

INVESTIGACIONES PRELIMINARES REALIZADAS EN TORNO AL ESTABLECIMIENTO *in vitro* DE ESPECIES CHILENAS DE *Rhodophiala**

PRELIMINARY RESEARCH ON THE *in vitro* ESTABLISHMENT OF CHILEAN *Rhodophiala* SPECIES

Jara, G.¹, Seemann, P.¹, Muñoz, M.¹, Riegel, R.¹, Schiappacasse, F.², Peñailillo, P.² y Vico, V.²
¹Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

E-mail: gjara@uach.cl

²Departamento de Horticultura, Universidad de Talca, Talca, Chile.

INTRODUCCIÓN

Chile posee una gran diversidad de especies bulbosas endémicas, constituyendo un pool genético que merece ser rescatado y estudiado. Entre estas especies destacan las pertenecientes a la Familia Amaryllidaceae, tales como *R. bagnoldii*, *R. montana*, *R. splendens* y *R. rhodolirion*, las cuales se distribuyen desde la III a la X región de nuestro país. Son plantas geófitas, que producen hermosas flores de llamativos colores. Las investigaciones realizadas en torno a esta especie han sido principalmente en torno a estudios citológicos y de multiplicación (Palma-Rojas, 1999) Al igual que otras Amarilidaceas, la propagación a partir de bulbos en forma natural no ha sido un método efectivo, ya que produce escasos bulbillos hijos, con lo cual se han investigado otras alternativas tales como, el seccionamiento y obtención de escamas gemelas, el corte en cruz y el vaciado. La aplicación de técnicas biotecnológicas, mediante la micropropagación, ha sido la más utilizada en la mayoría de las geófitas que se desarrollan comercialmente. En el caso de *Rhodophiala*, esta técnica ha sido aplicada en *R. montana*, *R. rhodolirion*, *R. splendens* y *R. bagnoldii*. No obstante lo anterior, se espera que los conocimientos en la micropropagación de otras geófitas sean aplicados exitosamente a las cuatro especies en estudio, de tal forma de elaborar un protocolo para el cultivo *in vitro*, ya sea mediante la incorporación de material vegetativo o germinación de semillas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron con escamas de bulbos y semillas de *R. bagnoldii* y *R. montana* y bulbos *in vitro* de *R. rhodolirion*. El establecimiento *in vitro* se realizó mediante las técnicas de desinfección habituales. Se llevaron a cabo ensayo con escamas dobles, para determinar el efecto de la prevención en la liberación de fenoles, con ácido cítrico/ácido ascórbico (AC/AA), Polivinil Pirrolidona (PVP) y carbón activado, diferentes concentraciones de ANA y citoquininas, carbohidratos, concentraciones de las macrosales del medio MS en combinación con diferentes concentraciones de sacarosa, y con microbulbillos se ensayaron medios de cultivo con reducción de macrosales y diferentes concentraciones de ANA/BAP, mientras que en el caso de semillas se determinó el porcentaje de germinación. Todos los ensayos se incubaron a 16 horas luz, 21°C y un flujo de fotones fotosintéticamente activos de 50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Las evaluaciones se realizaron a los 30 días de iniciado el cultivo, evaluándose el número y longitud de brotes, hinchamiento de escamas, porcentaje de oxidación, sobrevivencia y porcentaje de germinación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El empardecimiento de los explantes se logró controlar en forma significativa mediante la aplicación de carbón activado al medio de cultivo en *R. bagnoldii*, mientras que en *R. montana* la

Cuadro 1. Prevención de la oxidación y sobrevivencia en escamas de bulbos de *R. bagnoldii* y *R. montana* sometidas a diferentes tratamientos.

Table 1. Oxidation prevention and survival on bulb scales of *R. bagnoldii* and *R. montana* under different treatments.

Tratamiento	<i>R. bagnoldii</i>		<i>R. montana</i>	
	Fenolización (%)	Sobrevivencia (%)	Fenolización (%)	Sobrevivencia (%)
Medios				
MS 100% (testigo)	46,7 b	46,7	40,0	90,0
MS 100% + CA	16,7 a	60,0	0	70,0
MS 75%	63,3 b	60,0	10,0	80,0
MS 75% + CA	10,0 a	53,3	30,0	70,0
Significancia	*	NS	NS	NS
Remojo antioxidantes				
Control en agua	42,5	57,5	10,0	80,0
AC/AA	25,0	60,0	20,0	80,0
PVP	35,0	47,5	20,0	80,0
Significancia	NS	NS	NS	NS

Promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí. Test de Tukey ($p < 0,05$). a Datos representan un promedio de 10 escamas gemelas.

respuesta no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, no lográndose determinar una respuesta clara en cuanto a la efectividad de los agentes antioxidantes. A pesar de la pérdida de material por oxidación, se logró una tasa de sobrevivencia mayor del 46,7%, después de 30 días de cultivo, sin embargo, la regeneración de brotes fue muy baja, del orden de 1-2 brotes por escama. Esta respuesta, puede explicarse a que la evaluación de las escamas se realizó a los 30 días de incubación y no a los 90 días como lo realizado por otros investigadores.

El efecto de medios con reguladores de crecimiento y carbohidratos, no fue significativo para la brotación y/o bulbificación en las escamas de *R. montana*. Esta situación también se presentó en *R. bagnoldii* en medios de cultivo adicionados con carbón activado. A pesar del bajo porcentaje de brotación, las escamas que formaron brotes, se adaptaron a condiciones de cultivo in vitro, aumentado paulatinamente su capacidad de regeneración, como se observa en

el Cuadro 2, en donde se alcanzó un porcentaje de brotación de hasta un 55% para *R. rhodolirion*, activándose además la bulbificación con un máximo de 30% en medio MS normal.

En relación a la germinación in vitro, *R. montana* presentó una curva más uniforme, con un porcentaje de germinación del 40%; mientras que *R. bagnoldii*, presentó valores de un 28%, a los 42 días post siembra. Este sistema de propagación ha sido más eficiente permitiendo aumentar notoriamente el banco de germoplasma de las cuatro especies de *Rhodophiala* en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- PALMA-ROJAS, C. 1999. Caracterización citogenética de los géneros *Rhodophiala* Presl. y *Phycella* Lindl. (Amaryllidaceae). In: Seminario "Los geófitos nativos y su importancia en la floricultura". Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y DIUT, Universidad de Talca. 79 p.

Cuadro 2. Respuesta morfogénica de bulbillos in vitro de *R. rhodolirion*.

Table 2. Morphogenic response of *R. rhodolirion* bulbs in vitro.

Macro MS (%)	Tratamientos		Parámetros evaluados	
	ANA/BAP (mg/L)	Brotación (%)	Enraizamiento (%)	Bulbificación (%)
100	0/0	10.0±9.4	5.0±5.0	10.0±9.5
100	0,1/1,0	55.0±25.1	0.0±0.0	30.0±22.1
50	0/0	40.0±25.3	10.0±9.5	20.0±16.8
50	0,1/1,0	40.0±25.3	10.0±9.5	25.0±19.7

*Trabajo Financiado mediante Proyecto FIA-BIOT-01-A-071