

## Respuesta en campo de plantas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden obtenidas por micropropagación y a partir de semillas

Magaly Gómez León<sup>1</sup>, Osvaldo Fernández-Martínez<sup>2</sup>, Maité Chávez<sup>2</sup>, Sirley Gattorno Muñoz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad Silvícola No 8 de la Empresa Forestal Integral de Villa Clara. Carretera Central km 330. Placetas. Villa Clara. Cuba. CP 52 800.

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830. e-mail: osvaldof@ibp.co.cu

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

### RESUMEN

El empleo de plantas obtenidas por cultivo *in vitro* podría contribuir a satisfacer la demanda de productos derivados de esta planta en el sector agrícola. Sin embargo la respuesta de las plantas en campo no es bien conocida. El presente trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis de los indicadores del crecimiento que caracterizan la respuesta en campo de plantas micropropagadas de *Eucalyptus grandis* en comparación con plantas procedentes de semillas. En un estudio en campo durante cuatro años se midió la altura y el diámetro de plantas micropropagadas a partir de segmentos nodales y de semillas botánicas. Se evaluó una muestra de plantas correspondientes al 10% del total de las dos plantaciones. Las plantas producidas por métodos biotecnológicos tienen una dinámica de crecimiento en altura y diámetro del tallo superior a las plantas propagadas por semillas. Por ello, alcanzan su valor agrícola en un lapso de tiempo menor.

Palabras clave: crecimiento de plantas, métodos de propagación, valor agrícola

### Field response of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden plants obtained by micropropagation and seeds

### ABSTRACT

The use of plants obtained by *in vitro* culture could contribute to satisfy the demand of products derived from this plant in the agricultural sector. However, the response of plants in the field is not well known. The objective of this work was to perform an analysis of the growth indicators that characterize the response in the field of *Eucalyptus grandis* micropropagated plants in comparison with plants derived from seeds. In a field study over four years, the height and diameter of micropropagated plants from nodal segments and botanical seeds were measured. A sample of plants corresponding to 10% of the total of the two plantations was evaluated. The plants produced by biotechnological methods have a growth dynamics in height and diameter of the stem superior to the plants propagated by seeds. Therefore, it reach their agricultural value in a shorter period of time.

Keywords: plant growth, propagation methods, agricultural value

### INTRODUCCIÓN

El género *Eucalyptus* fue introducido en Cuba en el año 1867 por el francés Julius Lachaume (Betancourt, 1987). Su gran adaptabilidad al clima del país lo han posicionado como una de las especies forestales más utilizadas.

*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden es una de las especies forestales de mayor rendimiento. Su potencial para el desarrollo de proyectos forestales de alta producción ha despertado un gran interés en diferentes sectores. Esta especie cobra cada vez más importancia para el mundo por sus múltiples usos, entre los

que sobresalen: madera para aserrío, madera para pulpa, paneles aglomerados, postes cortos y largos así como para fines ambientales. En la agricultura, es ampliamente utilizada, sobre todo para cujes durante la cosecha de tabaco y en la construcción de las casas donde es almacenado. Se utiliza también en la construcción de envases para la recolección de cítricos, para postes de tendido eléctrico y telefónico. Además, desempeña un papel especialmente importante en la producción de leña como recurso renovable (Betancourt, 1987; Frias *et al.*, 2013).

Cuando se desea establecer plantaciones de eucaliptos con fines de explotación, los árboles deben tener la capacidad de adquirir un rápido dominio del área y ser lo más uniformes posible, lo cual es muy difícil de lograr a partir de semilla botánica, debido a la gran segregación genética que presentan. A pesar de ser esta la principal vía con que se han repoblado los bosques de forma natural y artificial, la mayoría de los productores están de acuerdo en que tampoco resulta eficaz para la reproducción a gran escala de individuos élite o híbridos deseables por sus características fenotípicas. En las especies forestales, y en específico en *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, la posibilidad de obtener ejemplares superiores por medio de cruzamientos y selecciones repetidas es extremadamente difícil y compleja, porque la mayoría de los caracteres de interés para la selección inicial están normalmente distribuidos con una frecuencia muy baja en las poblaciones naturales (Marcó *et al.*, 2006).

Esta problemática que presenta la propagación de eucaliptos por el método tradicional a través de semillas ha motivado la realización de diversos estudios dirigidos a desarrollar estrategias de propagación *in vitro* (Le Roux y van Staden, 1991; Agramonte *et al.*, 2001; Watt *et al.*, 2003; Arya *et al.*, 2009; Watt, 2014).

La propagación masiva de esta especie basada en el cultivo *in vitro* permite el establecimiento de poblaciones de plantas élite con estabilidad genética. No obstante, una utilización creciente de posturas en programas de producción demandará de reactivos y agentes gelificantes. Estos compuestos constituyen un valor significativo dentro de la estructura de costos de la micropropagación de plantas. Se considera

entonces la combinación de micro y macro propagación como la forma más efectiva de establecer poblaciones fenotípica y genéticamente estables de eucaliptos, a partir de individuos élites seleccionados en los programas de mejora genética convencional, con un menor gasto de recursos (Jiménez-Terry y Agramonte 2013). Sin embargo, en muchos países las plantas de eucalipto obtenidas por cultivo *in vitro* no se plantan en campo a escala comercial debido al escaso conocimiento de su respuesta en campo (Watt *et al.*, 2003; Mokotedi *et al.*, 2010).

En la provincia de Villa Clara se han establecido plantaciones de *Eucalyptus grandis* con posturas obtenidas por el método tradicional, las cuales se certifican a los 3 años con una altura promedio de 3 metros, sin uniformidad en su crecimiento y desarrollo. Además, no presentan en su ciclo de corte los surtidos potenciales esperados (EFIVC, 2008). Esta situación reduce el potencial de uso de dicha especie y limita la selección de árboles plus para programas futuros de mejoramiento genético y propagación. Por ello, se requieren alternativas que permitan satisfacer la demanda de material vegetal, dentro de las cuales, el uso de plantas obtenidas por cultivo *in vitro* podría contribuir significativamente.

*Eucalyptus grandis* es una de las especies que se propaga con mayor frecuencia en Cuba con fines agrícolas para la producción de cujes, horcones y para la apicultura. En tal sentido Agramonte *et al.* (2001) establecieron un protocolo para la propagación *in vitro* de esta especie a partir de segmentos nodales. Sin embargo, las plantas solo fueron evaluadas en campo a los 6, 11 y 18 meses después de plantadas en condiciones experimentales. Conocer las potencialidades de las plantas obtenidas por este método en condiciones de producción, en comparación con aquellas propagadas por semilla, permitiría valorar con mayor exactitud la importancia de la micropropagación dentro de un programa de propagación masiva de dicha especie con fines productivos.

Por los motivos antes expuestos el presente trabajo se enfocó en realizar un análisis de los indicadores del crecimiento que caracterizan la respuesta en campo de plantas micropropagadas de *Eucalyptus grandis* en comparación con plantas procedentes de semillas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de la investigación se analizaron datos obtenidos de plantaciones realizadas por la Unidad Silvícola # 8 de la Empresa Forestal Integral (EFI) de Villa Clara. Estas plantaciones se establecieron con *Eucalyptus grandis* y de la manera siguiente:

- Área de 1.8 ha, con una población aproximada de 3600 plantas obtenidas por métodos biotecnológicos (micropropagadas a partir de segmentos nodales) según lo descrito por Agramonte *et al.* (2001).
- Área de 2.0 ha, con una población aproximada de 4500 plantas obtenidas por métodos tradicionales (semillas botánicas sembradas en vivero en bolsas de polietileno con sustrato de 10% materia orgánica mezclado con 90% de suelo tamizado), según norma para establecimiento de plantación (MINAG, 2000).

Se consideró que la altura inicial de las plantas obtenidas por ambos métodos fuera similar (18–25 cm), según la norma para establecimiento de plantación (MINAG, 2000).

De las dos poblaciones se evaluó una muestra de plantas correspondientes al 10% del total (360 y 450 respectivamente), distribuidas en tres parcelas. Cada parcela ocupó un área de 25 m x 25 m, establecidas aleatoriamente dentro del área total de la plantación.

Las poblaciones se establecieron en un área enmarcada en el municipio de Placetas, provincia de Villa Clara, bajo condiciones edafo-climatológicas similares y se llevó a cabo el mismo sistema de manejo tecnológico según la norma para establecimiento de plantación (MINAG, 2000).

Para determinar la dinámica de crecimiento de las plantas seleccionadas se utilizaron indicadores contenidos en la metodología descrita por Aldana (2008):

- Altura de las plantas al año de la plantación (m): se empleó una regla graduada, desde el suelo y hasta el punto máximo de crecimiento de la planta.
- Diámetro de las plantas al año de la plantación (cm): se midió con una cinta diamétrica a una altura de 50 cm por encima del cuello de la raíz.
- Altura de las plantas al segundo, tercer y cuarto año de la plantación (m): se realizó

mediante hipsómetro, desde el suelo y abarcando toda la planta hasta la yema terminal.

- Diámetro al segundo, tercer y cuarto año de la plantación (cm): se realizó con forcípula a 1.30 m del suelo (diámetro a la altura del pecho –DAP-) alrededor de la misma.

Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas y se procesaron estadísticamente por el método de comparaciones múltiples por medio del paquete estadístico STATGRAPHIC Centurion XV para  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas producidas por micropropagación presentaron mayor crecimiento en altura y diámetro, desde el primer año de establecidas en campo, con respecto a las obtenidas por métodos tradicionales (semillas) (Figura 1).

Además, se observaron diferencias significativas de la altura de las plantas para todos los años de muestreo con una mayor dinámica de crecimiento en las plantas obtenidas por el método biotecnológico (Figura 1). Se destaca que al momento de certificar la plantación (3 años) (EFIVC, 2008) que las plantas obtenidas por micropropagación mostraban una altura cuatro veces superior a las procedentes de semillas.

Puede señalarse entonces que el crecimiento acelerado del material vegetal de propagación obtenido por micropropagación, durante los cuatro años de la plantación, favorece que alcance su valor agrícola en un menor tiempo, en comparación con el obtenido por el método tradicional. Estudios que han comparado la respuesta en campo de plantas de eucalipto de diferentes especies obtenidas por micropropagación, macropropagación y semillas indican que las plantas micropropagadas tienen un crecimiento mayor en campo (Bell *et al.*, 1993; Rockwood y Warrag, 1994; Watt *et al.*, 1995; McComb *et al.*, 1997).

Con respecto a lo anterior, autores como Vasil y Vasil (1980), han informado que las plantas producidas por cultivo *in vitro* son de crecimiento uniforme y pueden ser reproducidas más rápidamente que a través de métodos sexuales o por técnicas convencionales de propagación. Tales plantas por lo general crecen y maduran más rápido

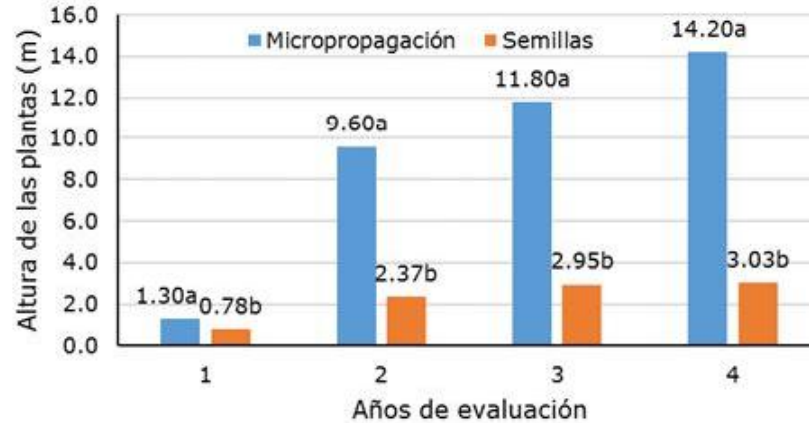


Figura 1. Altura de plantas de *Eucalyptus grandis* obtenidas por dos métodos de propagación y evaluadas en campo durante cuatro años. Letras desiguales sobre barras en cada año indican diferencias significativas según la prueba de Duncan para  $p < 0.05$ .

que las plantas propagadas por semillas. Asimismo, se ha considerado que el cultivo *in vitro* ofrece la posibilidad de rejuvenecer el material vegetal adulto, lo que confiere mayor potencialidad de expresión del genotipo. Especialmente, en el caso de las especies forestales, y entre ellas, *Eucalyptus* spp., varios informes científicos apuntan que el cultivo *in vitro* favorece el rejuvenecimiento y con ello propicia la recuperación de caracteres juveniles (Franlet, 1983; Walker, 1986; Titón *et al.*, 2006; Wendling *et al.*, 2014).

En este trabajo los resultados permitieron validar, por vez primera en las condiciones de plantaciones de producción en Cuba y durante cuatro años, el mayor crecimiento de plantas obtenidas *in vitro* con respecto a las originadas de semillas. A la vez, corroboraron hallazgos de estudios previos sobre la micropropagación de *Eucalyptus grandis* realizados por Agramonte *et al.* (2001) quienes concluyeron que plantas obtenidas por cultivo *in vitro* mostraron un rápido crecimiento en altura durante los primeros 18 meses de plantadas en comparación con datos del registro histórico de plantaciones realizadas a partir de plantas que procedían de semillas.

De forma similar a la altura, el diámetro de las plantas fue superior para las obtenidas por métodos biotecnológicos (micropropagación) con respecto al método tradicional (semillas) (Figura 2). Se pudo

observar en este caso que a partir del segundo año de la plantación ya las plantas micropropagadas promediaban una altura de 9.6 m y un diámetro de 5 cm. Con estas dimensiones pueden ser utilizadas como cujes para el curado del tabaco o madera rolliza para la construcción de casas de curado, u otro tipo de instalaciones rústicas con fines agrícolas.

Al igual que con la variable altura, los resultados del diámetro de las plantas fueron consistentes con los descritos por Agramonte *et al.* (2001), quienes concluyeron que plantas de *Eucalyptus grandis* obtenidas por cultivo *in vitro* mostraron un rápido crecimiento de su diámetro en el campo durante los primeros meses de vida en comparación con datos históricos precedentes de plantaciones de dicha especie.

En este sentido, se ha considerado que los caracteres genéticos del material vegetal propagado *in vitro* se expresan en el rejuvenecimiento de los tejidos, lo cual tiene una influencia marcada en parámetros asociados al crecimiento de las plantas, homogeneidad, mecanismos de resistencia a plagas y enfermedades en condiciones de campo. Lo anterior fue demostrado en estudios realizados por Watt *et al.* (1995), con siete especies de eucalipto, comparando plantas micropropagadas a partir de segmentos nodales y plantas propagadas por semilla.

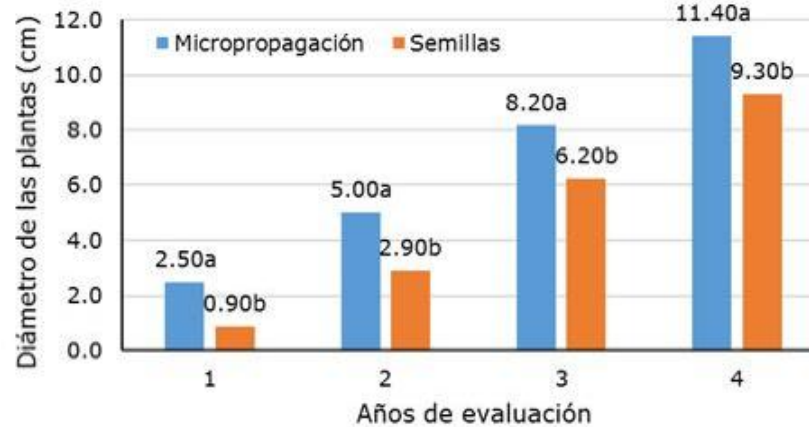


Figura 2. Diámetro de plantas de *Eucalyptus grandis* obtenidas por dos métodos de propagación y evaluadas en campo durante cuatro años. Letras desiguales sobre barras en cada año indican diferencias significativas según la prueba de Duncan para  $p < 0.05$ .

A partir de los datos expresados anteriormente puede afirmarse que la micropropagación de esta especie puede influir sobre la reducción de su ciclo productivo, al favorecer la dinámica de crecimiento, desarrollo de las plantas y la obtención de su valor agrícola en menor tiempo en comparación con el método tradicional. Acortar el ciclo productivo puede significar una reducción en los costos asociados a la obtención del producto agrícola de las plantaciones, en dependencia de su valor de uso.

En concordancia con lo anterior, Roger *et al.* (1991) plantearon que la propagación de eucalipto por métodos biotecnológicos conlleva al aumento de la calidad de la madera y a mejorar su rendimiento. Se obtienen fustes más rectos y ramas más pequeñas, árboles de mayor vigor, mayor rendimiento volumétrico y mayor uniformidad. Lo anterior también fue corroborado por López (2010), quien afirmó que el creciente interés en este género y su adaptación a diferentes climas, ha permitido dedicar recursos para profundizar en el conocimiento de su funcionalidad genética. Los resultados alcanzados hasta el momento en el vertiginoso proceso de producción, han sido estimulados y están dirigidos a satisfacer la demanda sostenida de madera, que se incrementa debido al aumento de la población. Dichos estudios permitirán hacer del cultivo de eucalipto una actividad aún más productiva, más eficiente en el uso de los recursos, puesta al servicio del hombre para satisfacer sus necesidades y consumos de productos maderables.

Sumado a ello, Álvarez (2016) recomendó que la estrategia a seguir en el caso del eucalipto en Cuba debe estar asociada fundamentalmente a la producción de madera rolliza, cujes, postes, entre otros usos agrícolas. Con esta finalidad debe fomentarse la utilización de plantas élite producidas por cultivo *in vitro* de las especies *Eucalyptus urograndis* (híbrido de *E. grandis* X *E. urophylla*), *Eucalyptus pellita*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus grandis*, entre otras, para buscar un rápido crecimiento en altura y diámetro de las plantas y garantizar poblaciones de alto potencial genético.

## CONCLUSIONES

Las plantaciones establecidas a partir de plantas obtenidas por micropropagación tienen una dinámica de crecimiento en altura y diámetro del tallo superior a las plantas propagadas por semillas. Por ello, alcanzan su valor agrícola en un lapso de tiempo menor para satisfacer la demanda de productos derivados de esta planta en el sector agrícola.

## REFERENCIAS

- Agramonte D, Delgado L, Trocones A, Pérez M, Ramírez D, Gutiérrez O (2001) Micropropagación de *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) a partir segmentos nodales. *Biotecnología Vegetal* 1(2): 109-114
- Aldana E (2008) *Medición Forestal*. Universidad de Pinar del Río, Cuba
- Álvarez A (2016) *Demanda sobre mejoramiento Genética Forestal*. INAF, La Habana

- Arya D, Sharma S, Arya S (2009) Micropropagation of superior eucalyptus hybrids FRI-5 (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn x *E. tereticornis* Sm) and FRI-14 (*Eucalyptus torelliana* F.V. Muell x *E. citriodora* Hook): a commercial multiplication and field evaluation. *African Journal of Biotechnology* 8(21): 5718-5726; doi: 10.5897/AJB09.822
- Betancourt A (1987) *Silvicultura especial de árboles maderables tropicales*. Editorial Científico – Técnica, La Habana
- Bell DT, van der Moezel PG, Bennett IJ, McComb JA, Wilkins CF, Marshall SCB, Morgan AL (1993) Comparisons of growth of *Eucalyptus camaldulensis* from seeds and tissue culture: root, shoot and leaf morphology of 9-month-old plants grown in deep sand and sand over clay. *Forest Ecology and Management* 57: 125–139
- EFIVC (2008) Proyecto de ordenación forestal, Informe técnico. Villa Clara, Cuba
- Francllet A (1983) Rejuvenation: theory and practical experiences in clonal silviculture. En: Zsuffa L, Rauter RM, Yeatman CW (eds). *Clonal Forestry: Its Impact on Tree Improvement and our Future Forests Proc Can Tree Improv Assoc*, pp. 96-134. Canadian Tree Improvement Association, Ontario Canada
- Frias M, Pérez N, Castillo I (2013) Evaluación de plantas de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Maiden a los 60 meses de plantadas obtenidas en contenedores con diferentes sustratos y riego de endurecimiento. *Revista Cubana de Ciencias Forestales* 1(1): 1-12
- Jiménez-Terry F, Agramonte D (2013) Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Biotecnología Vegetal* 13(1): 3 – 21
- Le Roux JJ, van Staden J (1991) Micropropagation of *Eucalyptus* species—review. *Tree Physiology* 9: 435–477
- López G (2010) Domesticación y Cultivo del Eucalipto. *Boletín del CIDEU* 8(9): 83-95
- Marcó M, Harrand L, Oberschelp J (2006) Oportunidades y limitaciones en el mejoramiento genético de *Eucalyptus grandis*. XXI Jornadas Forestales de Entre Ríos INTA – Concordia, Argentina
- MINAG (2000) Establecimiento de plantación y dinámica forestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba
- Mokotedi M, Watt MP, Pammenter NW (2010) Analysis of differences in field performance of vegetatively and seed-propagated *Eucalyptus* varieties II: vertical uprooting resistance. *Southern Forests* 72(1): 31–36; doi: 10.2989/20702620.2010.481131
- Rockwood DL, Warrag EI (1994) Field performance of micropropagated, macropropagated, and seed-propagated propagules of three *Eucalyptus grandis* ortets. *Plant Cell Reports* 13: 628–631
- Roger A, Carmona J, Balocchi C (1991) Programa de propagación clonal para *Eucalyptus globulus* en Chile. *Bosque* 12(1): 3-9
- Titon M, Xavier A, Otoni WC (2006) Clonal propagation of *Eucalyptus grandis* using the mini-cutting and micro-cuttings techniques. *Sci For* 71:109–117
- Vasil I, Vasil V (1980) Clonal propagation. *Int Rev Cytol Supp* 11A: 143-173
- Walker N (1986) Réjuvenilisation at culture de méristemes an cascade chez *Sequoia sempervirens*. *AFOCEL Ann Rech Sylvic* 1986: 26-47
- Watt MP, Duncan E, Blakeway FC, Herman B (1995) Field Performance of Micropropagated and Macropropagated *Eucalyptus* Hybrids. *South African Forestry Journal* 173 (1): 17-21
- Watt MP, Blakeway FC, Mokotedi MEO, Jain SM (2003) Micropropagation of *Eucalyptus*. En: Jain SM, Ishii K (eds). *Micropropagation of woody trees and fruits*, pp. 217–244. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Watt MP (2014) Genotypic-unspecific protocols for the commercial micropropagation of *Eucalyptus grandis* x *nitens* and *E. grandis* x *urophylla*. *Turk J Agric For* 38: 125-133; doi: 10.3906/tar-1304-83
- Wendling I, Trueman S, Xavier A (2014) Maturation and related aspects in clonal forestry—part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests* 45:473–486; doi: 10.1007/s11056-014-9415-y

Recibido: 12-07-2017

Aceptado: 21-09-2017