

es importante destacar que, más que deberse a una expansión en términos de volumen, es resultado del hecho de que actualmente se están enviando al exterior especies con mayor valor comercial. En términos proporcionales, hoy se envían menos claveles y más especies como liliium, peonías y proteas que se comercializan a un mayor valor unitario. Por otro lado, de acuerdo a Prochile durante el 2004 se exportó un volumen total de 76,2 millones de bulbos por un monto de US\$ 13,7 millones, con un incremento de un 31,3% en el volumen exportado y un incremento de un 30,3% en el monto exportado el año 2004, correspondiendo principalmente a las especies de liliium y tulipán.

En cuanto a destinos de estas exportaciones cabe señalar que nuestro principal mercado es Estados

Unidos, que recibió el año 2004, el 81,5% del total de flores exportado por Chile, seguido de Holanda con 17,1%. También es necesario indicar que existe actualmente una mayor diversificación en cuanto al número de países de destino de nuestras exportaciones, destacando Reino Unido, Emiratos Árabes, Colombia y Portugal. En este escenario, se deben considerar además las importaciones de flores de corte, especialmente durante los meses invernales, Chile compró US\$ 1,9 millones (CIF) en 2004, registrándose un aumento de 44,3% con relación al año 2003. La principal especie demandada es la rosa ecuatoriana, en la cual se incrementaron sus envíos en un 38,9% comparando los años 2003 al 2004, alcanzando los US\$ 1,35 millones (CIF) este último año.

Agro Sur 34 (1-2): 5-7 2006

## BIOTECNOLOGÍA Y MEJORAMIENTO DE ESPECIES CHILENAS DEL GÉNERO *Rhodophiala* Presl. (Amaryllidaceae)

### BIOTECHNOLOGY AND PLANT BREEDING OF TWO CHILEAN SPECIES OF *Rhodophiala* Presl. (Amaryllidaceae)

Seemann<sup>1</sup>, P.; Riegel<sup>1</sup>, R.; Jara, G<sup>1</sup>., Muñoz<sup>1</sup>, M.; Schiappacasse<sup>2</sup>, E; Peñailillo<sup>3</sup> P. y Basoalto<sup>3</sup>, A.  
<sup>1</sup>Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.

<sup>3</sup>Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias  
 pseemann@uach.cl

#### INTRODUCCIÓN

En Chile las especies nativas, en general, han sido poco valoradas y aún menos estudiadas en relación a su uso potencial como plantas ornamentales. Es un hecho que el país posee una enorme diversidad de especies bulbosas endémicas, constituyendo un *pool* genético que merece ser estudiado y analizado con el objetivo de crear y mejorar nuevas variedades. En floricultura se busca que las plantas cultivadas tengan grandes flores y fuertes tallos. Para esto, el uso de material poliploide ha producido grandes avances en el mejoramiento de especies florícolas. Si bien la poliploidía es una condición genética frecuente en las angiospermas, también puede ser inducida artificialmente mediante la aplicación de antimitóticos como la colchicina. La duplicación cromosómica que genera la in-

ducción de autopoliploidía provoca gigantismo celular y mayor duración de los ciclos, con lo cual es posible obtener órganos más grandes. Es por esta razón que los individuos poliploides suelen presentar flores de mayor tamaño, mayor intensidad de la pigmentación y mayor duración de la floración, los cuales pueden ser inducidos por medios artificiales. Entre los géneros con potencial de mejoramiento genético, hay varias especies de *Rhodophiala* que presentan características que las hacen atractivas como flores de corte, plantas de maceta o de jardín, sin embargo, el mejorar sus características naturales las haría más atractivas para diferentes mercados. Es por ello que dentro del marco del Proyecto FIA-BIOT-01-A-071 "Aplicaciones biotecnológicas en el mejoramiento de especies de *Rhodophiala* chilenas" se ha iniciado el estudio de las especies *Rhodophiala rhodolirion*, *R. splendens*,

*R. montana*, *R. bagnoldii*, y posteriormente, *R. laeta*, especies geófitas que se caracterizan por presentar un bulbo tunicado como órgano reservante y producir atractivas flores.

Los objetivos de este proyecto fueron enfocados en tres planos:

- 1.- Determinar cariotipos de las especies, establecer un protocolo para la inducción de poliploidía y evaluar el grado de poliploidía logrado,
- 2.- Desarrollar protocolos de multiplicación *in vitro*, para la multiplicación masiva del materia, optimizando los sistemas de micropropagación, y
- 3.- Evaluar bajo condiciones de invernadero métodos de crecimiento rápido de bulbos, optimizar el cultivo de las plantas diploides y poliploides, y evaluar la floración de las mismas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La determinación del cariotipo se realizó a partir de raíces en crecimiento activo, utilizándose en una primera etapa semillas o bulbos plantados en sustrato de arena/turba, para posteriormente realizar la selección e inducción de poliploides con material producido *in vitro*. A partir de raíces en crecimiento se extrajo el meristema, procediéndose a la tinción de los cromosomas según la metodología descrita por Grant *et al.* (1984). Para la inducción de poliploidía se utilizaron microbulbillos originados *in vitro*, ya sea de semillas o escamas de bulbos, los cuales fueron sembrados en medio de cultivo adicionado con colchicina en concentración de 0,01-0,05% por 10 o 4 días o mediante el remojo de semillas recién germinadas *ex vitro* en una solución de colchicina al 0,05% por 12 horas y 0,2% por 4 horas, mas los respectivos testigos. Las evaluaciones realizadas fueron; sobrevivencia, crecimiento de plántulas, recuentos del número cromosómico en puntas de raíz y mediciones del tamaño de los estomas en las hojas, además de determinar la cantidad de ADN en los núcleos a través de citometría de imágenes utilizando el software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

Para el desarrollo de protocolos de propagación *in vitro* se utilizó tejido meristemático proveniente de trozos de disco basal de escamas, simples o gemelas. Los bulbos fueron lavados y desinfectados según procedimientos habituales y cultivados en medio completo o diluido,

compuesto por las sales y vitaminas del MS, y diversos tipos y concentraciones de auxinas y citoquininas, gelificado con Agar o Gelrite, o bien en medio líquido en agitación o estacionario con base de algodón hidrófilo, regulando el pH a 5,7. Además se hicieron ensayos para comparar los efectos de medios de cultivo básicos, diferentes tipos y concentraciones de azúcares, el uso de antioxidantes o retardantes del crecimiento. La incubación habitualmente se hizo a temperaturas de  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ , un fotoperíodo de 16 horas luz y un FFF de  $50 \mu\text{mol/m}^2\text{s}^{-1}$ . Paralelamente se ingresaron semillas al cultivo *in vitro* de modo de establecer su capacidad de germinación e iniciar un banco de germoplasma a partir de ellas. Del mismo modo se hicieron ensayos de inducción de poliploidía *in vitro*, utilizando semillas o bulbillos. Finalmente, se hicieron ensayos de engorda de bulbillos *in vitro* y de aclimatación a condiciones *ex vitro* de plántulas micropropagadas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de cariotipos de las especies en estudio indicó que tres de las especies, *R. splendens*, *R. montana* y *R. bagnoldii* poseen una dotación cromosómica de  $2n = 18$ , mientras que *R. rhodolirion* tiene un número cromosómico  $2n = 16$ . Los tratamientos con colchicina en concentración de 0,2% por 4 horas permitieron inducir tetraploidía en el 6,9% de las semillas de *R. splendens* tratadas, aumentando este resultado a 21,4% en la inducción *in vitro*. Del mismo modo es posible inducir la formación de poliploidía en las demás especies en estudio. El tratamiento con Trifluralina no permitió sobrevivencia de las semillas tratadas. El poder germinativo de las semillas, con fines de inducción de poliploidía dependió del lote analizado. En *R. rhodolirion* se observó germinación de 1 a 38%, en *R. splendens* de 78 - 80%, en *R. montana* de 62 - 70% y en *R. bagnoldii* de 30 a 52%, en tiempos variables, según la especie, desde 1 a 80 días.

La respuesta al cultivo *in vitro*, igualmente fue muy variable según la especie, el tipo de explante y el tratamiento utilizado. No obstante, en todas las especies se logró la brotación *in vitro*, aunque en bajos porcentajes, a partir de

tejido vegetativo de escamas de bulbo. Las respuestas fluctuaron entre 0 y 15% de brotación en *R. rhodolirion* hasta 0 - 50% en *R. splendens* al usar escamas simples o gemelas. La germinación de semillas *in vitro* permitió incorporar gran cantidad de genotipos a cultivo dando origen a un banco de germoplasma de más de 1100 accesiones de las 4 especies en estudio. Posteriormente, se agregó *R. laeta*, a partir de bulbos, con una buena respuesta al cultivo *in vitro*. Del mismo modo, la utilización de medios líquidos estacionarios, permitieron buenos progresos en mejorar la eficiencia de cultivo *in vitro* en las

cinco especies en estudio.

Los trabajos de engorda de bulbillos, realizados en Talca, permitieron resultados promisorios en términos de aumento de calibre, por efecto de diversos tratamientos de control ambiental. Del mismo modo, se ha observado floración bajo condiciones de invernadero con calibres variables según la especie, por ej.: *R. rhodolirion*, calibres 7/9 a 14/16, *R. splendens*, 3/4 a 5/6, *R. montana*, 1/2 a 5/6 y *R. bagnoldii*, calibres 7/9 a 20/21, con floraciones que se producen entre junio y enero.

Trabajo Financiado por Proyecto FIA- BIOT-01-A-071

Agro Sur 34 (1-2):7-9 2006

## AVANCES EN LA MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS ORNAMENTALES

### ADVANCES IN THE MICROPROPAGATION OF ORNAMENTAL PLANTS

**Daquinta, M.**

**Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km. 9. CP 69450. Cuba, e-mail: mdaquinta@bioplasmas.cu**

La micropropagación de plantas ornamentales encontró una gran aplicación en el campo de la horticultura. La comercialización de plantas decorativas de follajes y flores es de cientos de millones de unidades, de los cuales alrededor del 80% se produce con el empleo de esta tecnología. Se prevé un crecimiento anual del consumo en el mercado mundial de productos florícolas, por lo que es necesario mejorar las metodologías de propagación *in vitro* para satisfacer estas crecientes demandas. La inmersión temporal es una técnica que ha permitido el incremento de los coeficientes de multiplicación con la disminución de los costos de producción. El uso del medio líquido para la propagación *in vitro* tiene algunas ventajas y se considera una técnica ideal para la propagación masiva de plantas, porque reduce la manipulación y es un requisito indispensable para la automatización del proceso (Aitken-Christie, 1991). Sin embargo, su principal desventaja es que provoca la hiperhidricidad de los tejidos de los brotes. Para evitar este desorden fisiológico, se han desarrollado diferentes procedimientos, entre los que

se encuentran el cultivo en agitación, el empleo de soportes alternativos como puentes de papel de filtro, tapones de celulosa, la técnica de doble capa, el enfriamiento del fondo del frasco de cultivo, etc., así como el empleo de agentes químicos antivitrificantes.

Alvard *et al.* (1993) estudiaron cinco métodos diferentes de cultivo en comparación con el cultivo en medio sólido en la propagación de meristemos de bananos. A partir de estos resultados surgió un nuevo concepto para el cultivo *in vitro* en medio líquido: la inmersión temporal (Teisson y Alvard, 1995). Esta técnica se ha empleado exitosamente con *Coffea*, *Hevea*, *Musa*, *Citrus* ya sea mediante proliferación de meristemos, cultivo de microestacas, desarrollo de embriones a partir de callos, germinación y conversión de embriones somáticos. La calidad del desarrollo de los brotes es generalmente mejor a la que se obtiene con el empleo del medio líquido o semi-sólido. La micropropagación de plantas requiere la transferencia periódica del cultivo a medio fresco debido al agotamiento y/o alteración de los nutrientes, así como, al