

**XI SILVOTECNA
“BIOTECNOLOGIAS APLICADAS
A LA SILVICULTURA DE ESPECIES
FORESTALES DE RAPIDO CRECIMIENTO”
1998**

MICROPROPAGACION DE EUCALYPTUS GLOBULUS

**Expositor : Sra. Ana María Sabja
CEFOR
Chile**

Micropropagación de *Eucalyptus globulus*

Ana María Sabja G.
Cefor S.A. Universidad Austral de Chile
Pedro Aguirre Cerda 2150. Valdivia
asabja@uach.cl
Fax 56- 63-224677
Phone 56-63-293019

RESUMEN

Actualmente existe una gran demanda por plantas con un alto potencial de crecimiento y valor comercial. La propagación clonal a través del cultivo de tejidos permite obtener un gran número de copias de los genotipos, resultando en ganancias productivas en un plazo bastante más corto que utilizando la propagación por estacas. Dentro de las técnicas de cultivo *in vitro*, la micropropagación por medio de la inducción de brotes axilares ha sido ampliamente utilizada en la producción comercial de diversas especies de *Eucalyptus*, por la facilidad en su aplicación y por la mayor estabilidad genética que se obtiene respecto a otras técnicas *in vitro*.

En esta especie, existe una alta variabilidad clonal en las respuestas de inducción, multiplicación y enraizamiento de brotes en la formación de plantas micropropagadas. Por lo tanto, en este documento se entregan antecedentes que consideran la aplicación del protocolo de micropropagación para determinar el comportamiento de clones de valor genético y comercial, en la obtención de brotes múltiples y posteriormente formar planta micropropagadas para la producción de setos y eventuales test clonales.

INTRODUCCIÓN

A mediados de la década de los 80, las empresas forestales del país inician el desarrollo de un importante patrimonio basado en plantaciones de especies del género *Eucalyptus*. Este patrimonio que en el último tiempo alcanza gran relevancia, constituye un recurso de creciente participación en la economía forestal del país, producto de las características altamente favorables que presenta el país para su cultivo.

Las empresas forestales han adoptado técnicas altamente desarrolladas en la producción de plántulas de vivero, técnicas de establecimiento y manejo de plantaciones, alcanzando en estas actividades casi el potencial total para el desarrollo de buenas plantaciones.

El mejoramiento genético constituye una de las herramientas más importantes para aumentar y de manera continua la productividad de nuevas plantaciones

y la competitividad de sus productos. Es a través de la selección genética la oportunidad de transferir a las nuevas plantaciones características de individuos notoriamente superiores a la población media existente. Sin embargo el mayor beneficio de esta estrategia estará determinado por la rapidez en que esta transferencia pueda ser realizada (Le Roux y Van Staden, 1991).

Bajo la técnica comúnmente usada para realizar dichas copias está la macropropagación o multiplicación por estacas, que presenta dificultad en el caso particular de *Eucalyptus* y el proceso de generación de copias es escaso y limitado. La micropropagación surge entonces como una nueva herramienta tecnológica que permite transferir rápidamente a la producción masiva este material superior seleccionado (Hartney, 1982; Lakshimi Sita, 1992; Le Roux y Van Staden, 1991).

A través de un convenio de Cooperación Científica y de Transferencia tecnológica, la empresa Nippon Paper Industries Co. Ltda., ha transferido a la Universidad Austral de Chile, la tecnología de micropropagación de las especies de *Eucalyptus*, para que esta última en forma operativa, a través de CEFOR S.A., realice su aplicación al sector productivo del país.

El proyecto de micropropagación de *Eucalyptus globulus*, se inició en junio 1997, en el laboratorio de Micropropagación y Biotecnología Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales.

Este proyecto consta de dos fases. En una primera fase, a escala experimental, se requiere validar y ajustar el protocolo base a las condiciones locales, utilizando para esto diferentes clones de alto valor genético. Para la implementación de esta fase, se ha elaborado y diseñado el proyecto denominado "Desarrollo de la tecnología de micropropagación de *E. globulus*", el cual cuenta con apoyo financiero de Corfo a través del Fondo Nacional de Desarrollo Tecnológico y Productivo. En este proyecto se invitó a participar a 5 empresas forestales quienes cediendo sus clones para evaluar el potencial que poseen con las técnicas de micropropagación.

La segunda fase consiste en la aplicación de la tecnología para producir masivamente, a partir de clones seleccionados, las plantas micropropagadas

con las cuales se establecen las plantaciones clonales con plantas idénticas en calidad genética.

APLICACIÓN DEL PROTOCOLO DE MICROPROPAGACIÓN EN *EUCALYPTUS GLOBULUS*

Material vegetal

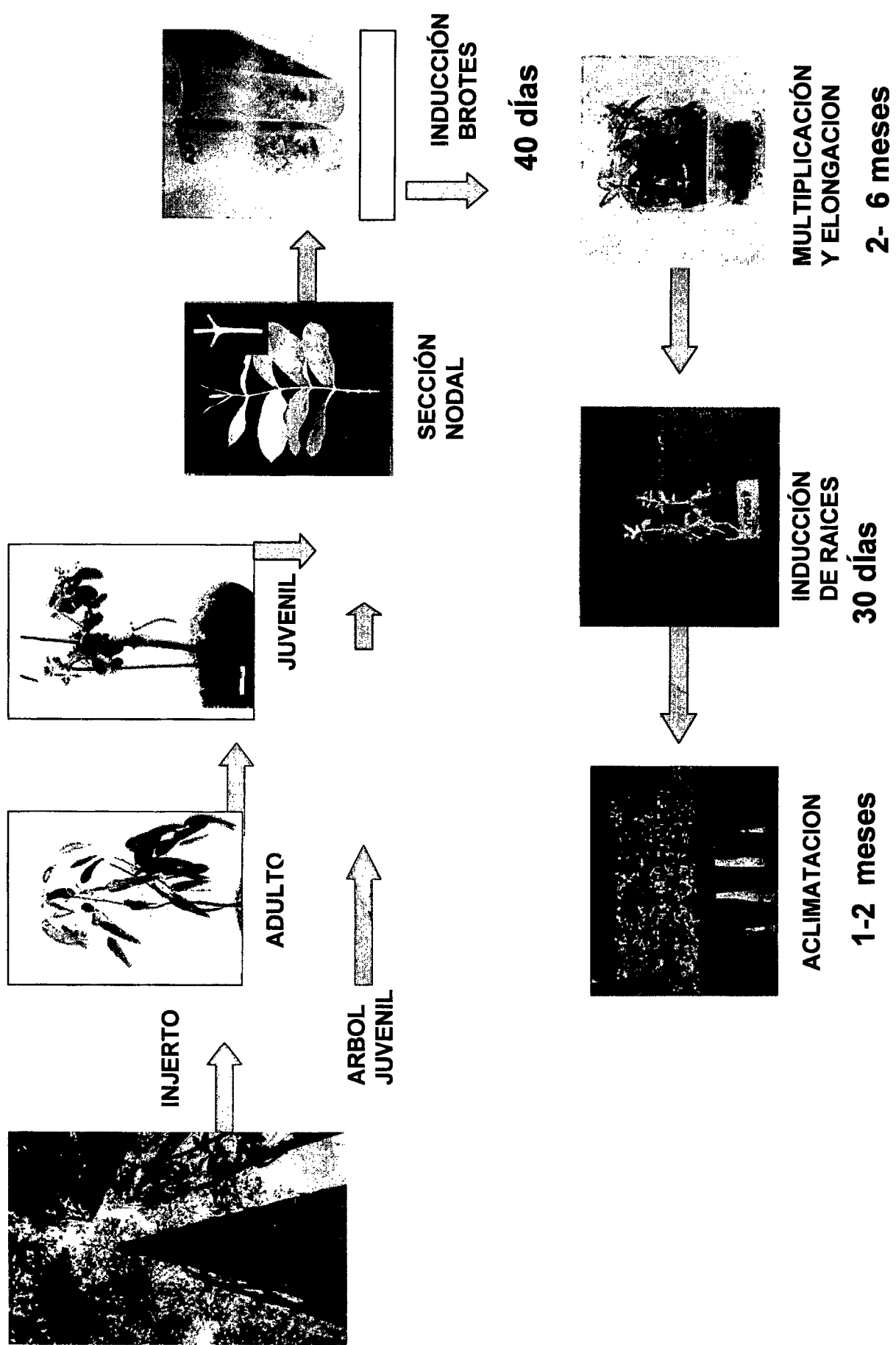
Para realizar el proyecto de micropropagación, se seleccionaron 63 clones de alto valor genético de *E. globulus*. Los clones se clasificaron en dos categorías de acuerdo a las características morfológicas que presentaban: injerto material rejuvenecido por medio de podas (clones N°1 al N°56) y secciones de ramas de árboles 2 a 3 años (clones N°57 al N°63). Las plantas madres, se prepararon con fumigaciones periódicas y podas para incentivar la inducción de brotes adecuados para su utilización en el proceso de micropropagación.

El proceso de micropropagación involucra una serie de etapas que comienza con la desinfección de pequeñas secciones nodales obtenidas desde ramas e inserción en un medio nutritivo estéril, luego la inducción de brotes axilares, la multiplicación de estos brotes, enraizamiento, hasta la aclimatación y obtención de plantas micropropagadas (Diagrama N° 1). Todo el proceso de micropropagación desde la inducción de los brotes hasta el enraizamiento se realiza en salas de laboratorio con ambientes controlados, fotoperíodo de 16 horas luz y temperaturas de 23 - 24°C. La aclimatación de las plantas se realiza en invernadero.

Inducción de brotes axilares

Las secciones nodales desinfectadas, se cultivan por 40 días en un medio nutritivo estéril al que se le adiciona reguladores de crecimiento, para promover el desarrollo de los brotes axilares.

DIAGRAMA 1. MICROPROPAGACIÓN DE E. GLOBULUS



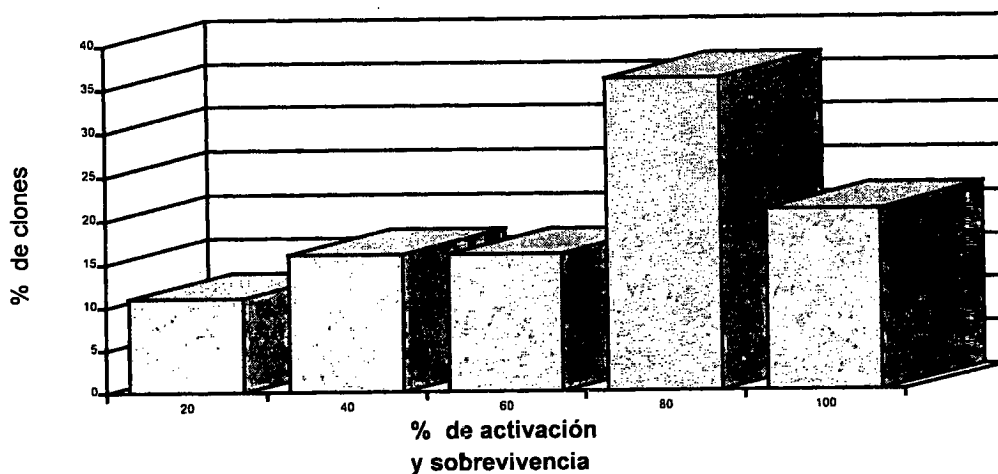


Fig. 1 Porcentaje de secciones nodales vivas y con desarrollo de brotes axilares de *E. globulus*, después de 40 días de cultivo en laboratorio

La mayor parte de los clones presentan un alto porcentaje de secciones nodales vivas y con desarrollo de brotes axilares (activación), como se indica en la figura N°1. Un 56% de los clones que entran al proceso de micropropagación muestran porcentajes de sobrevivencia y activación sobre el 70% y por cada sección nodal se promueve el desarrollo de 1 a 2 brotes axilares. Por otra parte, solamente un 11 % de los clones presentan valores de sobrevivencia y activación menor al 20%.

Multiplicación y elongación de brotes múltiples

Después de mantener las secciones nodales durante 40 días en el medio de inducción, los brotes axilares que se desarrollan se seccionan y traspasan a un nuevo medio nutritivo, donde se inicia la multiplicación y elongación de estos brotes.

En esta etapa que dura entre 2 a 8 meses, los brotes que se originan se dividen y se subcultivan cada 30 días a un medio nutritivo fresco. La potencialidad de multiplicación de brotes *in vitro*, es una condición intrínseca del clon y está bajo control genético (MacRae y Cotterill, 1997), esto se demuestra claramente en la variabilidad de respuestas de multiplicación que

se obtuvo en los clones en los que se aplicó el protocolo de micropropagación.

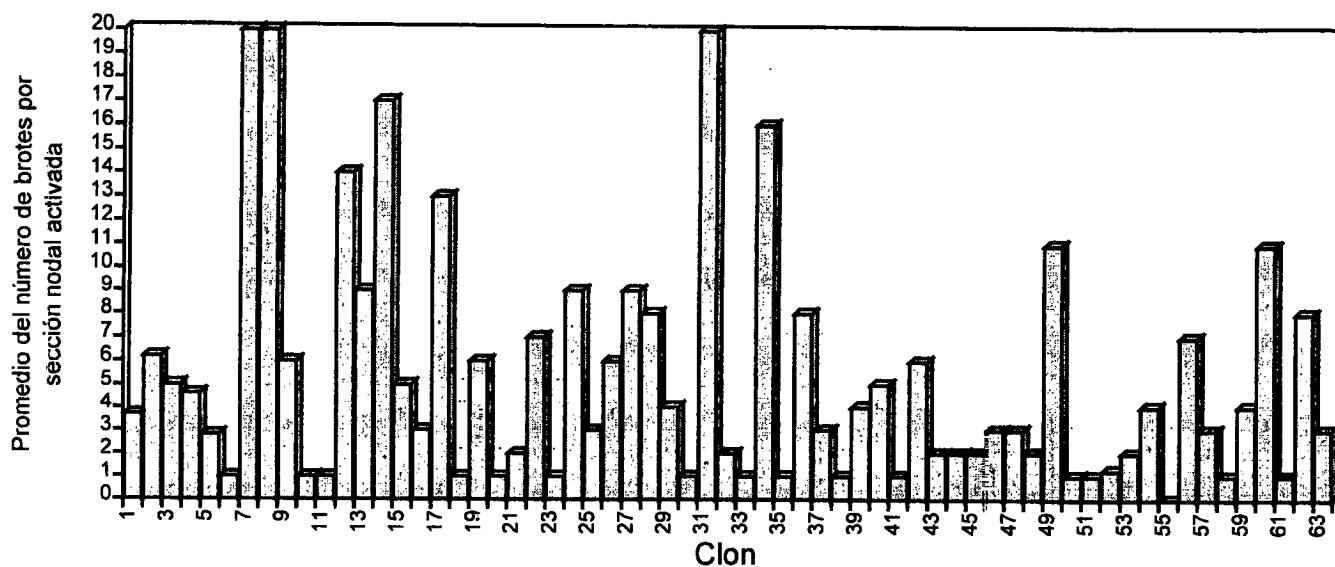


Fig. 2 Promedio del número de brotes por sección nodal activada para los distintos clones de *E. globulus*, después de 5 meses de cultivo *in vitro*.

- se contabilizaron solamente los brotes que mostraban una longitud igual o superior a 0.5 cm.
- en los clones N° 7, 8 y 31 se contabilizó 49, 26 y 91 brotes respectivamente por cada sección nodal inicial

Durante los 2 primeros meses, el número de brotes axilares que se origina, es de 1 a 2 por sección nodal ; a partir del tercer mes de cultivo el número de brotes se incrementa progresivamente. En la figura N° 2 se observa que algunos clones poseen la capacidad de producir un número de considerable de brotes *in vitro*, como es el caso del clon N° 7, 8, 15, 18 y 34 que durante la evaluación registraron un promedio de 49, 26, 17, 91 y 16 brotes respectivamente por cada sección nodal inicial cultivada.

El porcentaje de clones iniciados desde injertos rejuvenecidos y árboles de 2 a 3 años, se comportan en forma similar en cuanto al potencial de multiplicación de brotes originados por sección nodal inicial (cuadro N°1). Un 2% de los clones que se iniciaron en cultivo no sobrevivió al proceso de multiplicación después de 5 meses de cultivo *in vitro*, un 52 a 57 % de los clones se multiplicó a una tasa menor a 4 veces por sección nodal y entre un 43 a 46 % de los clones origina 4 brotes por cada sección nodal.

Cuadro 1. Clones de injertos rejuvenecidos y de árboles de 2 a 3 años de *E. globulus*, clasificados según el número de brotes obtenidos por sección nodal, después de 5 meses de cultivo *in vitro*

Origen planta madre	% clones clasificados según la tasa de multiplicación de brotes		
	0 X	< 4X	≥ 4X
Injerto rejuvenecido	2	52	46
Árboles de 2 a 3 años	0	57	43

Enraizamiento y Aclimatación

El proceso de enraizamiento se realizó en condiciones de laboratorio (control de fotoperíodo, temperatura, humedad y CO₂) y utilizando sustancias hormonales que estimulan la inducción de las raíces en los brotes apicales. Los brotes se colocaron en vermiculita y al cabo de 30 días se evaluó la capacidad de enraizamiento.

En este momento existen en proceso de enraizamiento un total de 20 clones que serán evaluados próximamente. A la fecha, se encuentran en el invernadero 150 plantas micropropagadas de 6 clones. El porcentaje de enraizamiento de estos clones fluctuó entre 34 a 82% (figura N°4).

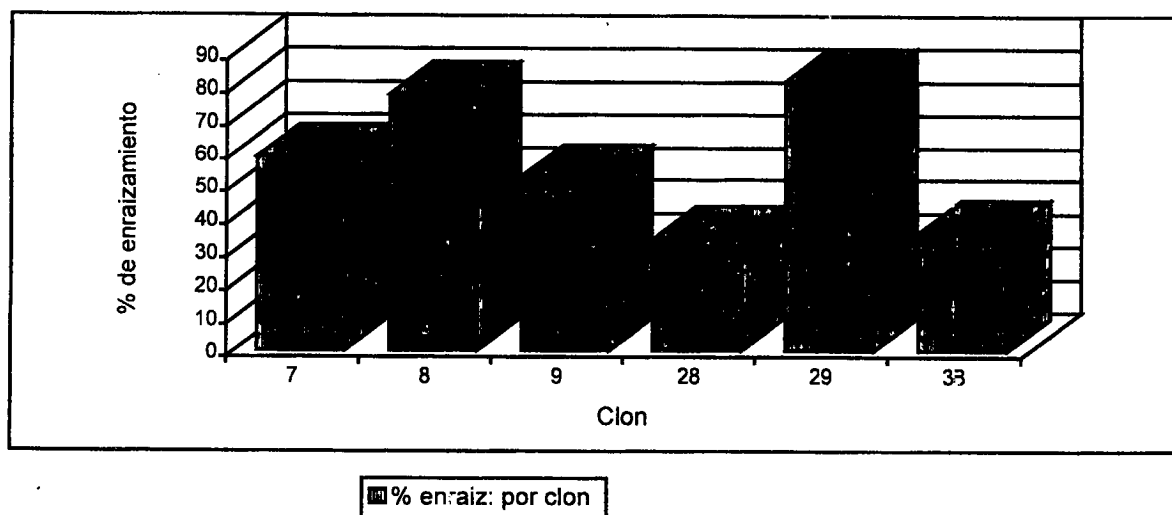


Fig. 4 Porcentaje de enraizamiento obtenido en 6 clones de *E. globulus* después de 30 días de cultivo *in vitro*.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que *Eucalyptus globulus* responde positivamente a la multiplicación *in vitro* y producción de plantas micropropagadas con el método utilizado. No obstante, y como es de esperar para esta especie, el comportamiento entre clones es diferente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hartney V.J. 1982. Tissue Culture of Eucalyptus. International Plant Propagators Soc. <combined Proceedings For.. V:32. Pp: 98-109

Lakshmi Sita G. 1992. Micropropagation of Eucalyptus. In: Micropropagation of woody plants. Forestry Science: v, 41. M.R. Ahuja (ed.). Kluwer Academic Publishers. London. pp: 263-280.

Le Roux J.J. y Van Staden J. 1991. Micropropagation and tissue culture of Eucalyptus- a review.. Tree Physiology 9. pp:435-477.

MacRae S. y P. Cotterill. 1997. Macropagation and Micropropagation of E. globulus: Means of Capturing Genetic Gain. In: IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalyptus. Salvador , Brazil, 24-29 August, 1997. pp:102-110.