

Ra Ximhai

Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo
Sustentable

Ra Ximhai
Universidad Autónoma Indígena de México
ISSN: 1665-0441
México

2005

ACLIMATACIÓN DE PLANTAS OBTENIDAS *in vitro* DE *Eucalyptus urophylla* S.

T. BLAKE Y *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN

Rosa Martínez Ruiz; Hilda S. Azpiroz Rivero; José Luis Rodríguez De La O; Víctor M. Cetina
Alcalá y M. A. Gutiérrez Espinosa

Ra Ximhai, septiembre-diciembre, año/Vol.1, Número 3

Universidad Autónoma Indígena de México

Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 591-597

ACLIMATACIÓN DE PLANTAS OBTENIDAS *in vitro* DE *Eucalyptus urophylla* S. T. BLAKE Y *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN

ACCLIMATATION OF PLANTS *in vitro* OBTAINED OF *Eucalyptus urophylla* S. T. BLAKE AND *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN

Rosa **Martínez-Ruiz**¹; Hilda S. **Azpíroz-Rivero**²; José Luis **Rodríguez-De La O**³; Víctor M. **Cetina-Alcalá**⁴ y M. A. **Gutiérrez-Espinosa**⁵

¹ Profesora Investigadora. Programa Forestal. Universidad Autónoma Indígena de México. Correo electrónico: ruizrosa@uaim.edu.mx.

² Laboratorio de Biotecnología y germoplasma Forestal-INIFAP. ³Laboratorio de Cultivo de Tejidos-UACH. ⁴ Programa Forestal-Colegio de Postgraduados. Programa de Fruticultura-Colegio de Postgraduados.

RESUMEN

Plantas obtenidas mediante micropropagación de las especies: *Eucalyptus urophylla* y *Eucalyptus grandis*, que medían de 3 a 7 cm. de longitud y poseían como mínimo 3 raíces, se colocaron en bolsas con suelo arcillo arenoso como sustrato y fueron ubicadas en un vivero que proporcionaba 70 % de sombra. El riego fue por aspersión durante 15 días, se fertilizaron a los 25 días de iniciada la aclimatación y se realizaron aspersiones con Oxiclورو de Cobre cada 7 días. A los dos meses de haber sido trasplantadas a suelo, las plantas alcanzaron aproximadamente 20 cm de longitud y se consideraron preparadas para plantación. Los porcentajes de adaptación logrados fueron: *E. urophylla* 85 % y *E. grandis* 75 %.

Palabras claves: *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus grandis*, aclimatación, micropropagación, cultivo de tejidos.

SUMMARY

Micropropagated plants of the species: *Eucalyptus urophylla* and *Eucalyptus grandis* from 3 to 7 cm. of length with at least 3 roots, were transferred to bags containing a argillarenaceous soil, they were situated in a shaded place which gave a 70 % of shadow. Irrigation was applied by means of spray at intervals during 15 days and they were fertilized after 25 days of acclimatization. Sprinkling with copper oxichloride were done every 7 days. Two months later the plantlets reached 20 cm of length, so they were consider ready to transplanted to the field. The adaptation percentages gotten were: *E. urophylla* 85 % y *E. grandis* 75%.

Key words: *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus grandis*, acclimatization, micropropagation, tissue culture.

Recibido: 10 de febrero de 2005. Aceptado: 17 de agosto de 2005.

Publicado como NOTA en Ra Ximhai 1: 591-597. 2005.

INTRODUCCIÓN

En México, en los últimos años, se han introducido y probado más de 10 especies de *Eucalyptus*, algunas de las cuales se han adaptado muy bien a determinadas localidades y constituyen, conjuntamente con introducciones anteriores, un potencial productivo de gran importancia, por sus múltiples usos como madera para construcciones, mobiliarios, chapas, aglomerados, energía, laminados, etc., siendo la demanda de los productos superior aún a la oferta (Betancourt, 1987; Castro, 1998). La propagación vegetativa se ha aplicado en varias especies para incrementar la productividad y resolver problemas con la semilla o de la producción y puede realizarse a través de varias técnicas entre las que se encuentra el cultivo de tejidos. Dentro de esta metodología, la micropropagación ha sido la más difundida y con aplicaciones prácticas comprobadas, se ha insertado en los programas de mejoramiento para la propagación de clones de alto valor genético (Aloísio, 1997; Celestino, 1999; Daquinta, 2000). El proceso de aclimatación de las plántulas obtenidas por cultivo *in vitro* es muy complejo, sobre todo en especies leñosas, por lo que el control estricto de las condiciones ambientales durante esta fase es determinante en un sistema de micropropagación. En este trabajo se establecen las condiciones ambientales en que deben desarrollarse las plantas *in vitro* de *Eucalyptus*, así como las atenciones silviculturales que deben proporcionárseles para lograr su aclimatación.

MATERIALES Y MÉTODOS

De las plantas obtenidas *in vitro* de *E. grandis* clon 246 y *E. urophylla* clon 141 de 6 - 7 centímetros de altura, que poseían como promedio 3 raíces y que la raíz mayor medía entre 5 - 7 cm de longitud aproximadamente. Se extrajeron de los tubos de cultivo para evaluar su supervivencia y se colocaron en una solución en benlate a 1g L^{-1} , eliminando completamente el agar para evitar la aparición de hongos y su deshidratación en el proceso de cambio de sustrato, posteriormente se trasplantaron a una bolsa de polietileno negro de 20 x 11 cm; que contenían suelo arcillo arenoso estéril y el 10 % de agrolita. Se trasplantaron 20 plantas de cada especie, las plántulas se ubicaron en un sitio que proporcionaba un 70 % de sombra en vivero. El riego se aplicó con un aspersor durante 20

días dos veces al día a partir de los cuales se fue reduciendo paulatinamente hasta los 40 días en que se sacaron las plantas del vivero, regándolas a partir de ese momento una vez al día durante otros 20 días. Se aplicó fertilizante de fórmula completa triple 17 (17-17-17) a los 25 días de iniciada la aclimatación, a razón de 5 gL⁻¹. Se realizaron aspersiones con oxiclورو de cobre 0.3 g L⁻¹, cada siete días por un mes, esto debido a que en esta etapa existe un alto índice de ataque de hongos a los explantes principalmente. Esta metodología es la utilizada en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la UACH y es similar a la empleada por González *et al.* (1987) para la aclimatación de *E. saligna*, mediante el empleo de estaquillas. Las variaciones fundamentales están dadas por el porcentaje de sombra y el sustrato utilizado.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las plantas vigorosas y que medían aproximadamente de 20 a 30 cm. de altura se consideraron establecidas y listas para ser llevadas a plantación (Figura 1), lo que ocurre aproximadamente a los dos meses de iniciado el proceso de aclimatación. Si por alguna causa las plantas no pueden ser llevadas antes a la plantación, éstas pueden mantenerse hasta 3 meses en las bolsas. Los porcentajes de supervivencia alcanzados para las dos especies de *Eucalyptus* se muestran en el Cuadro 1.



Figura 1. Plantas aclimatadas a) *E. urophylla* y b) *E. grandis*.

Cuadro 1. Porcentajes de supervivencia logrados para las dos especies de *Eucalyptus*.

Especie	Supervivencia (%)
<i>E. grandis</i> (clon 246)	75
<i>E. urophylla</i> (clon 141)	85

La supervivencia de las plantas *in vitro*, regeneradas durante el período de adaptación, depende fundamentalmente de las peculiaridades fisiológicas, estructurales y anatómicas que las plántulas presentan producto del desarrollo *in vitro*, el cual permite una elevada humedad relativa en el interior de los frascos, baja intensidad luminosa, bajo intercambio gaseoso, abundante disponibilidad de nutrientes y carbono (generalmente en forma de sacarosa) y una pequeña variación de temperatura en un rango considerado óptimo para el cultivo (Preece y Sutter, 1991; Teixeira *et al.*, 1995; Aloísio, 1997). Entre los principales problemas que presentan las plantas *in vitro* se encuentran: ineficiencia fotosintética, debido a los bajos contenidos de pigmentos del aparato fotosintético y el desarrollo de cloroplastos con granas desorganizadas (Preece y Sutter, 1991; Inoue *et al.*, 1999); capacidad reducida de formar cutículas cerosas (Amar *et al.*, 1995), estomas poco funcionales debido a la alteración en la forma de las células oclusivas (Ziv, 1991; Diez y Gil, 1999); ineficiencia de los tejidos de sustento debido a la reducida presencia de colénquima y esclerénquima (Preece y Sutter, 1991; Framton *et al.*, 1998); absorción y transporte de agua ineficiente, debido a una conexión vascular incompleta o deficiente entre la raíz y el brote. Durante las primeras dos semanas después del trasplante, es necesario controlar adecuadamente los factores ambientales y prácticamente se requiere simular las condiciones del ambiente *in vitro* hasta que las plantas se adapten a las nuevas condiciones, para evitar el exceso de transpiración de las jóvenes plantas, hasta que éstas logren un adecuado desarrollo de sus estomas y cutícula, es necesario mantener una alta humedad relativa (Ziv, 1991; Haggman *et al.*, 1999; Sánchez, 2000). El control de la intensidad de la luz en esta fase es también importante ya que las plantas provienen de un ambiente con intensidad baja, por lo tanto ésta se debe regular para evitar la fotoinhibición del aparato fotosintético. Para atenuar el efecto de la luz durante las dos primeras semanas, se emplean mallas plásticas de diferentes porcentajes de sombra, generalmente entre 30-70 % en dependencia de las necesidades de los cultivos (Agramonte *et al.*, 1998). Trindade y Paris (1997), lograron entre un 90 y un 95

% de sobrevivencia de plantas *in vitro* de *E. globulus* en la fase de aclimatación. Por su parte Gill (1996), enraizó plántulas de *E. tereticornis* en medio líquido y en medio sólido obteniendo un 82 % de adaptación de las que provenían del medio líquido y un 38.5 % de las que provenían del medio sólido. De acuerdo con lo obtenido por los autores anteriormente citados, los porcentajes de sobrevivencia alcanzados en este trabajo para las dos especies de *Eucalyptus* son aceptables.

CONCLUSIONES

De los ensayos expuestos anteriormente, se puede concluir que: a) Se aclimataron plantas obtenidas *in vitro* de *E. grandis* y *E. urophylla*, donde se alcanzan porcentajes de supervivencia de 75 % y 85 % respectivamente. b) el sustrato utilizado para el trasplante de planta *in vitro* a suelo fue el adecuado. c) el crecimiento de las plantas en vivero fue normal, obteniéndose planta de buena calidad. d) No hay antecedentes del uso de biotécnicas de los clones de las especies en estudio, por este motivo creemos que este trabajo puede ser un precedente, teniendo en cuenta que la micropropagación de especies forestales permite contar con un gran número de individuos de características deseables. f) adaptando las diferentes técnicas de micropropagación a especies arbóreas se contribuye a la conservación de los recursos genéticos forestales, mediante la instalación de bancos de germoplasma, lo que alberga una amplia gama de material genético, brindando oportunidades para estudios científicos y de investigación.

LITERATURA CITADA

Agramonte, D.; F. Jiménez M. A. y Dita A.

1998 **Aclimatización en Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología.** Editorial Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba. 400 pp.

Aloísio, X.

1997 **Enraizamiento *in vitro* de gemas de *Eucalyptus* multiplicadas e alongadas.** Revista Scientia Forestalis. 51: 29-26 pp.

Amar, S.; Pérez L. E. P. y Kerbauy G. B.

- 1995 **“Análisis comparativo del contenido de ceras en hojas de *Catsetum fimbriatum* (Morres Lindi *in vitro* y *ex Vitro*)”**. In: Congreso Nacional de Botánica, 44, Riberao Preto. Anais Ribeirao Preto. 267 – 268 pp.

Betancourt, T.

- 1987 **“Silvicultura especial de árboles maderables tropicales”**. Editorial Científico-Técnica, La Habana, Cuba. 427 p.

Castro R. D.

- 1998 **“Propagación *in vitro* de árboles élites adultos de *Eucalyptus camaldulensis* y *E. tereticornis*”**. III Encuentro latinoamericano de Biotecnología vegetal. REDBIO'98. Resúmenes. FAO-CUBA. pp. 28-29.

Celestino, C. Fernández B.; Hernández I.; Molinas M.; Puigderrajols P.; Martínez I.; Hornero J.; Gallego F. J.; Manjón J. L.; Díez J. y Toribio, M.

- 1999 **“Somatic embryogenesis in cork oak (*Quercus suber* L.)”**. In: Proceedings of Application of Biotechnology to Forest Genetics. Biofor 99. Espinel S., Ritter E. (Ed.). 22-25 September, Vitoria-Gasteiz, Spain. pp.195-197.

Daquinta G. M. L.; Lezcano R.; Escalona M.

- 2000 **“Algunos elementos en la micropropagación de la Teca”**. Biotecnología Vegetal. 1: 39-44.

Diez, J.; Gil L.

- 1999 **“Culturing of cell tissues within the Spanish breeding programme against Dutchelm disease”**. In: Proceedings of Application of Biotechnology to Forest Genetics. Biofor 99. Espinel S., Ritter E. (Ed.). 22-25 September, Vitoria-Gasteiz, Spain. pp.307-311.

Frampton, L. J.; Amerson H. V.; Leach G. N

- 1998 **“Tissue culture method affects *ex vitro*, growth and developmentt of loblolly pine”**. New Forests 16: 125-138.

Gill, R. I

- 1996 **“Micropropagation of economically important tropical forest trees. Tree improvement for sustainable tropical forestry”**. QFRI-IUFRO Conference, Caloundra, Queensland, Australia 1: 230 – 233.

González, A.; Vera N.; Pérez, M. y Rodríguez, E.

- 1987 **“Obtención de posturas de *Eucalyptus saligna* Sm. En Topes de Collantes mediante el empleo de estaquillas”**. Centro Agrícola. XIV (1): 77 – 84.

Haggman, H.; Jokela A.; Krajnakova J.; Kauppi A.; Niemi K.; Aronen T.

- 1999 **“Somatic embryogenesis of Scots pine: cold treatment and characteristics of explants affecting induction”**. Journal of Experimental Botany 50: 1769-1778.

Preece, J. E. y Sutter, E. G.

1991 **“Acclimatization of micropropagated plant to the greenhouse and field”**. *In*: Debergh P.C., Zimmerman, R.H. Micropropagation technology and application. Editorial Dordrech Kluwer Academic Press. pp. 71 – 93.

Sánchez, O.

2000 **“Micropropagación de algunas leñosas nativas”**. Editorial Trama. Universidad de Concepción, Chile. 322 p.

Teixeira, J. B.; Lemos, J. I. y Coelhe, M. C

1995 **“Micropropagação de espécies leñosas da mata atlántica”**. *In*: Congreso brasileiro de Fisiología Vegetal, 5. Editorial Lavras. Anais. 132 p.

Trindade, H y Paris E.

1997 **“In vitro studies on *Eucalyptus globulus* rooting ability. "In Vitro" Cellular and Developmental Biology Plant”**. 33 (1): 1 – 5.

Ziv, M.

1991 **“Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plant. *En*: Debergh, P.C., Zimmerman, R.H. 1991. Micropropagation: Technology and application”**. Editorial Dordrecht, Kluwer Academic. pp. 49 - 69.