

## **New insights in conservation of *Sophora toromiro* (Phil.) Skottsb. emblematic specie of South Pacific.**

J.Espejo<sup>1</sup>, F.Rodriguez<sup>2</sup>

### **Resumen**

En este documento se entregan avances de un programa de conservación y reintroducción de *Sophora toromiro* (Phil.) Skottsb. Status quo de ejemplares creciendo en Chile es recopilado como masificación de germoplasma es realizado mediante injertos inter específicos.

A la fecha se cuentan con mas de 300 ejemplares para el establecimiento de un huerto semillero clonal (multipropósito) con germoplasma tres líneas de colecta conocidas como Jardín Botánico Nacional de Viña del Mar (JBV); Goteborg (Got) y Titze (Tit). Adicionalmente primeras semillas producto de polinizaciones controladas son obtenidas con el fin de entender aspectos básicos de su biología reproductiva.

Actividades y programa de trabajos son señaladas para asegurar recuperación gradual de *S.toromiro* en Rapa Nui al mediano plazo.

Esta es la segunda experiencia documentada del rescate de una especie catalogada como extinta en su hábitat natural mediante una técnica no tradicional pero eficaz en el ámbito de la horticultura.

### **Introducción**

La flora creciendo en Islas oceánicas son de particular interés por su condición de endemismos y aspectos evolutivos de los géneros presentes en ellas estas particularidades ha llevado a la denominación de un hotspot para el pacifico sur por Myers *et al.*, (2000). Rapa Nui o Isla de Pascua perteneciente al estado Chileno desde 1892, ubicada a 3.765 Km. desde Chile continental. La fragilidad propia (condición insular) de sus ecosistemas y la intervención antropica experimentada a más de 500 años nos entrega un landscape del tipo pradera predominante por estratos de gramíneas y ciperáceas (Zizka, 1991;Ibáñez, 2001). Moreira (2007) analizando la flora de Rapa Nui reporta un 49% de la composición como de origen cosmopolita cuyo origen data desde la colonización por la etnia Rapa Nui y acrecentada a mediados del siglo XIX hasta el presente, el mismo autor señala que solamente un 7,7% corresponden a endemismos. La flora de la Isla ha perdido de xx plantas entre las cuales *Sophora toromiro* (Phil.). Skottsb. Árbol de pequeñas dimensiones pero característico por su alta densidad de la madera que fue utilizada como fuente energética frente a las demandas de la población y materia prima para la confección de artefactos de índole ritual, como es el caso de los pequeños toromiros (Palmer, 1870, Pinart, 1877 y Oyarzun, 1921) y las tablillas conocidas como kohau motu mo rongorongo (Englert, (1988). El último ejemplar de esta especie creció en la ladera del volcán Rano Kao el cual fue cortado post colecta de Heyerdahl en el año 1956.

### **Antecedentes**

I) **Germoplasma ex situ en Chile.** Maunder et al, (1999), reporta que para la fecha del estudio, en Chile se encontraban creciendo ejemplares *S.toromiro* de cinco líneas, actualmente solamente se encuentran tres líneas: Jardín Botánico de Viña del Mar (JBV); Titze (Tit) y Sudzuky (Sud), solamente la primera línea se encuentra documentada en lo que concierne al año y colector. El mismo autor señala que de estos ejemplares mediante análisis de marcadores moleculares (RAPD, ISSR) se encuentra una mayor variabilidad genética si comparados a plantas creciendo tanto en Europa como en Australia (Maunder *et al.*, 2000).

**II) Experiencias del uso de injerto en Conservación.** Existen pocas experiencias reportadas por literatura en el uso de la técnica de injerto como vía de conservación en plantas extintas en su hábitat natural con la excepción de *Kokia cookei*. Este árbol extinto por acción antropica en la localidad de Molokai ha sido recuperada utilizando como porta injerto *Kokia drynarioides*, la limitante de los injertos establecidos es que estos no presentan floración. Mehroff, (1996). Los injertos inter específico aparecen como una herramienta horticultural eficaz y se justifica solamente en especies que se encuentran en la categoría extintas en su hábitat natural, Guerrant (1996).

**III) Huerto semillero clonal (Hsc).** Los beneficios directos de la producción de los huertos de especies forestales es la semilla por ende un producto de alto valor económico, el manejo de los Hsc y el éxito de estos esta en el conocimiento de la biología reproductiva de la especie como de adecuadas practicas hortícolas que hoy en día juegan un rol primordial en la productividad (Sedgley & Griffin,1989). El diseño del Hsc obedece al tipo de requerimiento de semilla, por lo general cuando se trata de producir semilla de polinización abierta la disposición de los injertos o rametos es al azar y dispuestos en replicas o bloques. Para el caso de cruzamientos controlados, los diseños están orientados en maximizar la productividad de los cruzamientos es así que en los huertos forestales de ultima generación encontramos los rametos dispuestos linealmente o en bloques (Espejo et al.,2001). En lo que respecta a la elección de sitio el huerto debe preferentemente estar localizado próximo a una fuente de agua en el caso de un manejo intensivo (fertirriego) además la elección elección del suelo sea de buena calidad. Lo anteriormente señalado debe ser considerado junto a la selección de suelos con mayor contenido de materia orgánica para un buen desarrollo de los injertos como garantizar una buena producción de semilla.

Los suelos de la isla son de de origen volcánico v al menos trece series son catalogas para Rapa Nui según estudios realizados por la Corporación de Fomento (CORFO).La mayoría presentan un proceso de "lavado de bases" de la percolación que es favorecida por la pluviométrica registrada (1126 mm) en Rapa Nui (Rivera, 2003).

### **Propuestas para Establecimiento y Conservación**

La conservación de ejemplares en Chile esta bien resguardada por el JBV y colecciones privadas sin embargo el gran desafío aun vigente es la reintroducción de *S.toromiro* en Rapa Nui. Los proyectos datan de hace mas de 50 años y a la fecha no hay ejemplares o pequeñas poblaciones creciendo en la isla. El Toromiro Management Group (TMG) en 1994 entrego las acciones y principales líneas de investigación para la reintroducción de esta especie, sin embargo no considero la modalidad de injerto tanto para la formación de un breeding arboretum como banco de germoplasma o bien un huerto semillero con objetivos de producción de semilla a escala operacional.

En base a estas propuestas y los avances en diferentes ámbitos de la silvicultura es que Forestal Mininco S.A (holding CMPC) retoma las propuestas del TMG y actualmente se dispone a ejecutar actividades y acciones (cuadro 1) para asegurar el establecimiento de *S.toromiro* al mediano plazo en Rapa Nui.

<b>Actividad</b>	<b>Escala de tiempo</b>	<b>Avances</b>	<b>Observación</b>
Propagación de germoplasma vía injerto	Corto plazo	Más de 300 ejemplares. Promedio sobre el 70% de sobrevivencia a los tres años	Líneas propagadas Jardín Botánico Nacional (JBV) Viña del Mar; Goteborg (Got) y Titze.
Estudios de biología reproductiva:(receptividad estigmatica; manejo de polen etc...)	Mediano plazo (3 años)	150 semillas por auto polinización. Promedio de un 68% de germinación	Polinización de rametos JBN y Got.
Establecimiento de Huertos semilleros clonales (Hsc) y parcelas demostrativas "Manavai" en Rapa Nui y back up de Hsc en la V región.	Corto plazo	On going	Permiso y asignación de sitio para plantación. Al menos 1ha de Hsc con protección y supervisión directa.
Ortopedia e inducción (Paclobutrazol)	Mediano plazo (3 - 5años)		

### **Injertos**

La selección del porta injerto se recurrió a una especie afín a *S.toromiro*, y en el caso recae en *Sophora cassioides*. La especie tiene una amplia distribución (fácil acceso de germoplasma) en la zona centro sur de Chile y por ende adaptado a diferentes condiciones edáficas. Crece entre los 5 a 900 msm si bien sus hábitats son las quebradas húmedas y suelos profundos próximo a esteros, ríos o lagunas se puede encontrar en sectores con afloramientos rocosos.

Existen otras especies creciendo en islas oceánicas como es el caso de *Sophora fernandeziana* y *Sophora masafuerana* pero las especies fueron descartadas por su bajo numero de ejemplares y su estado de conservación catalogado en estado de peligro de extinción según normativa de entidades ambientales de Chile.

Una gran ventaja de la elección de *S.cassioides* es que la especie cuenta con alta presencia de microorganismos como es el caso de bacterias del genero *Rhizobium* y micorrizas (Zuñiga, 1999). Lo anteriormente es de suma importancia para el establecimiento y sobrevivencia de los injertos en las condiciones actuales de los suelos de Rapa Nui.

Los resultados encontrados a la fecha entregan un 71% de sobrevivencia o set (cuadro 2) para la técnica de hendidura. Esta modalidad de injerto consiste en la inserción de una púa semi lignificada con diámetro similar al diámetro del porta injerto, previamente cortada en su extremidad (en forma de bisel) y que finalmente la zona de unión púa-porta injerto es sellada con Parafilm.

<b>Season</b>	<b>N</b>	<b>Provenance ("line")</b>	<b>Set (%)</b>	<b>Observation</b>
<b>2007</b>	<b>301</b>	<b>Titze</b>	<b>79,8</b>	
<b>2008</b>	<b>36</b>	<b>JBV</b>	<b>58,4</b>	
<b>2008</b>	<b>36</b>	<b>Got</b>	<b>62,5</b>	
<b>2010</b>	<b>104</b>	<b>JBV</b>	<b>52,9</b>	<b>Mini grafting</b>

Acciones para obtener germoplasma ex situ de otras colecciones o bien líneas, como es el caso de Melbourne son consideradas para aumentar la variabilidad de la futura composición del Hsc.

### Patrón de Floración y Germinación de semillas

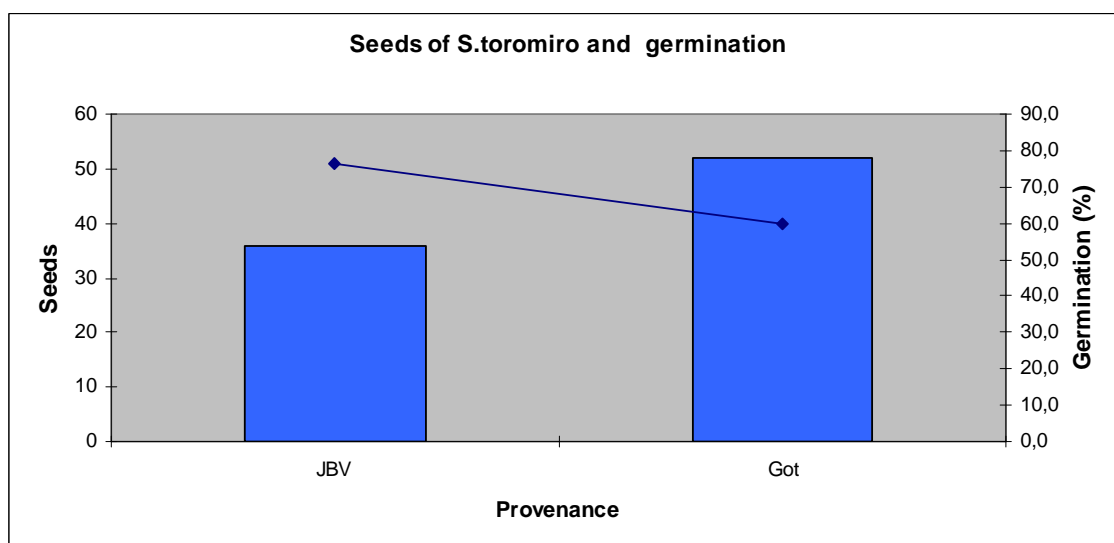
La floración de esta especie registrada al interior de invernaderos tiene como inicio a mediados del mes de Agosto en algunos ejemplares hasta Noviembre, la floración más temprana post injerto registrada ocurrió en rametos de la línea Titze ya floración en rametos de líneas Got y JBV es observada a los tres años. La floración de *S.toromiro* tiene un patrón similar encontrado en la fenología de las otras *Sophoras* spp creciendo en Chile en el cual el peak ocurre en la primavera del hemisferio Sur.

En lo que respecta a los mecanismos de estrategia para reproducción, *S.toromiro* aparentemente presenta protandria, sin embargo se requieren estudios para precisar lo anteriormente señalado ya que es imperceptible el cambio en la morfología del estigma que además es bastante pequeño y no diferenciado a esto último no se detectan exudaciones. Estudios concernientes a verificar timing de receptividad con apoyo de agentes marcadores de la receptividad estigmatica serán efectuados para la presente y futuras temporadas de acuerdo a protocolos propuestos por Dafni (1992) y Kearns & Inouye (1996). Paralelamente estudios sobre manejo de polen son considerados como colecta, test de germinación, viabilidad y almacenamiento.

En la temporada 2010 se realizaron auto polinizaciones utilizando anteras (con presencia de polen dehiscente) el cual es removido con auxilio de pinzas finas y colocado en el estigma. Esta labor fue realizada cada tres días durante el periodo de floración de los injertos, esta metodología permitió el desarrollo de vainas y la producción de 134 semillas como se señala en el grafico 1.

Las semillas obtenidas fueron sometidas a remojo con ácido sulfúrico (95%) por 20 minutos según protocolo reportados para esta especie. Posteriormente las semillas son lavadas en agua y colocadas en capsulas Petri provistas de papel humedecido por un lapso de dos semanas a condiciones de temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) y luz (fotoperiodo: 16/8H; 2.000 Lux) de laboratorio. La germinación promedio obtenida es del orden del 68%.

**Grafico 1. Número de semillas y germinación por procedencia obtenidas en cruzamientos en temporada 2010/2011.**



### **Establecimiento**

Adicionalmente al establecimiento de injertos en Rapa Nui un segundo huerto "back up" debe ser constituido en zona con condiciones ambientales benignas al desarrollo de *S.toromiro* en Chile continental. Se considera para ambas situaciones que todos los injertos sean establecidos en casillas con apoyo de geles, fertilizantes y riego. El sector seleccionado debe estar desprovisto de competencia idealmente en un sector protegido de viento el cual puede ser proporcionado por plantaciones de otras especies establecidas o bien utilizando accidentes topográficos como un sector en depresión entre dos lomas etc.... Alternativamente se considera el establecimiento de plantas al interior de Manavais para aprovechar el dosel de plantas comunes en estas estructuras como es el caso de *Musa* spp en la localidad de Rapa Nui. La experiencia anteriormente señalada denominada como Inter -Situ (Maunder *et al*, 2004) puede entregar información del spot de mayor desarrollo de *S.toromiro* (tolerante o intolerante?) e indicaciones de futuras plantaciones pilotos.

### **Ortopedia e Inducción**

Una vez establecido el material en terreno y que este presente una buena adaptabilidad a las condiciones ambientales (2do a 3er año), los rametos deben ser sometidos a trabajos de ortopedia en la copa con finalidad de obtener un mayor número de puntos de generación de múltiples yemas que puedan ser inducidas con Paclobutrazol. Este químico conocido como PP333 (2RS,3RS)-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3ol), de comprobada eficacia en un gran número de géneros tanto frutales como forestales especialmente *Eucalyptus* spp debe ser ensayado Sedgley & Griffin (1989). Existen diferentes técnicas de aplicación y la de mayor eficacia es de aplicaciones al suelo y que la planta lo asimile vía sistema radicular.

### **Conclusiones**

La conservación de la *S.toromiro* "per se" no rescata el ecosistema ni la biodiversidad ni menos la compleja interacción con otras especies ya extintas. Este esfuerzo solamente es una aproximación en el rescate de una especie de la memoria colectiva de la etnia Rapa Nui.

La producción de semilla mediante el establecimiento de Hsc y su posterior establecimiento debe ser utilizando estrategias e integrando técnicas empleadas tanto en horticultura como en silvicultura y de algunas prácticas ancestrales ya probadas por los antiguos colonizadores de la isla. Esta propuesta solamente tendrá éxito al interactuar en forma pro activa los diferentes actores como es la empresa privada, organismos gubernamentales, ONG's y la comunidad de Rapa Nui.

Lo anteriormente señalado aparece como válido y necesario para fines de restauración de esta especie. Esta experiencia aun en desarrollo debe ser monitoreada los primeros años para retroalimentar las propuestas iniciales y validarlas. A nuestro ver Rapa Nui se presenta como una oportunidad que puede ser extrapolada para casos particulares de especies que se encuentren en condiciones limitantes de sobrevivencia tanto en su hábitat natural como ex situ.

### **Bibliografía**

Dafni, A. (1992). Pollination Ecology. A Practical Approach. Oxford University Press. 250pp.

Englert, S. (1988). La Tierra de Hotu Matu´a. Editorial Universitaria, 4<sup>ta</sup> edición. Santiago de Chile. 275pp.

Espejo, J., J.Harbard & R.Griffin.(2001). Consideraciones operacionales de cruzamientos controlados masales (OSP) de Eucalyptus globulus (Labill) en cuatro temporadas en Forestal y Agrícola Monte Aguila S.A. Actas Desarrollando el Eucalipto del Futuro. Simposio Internacional IUFRO. Valdivia, Chile.

Guerrant, E.O. (1996).Designing Populations: Demographic, Genetics, and Horticultural Dimensions. Strategies for Reintroduction of Endangered Plants. Edited by D.Falk. C.Millar & M.Olwell. Island Press. 171-207p

Ibañez, P. Bordeau, A. & M.Rauch. (2001). Árboles, Recursos Naturales y Comunidades Indígenas en Chile. Lecturas. Corporación Forestal Nacional. 36-44.

Kearns, C.A., & D.W.Inouye. (1993).Techiques for Pollination Biologist.University Press of Colorado. 583pp.

Maunder, M., Culham, A., Bordeau, A., Guillames, A. & M.Wilkinson. (1999). Genetic diversity and pedigree for Sophora toromiro (Leguminosae): a tree extinct in the wild. Molecular Biology. 8, 725-738.

Maunder, M., Culham, A., B.Alden. G.Zizka, C.Orliac, W.Lobin, A.Bordeau, J.M.Ramirez, & S.Glissmann-Gough. (2000). Conservation of Toromiro Tree: Case Study in the Management of a Plant Extinct in the Wild. Conservation. Volume 14, (5): 1341-1350.

Mauder, M.,Guerrant, E.O.,Havens, K.& K.W.Dixon. (2004).Realizing the Full Potential Ex Situ Contributions to Global Plant Conservation. Ex Situ Plant Conservation.Supporting Species Survival in the Wild.Edited by E.O.Guerrant,K.Haens & M.Maunder. Island Press. 389-418p.

Mehrhoff, L.A. (1996). Reintroducing Endangered Hawaiian Plants. In Restoring Diversity. Strategies for Reintroduction of Endangered Plants. Edited by D.Falk. C.Millar & M.Olwell. Island Press. 101-120p

Myers, N.,Mittermayer,R.,Mittermayer,C.,Fonseca, G.A.B & J.Kent. (2000).Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature (403): 853-858.

Moreira-Muñoz, A. (2007). Plant Geography of Chile. An Essay of Postmodern Biogeography. Thesis of Dr. Rer. Nat. Erlangen-Nuemberg University. 266pp.

Oyarzun A. (1921). Toromiro de la Isla de Pascua. Rev. Ch. Hist.Nat. Año XXV. 133 – 140.

Palmer J. L. (1870). A Visit to Easter Island, or Rapa Nui, in 1868. Proceedings of the Royal Geographical Society of London, Vol. 14, No. 2. pp. 108-120.

Pinart, A. (1877). Voyage to Eastern Island – 1877. Early Visitors to Easter Island 1864-1877. The Reports of Eugene Eyraud, Hippolyte Roussel, Pierre Loti and Alphonse Pinart. Editors G.Lee, A.M.Altman and F.Morin. The Eastern Island Foundation. 143 p.

Rivera Fernandez,E. (2003). El Componente Forestal en los Sistemas de Producción de los Pequeños Propietarios de la Etnia Rapa Nui de Isla e Pascua, V Región. Tesis para optar al Título de Ingeniero Forestal. Facultad de Ciencias Forestales Departamento de Manejo de Recursos Forestales. Universidad de Chile. 84pp.

Sedgley, M & R.Griffin (1989). Sexual Reprtoduction of Tree Crops. Academic Press. 378p.

Toromiro Management Group. (1998). Minutes of 5th International Toromiro Management Group Meeting.en [http://www.kew.org/conservation/cpdu/Toromiro/tor\\_min1.htm](http://www.kew.org/conservation/cpdu/Toromiro/tor_min1.htm)

Zizka, G. (1991). Flowering Plants of Eastern Island. Palmarum Hortus Francofurtensis, Scientific Reports 3. 1-108.

Zúñiga, E. (1996). Asociaciones simbióticas tripartitas en Sophora. Tesis. Conducente a Licenciatura en Biología, Universidad Austral de Chile.