

Vinculación con el medio estudiantil para la conservación del bosque nativo

# La micropropagación del Belloto del Sur, *Beilschmiedia berteroana*

Debido a que un gran número de especies animales y vegetales endémicas de nuestro país se encuentran en riesgo de extinción, y considerando que si aplicamos algunos avances biotecnológicos, podríamos contribuir a revertir en parte esta situación (formando bancos de germoplasmas y plántulas "in vitro"), nuestra propuesta consistió en involucrar a los alumnos de enseñanza media, en el cuidado y conservación de las especies, no sólo valorando el cuidado de los ecosistemas, sino también participando en la aplicación de los conocimientos científicos obtenidos en los

laboratorios de investigación para solucionar problemas del país.

En esta oportunidad, los equipos de trabajo del Laboratorio de Embriología Comparada de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y de la Corporación Nacional Forestal (Conaf) en Linares, realizamos un Proyecto Explora-Conicyt con alumnos de enseñanza media de Santiago y enseñanza básica rural de Linares. Utilizamos como modelo de estudio el problema del árbol Belloto del Sur, y como solución tecnológica la técnica de cultivos celulares conocida como micropropaga-

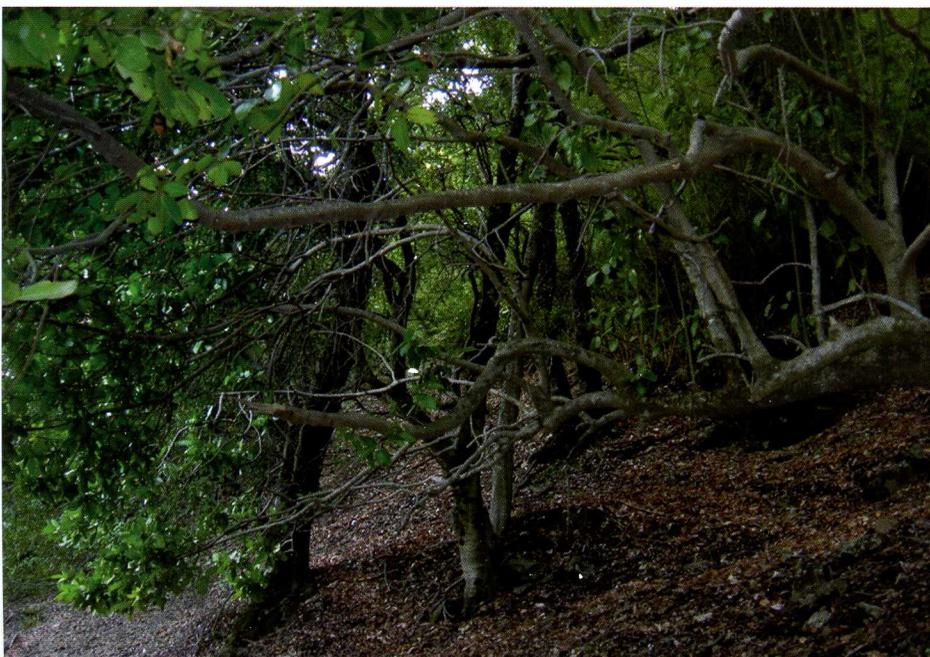
ción. Los estudiantes de Santiago pertenecían al Instituto Nacional y Liceo 1 de Niñas. Los alumnos de Linares pertenecían a la Escuela de Roblería

El Belloto del Sur, "*Beilschmiedia berteroana*", es un árbol que está en riesgo de extinción. Se han realizado intentos para rescatarlo mediante macropropagación, pero los avances son lentos y si no aplicamos un cambio de estrategia el árbol desaparecerá. Si aplicamos las técnicas de micropropagación, mejorando el protocolo específico para este árbol, lograremos obtener un gran número de árboles sanos que podrán ser trasplantados en buenas condiciones y la especie no desaparecerá.

Dado el desconocimiento actual que hay sobre la micropropagación y sobre el Belloto del Sur, se debe realizar una campaña de divulgación y enseñanza a la comunidad estudiantil, sobre el valor de esta especie única en el mundo, lo que permitirá que se comprometan con el cuidado de estos árboles.

¿Cómo es el Belloto del Sur? El Belloto del Sur, (*Beilschmiedia berteroana*) (Gay) Kosterm, es un árbol esclerófilo, siempre verde de la familia *Lauraceae*.

El área de distribución natural durante el siglo pasado, se extendía entre Santiago y Concepción, pero actualmente está restringida a escasos rodales en las VII y VIII regiones de Chile Central (Villa, 1986). La especie tiene serios problemas de conservación debido a la acción antrópica que ha ido reduciendo sus hábitats. El Belloto del Sur, no tiene importancia maderera ni tampoco como combustible, pero el uso intensivo de suelos agrícolas



*Alumnos investigadores científicos del Liceo 1 de Niñas y del Instituto Nacional, participantes del proyecto Explora-Conicyt Est 003/4.*



y actividades forestales han incidido en la desaparición de esta especie (San Martín *et al.*, 2002). La Conaf ha enfrentado este problema mediante el plan de manejo de la Reserva Nacional Los Bellotos Del Melado, desde el año 1999 hasta la fecha. El Belloto del Sur ha sido declarado oficialmente en categoría de peligro de extinción (Decreto supremo N°51, 24 de abril del 2008), Un número de 1.000 ejemplares se encuentran protegidos en la Reserva Nacional Los Bellotos del Melado y alrededores del río Ancoa.

Los estudios de San Martín *et al.*, (2002) han indicado que el crecimiento vegetativo, se inicia a fines del invierno, se mantiene durante la primavera y termina a principios de verano, la floración se concentra en los meses de octubre, noviembre y principios de diciembre. La fructificación se inicia al término del crecimiento vegetativo. La liberación, dispersión y madurez de los frutos se presenta a fines de verano (marzo). La duración de las flores y frutos en el árbol está influenciada por condiciones microclimáticas locales. La duración de las hojas alcanza entre tres y cuatro años.

### **¿En qué consiste la micropropagación?**

La micropropagación consiste en la regeneración in vitro de material vegetal en condiciones ambientales asépticas y controladas y en medios especialmente preparados que contienen reguladores de la nutrición y crecimiento. Pueden utilizarse clones de una determinada variedad para multiplicar en grandes cantidades. La micropropagación puede utilizarse también para obtener material de plantación libre de enfermedades. Se ha consi-

derado como una técnica útil para los estudios de conservación de árboles y especies vegetales por lo tanto, la obtención de protocolos específicos de micropropagación se convierte en una herramienta importante para la conservación de especies, ayudando así a mantener la biodiversidad.

En otros países se ha recurrido a la micropropagación para proteger las especies que están en riesgo de extinción. Sin embargo, es preciso aclarar que no existe un protocolo común de micropropagación. Por el contrario, para cada especie es preciso encontrar las condiciones de cultivo ideales. El cultivo de tejidos comprende una serie de técnicas mediante las cuales un explante (parte separada de la planta) se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (luminosidad, humedad y temperatura) (Rosell, y Villalobos, 1990). Inicialmente es necesario seleccionar y separar de la planta el material que se desea cultivar. El siguiente paso consiste en eliminar los microorganismos que se encuentran contaminando el material vegetal. Por último se debe proporcionar al explante un medio ambiente apropiado a través de medios de cultivo sintéticos y condiciones de incubación adecuadas (Rosell y Villalobos, 1990).

En este proyecto, los alumnos de Santiago asistieron a cuatro charlas dadas por expertos de la Conaf, de la Universidad de Chile y de la Universidad de Talca. También participaron activamente en cuatro talleres de comunicación audiovisual y en ocho talleres de micropropagación en el laboratorio y subieron sus trabajos a una página web. Además, visitaron los laboratorios de micropropagación en la



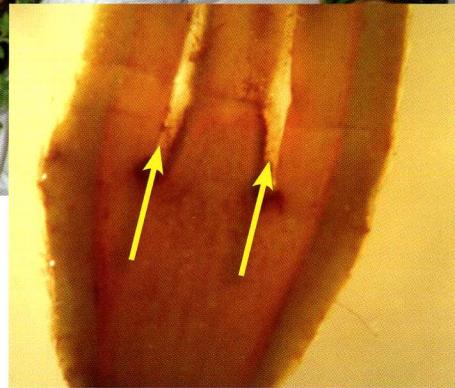
*Mariana Rojas  
Médico Veterinario  
Profesor Asociado  
Programa de Anatomía  
y Biología del Desarrollo,  
Facultad de Medicina,  
Universidad de Chile*



*Antonio Avaria  
Ingeniero Forestal  
Magíster en Economía  
y Gestión Regional  
Corporación Nacional Forestal. Linares*



Los alumnos reconocen las zonas meristemáticas (3a) de las distintas plantas y obtuvieron explantes para cultivos (a). En la Figura b las flechas indican áreas meristemáticas de Belloto del Sur.



Universidad de Talca. Los alumnos de la Escuela de Roblería de Linares asistieron a dos charlas y participaron en un taller de viverización. Se brindó la oportunidad para que los estudiantes aprendieran el método científico, trabajando en el laboratorio o en los viveros. Además, hemos brindado las oportunidades para que los alumnos puedan comunicar sus nuevos conocimientos y sensibilizar a sus compañeros de colegio, a sus padres y apoderados y también a la comunidad que los rodea mediante una página web, conferencias y talleres.

### Actividades realizadas

1.- En las sesiones de comunicación audiovisual, los alumnos y alumnas realizaron breves videos relacionados con la contaminación medio ambiental y posteriormente lo subieron a la página web [www.conservaciónbosquenativo.cl](http://www.conservaciónbosquenativo.cl).

2.- En los talleres de micropropagación los alumnos esterilizaron el instrumental de laboratorio empleado en el manejo del material vegetativo. Todo el material fue colocado en estufas de esterilización a 180°C, durante dos horas. El medio de cultivo basal fue MS (Murashige y Skoog, 1962) el cuál se esterilizó en autoclave por quince minutos. También se esterilizaron los frascos con la solución de sacarosa, nutrientes para plantas y el agar. Los frascos de cultivo utilizados corresponden a tubos de centrifuga tapa rosca estériles. Las pipetas son desechables y estériles como también las placas de cultivo.

3.- En la siguiente etapa, los alumnos reconocieron áreas meristemáticas de distintas plantas y árboles, para preparar explantes para la micropropagación. Las hojas fueron separadas de los tallos para el lavado inicial. Los explantes utilizados durante el presente trabajo fueron secciones de un mm tomadas del sitio del meristema. Los explantes se trataron primero con un lavado en agua destilada. Inmersión en etanol al 70% por 20 segundos o un minuto. Inmersión en hipoclorito de sodio 1% por cinco o diez minutos. Inmersión en una mezcla de hipoclorito al 0,3% más ácido láctico al 1,4%. Inmersión en peróxido de hidrógeno 10% por un minuto, después de cada tratamiento desinfectante se realizó tres aclarados de un minuto cada uno en agua destilada estéril. Los explantes sembrados permanecieron por quince días en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) con sus sales orgánicas e inorgánicas completas, adicionado con tiamina (1 mg/L), ácido nicotínico (0,5 mg/L) y mio-inositol (100 mg/L), sacarosa (30 g/L) y agar (7 g/L). El agar fue mezclada con el medio de cultivo para obtener la solidificación del mismo mediante la agitación y calentamiento del medio de cultivo. El material vegetativo fue colocado en distintos frascos de boca ancha.

Evaluación de los explantes con microscopio a las tres y seis semanas, se evaluaron los siguientes parámetros: a) Explantes no contaminados, b) ex-

plantas contaminados y c) supervivencia. Las observaciones se realizaron mediante lupas estereoscópicas, en el laboratorio de microscopía. Un alto porcentaje de los explantes estaban contaminados por hongos. A las tres semanas se obser-

varon hojas y en un caso a las seis semanas raíces. Todos los alumnos se involucraron de manera activa en los procesos de aprendizaje obteniendo plantas formadas a partir de los explantes además presentaron sus observaciones a alumnos del mismo establecimiento y a otros colegios.

4.- Construcción de vivero didáctico en una escuela aledaña a la Reserva Los Bellotos, en la Cordillera de Linares. Dada las extremas condiciones a las que se ven expuestas las plántulas durante el verano (altas temperaturas y déficit hídrico), es muy probable que buena parte de ellas mueran (hualo, roble, avellano, entre otras), de ahí entonces que se realizó un taller en primavera para extraerlas y trasladarlas al vivero, con el fin de favorecer su sobrevivencia y posterior desarrollo, para ello se tomaron las mayores precauciones al extraer las plantas del bosque y su posterior repique a contenedores. La actividad comenzó con la identificación de sectores al interior del bosque en que se ubican una importante concentración de plántulas "bellotos y robles" que han emergido principalmente durante la última temporada, luego de seleccionado el lugar se procede a organizar la recolección, esto se realizó a primeras horas de la mañana con un ambiente fresco. Las plantas recolectadas fueron extraídas con suficien-



Los alumnos observan los explantes, después de tres y seis semanas con microscopio estereoscópico y cuantificaron los contaminados y no contaminados, además hojas y raíces.

te tierra que cubriendo sus raíces, y colocadas en recipientes húmedos. El traslado fue realizado con extremo cuidado y en forma suave a fin de remover lo menos posible la tierra adherida a las raíces. Luego en el vivero se eliminó con bastante agua la tierra adherida a las raíces. El repique consistió básicamente en establecer las plántulas en contenedores, teniendo en consideración que la preparación del sustrato y la manipulación de las plantas deben realizarse con especial cuidado. Respecto del sustrato, se realizó una mezcla de 1/3 de tierra de hoja, con 1/3 de arena fina y 1/3 de tierra del lugar. Lo importante es que el sustrato posea buen drenaje y porosidad, de tal manera que se evite el anegamiento del sustrato y las raíces tengan buenas condiciones para su expansión y desarrollo.

5.- La última etapa fue la divulgación a través de una página web a modo de laboratorio virtual interactivo, donde los estudiantes pudieron exponer sus propios trabajos. Esta etapa permitió valorar el cuidado del ambiente y la divulgación de esta experiencia a la comunidad en [www.conservacionbosquenativo.cl](http://www.conservacionbosquenativo.cl). En la página web se entregó información sobre las etapas del proyecto. También se realizó divulgación a través de conferencias ante aproximadamente 1.400 alumnos procedentes de 20 colegios del país en un tiempo de dos años.

## Conclusiones:

1.- Los alumnos reconocieron la importancia de los animales y plantas autóctonas que se encuentran en riesgo de extinción por efecto del hombre y se sintieron motivados a comunicar y educar a la comunidad con el fin de revertir este proceso, a través de medios audiovisuales realizados por ellos mismos.



*Los alumnos de Enseñanza Básica de la Escuela Roblería de Linares, trabajaron en Viverización de plántulas nativas. A) Se observa la preparación del sustrato. B) Introducción de la plántula en contenedores.*



- 2.- Explicaron la importancia de las áreas silvestres protegidas, y reconocieron en la investigación científica la posibilidad de solucionar problemas del país, además aplicaron métodos sencillos de micropropagación vegetativa y, lo explicaron a otros estudiantes de educación media, padres y apoderados.
- 3.- Los alumnos aprenden a trabajar en el laboratorio y adquieren la capacidad de producir plantas "in vitro". Ellos presentaron las plantas nuevas generadas por el método de la micropropagación.
- 4.- Se construyeron viveros educativos y los alumnos aprendieron a viverizar plantas nativas.

## Referencias bibliográficas

- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15:473-497.
- Rosell, CH., VILLALOBOS, VM. 1990. Fundamentos teórico práctico del cultivo de tejidos vegetales. Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. 113 p.
- SAN MARTÍN, J., VILLA, A., RAMÍREZ, C. (2002) Fenología y crecimiento vegetativo de *Beichmedia berteriana* (Gay) Kosterm en la precordillera andina de Chile Central (35° S, 71° O 6' W). *Bosque* 2002, 23:1,37-45.
- VILLA, I. 1986. Prospección de las especies arbóreas en peligro de extinción y las acciones llevadas a cabo por la Corporación Nacional Forestal, para su protección en la región del Maule. II Encuentro Científico sobre el Medio Ambiente. Talca (Chile).

## Agradecimientos

Al proyecto Acción Tecnológica Estudiantil para la conservación del bosque nativo: Explora-Conicyt EST3/004 por financiar parte de este trabajo; a Andrea Godoy, subdirectora del Proyecto; a las profesoras Loreto Moya del Liceo 1 de Niñas y a Cecilia Ravanales del Instituto Nacional. También a Carolina Smok, médico veterinario; a Felipe Venegas, médico veterinario; a Adolfo Molina, ingeniero agrónomo; a Irma Orellana, técnico de Laboratorio; a Hernán Díaz, director de Planeta Vivo y al profesor doctor Alejandro Vega de la Universidad de Talca, por participar en este proyecto.