



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Forestales - Programa de Doctorado en Ciencias Forestales

**Propagación *in vitro* por medio del sistema de inmersión
temporal y aclimatación de microplantas de
Eucalyptus globulus Labill
(*In vitro* propagation by temporary immersion system and
acclimatization of microplants *Eucalyptus globulus* Labill)**

RICARDO ANDRÉS GONZÁLEZ SIERRA
CONCEPCIÓN-CHILE
2011

Profesor Guía: Manuel Sánchez Olate
Dpto. de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales
Universidad de Concepción

RESUMEN

Eucalyptus globulus Labill. se perfila como la segunda especie de importancia productiva de Chile, esperándose un importante crecimiento respecto de su superficie de plantación durante la segunda década del siglo XXI. Este crecimiento debe estar supeditado al desarrollo de programas de mejoramiento genético y la propagación del material vegetal resultante de dichos programas.

La micropropagación es una herramienta que permite masificar vegetativamente material seleccionado con altas de tasas de multiplicación. Sin embargo, el desarrollo de protocolos de propagación vegetativa, requiere la optimización de las diferentes etapas de cultivo. Una herramienta utilizada para aumentar las tasas de multiplicación del material *in vitro* son los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT), los que utilizan periodos de desecación parcial alternados con inmersión en medio líquido para maximizar las tasas de multiplicación del material. No obstante, estos sistemas se asocian a la aparición de hiperhidratación en los tejidos.

Por ello, el primer estudio de esta investigación tuvo por objeto, analizar factores que afectan la multiplicación *in vitro* de *E. globulus* mediante el SIT. Para ello se dispusieron cinco microtallos por frasco, conteniendo 250 mL de medio Murashige y Skoog. Se estudiaron la frecuencia de inmersión (6, 12, 24, 48 h), tiempo de inmersión (1, 2 y 3 min) y concentración de macronutrientes (25, 50, 100 %). También se estudió el efecto de la adición al medio de cultivo de 6-bencilaminopurina (0, 2,2 y 4,4 μM BAP), polivinilpirrolidona (0, 250 y 500 mgL^{-1} PVP) y concentración de sacarosa (43,8 y 87,6 mM). En cada ensayo se realizó un diseño completo aleatorio con arreglo factorial con tres repeticiones. Se evaluó número de brotes nuevos por frasco, razón de masa seca/masa fresca, pH final del medio de cultivo y porcentaje de brotes hiperhidratados.

El tratamiento que presentó una mayor generación de brotes y menor hiperhidratación fue obtenido con un tiempo de inmersión de 2 min, frecuencia cada 12 h, concentración de macronutrientes al 50 %, 43,8 mM de sacarosa, 2,2 μmol de BAP y 250 mgL^{-1} de PVP. La

interacción del tiempo y frecuencia de inmersión, concentración de macronutrientes afecta la multiplicación e hiperhidratación de los microtallos. La utilización de BAP (2,2 μM) y PVP (250 mgL^{-1}) aumenta la multiplicación sin incidir sobre la hiperhidratación de los microtallos. La disminución en la concentración de sacarosa disminuye la hiperhidratación sin alterar la generación de nuevos brotes.

Se realizó un segundo estudio, el que tuvo por objetivo caracterizar el proceso de enraizamiento de microtallos de *E. globulus* respecto de la inducción con ácido indolbutírico (AIB). Para ello, se utilizó microtallos proveniente del cuarto subcultivo de tres clones de *E. globulus* los cuales se enraizaron utilizando el método de inducción rápida, con inmersión en cuatro concentraciones diferentes de AIB: 2,46; 4,92; 9,84 y 19,68 mM por 5 seg más un testigo sin auxina y un tratamiento con el solvente utilizado (Hidroxido de sodio). Luego de 45 días se evaluó: porcentaje de sobrevivencia, enraizamiento y callo, contenido de carbohidratos solubles y almidón en las hojas y base. Finalmente, contenido endógeno de ácido indolacético (AIA) libre y conjugado en la base del tallo y ácido abscísico (ABA), en cada uno de los niveles de auxina exógena utilizados a los 0, 1, 3, 7, 14, 21, 30, 45 días. Se realizó un diseño de bloques completos al azar, la unidad experimental correspondió a un contenedor de 34 cm^3 con cinco microtallos en sustrato turba:perlita (1:1 v/v).

Los resultados muestran que con aplicación de 2,46 mM de AIB, se observa un aumento en el enraizamiento y sobrevivencia (60% y 80% respectivamente) en cambio, la sobrevivencia y el enraizamiento disminuyen en concentraciones sobre 4,92 mM (47% y 70% respectivamente). En tratamientos con buenas respuestas al enraizamiento, el almidón comienza a acumularse en la base de tallos y hojas a partir de los 30 días, en cambio en tratamientos con baja respuesta al enraizamiento, las reservas continúan consumiéndose sin acumularse. Este estudio permite concluir que el nivel de AIB tiene un efecto significativo en el enraizamiento y sobrevivencia de brotes de *E. globulus* sometidos al método de inducción rápida. Además, los niveles endógenos de AIA y ABA están relacionados a la presencia de auxina exógena. Así mismo, el desdoblamiento de almidón y la movilización de reservas, responden a tratamientos de AIB.