

PROVINCIA: MISIONES
CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES
PROYECTO
**“CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA NATIVO Y
MULTIPLICACIÓN *in vitro*, DE ORQUÍDEAS DE MISIONES”.**
INFORME FINAL

**Autores: Ing. Doris Bischoff – Lic. Verónica Rodríguez.
Becaria: Lic. Escalante, Evangelina.**

INDICE TEMÁTICO

Resumen -----	3
Introducción -----	4 - 6
Antecedentes -----	7- 10
Finalidad -----	11 - 12
Objetivos -----	13 - 14
Alcance -----	15 - 16
Cronograma de actividades -----	17- 18
Detalles de la tareas realizadas -----	19 - 30
Conclusiones -----	31
Bibliografía -----	32 - 33

Resumen

Uno de los objetivos principales de este proyecto es contribuir con la ley provincial de Banco de Germoplasma de la provincia de Misiones (Ley N° 4464 sancionada el 23/10/08) para aumentar el número orquídeas tanto nativas como exóticas como una estrategia de conservación “ex situ” utilizando como herramienta el cultivo *in vitro*, tanto para su comercialización como para su conservación, aumentando así su germoplasma y evitando el saqueo indiscriminado en nuestra flora nativa. Otros de los objetivos es también establecer protocolos de propagación mediante el cultivo *in vitro* y protocolos de aclimatización y rustificación de las plantas de orquídeas obtenidas, capacitando a productores en el manejo de cultivo de orquídeas en vivero. En esta primera etapa desarrollada del proyecto se lograron rescatar 412 plantas de orquídeas correspondientes a 51 especies epífitas y terrestres de las cuales 30 especies fueron seleccionadas y enviadas al Vivero Banco de Germoplasma Provincial en BIO.MI.S.A. Se pudo obtener y realizar el seguimiento de estado de cosecha y comprobación de viabilidad de semillas de 10 cápsulas de especies tanto nativas como exóticas. En el laboratorio de cultivo *in vitro*, se realizaron diferentes ensayos de desinfección de capsulas y preparación de diferentes medios de cultivo (ensayos) y establecimiento *in vitro* de semillas de las especies de orquídeas seleccionadas. Por casa especie se realizaron al menos 3 ensayos para cada fase y se seleccionó aquel con mejores resultados. Se obtuvo un 80 % de germinación en 6 especies nativas las cuales se encuentran en fase de elongación (crecimiento) y se continúa con la búsqueda bibliográfica sobre medios de cultivo para la siguiente fase de multiplicación. A su vez se realizó el seguimiento de especies en fase de multiplicación y crecimiento seleccionando las adecuadas para realizar entregas a productores. Se realizaron 3 entregas de orquídeas *in vitro* a grupo de floricultores y orquideófilos de Montecarlo y se entregó cerca de 11.000 plantas entre ellas 2 especies nativas: *Cattleya lundii* y *Trichocentrum cebolleta* y 4 especies exóticas: Híbrido de *Cattleya semialba*, *Cattleya guttata*, *Trichocentrum stacyi*, y *Oncidium macropetalum*. Se capacitó a más de 30 productores en el manejo de cultivo en vivero de orquídeas provenientes *in vitro*, se realizó un seguimiento y control de las plantas entregadas obteniendo un alto porcentaje de supervivencia de plantas repicadas a macetas comunitarias.

INTRODUCCIÓN

PROBLEMÁTICA:

El área original de la Ecorregión del Bosque Atlántico del Alto Paraná, es la más grande (471.204 km²) de las 15 ecorregiones del Bosque Atlántico, y se extiende desde la Serra do Mar en el Brasil, hasta el este de Paraguay y la provincia de Misiones.

Los Bosques Atlánticos están entre los Bosques Tropicales Iluviosos más amenazados de la tierra, en los que subsiste solamente el 7% de su cobertura original, y en un paisaje altamente fragmentado. Han sido clasificados como uno de los Bosques con mayor biodiversidad del mundo.

Solo en Misiones se han registrado más de 3.000 especies de plantas vasculares, que representan 1/3 de la plantas vasculares de la Argentina (Zuloaga et al, 2.000; Giraud et al, 2003).

De la superficie boscosa nativa original, alrededor del 57% ha sido desmontado, de los cuales el 27 % está bajo cultivo y el 30% en varios estadios de regeneración espontánea.

Estos datos nos alertan de la importancia de la conservación de nuestra biodiversidad, por distintas vías. Una de ellas son las áreas protegidas, que en nuestra provincia ascienden a 465.000 ha (16%), de los cuáles el 54% corresponde a propiedades privadas con convenios con el MERNRyT.

Si tenemos en cuenta que las orquídeas constituyen una de las familias con mayor número de especies (aproximadamente 25.000 especies descubiertas) pero aún hay regiones sin relevar, varias de ellas precisamente en la Argentina Su diversidad se ve ampliada dado que por ser un grupo muy joven en la evolución de las plantas presenta gran facilidad para dar híbridos exitosos , no solo entre especies del mismo género, sino también intergenéricas (se estima que hay 30.00 híbridos registrados) (Freuler, M.J. 2007).

En el Parque Nacional Iguazú (67.000ha), una de las áreas mejor estudiadas, se han registrado 85 especies de orquídeas, lo que representa 1/3 de las orquídeas conocidas en todo Argentina (Jonson, 2001).

Los géneros de orquídeas que crecen en nuestra provincia son: *Aspidogyne*; *Barbosella*; *Brachystele*; *Brassavola*; *Bulbophyllum*; *Campylocentrum*; *Capanemia*; *Catasetum*; *Corymborkis*; *Cyclopogon*; *Cyrtopodium*; *Eltroplectris*; *Encyclia*; *Epidendrum*; *Epistephium*; *Erythrodes*; *Eulophia*; *Eurystyles*; *Galeandra*; *Gomezia*; *Habenaria*; *Isabelia*; *Isochilus*; *Microlaelia*; *Lankesterella*; *Leptotes*; *Ligeophila*;

Liparis; Malaxis; Maxillaria Mesadenella; Miltonia; Octomeria; Oececlades; Oncidium; Pelexia; Pheophila, Pleurobothryum; Polystachia; Prescottia; Pteroglossa; Pteroglossapis; Sacoila; Sarcoglottis; Sanderella; Skeptrostachys; Sophronitis; Stigmatosema; Triphora; Vanilla; Warmingia; Warrea; Zygotepalum; Zygostates.

En resumen viven: 64 especies terrestres; 66 especies epifitas; 4 sp. pantanícolas y 13 sp. húmicas. (Schinini, A. 2009).

Nuestra provincia es una de las más castigadas por la deforestación y quema indiscriminada de sus campos con lo cual estamos perdiendo miles plantas de orquídeas sin darnos cuenta, además las constantes aplicaciones de agrotóxicos reducen la cantidad de polinizadores, con la constante disminución de semillas e individuos por especies. Ante éste panorama es urgente la preservación de material vegetal de orquídeas nativas en el Banco de Germoplasma “ex situ” de la Biofábrica y la multiplicación de nuestras especies.

ANTECEDENTES

El 20 de octubre de 2006 **Biofábrica** queda inaugurada oficialmente como el primer centro biotecnológico de la región, dedicado a la propagación masiva de plantas de alta calidad genética. Se inició como empresa incubada en la fecha citada anteriormente; siendo administrada por la Fundación Parque Tecnológico Misiones. Luego de dos años de incubación se conformó como Sociedad Anónima siendo en este momento denominada como BIO.MI.S.A.

Actualmente, la Biofábrica S.A. es considerada un Polo Biotecnológico, único en Argentina con estas características, que tiene como objetivo la planificación estratégica de la producción vegetal regional de los sectores forestal, agrícola, ornamental y medicinal.

Durante el año 2007 se firmaron convenios de cooperación y colaboración mutua para el fortalecimiento de las actividades en el ámbito de la investigación y el desarrollo biotecnológico con las Facultades de Forestales y de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la UNaM. Al año de su inauguración, la Biofábrica S.A. cumplió con la entrega de un millón de plantines a cooperativas y productores misioneros. Además, como centro de transferencia de conocimiento, se iniciaron las Visitas Guiadas para escuelas de toda la región, en especial para las agrotécnicas, en las cuales se acercan a los alumnos los nuevos conceptos de biotecnología.

La Biofábrica S.A. tiene como objetivo producir tres fuertes impactos a nivel regional: el primero, desarrollar masivamente una agricultura sustentable al ofertar una planta de alta calidad genética que le permitirá al productor apuntalar la rentabilidad por medio de la producción a escala comercial en un mercado cada vez más concentrado como lo es el de la semilla agrícola, logrando así uniformidad y continuidad.

El segundo impacto es la conformación de nuevas redes de investigación y desarrollo, por lo que se seguirá trabajando vinculado a instituciones como el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), la UnaM (Universidad Nacional de Misiones), la UNNE (Universidad Nacional del Nordeste) y otras empresas, asociaciones, consorcios y demás centros, en la búsqueda de innovación, nuevas especies, mejora de protocolos y desarrollo de investigaciones.

Y el tercer impacto tiene que ver en forma indirecta con lo ambiental, ya que sería posible aumentar rendimientos productivos con la misma superficie cultivada, sin afectar nuevas tierras.

Por otro lado en la Biofábrica S.A. se establece el Banco Provincial de Germoplasma Vegetal con dependencia orgánica y funcional de la Biofábrica Misiones Sociedad Anónima.

En la biofábrica hace 2 años se viene investigando la regeneración de orquídeas nativas y exóticas de la provincia de Misiones mediante la utilización de las técnicas de cultivo *in vitro*, con muy buenos resultados, garantizando el éxito de este proyecto.

La Asociación Orquideófila de Montecarlo, se creó en Montecarlo el 28 de junio de 1992, con la intención de nuclear a toda persona interesada en cualquier tema relacionado con las orquídeas, ya sea su cultivo, estudio o conservación. Tiene como objetivos:

- promover y apoyar la investigación sobre orquídeas, incluyendo taxonomía básica, estudios ecológicos, biológicos y bioquímicos.
- difundir y desarrollar conciencia pública tendientes a la conservación de las especies nativas, - incentivar la propagación masiva con el principal objetivo de cultivar las especies nativas y sus variedades raras para garantizar la perpetuación de su biodiversidad,
- promover e incentivar el intercambio de información y de material afín con sociedades similares y otros.
- promover, adoptar y/o adaptar leyes, reglamentos y normas que se ajusten a los objetivos de la asociación.

El **INTA** genera, adapta y transfiere tecnología en los principales sistemas productivos de la región. En el aspecto conservacionista, el INTA posee en el Campo Anexo San Antonio, Misiones, una superficie de 2.136 has, de las cuales 470 has pertenecen a la Reserva Natural Estricta San Antonio (bajo responsabilidad de la Administración de Parques Nacionales) y 642 has son reserva INTA; Esta área se destina básicamente a la preservación y conservación del ambiente, bajo el compromiso de no transformación de los bosques y plantaciones existentes. Incluye áreas de amortiguación de la Reserva Natural Estricta, superficies destinadas a corredores de fauna, áreas sensibles de las cuencas hidrográficas, superficie de

bosque nativo y otras destinadas a ensayos y plantaciones forestales, entre las que se destacan 53 has de Araucaria adulta.

La Estación Experimental Agropecuaria de Montecarlo participa del Proyecto Nacional de “Obtención de variedades ornamentales a partir de germoplasma nativo”, bajo la coordinación de la Dra. Gabriela Facciuto (Instituto de Floricultura INTA Cautelar); y dentro de los productos que se esperan obtener con este proyecto, se encuentra la “Colección caracterizada de orquídeas nativas” (Recolección, domesticación y caracterización de germoplasma ornamental).

Dentro del marco del Programa Federal de Apoyo al Desarrollo Rural Sustentable (PROFEDER): “Apoyo al desarrollo rural de pequeños productores de Montecarlo”, se brinda asesoramiento técnico/organizativo a productores, grupos de floricultores y orquideófilos, desde el año 2005.

Esta tarea se realiza en forma conjunta con el Municipio de Montecarlo y la Asociación Orquideófila Montecarlo. Los productores producen de flores, plantas de interior y orquídeas nativas que comercializan en los viveros propios, locales comerciales en Montecarlo, Eldorado y eventos de la región. La mayor demanda de orquídeas es generada por los turistas y coleccionistas que visitan la ciudad de Montecarlo, por ser sede permanente de la Fiesta Nacional de la Orquídea y Provincial de la Flor, hace 20 años. Por la gran cantidad de especies de orquídeas que posee nuestra región, la demanda desde otras provincias (Chaco, Buenos Aires, Tucumán, Corrientes), ha aumentado los últimos años. Los floricultores y orquideófilos locales, no logran cubrir las demandas, por falta de volumen de producción de orquídeas que poseen actualmente, pues la técnica de propagación utilizada, es por división de matas. El grupo ha realizado capacitaciones en siembra de orquídeas “*in vitro*” en los laboratorios del INTA, con el apoyo del CFI y la Asociación Orquideófila de Montecarlo, pero debido a la falta de experiencia y el escaso espacio físico disponible en los laboratorios, hacen difícil planificar una multiplicación de orquídeas a escala comercial.

FINALIDAD

Uno de los objetivos de este proyecto es contribuir con la ley provincial de Banco de Germoplasma de la provincia de Misiones (Ley N° 4464 sancionada el 23/10/08) donde se establece: "... se declara de interés provincial todas las actividades tendientes al rescate, conservación, investigación y propagación de las especies medicinales, ornamentales, forestales, etc, nativas y exóticas..."

Por lo que este proyecto propone colaborar de forma activa y organizada al rescate y la conservación del germoplasma de orquídeas nativas de la provincia de Misiones. Por otro lado es importante aumentar el número de orquídeas tanto nativas como exóticas como una estrategia de conservación "ex situ" utilizando como herramienta el cultivo *in vitro*, tanto para su comercialización como para su conservación, aumentando así su germoplasma y evitando el saqueo indiscriminado en nuestra flora nativa.

También con este proyecto se puede mejorar la calidad de vida de un grupo de floricultores y orquideófilos, mejorando sus ingresos provenientes de la comercialización de las orquídeas.

OBJETIVOS

- 1) Rescate de material vegetal de orquídeas nativas de desmontes autorizados, en la zona del Alto Paraná.
- 2) Conservar el germoplasma de las especies nativas de orquídeas rescatadas y multiplicadas.
- 3) Establecer protocolos de propagación mediante el cultivo *in vitro* de orquídeas.
- 4) Establecer Protocolos de aclimatación y rustificación de las plantas de orquídeas obtenidas por cultivo *in vitro*.
- 5) Capacitación a productores en el manejo de cultivo de orquídeas, provenientes de cultivo *in vitro*.

ALCANCE

-Los Grupos de Floricultores y Orquideófilos de la provincia de Misiones, que tendrán acceso a plantas de orquídeas a mayor escala y productividad: para su comercialización, y de mejor calidad: sanidad, uniformidad. Además del acceso a capacitaciones en el manejo del cultivo de orquídeas, obtenidas *in vitro* y la posibilidad de ser parte en el rescate de orquídeas nativas y su conservación en el Banco de germoplasma.

-Entre las **Instituciones participantes y profesionales**: se generará información muy valiosa, por no tener aún en nuestra provincia protocolos de multiplicación *in vitro*, aclimatación y rustificación de las orquídeas nativas.

-La **Sociedad en general**: este proyecto ayudará a tomar conciencia de la importancia del rescate, conservación del germoplasma nativo y valoración de la biodiversidad de nuestra provincia.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

TAREAS	MESES									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										

●

●

♣

●: Informes Parciales

♣: Informe Final

DETALLES DE LAS TAREAS REALIZADAS

TAREA 1 y 2

Se realizaron las pertinentes búsquedas bibliográficas y antecedentes del tema.

Se ha efectuado el rescate de material vegetal, con la colaboración del Sr José Radins, del Ministerio de Ecología y los gastos de movilidad, viáticos y soportes para las plantas, han sido aportes del INTA.

Al realizar el rescate cada planta fue registrada con su respectivo código, se realizaron las fichas de recolección y posterior colocación de etiquetas. Estas plantas fueron trasladadas al Campo anexo Laharrague de la EEA Montecarlo, fijadas en soportes de madera y colocadas bajo invernáculo con sistema de riego por aspersión para su aclimatización. Se lograron rescatar en esta primera etapa del proyecto 412 plantas de orquídeas correspondientes a 51 especies epífitas y terrestres y una vez lograda su aclimatización se seleccionaron y enviaron al Vivero Banco de Germoplasma Provincial en BIO.MI.S.A., un total de 30 especies tanto epífitas y terrestres.

Especies de orquídeas seccionadas y enviadas al Vivero Banco Provincial de Germoplasma Vegetal en BIO.MI.S.A.:

Acianthera aveniformis, *Acianthera klotzchiana*, *Brassavola tuberculata*, *Bulbophyllum napelli*, *Brasilorchis picta*, *Cyrtopodium palmifrons*, *Catasetum fimbriatum*, *Cattleya sp*, *Chriulsonella vitelliniflora*, *Epidendrum densiflorum*, *Gomesa cornigera*, *Gomesa bifolium*, *Gomesa longicornu*, *Gomesa longipes*, *Gomesa riograndensis*, *Grandiphyllum edwalli*, *Isabelia virginialis*, *Isochilus linearis*, *Maxillaria spegazziniana*, *Miltonia flavescens*, *Leptotes unicolor*, *Oncidium longicornu*, *Oncidium pubes*, *Oncidium longipes*, *Pleurothallis obovata*, *Trichocentrum jonessianum* *Skeptrostachys paraguayensis*, *Sophronitis cernua*, *Zygopetalum maxillare*, *Zigostates unicolor*.

Algunas de las especies de orquídeas rescatadas, se encontraban en flor o con cápsulas verdes y se realizó su seguimiento, estado de cosecha y comprobación de viabilidad de semillas hasta su maduración, luego se enviaron a BIO.MI.S.A., para realizar su germinación en el laboratorio de cultivo *in Vitro* en medios de cultivo apropiados para las mismas.

Se pudo obtener y realizar el seguimiento de cápsulas de las siguientes especies:

Cattleya sp, *Cyrtopodium palmifrons*, *Gomesa longipes*, *Chrislensonella vitelliniflora*, *Maxillaria spegazziniana*, *Leptotes unicolor*, *Cattleya cernua*, *Trichocentrum jonessianum*, *Vanilla rojasiana*, *Zygopetalum maxillaria*.

TAREA 3:

Previa investigación bibliográfica, en el laboratorio de cultivo *in vitro* de Biofábrica Misiones, se realizaron diferentes ensayos de desinfección de capsulas y preparación de diferentes medios de cultivo (ensayos) y establecimiento *in vitro* de semillas de las especies de orquídeas seleccionadas.

Para la desinfección se sumergieron las capsulas cerradas en etanol al 70%, luego en Hipoclorito de sodio a una determinada concentración y por ultimo varios enjuagues con agua destilada estéril. También se realizó un flameado y se procedió a cultivar las semillas *in vitro*.

TAREA 3

En el siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos del procedimiento de micropropagación *in vitro* de las capsulas de especies de orquídeas rescatadas e introducidas al laboratorio de cultivo *in vitro*, desde la fase de germinación hasta la fase lograda en esta primera etapa desarrollada del proyecto.

Referencias: **MB**: Medio de cultivo basal; **CO**: Compuesto orgánico

Especie	Fase	Características del medio de cultivo	Observaciones Resultados
<i>Cyrtopodium palmifrons</i>	Elongación (crecimiento)	MB + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Las plantas presentaron buen crecimiento, se realizó el repique al mismo medio y se investiga sobre medios de cultivo para la siguiente fase de multiplicación. (Fig. C)
<i>Chrislensonella vitelliniflora</i>	Elongación (crecimiento)	MB + CO + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Las plantas requieren más desarrollo para ensayos de multiplicación para lo cual se sigue investigando.
<i>Leptotes unicolor</i>	Elongación (crecimiento)	MB + CO + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Se utilizaron varios medios de cultivo para lograr la germinación y solo se obtuvo resultados con el agregado de compuestos orgánicos, siendo éste necesario para esta fase. Las plantas requieren más crecimiento para pasar a la siguiente fase de multiplicación. (Fig. A)
<i>Maxillaria spegazziniana</i>	Elongación (crecimiento)	MB + CO + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Las plantas requieren más desarrollo para ensayos de multiplicación para lo cual se sigue investigando.

<i>Miltonia flavescens</i>	Elongación (crecimiento)	MB + CO + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Se requiere más tiempo para su crecimiento. Se realizó el repique al mismo medio y se investiga sobre medios para la multiplicación.
<i>Trichocentrum jonessianum</i>	Elongación (crecimiento)	MB + CO + Carbón activado + Sacarosa + Agar y pH ajustado	Presentan buena forma y crecimiento con desarrollo de raíces listas para la siguiente fase de multiplicación. (Fig. B)
<i>Vanilla rojasiana</i> <i>Zygopetallum maxillare</i>			No se obtuvieron resultados en la fase de germinación. Se sigue investigando al respecto para futuras introducciones al laboratorio.

Observaciones: Se cuenta además con capsulas de las especies: *Cattleya cernua*, *Leptotes unicolor*, *Brassabola tuberculata*, *Isochilus linearis*, *Hibrido de Laelia* e *Hibrido de Cattleya*. Una vez realizado su seguimiento y estudiado su maduración y viabilidad de semillas serán introducidas al laboratorio para lo cual ya se están realizando las correspondientes búsquedas bibliográficas sobre medios de cultivo a ensayar.

La siguiente tabla detalla los resultados obtenidos de especies de orquídeas que se encuentran en fase de multiplicación y crecimiento de las cuales se seleccionaron para realizar las entregas al grupo de floricultores y orquídeófilos de Montecarlo en la capacitación de manejo de cultivo en vivero.

Especie	Fase	Características del medio de cultivo	Resultados. Observaciones.
<i>Cattleya cernua</i>	Multiplicación	MB + CO + Sacarosa + Agar Britania y pH ajustado.	Las plantas presentaron un mayor coeficiente de multiplicación con el agregado de compuestos orgánicos al medio. Se encuentran en buena forma y crecimiento con desarrollo de raíces.

<i>Cattleya guttata</i>	Multiplicación	MB + concentraciones variables de reguladores de crecimiento + sacarosa + Agar y pH ajustado.	El medio de cultivo suplementado con concentraciones variables de reguladores de crecimiento fue el mejor medio de multiplicación según los resultados en coeficiente de multiplicación.
	Crecimiento	MB + CO + carbón activado + sacarosa + Agar y pH ajustado.	Las plantas presentaron buena altura y sistema radicular bien desarrollado con lo cual se seleccionaron aquellas con una altura mayor a 4 cm y se entregaron más de 1000 plantas al grupo de floricultores y orquídeófilos de Montecarlo. (Fig. G) Las plantas siguen en etapa de multiplicación y crecimiento y a su vez en el vivero de BIOMISA se ensayan protocolos de aclimatización.

Híbrido de <i>Cattleya semialba</i>	Multiplicación Crecimiento	MB + Sacarosa + carbón activado + Agar y pH ajustado.	También se realizaron repiques a macetas comunitarias y se entregaron más de 4000 plantas al grupo de floricultores y orquideófilos de Montecarlo. (Fig. F)
--	---------------------------------------	---	---

<i>Cattleya lundii</i>	Multiplicación Crecimiento	MB + concentraciones variables de reguladores de crecimiento + sacarosa + Agar y pH ajustado MB + Sacarosa + carbón activado + Agar y pH ajustado	Se entregaron cerca de 4000 plantas en la última entrega a productores y en el laboratorio se continúa con la fase de multiplicación y crecimiento. (Fig. D)
<i>Trichocentrum stacy</i>	Crecimiento	MB + Sacarosa + carbón activado + Agar y pH ajustado	La mayoría de las plantas, presentaron una altura cerca de 8 cm para lo cual la mayor parte (cerca de 400) se entregaron a productores. (Fig. H)
<i>Trichocentrum cebolleta</i>	Multiplicación- Crecimiento	MB + concentraciones variables de reguladores de crecimiento + sacarosa + Agar y pH ajustado	Continúa en la fase de multiplicación y aquellas con una altura mayor a 4cm fueron entregadas a productores, (1000 plantas). Fig. E
<i>Oncidium macropetalum</i>	Crecimiento	MB + Sacarosa + carbón activado + Agar y pH ajustado	Se seleccionaron 200 brotes y se entregaron a los productores. (Fig. I)

Especies de orquídeas en etapa de aclimatización y rustificación:

En el invernáculo de BIO.MI.S.A se realizaron diferentes ensayos de aclimatización para las siguientes especies de orquídeas:

- *Cattleya guttata*
- Híbrido de *Cattleya semialba*
- *Trichocentrum stacyi*
- *Oncidium macropetalum*

En esta tarea lo que se quiere lograr; en tarea conjunta con los resultados que van obteniendo los productores y grupo de floricultores de Montecarlo; es establecer parámetros de calidad (altura, diámetro, número de hojas) de las plantas de orquídeas a sacar a vivero. También se está probando tipo y tamaño de maceta comunitaria, tipo de sustrato, frecuencia de riego, cuidados sobre exposición al ambiente externo (temperatura) y aplicación de diferentes fungicidas.

Especies de orquídeas en fase de Elongación

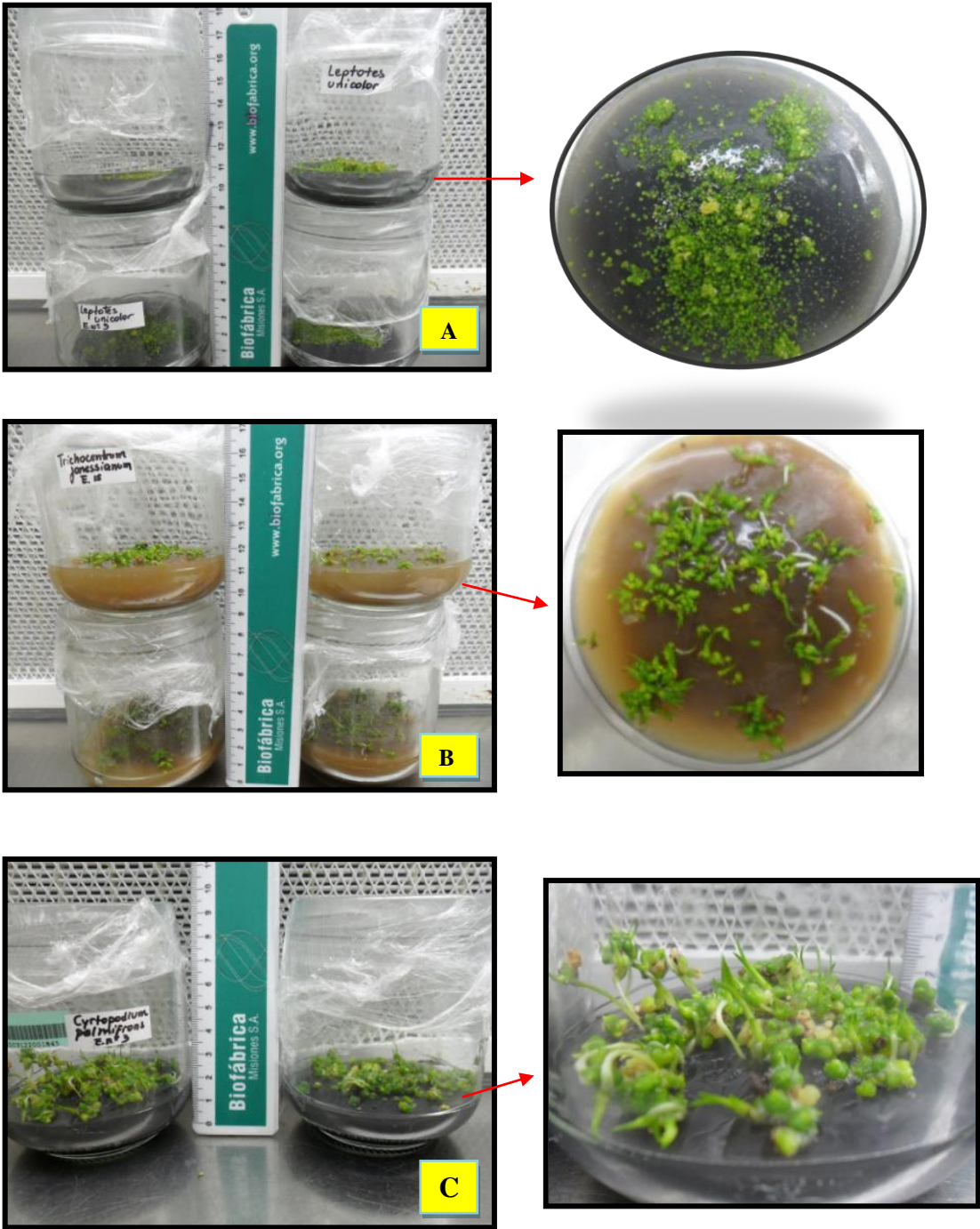


Fig. A: *Leptotes unicolor*. B: *Trichocentrum jonessianum*. C- *Cyrtopodium palmifrons*

Etapa 4: Rustificación de orquídeas. Repique a macetas comunitarias. Aclimatización y justificación

1° entrega de especies de orquídeas *in vitro*

El día 31 de Mayo del corriente año se realizó la primera entrega de orquídeas provenientes del cultivo *in vitro* a productores y grupo de floricultores de Montecarlo. Como primera experiencia en la capacitación de aclimatización de orquídeas micropropagadas se entregaron plantas *in vitro* del híbrido de *Cattleya semialba*. El detalle de las tareas realizadas fueron explicadas en el primer informe.

2° entrega de orquídeas *in vitro*

El 19 de Abril del corriente año se realizó la segunda entrega de orquídeas provenientes del cultivo *in vitro* al mismo grupo de productores y grupo de floricultores de Montecarlo. En este encuentro se entregaron plantas *in vitro* del híbrido de *Cattleya semialba* y plantas *in vitro* de la especie *Cattleya guttata*.

En primera instancia entre el grupo de floricultores y productores se intercambiaron experiencias sobre la aclimatización del primer grupo de plantas de orquídeas entregadas el 31 de Mayo. La mayoría tuvo éxitos en la aclimatización ya que el porcentaje de supervivencia de las mismas fue alto con ninguna o muy pocas plantas muertas.

Luego se procedió a sembrar las plantas en macetas siguiendo los mismos pasos realizados en la primera entrega de orquídeas.

3° entrega de orquídeas *in vitro*

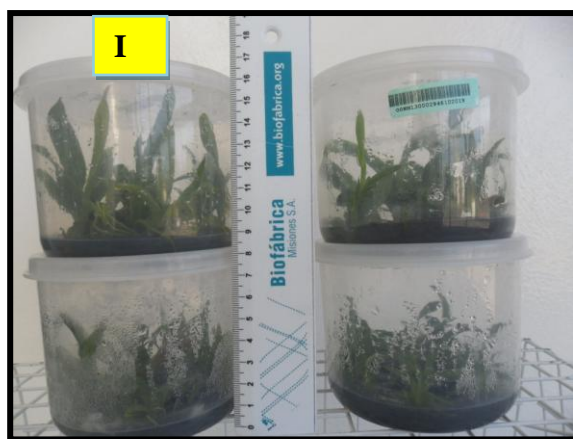
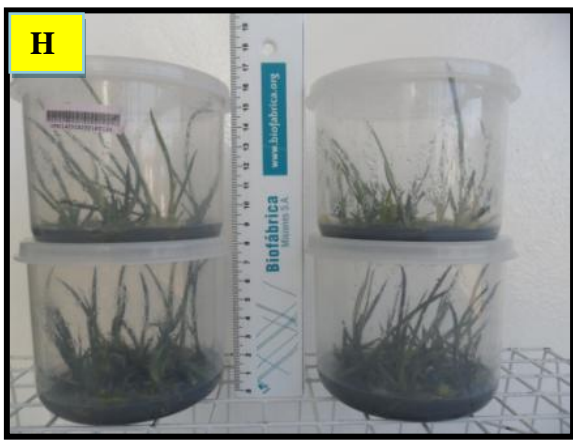
El 15 de Octubre del corriente año se entregaron más de 10.000 plantas de orquídeas *in vitro*. Entre ellas 2 especies nativas: *Cattleya lundii* (Fig. D) y *Trichocentrum cebolleta* (Fig. E) y 4 especies exóticas: Híbrido de *Cattleya semialba* (Fig. F), *Cattleya guttata* (Fig. G), *Trichocentrum stacyi* (Fig. H), y *Oncidium macropetalum* (Fig. I). En esta oportunidad se realizaron capacitaciones a nuevos productores que se inician en esta tarea de capacitación de manejo de cultivo en vivero y durante la entrega se contó con la presencia del Presidente de Biofábrica, Ing. Luis Jacobo; el Gerente General, Ing. José Cabral; el Director del INTA

Montecarlo, Ing. Agr. Luis Marmelicz; el Representante del CFI (Bs As), Ing. Agr. Domingo Distefano. (Fig. J-G)



3° Entrega de Orquídeas a grupo de floricultores y orquideófilos de Montecarlo





Conclusiones

- Se lograron rescatar 412 plantas de orquídeas correspondientes a 51 especies epífitas y terrestres de las cuales 30 especies fueron seleccionadas y enviadas al Vivero Banco de Germoplasma Provincial en BIO.MI.S.A.
- Se pudo obtener y realizar el seguimiento de estado de cosecha y comprobación de viabilidad de semillas de 10 cápsulas de especies tanto nativas como exóticas.
- En el laboratorio de cultivo *in vitro* de Biofábrica Misiones, se realizaron diferentes ensayos de desinfección de capsulas y preparación de diferentes medios de cultivo (ensayos) y establecimiento *in vitro* de semillas de las especies de orquídeas seleccionadas. Por casa especie se realizaron al menos 3 ensayos para cada fase.
- Se obtuvieron resultados con un 80 % de germinación en 6 especies nativas las cuales se encuentran en fase de elongación (crecimiento) y se continúa con la búsqueda bibliográfica sobre medios de cultivo para la siguiente fase de multiplicación. A su vez se realizó el seguimiento de especies en fase de multiplicación y crecimiento seleccionando las adecuadas para realizar entregas a productores.
- Se realizaron 3 entregas de orquídeas *in vitro* a grupo de floricultores y orquideófilos de Montecarlo. Se entregaron cerca de 11.000 plantas entre ellas 2 especies nativas: *Cattleya lundii* y *Trichocentrum cebolleta* y 4 especies exóticas: Híbrido de *Cattleya semialba*, *Cattleya guttata*, *Trichocentrum stacyi*, y *Oncidium macropetalum*.
- Se capacitaron a más de 30 productores en el manejo de cultivo en vivero de orquídeas provenientes *in vitro* y se realizó un seguimiento y control de las plantas entregadas con un alto resultado obtenido de supervivencia.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- American Orchid Society,(1988) Manual del cultivo de orquídeas.
- Correa, M. N. (1987). Orquídeas. Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería (Tomo I), Buenos Aires.
- Flachsland, E. A.; Terada G., Rey, H.Y., Mroginski, L.A. (1996). Medios de Cultivo para la germinación *in vitro* de 41 especies de orquídeas. Facena, Vol.12.
- Freuler, M. J. (1999). Cultivo de Orquídeas. Buenos Aires. Publicación inédita.
- Freuler, M..J. (2001).Orquídeas autóctonas argentinas y uruguayas, Sociedad Uruguay de Orquídeas. Publicación inédita,.
- Freuler, M. J. (2003). 100 Orquídeas Argentinas. Buenos Aires. Albatros.
- Freuler, M. J. (2007). Orquídeas. Buenos Aires. Albatros.
- Griesbach, R.J. (1986). Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. R.H.
- Zimmerman (de.) 343-349.
- Insaurralde, I. E; Radins J. A. Misiones Orquídeas.Buenos Aires. Goleen Company. 2007. 192 pag
- Johnson, A.E. (2001) Las orquídeas del Parque Nacional Iguazú, Buenos Aires. LOLA.
- Knudson, L. (1922). Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. 73: 1-25.
- Muller. T.S., Dewes D., Karsten J., Schuelter A.R., Stefanello S. (2007). Crecimiento *in vitro* e aclimatacao de plantula de *Miltonia Flavescens*.
- Pierik, R.L.M. (1987). *In vitro* culture of higher plants. Dordrecht, The Netherlands. Martinus Nijhoff Publishers. 343 p.
- Chugh S., Guha S., Rao U. (2009). Micropropagation of orchids: A review on the potencial of different explants. Scientia Horticulturae. Vol. 122. pp 507-520.
- Villalobos, V.M. y Thorpe, T.A. (1991). Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed. por William Roca y Luis A. Mroginski. Cali, Colombia. CIAT (Centro Internacional de agricultura Tropical). pp 127-141.