

MUPLICACIÓN *in vitro* Y CARACTERIZACIÓN CITOLÓGICA DE DOS ESPECIES DE ORQUÍDEAS NATIVAS (*Chloraea* y *Gavilea*) DE LA PROVINCIA DE VALDIVIA, CHILE.

In vitro MULTIPLICATION AND CYTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO ORCHID SPECIES (*Chloraea* and *Gavilea*) NATIVES TO VALDIVIA, PROVINCE, CHILE.

Jara, G.; Seemann, P., Durán, C. y Soto, S.

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Casilla 567, Valdivia, Chile.

E-mail: pseemann@uach.cl

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas son plantas ornamentales cuyas flores presentan una gran variedad de tamaños, formas, colores y aromas, lo cual ha despertado el interés de floricultores y cultivadores desde hace muchas décadas. Hoy en día su comercialización es de tal magnitud que incluso numerosas orquídeas silvestres se encuentran en peligro de extinción (Ospina, 1979). Esta situación, ha provocado que países como Colombia, Costa Rica, Nicaragua, Brazil, Honduras, Perú, entre otros, han debido desarrollar rápidamente programas racionales para su conservación, mediante la aplicación de sistemas de multiplicación sostenida. Según lo señalado por Bartolameo (1999), algunas especies de nuestra flora nativa, tales como *Alstroemeria*, *Pasithea*, *Phycella* y *Leucocoryne*, debieron sufrir una peligrosa extracción irracional y modificación de sus ambientes naturales, debido a la extracción de sus bulbos y el corte de flores para propósitos comerciales. En el caso de nuestras orquídeas, que se encuentran representadas por siete géneros, con un total de 50 especies (Marticorena, 1991), esta situación podría repetirse y llegar a amenazar seriamente las poblaciones naturales, siendo necesario realizar estudios para recopilar información básica que sirva de base para el manejo apropiado de la especie. Por este motivo es que el presente trabajo entrega información acerca del desarrollo de la plántula desde la germinación *in*

in vitro hasta la fase de multiplicación, además de estudios cromosómicos básicos y determinación de endomicorrizas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron varas florales de *Chloraea virescens*, *Chloraea lamellata* y *Gavilea araucana*, en diferentes localidades de la Provincia de Valdivia.

De ambas especies de *Chloraea* se obtuvieron las cápsulas con semillas maduras e inmaduras, para determinar la capacidad de germinación de estas semillas, las que fueron sembradas en el medio de Murashige y Skoog (1962), e incubadas bajo oscuridad e iluminación (16 horas de luz). Además se determinó la influencia de cuatro medios de cultivo (MS 50%, MS 100%, Medio Morel, Medio Knudson) sobre la germinación de semillas maduras. Las evaluaciones se realizaron al cabo de 3 meses determinándose el porcentaje de sobrevivencia y germinación. Posteriormente se determinó la capacidad de regeneración *in vitro* de los protocormos de germinación en el medio basal de Murashige y Skoog (1962), adicionado con diferentes concentraciones de citoquininas (tidiazuron y 6-benzilaminopurina) y auxinas (ácido naftalén acético).

En los estudios cromosómicos se utilizaron puntas de raíz de plantas mantenidas en invernadero e *in vitro*, las cuales fueron

tratadas mediante la técnica descrita por Grant *et al.* (1984), determinándose el número de cromosomas mediante observación bajo microscopio.

Para los estudios micorrízicos se utilizaron plantas de *Gavilea araucana*, a las cuales se les seleccionaron las raíces maduras, las que fueron lavadas y desinfectadas, para ser tratadas con la tinción de Steubing *et al.* (2002).

RESULTADOS Y CONCLUSIÓN

Se determinó un efecto significativo de la maduración de las semillas sobre la germinación (60%), mientras que la incubación bajo diferentes regímenes de luz no presentó diferencias significativas. El mayor porcentaje de germinación, con formación de protocormos aclorofílicos se obtuvo en el medio MS 50%.

La regeneración de *Ch. virescens* a partir de protocormos de regeneración fue de un 100% en el medio testigo y con 0,1 mg/L de TDZ, mientras que *Ch. lamellata* lo hizo en un 15%. En el ensayo con diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento se obtuvo un 35% de regeneración para *Ch. virescens* y un 64% para *Ch. lamellata*.

Para los estudios cariológicos, se trataron ápices radicales de *Ch. virescens*, determinándose células en mitosis con aproximadamente *Ch. virescens* 2n= 42 y *Ch. lamellata* 2n=44.

Los cortes histológicos de las raíces maduras

de *G. araucana* reflejaron que a nivel cortical se presentaron ovillos de hifas, los que al ser extraídos y sembrados en medio FIM desarrollaron un micelio de color marrón oscuro, con presencia de hifas septadas, en aproximadamente 7-8 días, pertenecientes a la clase Basidiomicota.

Se logró establecer un protocolo para la germinación, multiplicación y enraizamiento de ambas especies de *Chloraea*, aplicándose eficientemente una metodología para comprobar la presencia de asociación micorrízica y la determinación del cariotipo en dos especies.

REFERENCIAS

- BARTOLAMEOLLI, G. 1999. Ornamentales para adornar el mundo. Visiones del Sur (Chile). 2 (5): 10-11.
- GRANT, J.; BROWN, A.; GRACE, J. 1984. Cytological and Izoenzyme Diversity in *Glycine tomentella* Hayata (Leguminosae). Australian Journal of Botany. 32:665-677.
- MARTICORENA, C. 1991. Contribución a la estadística de la flora vascular de Chile. Gayana Botánica 47: 85-113.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiology 15: 473-497
- OSPINA, H.; DRESSLER, R. 1979. Orquídeas de las Américas. Bogota, Litografía Arcos. 496 p.
- STEUBING, L., GODOY, R.; ALBERDI, M. 2002. Métodos de Ecología Vegetal. Santiago, Chile, Ed. Universitaria. 345p.