



PROTOSCOLOS DEL BGO Y OTROS DEL PROYECTO ORQUÍDEAS

Título principal: BGO	Confeccionó:	V.H. Lallana y M. V. Barsanti
Sub-título: 3. Ensayos de aclimatación	Revisó:	
Nº: 3.1. Aclimatación de plántulas (Fase Ex Vitro)	Publicado	SI NO x WEB x
Año de creación: 2015	Impreso	SI x NO

ACLIMATACION DE PLÁNTULAS (FASE EX VITRO)

La etapa de aclimatación de plantas provenientes de cultivo «in vitro» es crítica, dado los cambios ambientales bruscos a que se ven sometidas las plantas de una condición de ambiente controlado a otra con menor grado de control. Durante el desarrollo del proyecto se han probado distintos métodos y procedimientos para lograr la mayor supervivencia de plantas, según las especies. Ello ha conducido a procesos exitosos (30 a 70 % de supervivencia) y también a fracasos rotundos (0 -10 % de supervivencia).

En la etapa «in vitro» las plántulas están expuestas a humedades próximas al 100 % y reciben todos los nutrientes y vitaminas que necesitan para su desarrollo. Reciben también carbono en forma de sacarosa, lo cual es también una fuente de energía disponible para los procesos metabólicos. Cuando las plantas son retiradas de ese ambiente controlado, precisan pasar por un proceso transitorio de adaptación, llamado aclimatación.

Para maximizar la sobrevivencia de plántulas en la transferencia de «in vitro» a la fase «ex vitro» (aclimatación) la plántula debe tener un tamaño adecuado, con buena formación de raíces y parte aérea. Mínimo 4 a 5 cm de altura, 3 o más hojas por planta y raíces funcionales (blancas).

Gran parte de la bibliografía sobre aclimatación de orquídeas está basada en la utilización de distintos tipos y mezclas de sustratos inertes, condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. El proceso debe hacerse en forma gradual y tarda alrededor de dos a tres meses para que las plantitas puedan aclimatarse en condiciones de invernáculo.

Hemos desarrollado un protocolo básico de manejo de las plantas desde que salen de los frascos de cultivo y se llevan al invernáculo, el cual se detalla en este protocolo.

Procedimiento

1. Las plantas provenientes de distintos ensayos con tiempos variables de cultivo «in vitro», son retiradas con pinzas de los frascos de cultivo y se lavan cuidadosamente con agua destilada para separar los restos de medio de cultivo que pudieran permanecer adheridos a las mismas. Las plantas menores a 2 cm de altura o aquellas sin raíces, son descartadas.
2. Las plantas son colocadas sobre un papel blanco, se fotografían con escala de referencia y sobre 10 plantas se toman medidas del número y longitud de hojas y raíces.

3. Luego las plantas se acondicionan en vasos de Tergopor® (6 cm diámetro x 10 cm alto) conteniendo la mitad de su volumen cubierto con sustrato de piedra negra partida, humedecido a saturación y colocados en una bolsa plástica atada en su extremo para formar un efecto de cámara húmeda evitando el estrés de las plantitas. Observación: En algunos casos se aplica fungicida (Carbendazim) mediante inmersión de las plantitas o bien a posteriori con pulverizador manual.

4. En otros casos las plantas se colocan en macetas plásticas pequeñas con lecho de musgo de Sphagnum, levemente humedecido y envueltos como en el caso anterior (cámara húmeda), permaneciendo en estas condiciones por 48-72 h en laboratorio.

5. Concluida esta primera etapa de aclimatación las plantas de especies de hábitat epífito, se montan en palos pequeños de 1 a 2 cm de diámetro y 15 cm de longitud (usando especies de bignonia, eucaliptus, roble, pino, según disponibilidad). Para el montaje también se ha desarrollado un protocolo que consiste básicamente en ubicar sobre la superficie del palo las raíces de 1 o 2 plantas, cubrirlas con musgo de Sphagnum y atarlas firmemente con hilo encerado. Cada palo se rotula y se le coloca un gancho de alambre en un extremo.

Las plantas montadas en palo se colocan en una bandeja amplia, con 1 cm de agua en la base y se tapan con un nylon, para lograr una cámara húmeda, la cual no es del todo cerrada, ya que por los costados se permite intercambio de aire. En estas condiciones de laboratorio con luz natural difusa se mantienen durante 7 a 10 días y luego se llevan a un umbráculo en el invernáculo, donde permanecen otra semana o 10 días, para luego ser colocadas sobre una pared sombreada del invernáculo.

6. Para el caso de orquídeas terrestres se realiza el mismo procedimiento, pero en vez de ser montadas en palos, se acondicionan en bandejas multicelda o en macetitas de plástico con diferentes sustratos comerciales o mezclas preparadas, a base principalmente de corteza de pino, musgo de Sphagnum y cascara de arroz. También permanecen en condiciones de laboratorio los primeros días y luego se llevan a invernáculo.

En esta sección, más adelante, se detallan los protocolos específicos de aclimatación por especie.

Ultima Actualización: Mayo de 2015 (Víctor Lallana)

Como citar este documento:

Lallana, V.H. y Barsanti, M.V. (2015). Protocolo N°31. Aclimatación de plántulas (fase Ex vitro). Disponible en: <http://www.orquier.fca.uner.edu.ar/> [Consulta: dd/mm/aa]