

GERMINACIÓN, CULTIVO *IN VITRO* Y ACLIMATACIÓN DE *EPIDENDRUM CAMPACCII*

HÁGSATER & L. SANCHEZ

Carlos Alberto Dalzotto¹; Cristina Ester Billard²; María Virginia Barsanti³; Víctor Hugo Lallana⁴

¹Graduado en Agronomía. Becario de iniciación en la investigación. Proyecto PID-UNER 2144. E-mail: carlosdalzotto@ yahoo.com.ar

²Jefe Trabajos Prácticos Cátedra de Fisiología Vegetal y Proyecto PID-UNER 2144

³Becario de iniciación en la investigación. Proyecto PID-UNER 2144.

⁴Profesor Doctor Cátedra de Fisiología Vegetal y Proyecto PID-UNER 2144. E-mail: victorl@fca.uner.edu.ar

Dirección postal: Facultad de Ciencias Agropecuarias – UNER. Oro Verde, Entre Ríos. Ruta 11, Km 10,5. Argentina

Introducción

- Epidendrum campaccii* es un miembro del complejo *E. difformis* Jacq. Hierba epífita, cespitosa de 11 a 25 cm de alto, raíces basales carnosas, 1-2 mm de grosor.
- Tallo sencillo, tipo caña, terete y flexuoso
- Hojas 4-9 equidistantes a lo largo del tallo
- Inflorescencia terminal en el tallo maduro y las flores 5-8 resupinadas, sucesivas, verdes, con aroma a clavel



Los objetivos del presente trabajo fueron: a) evaluar la germinación in vitro de *E. campaccii* en comparación a su viabilidad y determinar si existen diferencias en la germinación entre cápsulas de una misma planta, b) evaluar el efecto de la utilización de fertilizantes y micronutrientes comerciales en comparación al medio de cultivo básico Murashige & Skoog durante el crecimiento in vitro de plántulas y c) evaluar la supervivencia de las plantas en aclimatación.

Materiales y métodos

Se cosecharon dos frutos polinizados naturalmente el 15 de setiembre de 2011. Se procedió a la desinfección de las cápsulas (C1 y C2). La siembra asimbiótica (M&S al 50 %) se efectuó en la cámara de flujo laminar Las cajas fueron llevadas a cámara de crecimiento a 24 ± 1 °C con un fotoperiodo de 16 horas, con luz grolux e incandescente. Se evaluó viabilidad por Tetrazolio y la germinación a los 15, 33 y 49 días después de la siembra, registrando las distintas etapas de desarrollo de protocormos (Mitchel, 1989).

Se confeccionaron siete medios de cultivo para el repique de plantas cultivadas *in vitro* con 317 días según se detalla:

Medios	Composición
M0	M&S completo + 30 g L ⁻¹ de sacarosa analítica
M1	1 g L ⁻¹ de Peter® 20-20-20 + 30 g L ⁻¹ azúcar refinada (AR)
M2	1,5 g L ⁻¹ de Peter® 20-20-20 + 30 g L ⁻¹ (AR)
M3	2,5 cc L ⁻¹ de Fertifox® (con ANA) Grado 14-3-4 + 30 g L ⁻¹ (AR)
M4	1,25 cc L ⁻¹ de Fertifox® (con ANA) Grado 14-3-4 + 30 g L ⁻¹ (AR)
M5	M3 + 1 g L ⁻¹ de Micronutrientes Zipolex
M6	M4 + 1 g L ⁻¹ de Micronutrientes Zipolex

Se emplearon 13 frascos (repeticiones) con 30 cc de cada medio y 5 plantas por frasco.



Siembra



Cultivo In-Vitro

Aclimatación

En Abril (2 grupos) y Noviembre de 2013 se extrajeron 94 y 25 plantas, respectivamente. Se lavaron con agua destilada, y luego se sumergieron en una solución de Carbendazim (1 g L⁻¹) e inmediatamente se colocaron en grupos de 5 plantas en vasos de EPS, y en una bolsa de nylon cerrada en su extremo para mantener la humedad. -96 horas en laboratorio -Montaje en palo con musgo sphagnum -Invernáculo con riegos diarios y fertilización mensual



Estado de desarrollo de plantas (abril/2013) Ex-vitro

Germinación

Cultivo In-Vitro

Aclimatación

Resultados y Discusión

La viabilidad de las semillas para C1 y C2 fue de 94% y 96%, respectivamente. A los 15 días después de la siembra (dds) se inició el proceso de la germinación, visualizándose las semillas hinchadas con los embriones verdes y ruptura de la testa y a los 49 dds el porcentaje de germinación fue de 95% para la C1 y el 93% para la C2, no encontrándose diferencias significativas (p< 0,05) entre cápsulas.

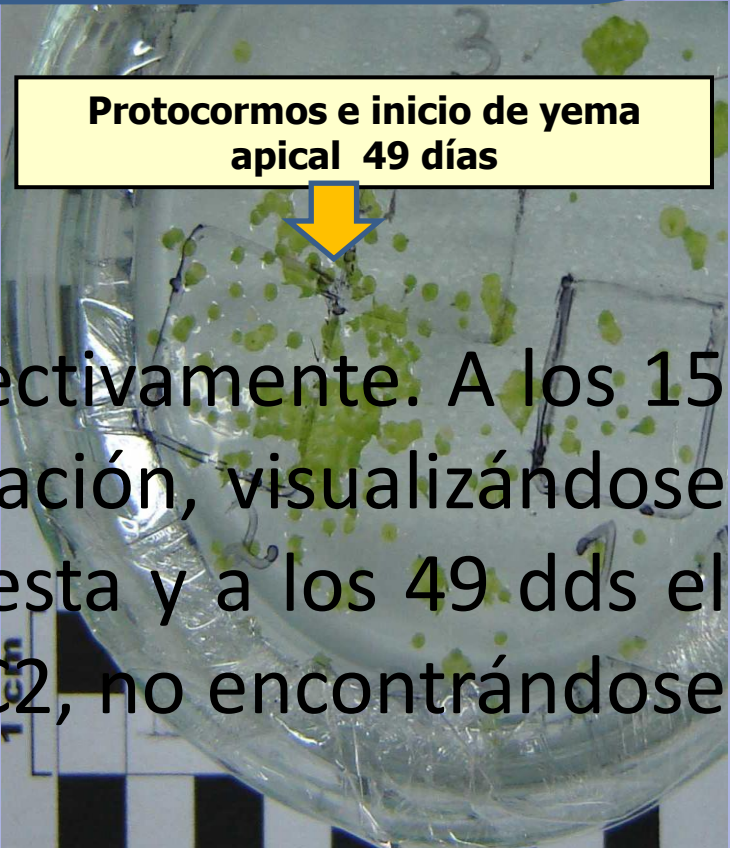


Tabla 1. Variables altura de planta; número de hojas y raíces a los 35 y 231 días desde el repique en seis medios de cultivo (M) y testigo (M0). *Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas (p<0,05)

	Altura de planta (cm)		Nº hojas		Nº raíces	
Medios	195 dds (35 ddr)	387 dds (231 ddr)	195 dds (35 ddr)	387 dds (231 ddr)	195 dds (35 ddr)	387 dds (231 ddr)
M0	0,80 b*	0,76 d	3,97 a	4,29 a	1,63 d	1,33 c
M1	1,01 a	1,16 b	3,85 a	3,57 b c	4,62 a	5,58 a
M2	1,01 a	1,16 b	3,75 a b	3,59 b c	4,13 a b	5,81 a
M3	0,77 b	0,80 d	3,29 c	3,18 c	1,78 c d	1,72 b c
M4	0,96 a	1,43 a	3,53 b c	3,72 b	3,76 b	5,33 a
M5	0,80 b	1,04 b c	3,37 b c	3,88 b	2,26 c	2,06 b c
M6	0,83 b	0,91 c d	3,61 b c	3,46 b c	2,27 c	2,18 b

A los 387 dds (231 ddr) el medio de cultivo suplementado con Fertifox® (M4) fue el que tuvo la mejor respuesta (p<0,05) para la variable altura siguiendo los medios con Peter® (M1 y M2) en las dos dosis (Tabla 1). Brotes por planta (br/pl) el M6 generó 1 br/pl, en el M0 (testigo) no se observó nuevos brotes y en los restantes medios los promedios estuvieron entre 0,3 y 0,7 br/pl.

Para Abril; con el primer grupo se alcanzó al cabo de 19 meses un 31% de supervivencia, mientras que para el segundo grupo, a los 10 meses el porcentaje fue de 0%, produciéndose una muerte importante de plantas entre Agosto y Septiembre. En el caso de las plantas extraídas en Noviembre; a Julio de 2014 presentaron una supervivencia de 4%. La alta mortandad de plantas en verano pudo deberse a la baja frecuencia de los riegos (una vez por día). El 27% de las plantas mantenidas en invernáculo generaron un nuevo brote por planta (4,3 hojas y 3,3 cm de altura promedio).



Desarrollo de 5 a 7 hojas verdaderas con enraizamiento abundante.



Figura 1. Estados de desarrollo de las plantas de *Epidendrum campaccii* montadas en palos al 11/04/14 y 28/08/14 en invernáculo.



Floración 23/12/14

Conclusiones

El uso de cápsulas verde amarillentas de *Epidendrum campaccii* indicó, desde el punto de vista fisiológico, que las semillas se encontraron en condiciones óptimas y la germinación fue concordante con los valores de viabilidad determinados, no existiendo diferencias en la germinación entre cápsulas de una misma planta. Los medios de cultivos con fertilizantes y micronutrientes favorecieron el desarrollo de las plantas *in vitro*, registrando además un menor porcentaje de plantas muertas. El proceso de aclimatación de plantas no fue del todo exitoso, con pérdidas del 70% de plantas al cabo de 19 meses. Las plantas sobrevivientes alcanzaron buen desarrollo de la parte aérea y radicular, y emitieron brotes nuevos que en algunos casos superaron el tamaño de la planta madre. Mediante técnicas de propagación *in vitro* se logró obtener plantas completas de *E. campaccii*, debiendo profundizar los estudios de aclimatación.

LALLANA, V. H.; GARCÍA L. F. Conservación de semillas de orquídeas y estudio de su viabilidad en el tiempo. *Revista Análisis de Semillas*, 6(23):58-61, 2012.
-MURASHIGE, T. y SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 15:473-497.
MITCHELL, R. Growing hardy orchids from seeds at Kew.Plantsman 11: 152-169, 1989. *En*:Verdugo, G.; Marchant, J.; Cisternas, M.; Calderón, X.; Peñaloza, P.Caracterización morfológica de la germinación de *Chloraea crisp*aLindl. (Orchidaceae) usando análisis de imagen. *Gayana Bot.* 64(2): 232-238, 2007.

