

PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE ESPECIES DE *Eucalyptus*

Zohra Bennadji, Yoshitaka Uetsuki¹ y Oscar Dalera²

1. INTRODUCCION

Las técnicas de propagación vegetativa pueden visualizarse como herramientas al servicio de programas de mejoramiento genético a través de la multiplicación de genotipos selectos y/o como método de mejora de por si a través de la generación de nuevos genotipos.

Los ejemplos exitosos de implantación de la forestación clonal a escala industrial son cada vez mas numerosos a nivel internacional y sus resultados son particularmente espectaculares cuando se trabaja con especies de crecimiento rápido, de rotaciones cortas y de densidades definitivas (caso típico del *Eucalyptus* para producción de pulpa).

La propagación vegetativa incluye técnicas de macropropagación, micropropagación y ingeniería genética.

Los niveles de intervención de la propagación vegetativa en el esquema general de mejora genética de *Eucalyptus* en el Proyecto INIA-JICA son los siguientes:

- multiplicación vegetativa de árboles "plus" seleccionados en plantaciones comerciales de las especies programadas en el Proyecto o sea *Eucalyptus grandis*, *E. globulus* y *maidenii* para la instalación de bancos clonales, huertos semilleros clonales y diseño de tests clonales
- multiplicación de los individuos selectos de las poblaciones genéticas base y de las pruebas de progenies con los mismos fines que el punto 1

Las actividades programadas se nuclearon alrededor del establecimiento de un banco clonal modelo a través del:

- desarrollo de técnicas de micropropagación
- desarrollo de técnicas de macropropagacion
- establecimiento propiamente dicho del banco clonal.

Durante la ejecución del Proyecto INIA-JICA, se desarrollaron técnicas de macropropagación (estacas, injertos, acodos, layering) y micropropagación (cultivo de tejidos y técnicas de aclimatación) con material no selecto y selecto según el estado de avance de las acciones de mejora genética de *Eucalyptus grandis*, *globulus* y *maidenii*. En preparación de estacas, se probaron otras especies en estudio en el Programa Nacional Forestal del INIA (*E. bicostata*, *dunnii*, *badjensis*...).

¹ Ing. Agr. Líder del Equipo Japonés – Convenio INIA-JICA

² Encargado Laboratorio Forestal - INIA Tacuarembó

El presente trabajo constituye una síntesis de los trabajos de las contrapartes japonesas y uruguayas y de los expertos de corto plazo. Ellos fueron T. Shiozuru, T. Hitahana, Miura, T. Toda, Y. Uetsuki, O. Dalera, D. Pagliano, G. Major y D. Pagliano.

2. MACROPROPAGACION

Los ensayos de macropropagación de especies de *Eucalyptus* se extendieron de 1993 a la fecha en la Estación Experimental del Norte. Se desarrollaron básicamente técnicas de multiplicación por estacas.

El objetivo general de esta líneas de trabajo es establecer un paquete tecnológico comprobado para la producción de plantas madre para la instalación de un banco clonal modelo para la retro-alimentación a largo plazo de las otras líneas de investigación, la conservación de genotipos valiosos y la posterior transferencia de tecnología de producción masiva de estacas para fines de implantación comercial a nivel de productores forestales.

En el cuadro 1 se presenta una síntesis de los ensayos realizados en este campo en el correr del proyecto.

CUADRO 1. SINTESIS DE LOS ENSAYOS DE MACROPROPAGACION

ANO	ESPECIE	MATERIAL MADRE	TECNICAS
1993	<i>E. grandis</i>	-introducciones de Australia	-injertos -estacas
1994	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-progenies de arboles "plus" de <i>E. grandis</i> y <i>globulus</i> usando plantulas de 8 meses hasta árboles de 3 años -introducciones de Australia	-estacas -injertos
1995	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-introducciones de Australia -progenies de árboles "plus" -rebotes de cepas de progenie de árboles "plus"	-estacas -injertos
1996	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-ramas de banco clonal -rebotes de cepas del banco clonal -introducciones de Australia	-estacas -injertos -acodos -layering
1997	<i>E. grandis</i>	-rebotes banco clonal	-estacas -microestacas -microinjertos

Se utilizaron materiales vegetales no selectos y selectos según el grado de avances del programa de mejoramiento genético.

Se comprobaron diferentes combinaciones de sustratos, envases, concentraciones hormonales y condiciones ambientales.

Se utilizó vermiculita, arena, tierra franca, turba y rock wool. Los envases consistieron en tubetes, bolsas y bandejas de diferentes tamaño.

Según la estación y los objetivos del ensayos, las tareas se realizaron:

- en invernáculo con mist permanente o mist diurno intermitente
- en zona de aclimatación bajo sombreado
- al aire libre en los predios de la sede de la Estación Experimental del Norte.

Se midieron los siguientes parámetros:

- sobrevivencia de estacas
- formación de callos
- porcentaje de enraizamiento
- tipo y tamaño de las raíces formadas.

En el cuadro 2, presentamos una síntesis de los parámetros observados y de los resultados alcanzados.

CUADRO 2. SINTESIS DE LOS PRINCIPALES RESULTADOS LOGRADOS EN MACROPROPAGACION

AÑO	ESTACAS	TECNICA	CONDICIONES	RESULTADOS
1993	<i>E. grandis</i>	-injertos -estacas	-tasa de prendimiento del injerto -sobrevivencia -formación de callo -% de enraizamiento -tipo y tamaño de raíces formadas	-0 a 40% de éxito -0 a 90% de enraizamiento -observación del efecto clon -observación del efecto edad fisiológica del material vegetal -efecto estación
1994	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-injertos -estacas	-idem 1993	-6 al 80% -0 al 60% -4 al 40%

ANO	ESPECIE	TECNICA	PARAMETROS	RESULTADOS
1995	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-Injertos -estacas -acodos -layering	-idem 1993	-confirmación a gran escala resultados 93
1996	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-estacas	-sobrevivencia -formación d callo -de enraizamiento -tipo y tamaño de raíces formadas	-idem 1995
1997	<i>E. grandis</i>	-estacas -microestacas	-idem 1996	-comprobación efectos combinados substratos, envase, hormonas y clones

Los rangos promedios de variación del enraizamiento por especies permiten sacar las conclusiones siguientes:

- la aptitud de enraizamiento varía entre especie y en proporción considerable entre clones de la misma especie, lo cual hace de esta variable un criterio de selección apreciable en el esquema general de mejora de la especie
- las condiciones optimas de enraizamiento en al año corresponden a la primavera y al principio del otoño
- ubicándose en condiciones óptimas de producción de estacas , se espera el logro de porcentaje promedio de enraizamiento de 80%.

3. MICROPROPAGACION

Los ensayos de micropropagación se iniciaron en 1993 con respaldo de la Facultad de Agronomía y del laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental de Las Brujas hasta 1995 y con esfuerzos propios del Proyecto de 1995 a la fecha, después del diseño y de la puesta en marcha del laboratorio forestal de la Estación Experimental del Norte..

El cultivo de tejido fue la principal técnica desarrollado, específicamente a través del cultivo “ in vitro” de explantes. Las técnicas de rejuvenecimiento y aclimatación de materiales ocuparon un tiempo significativo en la ejecución de las actividades.

En el cuadro 3, resumimos las principales componentes de los ensayos llevados a cabo en el correr del Proyecto.

CUADRO 4. SINTESIS DE LOS ENSAYOS DE MICROPROPAGACION

ANO	ESPECIE	MATERIAL MADRE	TECNICA
1993	<i>E. grandis</i>	-material no selecto -material adulto de árboles "plus" locales (127 individuos)	-cultivo de tejido (explantes y meristemas)
1994	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i>	-material rejuvenecido por brotación epicórmica de ramas de los 127 árboles "plus" locales	-cultivo de tejido (explantes y meristemas)
1995	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-idem 1993 -progenies de árboles "plus" y introducciones de Australia	-idem 1994
1996	<i>E. grandis</i>	-banco clonal "in vitro"	-mantenimiento
1997	<i>E. grandis</i>	-banco clonal "in vitro" -árboles plus selectos por empresa	-mantenimiento -cultivo de tejido

Se comprobaron *Eucalyptus grandis* y *globulus*.

Se desarrollaron técnicas de colecta y traslado y de rejuvenecimiento adulto; se ajustaron medios de iniciación, elongación, enraizamiento y mantenimiento con los materiales vegetales siguientes:

- material no selecto de *Eucalyptus grandis*
- material selecto de 127 árboles "plus" de *Eucalyptus grandis*
- material no selecto de *Eucalyptus globulus*.

Se comprobaron los siguientes parámetros:

- capacidad de enraizamiento por clon
- tasa de multiplicación
- efecto de los factores ambientales.

Los principales resultados consisten:

- en ajuste de medios para las dos especies
- la obtención de un banco clonal "in vierto" de árboles "plus" de *Eucalytus grandis*
- la instalación de una replica de este banco clonal en campo.

En el cuadro 4, resumimos los principales resultados logrados.

CUADRO 4. SINTESIS DE LOS PRINCIPALES RESULTADOS LOGRADOS EN MICROPROPAGACION

AÑO	ESPECIE	PARAMETROS	RESULTADOS
1993	<i>E. grandis</i>	-capacidad de brotación -capacidad de enraizamiento -tasa de multiplicación	-ajuste de medios (iniciación, elongación y enraizamiento) -ajuste de condiciones óptima de brotación -ajuste de técnicas de limpieza de material adulto -ranking de clones por capacidad de brotación
1994	<i>E. grandis</i>	Idem 1993	-ranking de clones por capacidad de enraizamiento -ranking de clones por tasa de multiplicación -aclimatación de 37 clones
1995	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	-sobrevivencia de enraizamiento -tasa de multiplicación	-idem 1993 para <i>globulus</i> y <i>maidenii</i> -instalación banco clonal "in situ" -inicio banco clonal "in vitro"
1996	<i>E. grandis</i>	-sobrevivencia -sanidad	-mantenimiento banco clonal "in vitro" -desarrollo de técnicas de manejo del banco clonal "in situ"
1997	<i>E. grandis</i>	-sobrevivencia -sanidad	-idem 1997

4. CONCLUSION Y PERSPECTIVAS

Los trabajos realizados permitieron el desarrollo de técnicas básicas en micropropagación y macropropagación de las especies de *Eucalyptus* incluidas en el programa de mejoramiento genético del Proyecto.

Las actividades proyectadas para los próximos cinco años están descritas en el PIMP 1997-2001 del INIA (Plan Operativo de mediano plazo) y corresponden al objetivo específico relativo al desarrollo de pautas para la forestación clonal a escala industrial. Los principales aspectos corresponden al establecimiento de estaqueros de *E. globulus* y *maidenii*, a la instalación de bancos clonal "in vitro" y "in situ", a la evaluación de los materiales a través de tests clonales y a trabajos preliminares en ingeniería genética con marcadores moleculares.