

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**CULTIVO DE CALLOS DE *Vitis vinífera* cv.
CABERNET SAUVIGNON INFECTADOS
CON GRAPEVINE FAN LEAF VIRUS (GFLV)**

Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Mención: Sanidad Vegetal

CARLOS CHRISTIAN VALDIVIA SEPÚLVEDA.

PROFESOR GUÍA

Sr. Rodrigo Infante E.

Santiago, Chile. 2006.

Tesis con embargo temporal según petición del autor (disponible en julio de 2008)

Profesores Consejeros Sra. Loreto Prat. Sr. Jaime Montealegre.

RESUMEN .	1
SUMMARY . .	3
Texto con restricción . .	5

RESUMEN

Las enfermedades virales afectan tanto la calidad como la productividad de la vid, causando variados síntomas. *Grapevine Fan Leaf Virus* (Virus de la Hoja en Abanico de la Vid, GFLV) produce moteado y deformación de hojas, deformación de sarmientos, cuaja deficiente y maduración desuniforme. En Chile, la incidencia de este virus llega al 0,2%, mientras que las pérdidas en el rendimiento se han estimado hasta en un 12%. Puesto que los virus son de difícil estudio, se hace necesario el uso de métodos eficaces de mantención en laboratorio de este tipo de patógenos con fines de investigación, siendo el cultivo de callos infectados una de las técnicas empleadas.

Para establecer un medio de cultivo adecuado para mantener GFLV sobre callo de vid Cabernet Sauvignon, se realizaron dos ensayos. El primero para establecer la combinación de fitohormonas que induce el mayor crecimiento, y el segundo para determinar la mantención del virus en el callo después de un tiempo en cultivo in vitro. Se indujo el crecimiento de callo en un medio MS suplementado con 2,4-D (0,1; 0,5; 1,0 y 2,0 ppm) y BA (0,5; 1,0 y 2,0 ppm). El cultivo se mantuvo por 8 semanas. En el segundo ensayo, trozos de láminas infectadas con GFLV se colocaron sobre el medio que promovió el mayor crecimiento y se verificó la presencia de GFLV durante 8 semanas mediante test ELISA.

El crecimiento de los callos fue afectado principalmente por la concentración de 2,4-D, a mayor concentración, mayor crecimiento del callo. A mayor concentración de 2,4 D también se observa un marcado efecto del BA: concentraciones bajas de este regulador hormonal logran el mayor desarrollo de callo. 0,5 ppm de BA combinado con 1

y 2 ppm de 2,4-D presentaron el mayor crecimiento. Los callos infectados con GFLV presentaron un aspecto compacto y pardeado. La absorbancia observada en callos de 2 a 8 semanas fue al menos tres veces superior a la de tejido *in vitro* e *in vivo* infectados con GFLV, y más de 18 veces superior al control negativo, no existiendo diferencia significativa entre la absorbancia de los callos positivos al virus. Finalmente, se determinó que la carga viral de los callos no disminuyó al transcurrir el tiempo, por lo que se presume que el virus se multiplica junto con las células del callo.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, Grapevine Fan Leaf Virus, Crecimiento de callos.

SUMMARY

Diseases caused by viruses affect the quality and the productivity of grapevine causing several symptoms. *Grapevine Fan Leaf Virus* (GFLV) produces mottling and deformed leaves and shoots, fruit dropping and uneven ripening. Since the study of the viruses is very difficult, it is necessary an effective method of maintenance of this type of pathogens in laboratory with investigation aims, being the culture of infected callus one of the employed techniques.

Two trials were made in order to establish a proper culture medium for maintaining GFLV on callus tissue of Cabernet Sauvignon grapevine. The first one was targeted to establish the growth regulator's combination which induces the highest growing ratio. The second trial was focused on the long term maintenance of the virus within the callus. The callus growth was induced on MS medium supplemented with 2,4-D (0,1; 0,5; 1,0 and 2,0 ppm) and BA (0,5; 1,0 and 2,0 ppm). The culture was kept for 8 weeks. In the second trial, leaves sections infected with GFLV were placed on the medium that promoted the highest growth and the presence of GFLV was verified by ELISA test during the mentioned period..

The callus growth proved to be influenced mainly by 2,4-D. A direct relation exists between the increasing 2,4-D concentration and the callus growth. At a higher concentration of 2,4-D a noticeable effect of the concentration of BA is also observed: low concentrations of this hormonal regulator result in a higher development of callus. 0,5 ppm of BA in combination with 1 and 2 ppm of 2,4-D displayed the highest growth. The infected calli with GFLV showed a brownish and compact aspect of the tissue. The absorbance

measured in calli from 2 to 8 weeks was at least three times superior than the one of *in vitro* and *in vivo* tissue infected with GFLV, and 18 times superior than the negative control. A significant difference between the absorbance of the positive calli to the virus does not exist. Finally, the virus presence is not affected on long term culture, therefore it is presumed that the virus multiplies simultaneously to callus growth.

Key words: *Vitis vinifera*, Grapevine Fan Leaf Virus, Callus growth.

Texto con restricción

Tesis con embargo temporal según petición del autor (disponible en julio de 2008)