (Cuadro 3), que correspondió a una sal de amonio cuaternaria del grupo de alcaloides de las isoquinilinas, la cual corresponde a la berberina.

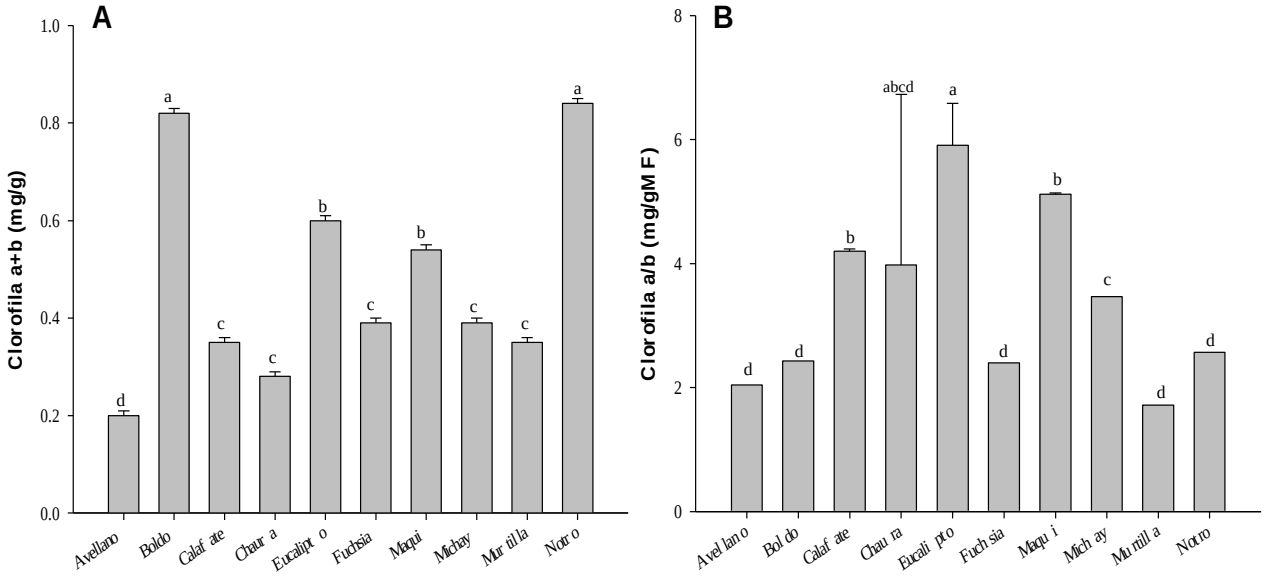


Figura 1. Concentración de pigmentos vegetales (clorofila a y b). A) Concentración de clorofilas (a+b). B) Concentración de clorofilas (a/b). Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza y prueba de Fischer (P≤0,05).

Cuadro 3. Patrón de fragmentación de la berberina en un HPLC/UV-ESI/MSMS.

ID	TR	(M+)+	Patrón de fragmentación (MS2)
Berberina	81,085	336,21	336 – 320 – 306 – 292 – 278 - 263

TR: Tiempo de retención (min)

CONCLUSIONES

En cuanto a los análisis bromatológicos, las especies fuchsia y maqui fueron las que alcanzaron las mayores concentraciones de proteína cruda. En eucalipto y chaura se observaron los valores más altos de extracto etéreo. Los contenidos más altos en cuanto a FDN fueron para el avellano y notro. Además, plantas de boldo y notro mostraron niveles altos de clorofilas a+b. En hojas de calafate fue encontrada la presencia del alcaloide berberina. En futuras investigaciones se deberá continuar con estos tipos de análisis para ir conociendo los perfiles fitoquímicos de especies vegetales con potenciales propiedades bioactivas para ser utilizadas en producción animal.

AGRADECIMIENTOS

Por su colaboración en los análisis bromatológicos queremos expresar nuestro agradecimiento a la señora María Isabel Martínez Gutiérrez (Mg. Quim. Lab.), encargada del Laboratorio de Bromatología de la Escuela de Agronomía UC Temuco. Esta investigación fue desarrollada bajo el alero del proyecto Vinculación Ciencia Empresa VCE6000008, CONICYT Regional. Esta

iniciativa fue financiada con recursos de la provisión FIC del Gobierno Regional de La Araucanía.

LITERATURA CITADA

Bautista, A., F. Parra, y F. Espinoza-Garcia. 2012. Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. p. 253-267. *In* Rojas, J.C., y E.A. Malo (eds.). Temas selectos en ecología química de insectos. El Colegio de la Frontera Sur. México.

Chacón-Fuentes, M., L. Parra, C. Rodriguez-Saona, I. Seguel, R. Ceballos, and A. Quiroz. 2015. Domestication in murtilla (*Ugni molinae*) reduced defensive flavonol levels but increased resistance against a native herbivorous insect. Environmental Entomology 44:627-637.

Chacón-Fuentes, M., L. Parra, M. Lizama, I. Seguel, A. Urzúa, and A. Quiroz. 2017. Plant flavonoid content modified by domestication. Environmental Entomology 10:1080-1089.

Peña-Cerda, M., J. Arancibia-Radich, P. Valenzuela-Bustamante, R. Perez-Arancibia, A. Barriga, I. Seguel, L. Garcia, and C. Delporte. 2017. Phenolic composition and antioxidant capacity of *Ugni molinae* Turcz leaves of different genotypes. Food Chemistry 217:219-227.

Ruiz, A., I. Hermosín-Gutiérrez, C. Mardones, C. Vergara, E. Herlitz, and M. Vega. 2010. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58:6081-6089.

SAS Institute. 2002. SAS System for Windows Computer Program, Version 9.00. SAS Institute Inc., Cary.

War, A.R., M.G. Paulraj, T. Ahmad, A.A. Buhroo, B. Hussain, and S. Ignacimuthu. 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. Plant Signaling and Behavior 7:1306-1320.

LOS MAPUCHE: DISPONIBILIDAD PREHISPÁNICA DE GERMOPLASMA VEGETAL

The Mapuche: prehispanic availability of vegetable germplasm

Gabriel Vivallo[1*]
[1]Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco. Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile.
*Email: gvivallo@uct.cl

ABSTRACT
Availability of native and introduced species shown in America, in a system that allowed them to provide food of plant origin to sustain a population of one million people. He turned to information based on archaeological evidence and historical records of chroniclers and travelers mainly of sixteenth and seventeenth century historians detailed.
Key words: germplasm, Mapuche, food.

INTRODUCCIÓN

Conocer el germoplasma alimentario disponible a la llegada de los conquistadores españoles, permite comprender en parte el grado de desarrollo de la agricultura Mapuche, y cómo este sistema pudo alimentar a una importante población que habitaba en la zona centro sur de Chile en el Siglo XV.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio divide las fuentes de información en dos grupos. Los restos tangibles y materiales, basados en métodos y técnicas específicas, que son aportadas por arqueólogos, etnobotánicos y etnógrafos, y son esencialmente objetivos (Zapater, 1998). En segundo término están las fuentes establecidas por la etnohistoria que permite una mejor comprensión de la dinámica de la historia y la cultura posterior a la llegada de los españoles. Estas crónicas utilizadas con un espíritu crítico aportan información relevante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En Chile las evidencias demuestran la alimentación humana con manipulación de especies vegetales desde tiempos prehispánicos, y en algunos casos se presenta un progresos paralelo temporal al desarrollo de la alfarería, y con mayor intensidad en el Período Alfarero Temprano (PAT). Los nativos cultivaban especies vegetales como: quinoa (*Chenopodium quinoa*), maíz (*Zea mayz*) y zapallos (*Curcubita* sp.) en el río Yeso tributario del río Maipo; así como *Cucurbita* sp. en la desembocadura del río Maule, y también quinoa, maíz y posiblemente bromo (*Bromus mango*) en la Isla Mocha (Bullock, 1958; Matthei, 1986; Seelenfreund, 1995; Inostroza, 2010; Planella y Tagle, 2004; Pardo y Pizarro, 2005; Planella *et al*., 2005; Falabella *et al*., 2007). En este punto, Quiroz y Belmar (2004), de otra parte, el sitio Cebollar, puesto en comparación y

citando lo reportado por Falabella y Stehberg (1989) de otro sitio similar en Lonquén, permite plantear un "proceso de intensificación de la interacción hombre- planta" a través de una especie cultivada (*C. quinoa*), la que "por el aumento de tamaño evidencia un proceso de domesticación", el que a su vez es asociado a un mayor grado de manejo de la especie, es decir, domesticación, horticultura, cultivo y agricultura" (Gremillon, 1995; citado por Quiroz y Belmar, 2004), siendo de esta forma "testimonio indirecto de los cambios socio organizacionales que se dieron en el seno de las comunidades del PAT".

De las especies cultivadas las más importantes habrían provenido de centros de origen como América Central y Andes Centrales (maíz, calabaza, poroto, quinua, ají, papa), y para las cuales la teoría difusionista, la cual postula una irradiación de conocimiento e innovaciones a partir de zonas nucleares, a partir de la expansión del Tawntinsuyo Inca desde 1470 al 1536 (León, 1983; Yañez, 2005). Sin embargo, para el caso de algunas especies del género *Bromus*, es posible señalar que su mejoramiento pudo haber sido realizada por los Mapuche del período prehispánico.

Planella y Tagle (2004) en la desembocadura del río Maipo, señalan la presencia de restos carbonizados de *Chenopodium* sp. tipo *C. quinoa* y *Z. mays* en muy buen estado de conservación, además de *Phaseolus* sp. y *Lagenaria* sp.; si bien el fechado es indirecto, tiende a sugerir un marco cronológico no inferior a los 500 años D.C. para esta depositación de cultígenos.

Dillehay (2007) en su trabajo relacionado a los montículos llamados "Kuel" hablan de fechas entre 200 y 500 A.C. asociados a una incipiente agricultura. Desde esta perspectiva, la evidencia que aporta el sitio Monte Verde sitúa los inicios de la agricultura hace 12.500 años A.P. en un asentamiento humano con finos conocimientos del medio vegetal (Dillehay, 2004), e invita a reflexionar sobre la agricultura de forma incipiente, como lo plantean Ugent *et al.* (1987) en relación a los restos de papa silvestre del tipo tuberosa hallados en Monte Verde.

El germoplasma empleado por los Mapuche

En la actualidad, en la dieta Mapuche y chilena, como en la época de la conquista española, se encuentran numerosos frutos nativos: avellana (*Gevuina avellana* Mol), piñón o pehuén (*Araucaria araucana* Mol), maqui (*Aristotelia chilensis*), murta (*Myrtus communis*), michay (*Berberis congestiflora*), calafate (*Berberis buxifolia* Lam), nalca o pangue (*Gunnera chilensis*), quila (*Chusquea quila*), coile (*Lardizabala funaria*), peumo (*Cryptocarya alba* Mol.), copihue (*Lapageria rosea*). Además, de abundantes hongos silvestres, plantas saprófitas y parásitas, frutos, tallos y pecíolos. Hongos como los loyos, changle, dihueñe y algas. (Guevara, 1908; 1925; Valenzuela, 1914; Coña, 1973; Caro, 1995; CONAF-CONAMA, 1997; Camus y Solari, 2006).

Môsbach (1999) indica que de un total de 750 especies registradas, unas 70 de ellas eran recolectadas por los Mapuche para consumo alimentario. El trabajo de Pardo y Pizarro (2008) describe 201 especies señaladas como alimentarias y seguramente consumidas por la población prehispánica, número que debe ser mayor si se consideran las especies incluidas como género botánico. Para el caso del maíz, Góngora Marmolejo (s. XVI) señalan abundancia de maizales en el valle del Cachapoal. El mismo Pedro de Valdivia como se dijo anteriormente, describe siembras de "maíz, papas, quinua, madi, ají y frisoles…."

Otero (2006) señala que los Hulliches de Chiloé desarrollaron cultivos como la papa (*poñi*, en mapudungun), maíz, quinoa, tabaco, camote, ají, frijoles y zapallo.
Willcox (2000); citado por Planella y Tagle (2004), señala gramíneas cultivadas por los Mapuche adaptadas a tolerar bien las condiciones del clima invernal, y que fructifican espontánea y tempranamente a inicios de la primavera, como es el caso de *Bromus* sp. Bullock (1958); Matthei (1986); Pardo y Pizarro (2005) se refieren a tres especies que fueron cultivadas y que se encuentran hoy desaparecidas o asilvestradas, como mango (*Bromus mango*), teca (*Bromus berterianus*) o lanco (*Bromus catharticus*). Para el caso del mango (*B. mango*), señalan que habría constituido un centeno o avena para los Mapuche. Sin embargo, esta especie junto con la teca (*B. berterianus*) se habrían extinguido.

CONCLUSIONES

En síntesis, las especies más empleadas en la alimentación Mapuche eran maíz; papa o patatas; quinoa; ají y pimentón; mango; la gramínea *B. mango*; porotos o fréjoles *(Phaseolus vulgaris*); poroto pallar (*Phaseolus lunatus*); madia (*Madia sativa*); frutilla chilena (*Fragaria chilensis*); una gramínea que llamaban teca (*Tectona grandis*); boldo (*Peamus boldos*), yuyo (*Brassica campestris*), berro (*Nasturtium officinale*), zapallo (*Cucurbita maxima*), calabaza (*Lagenaria* sp.), y lahui o lahue (*Herhetia lahue* M.).

LITERATURA CITADA

Bullock, D. 1958 La agricultura de los mapuches en tiempos pre-hispánicos. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción (apartado): 141-154.

Camus, P., y M. Solari. 2006. Historia ambiental de la Cuenca del Río Valdivia: construyendo itinerarios (inter) culturales en el bosque templado (siglos XVI-XIX). p. 179-180. *In* XVII Congreso Nacional de Arqueología Chilena. 9-14 de octubre de 2006. Valdivia, Chile.

Caro, M. 1995. Producción y dispersión de semillas de *Araucaria araucana* (Mol.) C. Koch, en Lonquimay. Memoria Ingeniero Forestal. Departamento de Silvicultura, Escuela de Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Coña, P. 1973. Memorias de un cacique Mapuche, ICIRA. Wilhelm de Moesbach, P.E. (ed.). Imprenta Cervantes 1930 con el nombre Vida y costumbre de los indígenas araucanos en la segunda mitad del siglo XIX. 1ra ed. Revista Chilena de Historia y Geografía. Santiago, Chile.

CONAF, y CONAMA. 1997. Catastro y evaluación de los recursos vegetacionales nativos de Chile. Proyecto CONAF - CONAMA – BIRF, Universidad Austral de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

Dillehay, T. 2004. Monte Verde. Un asentamiento del pleistoceno tardío en el Sur de Chile. 173 p. Editorial LOM. Disponible en http://books.google.cl/books?id=tFKIBcXkrv0C&printsec=frontcover&dq=. Leído el 13 de febrero de 2010.

Dillehay, T. 2007. Monuments, empires, and resistance: the Araucanian policy and ritual narratives. 504 p. New Cork, Cambridge University Press. Cambiridge. Great Britain.

Falabella, F., y R. Stehberg. 1989. Los inicios del desarrollo agrícola y alfarero: zona central (300 a.C. a 900 d.C.). p. 295-311. In Hidalgo, J., V. Schiappacasse, H. Niemeyer, C. Aldunate e I. Solimano (eds.). Culturas de Chile. Prehistoria. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile.

Falabella, F., M. Planella, E. Aspillaga, L. Sanhueza, y R. Tykot. 2007. Dieta en sociedades Alfareras de Chile Central. Aporte de análisis de isótopos estables. Chungará. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-73562007000100002&lng=es&nrm=iso. Leído el 28 de junio de 2010.

Guevara, T. 1908. Historia de la civilización de Araucanía. 3 Tomos. Imprenta Barcelona. Santiago, Chile.

Guevara, T. 1925. Historia de Chile, Chile Prehispánico. 2° Tomo. Gráficos Balcells. Santiago, Chile.

Inostroza, I. 2010. La civilización agrominera y comercial Mapuche, siglo XVI. Revista Andes del Sur. N°1. Disponible en http://www.revistaandesdelsur.cl/2010_01/inostroza_i_2010_01.pdf. Leído el 28 de junio de 2010.

León, L. 1983. Expansión inca y resistencia indígena en Chile, 1470-1536. Revista Chungará N° 10, p. 95-115.

Matthei, O. 1986. El género *Bromus* L. (Poaceae) en Chile. Revista Botánica Gayana 43(1-4):47110.

Möesbach, E. 1999. Botánica indígena de Chile. 140 p. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile.

Otero, L. 2006. La huella del fuego: historia de los bosques nativos: poblamiento y cambios en el paisaje del Sur de Chile. 171 p. Editorial Pehuen. Santiago, Chile.

Pardo, O., y J. Pizarro. 2005. Especies botánicas consumidas por los chilenos prehispánicos. 228 p. Editorial Mare Nostrum. Disponible en http://books.google.cl/books?id=k0wSxTyJ3xQC&printsec=frontcover&dq=. Leído el 28 de junio de 2010.

Pardo, O., y J. Pizarro. 2008. Alimentos: conservación y almacenamiento en el Chile precolombino. 181 p. Parina. Santiago, Chile.

Planella, M., y B. Tagle. 2004. Inicios de presencia de cultígenos en la zona Central de Chile, período arcaico y alfarero temprano. Revista de Antropología Chilena 2:387-399.

Planella, M., L. Cornejo, y B. Tagle. 2005. Alero Las Morrenas 1: evidencias de cultígenos entre cazadores recolectores de finales del período arcaico en Chile Central. Revista Chungará (Arica) 37 (1). Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-73562005000100005&lng=es&nrm=iso>. Leído el 09 de julio de 2010.

Quiroz, L., y P. Belmar. 2004. Estrategia de explotación de recursos vegetales: evidencia arqueobotánica de tres sitios de la región central de Chile: Radio Estación Naval, El Cebollar y Lonquén (E 80-4). Revista Chungará (Arica). Disponible en

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-73562004000400046&lng=es&nrm. Leído el 09 de julio de 2010.

Seelenfreund, A. 1995. Análisis de restos botánicos de dos sitios alfareros tempranos en la Bahía de las Cañas (VII Región). Revista Chilena de Antropología. N° 13. Universidad de Chile.

Ugent, D., T. Dillehay, and C. Ramírez. 1987. Potato remains from a late pleistocene settlement in Southcentral Chile. Economic Botany 41(1):17-27.

Valenzuela, P.A. 1914. Glosario etimológico de nombres, personas, animales, plantas, ríos y lugares aborígenes de Chile y de algunos otros países de América Latina. Revista Chilena de Historia y Geografía 1914, Tomos X-XI.

Yañez, P. 2005. El proceso histórico de las transformaciones socioculturales Mapuches desde la conquista hasta el siglo XX. Boletín Americanista. N° 55, p. 205-240.

Zapater, H. 1998. Aborígenes chilenos a través de cronistas y viajeros. 184 p. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile.

ESTÁNDARES DE CALIDAD E INOCUIDAD PARA HORTALIZAS FRESCAS CON CALIDAD ESPECÍFICA ASOCIADA AL ORIGEN EN LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA

Standards of quality and safety for fresh vegetables with specific quality associated with origin in the La Araucanía Region

Gina Leonelli[1]*, Verena Herbach[1], Andrea Lobos[2]
[1]Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, UC Temuco, Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile.
[2]ANDES IP, Socia Fundadora, Abogada, Alonso de Córdova 5870, OF. 1007-1008, Las Condes Santiago, Chile.
*Email: ginalc@uct.cl; Fono: 45-2205521.

ABSTRACT
The quality certifications that are carried out in fresh vegetables present a constant growth, due to the increase in the demand of products that provide security to the consumer. The quality standards imply the guarantee of a basic, microbiological, organoleptic and nutritional quality, in addition to the specific category associated with the origin. Studies were carried out for the certification of origin, given by the territory, climate, soil and local knowledge. Vegetables such as blue leek from Maquehue and chili pepper chub from goat are ancestral species with nutritional quality and important for human health, and the regulation of use and control of the specific category associated with the origin is sought to protect authentic and original vegetables.
Key words: certification, specific quality, blue leek, goat chilli pepper.

INTRODUCCIÓN

Los consumidores de hortalizas frescas cada vez exigen una mayor calidad e inocuidad representando nuevos retos a los productores a quienes se les demanda una regulación en los estándares de calidad que utilizan para comercializar sus productos. Los estándares de calidad consisten en una colección de especificaciones técnicas, términos, definiciones y principios de clasificación y etiquetado, incluyendo reglas de medición establecidas o reguladas por la autoridad (estándares) y/o sistemas de clasificación basados en atributos cuantificables (grados) Arispe y Tapia (2007). Los estándares para hortalizas consisten en descriptores precisos para el criterio que define la calidad del producto. Ellos proveen marcos comunes de referencia que pueden ser usados como una base para las transacciones y disputas a ser resueltas por las autoridades reguladoras. Es importante para la comunidad empresarial tener estos grados y estándares que proveen uniformidad en la determinación de la calidad del producto. Los estándares de la industria deben ser establecidos por los grupos que producen el producto quienes normalmente desean establecer un estándar para sus productos que pueden ser más altos que el estándar oficial. Estos pueden ser voluntarios para los productores, pero aquellos que no

participan en el programa pueden no recibir ciertos beneficios que son ofrecidos a los miembros del grupo (Rushing, 2002).

Para proteger la salud y seguridad de los consumidores es fundamental la existencia de sistemas nacionales de control de los alimentos, con el propósito de garantizar su inocuidad y calidad. Debido al alto interés en la forma que se producen, elaboran, comercializan los alimentos y el aumento de las exigencias de la población (FAO y OMS, 2003), las empresas tendrán que invertir para permanecer vigentes y alcanzar una alta calidad del producto; cuya evolución y adaptación debe ser continua respecto a procesos productivos y comerciales para mantener una posición competitiva en el mercado actual, que a largo plazo influirá positivamente sobre la rentabilidad, productividad y participación en el mercado por parte de los productores (Arribas, 2005).

A nivel nacional existen múltiples entidades encargadas de desarrollar mecanismos que velan por la producción de productos de calidad, sanos e inocuos, tales como, ministerio, instituciones y agencias. El Ministerio de Salud (MINSAL) es el encargado de fiscalizar a la industria productora de alimentos, que cuenta con dos herramientas: el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) y el Plan Regional de Salud Pública (PRSP) (Raimann, 2008).

La Agencia Chilena de calidad e inocuidad alimentaria (ACHIPIA) es la comisión asesora presidencial dependiente del Ministerio de Agricultura encargada de formular la Política Nacional de Calidad e Inocuidad Alimentaria, permitiendo la coordinación y articulación entre los organismos públicos, la industria alimentaria, comunidad científica, productores de alimentos y los consumidores (OBIC, 2016).

El Instituto Nacional de Normalización (INN) es el organismo encargado del estudio y preparación de las normas técnicas siendo miembro activo de la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Comisión Panamericana de Normas Técnicas (COPANT) (INN, 2010).

Los estándares específicos de calidad asociados al origen se han estudiado para el puerro azul, que es una hortaliza perteneciente a la familia Alliaceae, cuyo cultivo está ampliamente distribuido en Europa, Asia y América. En Chile el cultivo del puerro alcanza aproximadamente 50 ha, las que se concentran mayoritariamente en la Región de La Araucanía. En la comuna de Padre Las Casas, se obtiene el 53,6% del total nacional de la superficie de producción de esta hortaliza, siendo la mayor superficie de puerro a nivel país la cultivada específicamente en la zona de Maquehue. Por otra parte, el ají es un fruto de la familia Solanaceae y del género *Capsicum*, el cual comprende una amplia diversidad de ajíes dulces y picantes que son originarios del continente americano. Cinco especies son comercialmente cultivadas *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum baccatum* L., *Capsicum pubescens* R. & P. y *Capsicum chinense* Jacq. Sin embargo, la especie *C. annuum* es la más ampliamente conocida, cultivada y de mayor importancia económica en la actualidad. Se distinguen dos subespecies; la primera *C. annuum* var. *longum* que corresponde al ají, el cual se encuentra principalmente en Chile, y que se destaca por presentar frutos largos y angostos, generalmente terminados en punta, erectos o encorvados, dulces o picantes. La segunda, *C. annuum* var. *grossum* que incluye a los pimentones o pimientas (Toquica *et al*., 2003). En Chile el cultivo se distribuye desde la Región de Tarapacá a la Región de La Araucanía, alcanzando una superficie total cultivada de 1.290,94 ha según el VII Censo Agropecuario y Forestal (INE, 2007).

El objetivo del presente estudio es conocer los requisitos específicos de calidad de dos hortalizas frescas a reconocer y distinguir en la Región de La Araucanía.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Bromatología de la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica de Temuco ubicado en el campus San Juan Pablo II. Se basó en una revisión sobre las normas de calidad básica y específica asociada al origen del puerro azul de Maquehue (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*), con el apoyo del proyecto FIA PYT-2016-0414 y el ají Cacho de cabra (*C. annuum*), con el apoyo del proyecto PYT-2014-0230 con el propósito de conocer los estándares de calidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cultivo del puerro en la localidad de Maquehue, es llevado a cabo principalmente por horticultores pertenecientes a la etnia Mapuche, lo que identifica los cultivos con un saber hacer particular que ha sido transmitido de generación en generación dentro de la comunidad. Esta hortaliza posee gran importancia tanto para los agricultores locales como para la comunidad, debido a que es posible producir dos cultivos al año, siendo una de las pocas verduras frescas de consumo y venta en el periodo otoño-invierno, debido a su capacidad de desarrollarse óptimamente al aire libre en periodos de bajas temperaturas, siendo reconocida como una hortaliza de invierno de alto valor nutricional de gran consumo en la zona sur del país. En el Cuadro 1 se identifican los estándares específicos de calidad para el puerro azul.

Cuadro 1. Estándares específicos de calidad a distinguir para el puerro azul de Maquehue.

Parámetro	Característica específica de calidad
Longitud total de planta (cm)	85 a 95 cm
Longitud de follaje (cm)	65 a 75 cm
Ancho de lámina del follaje	5 a 7 cm
Densidad y porte del follaje	Intermedia - hábito semierecto (1)
Longitud del fuste o falso tallo (cm)	10 a 15 cm
Diámetro del fuste (mm)	25 a 35 mm
Forma del falso tallo	Cilíndrico
Tendencia a formar bulbo	Débil a moderado
Color follaje (según tablas Munsell)	Verde oscuro a verde azulado (verde oscuro, notas Munsell = 5 G 5/4 - 5BG 5/4; 5 G 5/6 – 5 BG 5/6)
Coloración antociánica	Presente, fuerte a moderada
Presentación comercial	Con hojas despuntadas y sin raíces

La zona de cultivo del puerro azul de Maquehue presenta un clima muy singular, con bajas temperaturas sumadas a un alto índice de humedad, lo que se ve intensificado por la cercanía a dos cuencas de gran importancia para la región, como son los ríos Cautín y Quepe. Esta

proximidad a estos afluentes permite un rápido y eficiente acceso a aguas de riego, permitiendo la optimización y factibilidad de los cultivos.

El puerro azul de Maquehue se caracteriza por poseer colores verdes oscuro a verdes azulado en su follaje, atribuible a una sobreexpresión de antocianinas en la planta completa debido al estrés térmico experimentado en la zona de producción, lo que le otorga un gran valor nutricional; además de una característica organoléptica de fácil distinción para los consumidores. Esto, sumado a la capacidad que posee este ecotipo para crecer óptimamente a las bajas temperaturas de la región geográfica en que se cultiva y la larga vida de post-cosecha convierten a este puerro en un producto de calidad diferenciada, ampliamente reconocido y de preferencia entre productores y consumidores locales.

El clima de la zona, con temperaturas medias anuales por debajo de la temperatura óptima de crecimiento del puerro (13°C a 24°C para desarrollo vegetativo), sumado a la alta humedad relativa presente en la zona, debido principalmente a su localización, muy cercana a los ríos Quepe y Cautín, propician un microclima de condiciones muy singulares que provocan un estrés constante en las plantas de puerro, las que debido a varios procesos adaptativos fomentados por la selección de semillas realizada hace más de 50 años por los productores locales, han generado efectivas respuestas para disminuir el efecto deletéreo que este estrés provoca en los cultivos. Existe gran cantidad de información bibliográfica respecto al aumento de las rutas biosintéticas de antocianinas y distintos antioxidantes en situaciones de estrés abiótico, o específicamente térmico, para disminuir los aumentos significativos de radicales libres y sustancias oxidantes, en distintas plantas de cultivo (Levitt, 1980; Christie *et al.*, 1994; Chalker-Scott, 1999; Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2000; Pennycooke *et al.*, 2005; Gill y Tuteja, 2010). Esto hace suponer que la evidente coloración azulada en el follaje de la hortaliza, que no es observable en puerros cultivados en otras zonas de Chile, se debe a la respuesta adaptativa de los puerros cultivados en este clima particular, aumentando la expresión de antioxidantes, específicamente antocianinas.

Por otra parte, el ají es un producto hortícola relevante, no solamente debido a su color, sino también por el valor alimenticio de sus frutos. Otras razones indicadas por consumidores consideran al ají como un producto sano, de bajo costo y producido por campesinos; además de tener un 23% de aceptación por los consumidores. Además, disminuye el contenido graso y energético de la dieta en el momento de la digestión, por lo cual los ajíes acabaron popularizándose en las dietas de todo el mundo (Giaconi, y Escaff, 1998).

Dentro de su composición química, destaca su alto contenido de ácido ascórbico, potasio, hierro con valores de 128; 94; 1,2 mg 100 g^{-1} de producto fresco, respectivamente y de vitamina A 526,00 UI, también es importante el principio activo de los ajíes, la capsaicina, responsable del sabor picante, ubicada principalmente en la placenta y septas. El contenido de capsaicina puede variar entre las variedades del género *Capsicum* presentando diferencias considerables en pimiento, jalapeño, habanero, tabasco con valores de 0 a 100, 2500 a 10000, 150000 a 325000, 50000 a 100000 grados scoville, respectivamente. Al respecto, se sabe que un gen simple dominante en el locus C determina la presencia o ausencia de pungencia. Otra de las propiedades importantes de la capsaicina de esta especie es la capacidad antioxidante que posee, característica

típica de frutas y verduras rojas. Esta propiedad está dada por ciertos compuestos de origen natural llamados polifenoles (Surch y Lee, 1996).

Se ha postulado que el género *Capsicum* exhibe considerables variaciones morfológicas, relacionadas especialmente con la forma, color y tamaño del fruto, lo que puede deberse al proceso de domesticación a lo largo de miles de año de las variedades del conjunto de taxa; lo que condujo a la dispersión geográfica de diferentes especies en poblaciones pequeñas, fragmentadas, diseminadas en regiones amplias, circunstancia que incrementó las posibilidades de flujo genético entre las poblaciones domesticadas y las silvestres (Sousa y Maluf, 2003).

El ají "Cacho de cabra" dentro de los estándares de calidad que lo caracteriza presenta frutos largos, relativamente delgados, encorvados y de color rojo intenso a la madurez (Giaconi, y Escaff, 1998). En La Región de La Araucanía se ha cultivado durante siglos, este ecotipo local de ají, conservado por la etnia Mapuche para elaboración de merkén, que se ha desarrollado en superficies pequeñas, con bajo nivel tecnológico y una elevada mano de obra, ocasionando una baja oferta para el mercado en términos de rendimientos y volúmenes cosechados. Proviene de producciones de comunidades Mapuche ancestrales, con características diferenciadas de las explotaciones artesanales, el cual se procesa para obtener un producto comercial de mayor calidad, con identidad local, en función de su origen étnico y ubicación geográfica (FIA, 2010).

CONCLUSIÓN

Este estudio sienta las bases para obtener un reconocimiento de calidad diferenciada y única en el territorio para el puerro azul y el ají Cacho de cabra. Estas características únicas están determinadas por la zona geográfica de producción, las condiciones edafoclimáticas de su origen geográfico. En la Región de La Araucanía ambas especies han presentado muy buenos resultados de adaptabilidad y producción con estándares de calidad e inocuidad específicos para el consumo como hortalizas frescas, de estación fría para el caso del puerro azul y calurosa, para el caso del ají Cacho de cabra.

LITERATURA CITADA

Arispe, I., y M. Tapia. 2007. Inocuidad y calidad: requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores. *Agroalimentaria* 12(24):72-86.

Arribas, N. 2005. La adopción de estrategias de calidad en la industria agroalimentaria española: alternativas y consecuencias. 282 p. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Economía y Ciencias Sociales Agrarias. Madrid, España.

Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. Photochemistry and Photobiology 70(1):1-9.

Christie, P. J., M.R. Alfenito, and V. Walbot 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. Planta 194(4):541-549.

FAO y OMS. 2003. Garantía de la calidad e inocuidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. 91 p. Publicación conjunta FAO y OMS. Roma, Italia.

FIA. 2010. Estrategia para la innovación agraria para la producción de hortalizas. 67 p. Fundación para la Innovación Agraria. Santiago, Chile.

Giaconi, V., y M. Escaff. 1998. Cultivo de hortalizas. 335 p. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.

Gill, S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48(12):909-930.

INE. 2007. Censo de población y vivienda 2007. Disponible en http://www.ine.cl/estadisticas/censos/censos-de-poblacion-y-vivienda. Leído el 15 de mayo de 2017.

INN. 2010. Industria de los alimentos buenas prácticas de manufactura- requisitos. 19 p. Instituto Nacional de Normalización. Santiago, Chile.

Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress. Volume 1: chilling, freezing, and high temperature stresses. 497 p. Academic Press. New York. London.

OBIC. 2016. Observatorio de inocuidad y calidad alimentaria para el sistema nacional de inocuidad y calidad alimentaria. 12 p. Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria. Santiago, Chile.

Pennycooke, J.C., S. Cox, and C. Stushnoff. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia× hybrida*). Environmental and Experimental Botany 53(2):225-232.

Raimann, X. 2008. Cómo se realiza la fiscalización de alimentos en Chile. *Revista Chilena de Pediatría* 79(5):459-461.

Rushing, J. 2002. Mejorando la calidad y seguridad de frutas y hortalizas frescas: un manual de capacitacion para capacitadores. University of Maryland. USA.

Shinozaki, K., y K. Yamaguchi-Shinozaki. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. Current Opinion in Plant Biology 3(3):217-223.

Sousa, J.A., and W.R. Maluf. 2003. Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). Scientia Agricola 60:105-113.

Surch, Y., and S.S. Lee. 1996. Capsaicin in hot chili pepper:carcinogen, co-carcinogen or anti-carcinogen. Food and Chemical Toxicology 34:313-316.

Toquica, S.P., F. Rodríguez, E. Martinez, M.C. Duque, and J. Tohme. 2003. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon department in Colombia. Genetic Resources and Crop Evolution 50(6):639-647.

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

AGRONOMÍA
UC TEMUCO | Ingenieros de la Vida

AGRONOMÍA
UC TEMUCO *Ingenieros de la Vida*

agronomia.uct.cl /