

## ACLIMATACION Y RUSTICACION DE PLANTAS MICROPROPAGADAS

La micropropagación ha sido extensamente utilizada para la multiplicación rápida de muchas especies vegetales. Sin embargo, su uso se ve restringido por el alto porcentaje de pérdidas o daños en el momento en que las plantas son transferidas a condiciones *ex vitro* (invernadero o campo).

Durante el cultivo *in vitro*, las plantas crecen bajo condiciones muy especiales en envases casi totalmente cerrados, donde la humedad relativa es alta, y la irradiancia más baja que en cultivos tradicionales. El uso de envases sellados con el objeto de prevenir contaminaciones, evita la turbulencia de aire, lo cual aumenta la capa límite, condicionando el flujo de CO<sub>2</sub> y el intercambio gaseoso con el medio ambiente. Además, la incorporación de glúcidos al medio de cultivo como fuente de carbono y energía, provoca diferencias en el potencial de agua del medio y aumenta el riesgo de contaminación con hongos y bacterias. Por otro lado, los medios son suplementados usualmente con reguladores de crecimiento. Estas condiciones resultan en la formación de plantas con morfología, anatomía y fisiología anormal (Pospisilova J. *et al*, 1999).

Después de la transferencia de las condiciones de *in vitro* a *ex vitro*, las plántulas tienen que corregir estas anomalías. En invernadero, y especialmente en el campo, la irradiancia es mucho mayor y la humedad del aire mucho más baja que dentro de los envases de vidrio. Si el potencial de agua del sustrato es más alto que el potencial de agua del medio de cultivo con sacarosa, las plantas pueden rápidamente marchitarse o secarse por la pérdida de agua por las hojas. Debido a la baja conductividad hídrica de las raíces y la pobre conexión tallo-raíz, los riegos deben ser limitados (Fila *et al*, 1998). Muchas plantas mueren durante este período. Por lo tanto, después del pasaje a condiciones *ex vitro*, las plantas usualmente necesitan un período de aclimatización con una gradual reducción en la humedad del aire. En la aclimatización se tiene en cuenta humedad, irradiancia, temperatura, concentración de CO<sub>2</sub> y flujo de aire.

Durante la aclimatización pueden diferenciarse dos períodos: un período de adaptación con poco crecimiento de los brotes y baja formación de raíces,

seguido de un período de rápido crecimiento de raíces y parte aérea (Van Huylenbroeck y De Riek,1995).

Debido a que el pasaje a condiciones *ex vitro* es un problema en muchos sistemas de micropropagación, el objetivo de este trabajo práctico es aclimatar las vitroplantas de *Pelargonium graveolens* "malva rosa", para luego rusticarlas y llevarlas a condiciones de invernadero.

## DESARROLLO DEL TRABAJO PARACTICO

### ACLIMATACION

Se aclimatarán las plantas enraizadas *in vitro*, y se seguirán los siguientes pasos:

- Utilizar envases de plástico de 7 cm de diámetro por 15 cm de alto, con 100 cm<sup>3</sup> de sustrato estéril cada uno (mezcla de tierra y perlita 1:1).
- Con cuidado y con ayuda de una pinza, extraer las plantas del frasco. Lavar las raíces delicadamente con agua corriente, eliminando cualquier resto de medio de cultivo.
- Tomar los datos para completar la planilla que se encuentra a continuación.
- Colocar las plantas en los envases, regar con fungicida /bactericida /alguicida (Trigger 2g/L), y cubrir con bolsas de polietileno de 15 x 25 cm, abiertas unos 3 cm. Colocar en cámara climatizada.
- Luego de 15 días, abrir la bolsa cobertora unos 10 cm y realizar un nuevo riego.
- A los 30 días, retirarla completamente. Dejar las plantas 7 días más bajo condiciones controladas.

*Condiciones ambientales:*

Temperatura: 25<sup>0</sup>C +/- 2<sup>0</sup>C

Fotoperíodo 16h luz

Irradiancia : 60 μmol. m<sup>2</sup>.s<sup>1</sup>

Calidad: luz blanca fría

*Toma de datos:*

★ Peso fresco de planta completa: \_\_\_\_\_

★ Parte aérea:

- Nro. de hojas \_\_\_\_\_
- Altura \_\_\_\_\_
- Presencia de eje principal \_\_\_\_\_
- Presencia/ausencia de hojas muertas \_\_\_\_\_
- Color \_\_\_\_\_
- Aspecto \_\_\_\_\_
- Pubescencia \_\_\_\_\_
- Olor \_\_\_\_\_
- Fenotipo \_\_\_\_\_

\* Raíz

- Largo \_\_\_\_\_
- Nro. de ramificaciones \_\_\_\_\_
- Color \_\_\_\_\_
- Presencia de pelos radicales \_\_\_\_\_
- Formación de callo \_\_\_\_\_

## RUSTICACION

Las características más importantes de cualquier sustrato para cultivos en envase son:

- ↵ estructura fina favorable
- ↵ estar libre de elementos tóxicos
- ↵ ser liviano, poroso.
- ↵ ser económico
- ↵ sin contaminantes
- ↵ inerte

La tendencia actual es hacia el empleo de componentes sin suelo. El empleo de suelos minerales, compost y estiércol puede dar buenos resultados, pero las probabilidades de encontrar problemas inesperados es mucho más alta, y no son detectados hasta que la planta responde con síntomas desfavorables. Para las plantas micropropagadas se utilizan muchos sustratos, solos o en mezclas, que abarcan la vermiculita, perlita, Sphagnum, coco-soil, suelo estéril, hojarasca, pinocha, etc. En países desarrollados la tendencia es utilizar casi

exclusivamente componentes sin suelo, como agrolita, lana de roca, floratena, compost de corteza.

La rusticación de las vitroplantas se realizará de la siguiente manera

- \* Retirar cuidadosamente las plantas de los envases que se utilizaron en el período de aclimatación.
- \* Tomar los datos para completar la planilla que se encuentra a continuación.
- \* Colocar las plantas en envases plásticos, conteniendo como sustrato una mezcla de 50% perlita-50% tierra.
- \* Realizar pulverizaciones semanales con funguicida/bactericida/alguicida (Trigger 2ml/L).

*Toma de datos:*

- \* Peso fresco de planta completa \_\_\_\_\_
- \* Parte aérea:
  - o Nro. de hojas \_\_\_\_\_
  - o Altura \_\_\_\_\_
  - o Presencia de eje principal \_\_\_\_\_
  - o Presencia/ausencia de hojas muertas \_\_\_\_\_
  - o Color \_\_\_\_\_
  - o Aspecto \_\_\_\_\_
  - o Pubescencia \_\_\_\_\_
  - o Olor \_\_\_\_\_
  - o Fenotipo \_\_\_\_\_
- \* Raíz
  - o Largo \_\_\_\_\_
  - o Nro. de ramificaciones \_\_\_\_\_
  - o Color \_\_\_\_\_
  - o Presencia de pelos radiculares \_\_\_\_\_
  - o Formación de callo \_\_\_\_\_