

GERMINACIÓN, DESARROLLO *IN VITRO* Y ACLIMATACIÓN DE PLANTAS DE *BIPINNULA PENNICILLATA* (RCHB. F.) SISTERNAS & SALAZAR

Víctor H. LALLANA¹; Luz Fabiola GARCÍA¹; María V. BARSANTI²; Cristina E. BILLARD¹; Diego HEINZE³

¹Docentes investigadores Cátedra de Fisiología Vegetal. PID UNER 2172. ²Becario de iniciación en la investigación y ³Alumno. Universidad Nacional de Entre Ríos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Oro Verde, Ruta 11, Km 10,5. Entre Ríos. Argentina. E-mail: victorl@fca.uner.edu.ar

INTRODUCCION

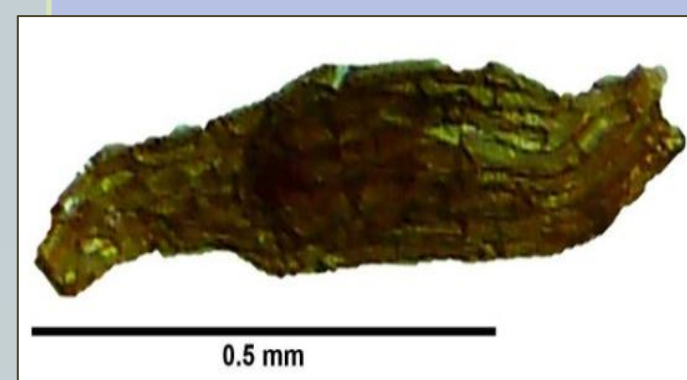
B. pennicillata es una orquídea terrestre, conocida vulgarmente como abejorra, boca de sapo, cabeza de víbora, tiene una altura entre 10-30 cm, con 2 a 5 hojas basales con una longitud ente 4 a 10 cm. Es un a especie de Brasil austral, Uruguay y la Argentina (Entre Ríos, sierras australes de Buenos Aires). Florece en primavera, la polinización natural la realizan avispa a través del mecanismo de pseudocopulación (Hurrell, 2009). Habita en pastizales de Entre Ríos (Parque Nacional El Palmar (SIB), también se la ha encontrado en zonas bajas de las márgenes de arroyos en el Paraje La Virgen, Paraná (Lallana, 2011).



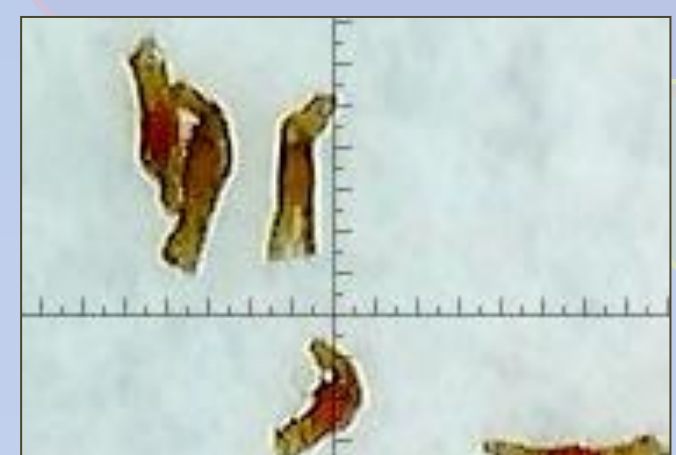
El objetivo de este trabajo fue lograr la germinación axénica de semillas de *B. pennicillata* y el posterior desarrollo de plantas en condiciones *in vitro* para su posterior paso de aclimatación *ex vitro*.

Germinación

Se cosecharon dos frutos de *B. pennicillata* (ID 39) del Departamento Paraná, Entre Ríos, Argentina, en el mes de diciembre de 2008, se extrajeron las semillas y se conservaron en recipientes plásticos con tapa a 4°C (heladera) en el Banco de Germoplasma del proyecto. Periódicamente a partir del año de almacenamiento y hasta los 44 meses se efectuaron 5 pruebas de viabilidad por tetrazolio (Lallana y García, 2012).



Semilla de *B. pennicillata*, donde se destaca la testa reticulada y el embrión inmaduro en el centro de la semilla.



Semillas viables por tinción con tetrazolio

Las pruebas de viabilidad permitieron comprobar una alta viabilidad de las semillas (87 a 93 %) en los dos primeros años y luego decayó a 62 % a los 44 meses -Fig. 1- (Lallana y García, 2012, 2015).

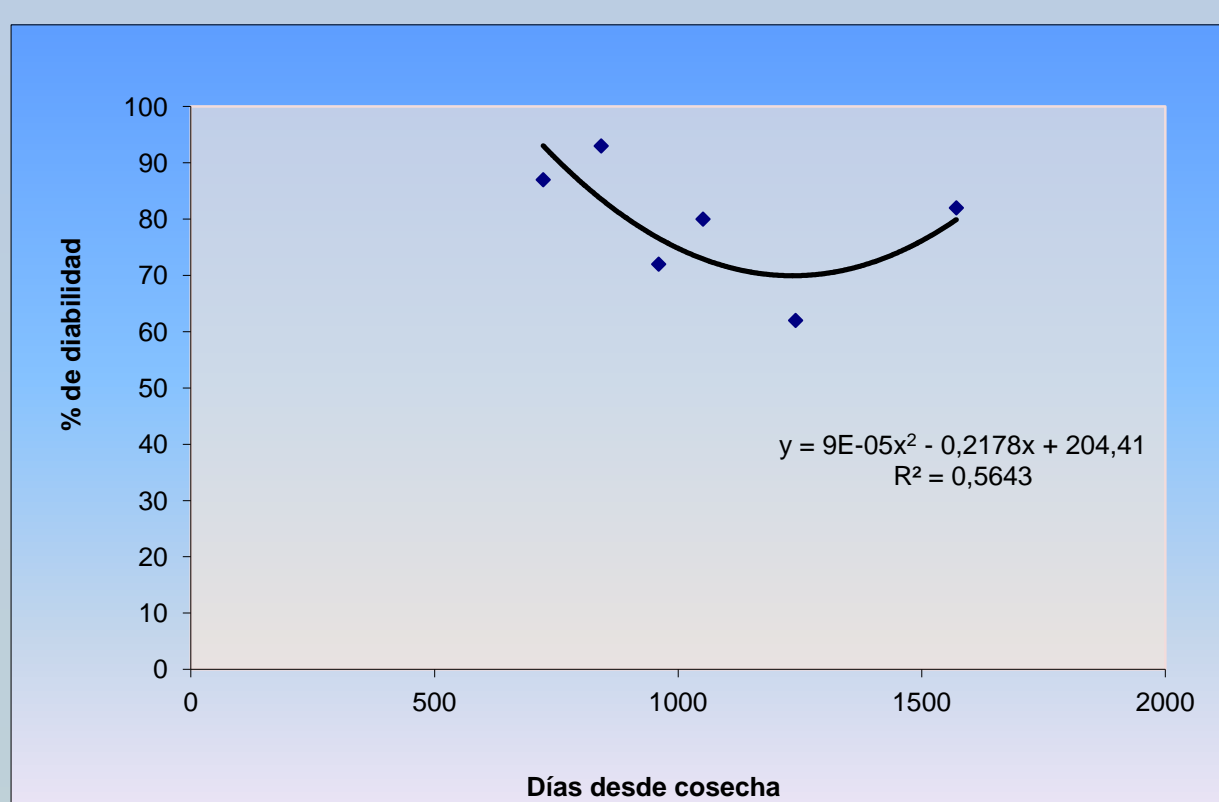


Figura 1

La germinación *in vitro* fue de 49 %, inferior a los valores de viabilidad (62 %).

Cultivo *in vitro*

Una alícuota de semillas se sembró *in vitro* (agosto 2012), utilizando medio básico de M&S, a la mitad de la concentración suplementado con 30 gr/L sacarosa y 5 g/L de agar agar. El material se colocó, en oscuridad, en la cámara de crecimiento. Transcurridos 36 días de la siembra (dds) se observaron varias semillas con el embrión rompiendo la testa. A los 44 dds las semillas presentan ruptura de testa e inicio de formación de protocormos. En este momento se retiraron de oscuridad continua y se colocaron la cámara de crecimiento con alternancia de luz y oscuridad (16h luz – 8 h oscuridad). Luego se efectuaron 3 repiques hasta lograr un desarrollo de plantas aptas para la aclimatación, con 3 a 4 hojas y altura promedio 3,2 cm y longitud raíces 1,6 cm.



Plantas de *B. pennicillata*, desarrolladas *in vitro* con una altura de 0,2 y 0,5 cm a los 184 días desde la siembra.

A los 415 dds, las plantas presentaron entre 3 y 4 hojas verdes por planta con longitud promedio de 2,5 cm, se visualizó el crecimiento de las raíces con una coloración pardo claro, con una longitud promedio de 1,6 cm y una altura promedio de las plantas de 3,2 cm.



El proceso de cultivo *in vitro* de las plantas de *B. pennicillata* fue exitoso, logrando ejemplares aptos para aclimatación.

Aclimatación

Se procedió a la extracción de plantas para el proceso de aclimatación en dos fechas diferentes. En el primer caso (428 dds) se retiraron las plantas de los frascos y se colocaron en bandeja multicelda, con sustrato fino compuesto de resaca y cáscara de pino finamente comportada (vol/vol 1:1). Se mantuvieron en laboratorio con luz difusa durante un mes, luego se trasplantaron a vasos de telgopor con el mismo sustrato y se llevaron a invernáculo con media sombra.

En el segundo caso (559 dds), se realizó el trasplante en bandeja multicelda con lecho de piedra y sustrato preparado con turba de *Sphagnum*, tierra fértil, cáscara de pino finamente compostada y cascara de pino tamizada con *Sphagnum* molido (1:1:1:1), las que permanecieron en cámara húmeda en laboratorio una semana y luego tres semanas con luz difusa. Posteriormente se llevaron a umbráculo en el invernáculo de orquídeas de la FCA.



Plantas de *B. pennicillata* recién extraídas de los frascos de cultivo



El proceso de aclimatación no fue exitoso, a los 120 días lograron sobrevivir 2 plantas y en otro ensayo a los 60 días de invernáculo no sobrevivió ninguna. Resulta necesario profundizar los aspectos de aclimatación

BIBLIOGRAFIA

Hurrell, J. (2009). Flora rioplatense. Parte 3. : Monocotiledóneas / Julio Hurrell; Gustavo Delucchi; Maevia Correa. – 1ra ed. – Buenos Aires: L.O.L.A. – Literatura of Latín América. v. 4, 424 p.

Lallana, V.H. y L.F. García (2012). Conservación de semillas de orquídeas y estudio de su viabilidad en el tiempo. Revista Análisis de Semillas, 6(23):58-61.

Lallana, V.H. y L.F. García (2015). Longevidad de semillas de orquídeas almacenadas en frío. Livro de Resumos. Pág. 26-30. II SIMBRAORQ, Simposio Brasileiro de produção de Orquídeas. Jaboticabal, SP, Brasil.

UNESP/FACV 03 al 06 de marzo de 2015.

SIB. (sistema de información de biodiversidad). Administración de Parques Nacionales. Argentina. http://www.sib.gov.ar/ficha/PLANTAE*geoblasta*pennicillata#_ENTRE%20RIOS [Consulta 18/10/13]

Lallana, V.H. ; Billard, C.; García, L.F.; Dalzotto, C.; De La Cruz, V.; Martínez, V.A. y D. Heize (2011). Conservación de orquídeas nativas de Entre Ríos utilizando técnicas de cultivos de tejidos “in vitro”. 1er Informe de avance. PID UNER 2144. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. 45 p. y 5 Anexos.