

Universidad Nacional de Río Negro - Tecnicatura en Viveros
- Escuela de Producción Tecnología y Medio Ambiente.



Informe de práctica laboral: Prácticas en viverización en el Jardín Botánico de Denver, Colorado, U.S.A.

Periodo de práctica: Junio a septiembre de 2017.

Autor: Lincan Ramiro Nahuel.
Legajo N° 2210

San Carlos de Bariloche – Argentina

Tutor por UNRN: Ing. Agr. Martha Riat.

Tutores por Denver Botanic Gardens: Dr. Sarada
Krishnan, Lic. Mike Kintgen y Lic. Katy Wieczorek.

Docente de Práctica Laboral: Ing. Agr. Ariel
Mazzoni

Agradecimientos

A mi madre Maria Colipi y mi padre Juan Lincan, por heredarme el amor por las plantas y transmitirme el conocimiento del uso medicinal y tradicional mapuche de las plantas nativas de la Patagonia.

A Huilen Antu y Marisa por su amor, incentivo y respaldo en mi carrera y por los bellos momentos de huerta, jardín y caminatas.

A mis hermanos, por su incentivo y respaldo en mi carrera.

A Anita Cox por brindarme su hogar, escucha y amistad en mi estadía en Denver.

A Mike Kintgen por la gestión de prácticas, su cordialidad e interés en brindarnos una visión integral de los desarrollos del Denver Botanic Gardens.

A Marcela Ferreyra por sus correcciones, comentarios en este informe. Y su legado e inspiración como docente y naturalista.

A Martha Riat por su dirección en la Tecnicatura en Viveros, su gestión en el intercambio de estudios y su fundamental dirección en la concreción de este informe.

A Sarada Kishnan, Katy Wieczorek, Sonya Anderson, Cindy Newlander, Tamara Kilbane, Larry Vickerman, Ebi Kondo, Mario Bertelmann, Kevin Williams, Mike Bone, Panaioti Kelaidis y Bryan Fischer. Por la actitud cordial al recibirnos en su lugar de trabajo, la generosidad y profesionalismo que demostraron al acompañarnos y transmitirnos su conocimiento del quehacer diario en los Jardines y por la belleza que constituyen con su trabajo.

A Mirta y Gustavo Vignera, por brindarme su hogar y recibirme con hospitalidad y cordialidad en la gestión del viaje.

A Lucas Vignera e Irene Edwards por su compañerismo y apoyo en cursadas y en nuestra estadía en Denver.

A la Universidad Nacional de Río Negro, sus docentes y no docentes, que me acompañaron en la trayectoria de estudios. En especial a Silvana Alzogaray, Santiago Naón, Abdel Nasif y el equipo de extensión universitaria que tanto sostén, aprendizaje y experiencias me posibilitaron .

A mis compañeros y compañeras de estudio que enriquecieron mi formación y me apoyaron en la carrera.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN - PRÁCTICAS EN EL MARCO DE INTERCAMBIO DE ESTUDIANTES.	4
1.1. OBJETIVO GENERAL.	5
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.	5
1.3. DESARROLLO - SOBRE DENVER.	5
1.4. SOBRE EL JARDÍN BOTANICO DE DENVER.	6
2. RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE SEMILLAS.	9
2.1. INTRODUCCIÓN.	9
2.2. DEPARTAMENTO DE REGISTRO DE PLANTAS.	11
2.3. COSECHA EN INSTALACIONES DEL DBG.	13
2.4. COSECHA EN ESPECIES SILVESTRES, PASTIZALES NACIONALES DE PAWNEE.	16
2.5. ACONDICIONAMIENTO DE SEMILLAS.	21
2.6. ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS.	23
3. PROPAGACIÓN.	24
3.1. INTRODUCCIÓN.	24
3.2. ÁREA DE PROPAGACIÓN.	25
3.2.1. DISEÑO CONSTRUCTIVO DE INVERNADEROS.	25
3.2.2. TECNOLOGÍAS PRESENTES.	27
3.3. PROPAGACIÓN SEXUAL DE ESPECIES.	28
3.3.1. INTRODUCCIÓN.	28
3.3.2. SIEMBRA de <i>Viola cornuta</i> 'Sorbet XP Blue True'.	30
3.3.3. TRANSPLANTE de <i>Erysimum</i> 'Sugar rush purple'.	32
3.4. PROPAGACIÓN ASEXUAL.	34
3.4.1. CASOS DE TRABAJO.	34
3.4.2. RESCATANDO EJEMPLARES DEL ANTIGUO JARDÍN DE ROSAS.	36
3.4.3. RESGUARDO DE PLANTA MADRE <i>Sedum booleanum</i> .	41
3.4.4. CONSERVANDO GENES en CHATFIELD FARMS.	42
3.5. CULTIVO IN VITRO.	43
3.5.1. INTRODUCCIÓN.	43
3.5.2. ORGANIZACIÓN DE LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS.	44

3.5.3. MICROPROPAGACIÓN EN EL JARDÍN BOTÁNICO de DENVER.	45
4. CONCLUSIONES.	52
5. BIBLIOGRAFÍA.	54
Anexo I – Denver Botanic Gardens – Protocolo de cultivo para <i>Heuchera sanguinea</i> ‘Snow angel’.	56
Anexo II – Protocolo de obtención de soluciones previas para la obtención de medios de cultivo.	57
Anexo III – Preparación de solución de hormona B.A. 1,0 mg/l.	58
Anexo IV – Preparación de solución de hormona N.A.A. 0,1 mg/l.	59
Anexo V – Preparación de medio de cultivo para Estado I.	59
Anexo VI – Colecta y establecimiento Estado I, de tejidos de <i>Heuchera sanguinea</i> .	61
Anexo VII – Estado II, de multiplicación para <i>Heuchera sanguinea</i> .	62
Anexo VIII – Estado III, de enraice de tejidos de <i>Heuchera sanguinea</i> .	63
Anexo IX – Estado IV, de trasplante y aclimatación de <i>Heuchera sanguinea</i>	64
Anexo X – Uso de especies viverizadas en programa Plant Select.	65
Anexo XI – Uso de especies viverizadas en restauración en Chatfield Farms.	70

1. INTRODUCCIÓN - PRÁCTICAS EN EL MARCO DE INTERCAMBIO DE ESTUDIANTES.

En el año 2013 la docente de la Tecnicatura en Viveros de la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN), Marcela Ferreyra fue invitada al Jardín Botánico de Denver (DBG) a presentar su libro Flores de la Estepa Patagónica. Esta publicación tuvo buena repercusión en el Jardín estadounidense, que posee en su colección ejemplares de las estepas del mundo, con numerosas especies pertenecientes a la Patagonia.

Aquella instancia dio inicio a la vinculación entre ambas instituciones que luego acordaron un convenio marco de cooperación en el que expresaron el deseo de establecer relaciones de desarrollo conjunto, complementación y de cooperación. Aquel documento fue firmado el 10 de abril del 2015 por la doctora en horticultura Sarada Krishnan, como directora del Horticulture & Center for Global Initiatives del DBG y el rector de la UNRN Juan Carlos del Bello (Universidad Nacional de Río Negro, 2015).

En base a aquel documento la directora de la Tecnicatura en Viveros Martha Riat, presentó ese mismo año a la Universidad de Río Negro en el concurso de fondos del programa "100,000 Strong in the Americas". Cuya misión es el abordaje de la necesidad de oportunidades educativas más amplias y una mayor prosperidad regional "para formar nuevos líderes e innovadores que promuevan relaciones binacionales y también preparar mejor a jóvenes para el trabajo global del siglo XXI haciendo énfasis en la necesidad de la ampliación de habilidades y experiencias y el conocimiento de otros países y culturas" (100,000 Strong in the Americas, 2022).

En aquella convocatoria la universidad fue seleccionada como una de las ganadoras y para el año 2016 se elaboró la propuesta entre la UNRN y Colorado State University (CSU) para que, mediante la modalidad de intercambio de estudiantes, alumnos avanzados de la Tecnicatura en Viveros (TEVI) accedieran a realizar prácticas en el Jardín Botánico de Denver.

Establecida esa modalidad, la UNRN Andina convocó a concurso entre estudiantes avanzados seleccionando tres estudiantes con mérito a participar siendo quien escribe uno de los seleccionados.

Ante tal perspectiva, y en base a la ausencia de una institución similar en Bariloche surgieron los interrogantes sobre el trabajo y los desarrollos que establece el DBG para concretar los objetivos de un jardín botánico, así como los métodos y técnicas en las que se basa el sostenimiento de su extensa colección de especies.

En base a ello, se desarrolla el siguiente informe, que resulta una parcialidad de la experiencia de intercambio. Y cuyo enfoque se centra en las acciones llevadas a cabo como estudiante interno del Jardín durante los más de 70 días comprendidos entre finales de junio y principios de septiembre de 2017.

1.1. OBJETIVO GENERAL.

Participar como estudiante interno en las diferentes roles y tareas del DBG. Particularmente intervenir en la viverización de especies que se lleva a cabo en el marco de un jardín botánico internacional adquiriendo experiencia en cuanto a técnicas de acopio de material genético, métodos y técnicas de propagación.

1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

Conocer y participar de tareas de acopio de semillas y material genético que conforme el soporte de los jardines de exhibición y otros programas del DBG.

Reconocer, aprender y aplicar técnicas de multiplicación de especies en el marco de los departamentos de propagación y de cultivo de tejidos presentes en DBG.

1.3. DESARROLLO - SOBRE DENVER.

El estado de Colorado se encuentra en el centro oeste de Estados Unidos; recibe el nombre del río Colorado, bautizado así por los colonizadores españoles a finales del siglo XVI. Allí se encuentra la ciudad capital llamada Denver que, según censo 2020, posee una población de 715.522 habitantes (Unites States Census Boreau, 2020).

Denver es también conocida como “The Mile High City”, por estar fundada sobre una altitud de una milla (1.609m) sobre el nivel del mar. Geográficamente está sobre el valle del río Platte Sur en el límite de dos accidentes geográficos; al este de la llamada Cordillera Front Range de las Montañas Rocosas y al oeste las Grandes Llanuras. Sus coordenadas geográficas son 104°59'4.92” de longitud oeste y 39°44'20.94” de latitud norte.

En cuanto a las condiciones climáticas resulta determinante el factor de altitud, ya que promueve el desarrollo de inviernos secos y fríos, con precipitaciones mayormente en forma de nieve. Y genera además un amplio salto térmico entre las temperaturas de día y noche en áreas de la ciudad y regiones aledañas, especialmente en sitios más cercanos a las montañas Rocosas.

Esas condiciones generan una abundancia de microclimas y una gran variedad de ecosistemas que van de las tundras, pasando por los bosques de coníferas, *Pseudotsuga menziesii*, *Picea engelmanni* y *Pinus aristata*, bosques puros de *Betula pendula*, bosques ribereños, praderas y pastizales.

En la figura 1 se muestra la ubicación geográfica del estado de Colorado y la ciudad de Denver.



Figura 1. Localización geográfica de Colorado, en el centro oeste de Estados Unidos. Localización de la Ciudad de Denver a kilómetros de las Montañas Front Range en noreste del Colorado.

1.4. SOBRE EL JARDÍN BOTANICO DE DENVER.

El DBG fue creado en 1951 y las instalaciones principales están en el centro de la ciudad en un área residencial llamada Cheesman Park y junto al parque público del mismo nombre, sobre la calle York. A esta área se suma la granja de Chatfield que está en un condado vecino y a pocos kilómetros de DBG York Street y una reserva en el monte Goliath en Idaho Springs dentro del Bosque Nacional Arapaho.

La misión del DBG es “contactar a las personas con las plantas, especialmente plantas de la región de las Montañas Rocosas y regiones similares de todo el mundo” (Denver Botanic Gardens, www.botanicgardens.org, 2021). El Jardín principal DBG YORK Street, cuenta con más de 9 hectáreas donde genera actividades en torno al estudio, conservación y divulgación de especies vegetales del mundo. Estableciendo como valores guía la “transformación, relevancia, diversidad y sostenibilidad de especies vegetales” (Denver Botanic Gardens, www.botanicgardens.org, 2021).

Los visitantes pueden observar allí plantas de diferentes ecosistemas del mundo agrupadas en las colecciones; Alpina, Acuática, Amenidad, Nativas, Estepas, Tropical, Cactus y Suculentas. Se observa en la figura 2 la distribución de estas áreas en un planoesquemático del jardín.

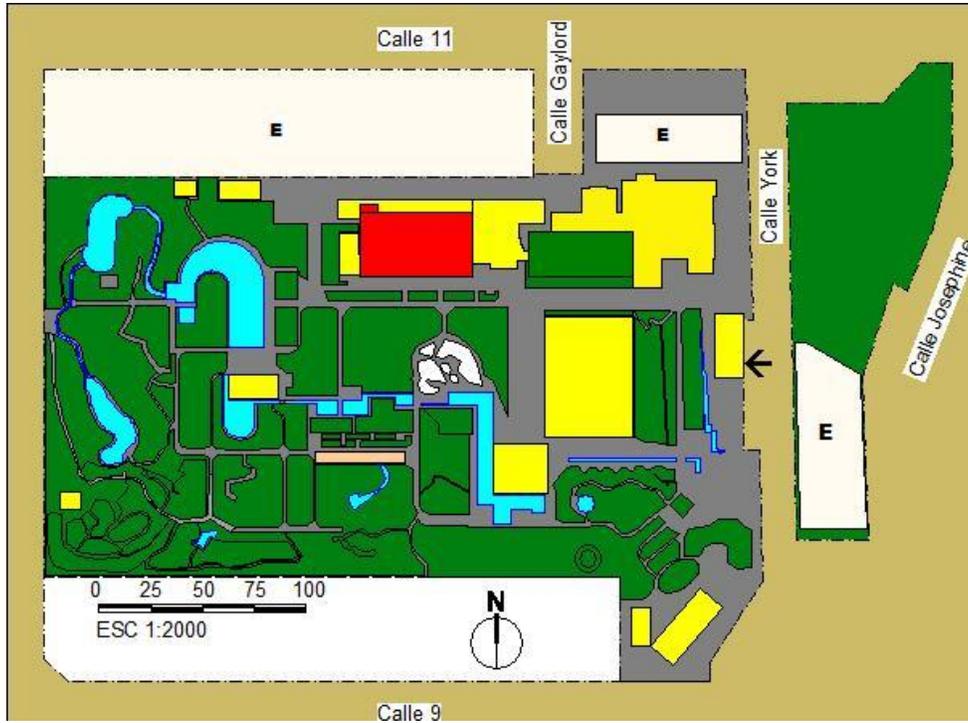


Figura 2. Dibujo asistido por computadora del DBG en software Vector Works, en base a imagen satelital. De autoría propia. Escala 1:2000. Resaltado en verde jardines de exposición, en rojo áreas de invernaderos y propagación, en gris caminos y senderos y en amarillo construcciones.

Además, el público puede observar jardines temáticos como el jardín japonés, que se apoya en una antigua muestra de bonsái, la tradicional casa de té y el bosque de bambú que representan la postal histórica y natural de aquel país, tal como se observa en la figura 3.



Figura 3. Soportes del Jardín Japonés; arco circular, casa de té, bonsái de picea nativa, senderos y esculturas.

En este sentido, también existe una estructura que soporta una colección y conforma la postal del jardín debido a su imponencia. La cúpula del invernadero de conservación de plantas tropicales, que está compuesta por arcos de hormigón armado y paneles de vidrio translúcidos. En su interior, más de 1000 metros cuadrados albergan especies tropicales y subtropicales (figura 4).



Figura 4. Inicio de recital de Dwight Yoakam el 3 de agosto, en el anfiteatro del DBG. De fondo la estructura del Conservatorio Tropical.

De la misma manera, al caminar por el espacio destinado al público, el visitante puede acceder a otras instalaciones que soportan la misión de la institución donde se destaca la Pirámide de la Ciencia (figura 5), que es una instalación que posee información de divulgación científica en diferentes soportes tecnológicos. El herbario de plantas vasculares Kathryn Kalmbach que posee una colección de especies nativas de las Montañas Rocosas de Colorado herborizadas¹. También, la colección Sam Mitchel del reino de los hongos que posee especies que pueden ser consultadas de forma presencial o mediante el acceso a sus registros conectados a un sistema nacional de herbarios ².

¹ Las muestras del herbario de plantas vasculares de Kathryn Kalmbach se pueden encontrar en línea a través de SEINet, una base de datos externa utilizada por los herbarios de América del Norte

² Los especímenes del herbario de hongos Sam Mitchel se pueden encontrar en línea a través de MyCoPortal, una base de datos externa utilizada por los herbarios de América del Norte.



Figura 5. Observación de eclipse solar, del 21 de agosto de 2017. Se puede observar parte del jardín acuático en piscina y parcialidad de la Pirámide de la Ciencia.

En suma a aquello, se brinda al usuario servicios como sala de conferencias, biblioteca de consulta y venta de libros, una tienda de recuerdos, un restaurante y un café que están dispuestos en diferentes áreas de las exhibiciones.

Por otro lado, se pueden mencionar como parte del jardín las instalaciones destinadas a los trabajadores y voluntarios. Estos allí dentro cuentan con oficinas, sala de reuniones, un amplio comedor, baños y cambiadores. Además de las áreas propias de las tareas de cultivo de plantas como lo son los invernaderos, el laboratorio de propagación de tejidos, galpones de insumos y herramientas, garaje para autos y maquinaria rodante.

2. RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE SEMILLAS.

2.1. INTRODUCCIÓN.

En la naturaleza las plantas superiores se reproducen principalmente por semillas. La obtención de semilla de alta calidad es básica para la propagación de plantas. Usualmente, el costo de las mismas es reducido en comparación con otros costos asociados en la producción. Pero su incidencia como factor aislado es de vital importancia en la propagación vegetal (Hartmann & Kester, 2001).

En esa línea, el abastecimiento de este material resulta indispensable para sostener la colección del Jardín. Más aun cuando la misma está integrada por un gran número de especies de otros continentes y la provisión externa significa mayores costos y trabajo de gestión. Por ello, si bien existen otras vías de perpetuación y multiplicación de especies, la propagación mediada por semillas es fundamental para la institución.

En este sentido, la reproducción de especies cultivadas exige que durante la obtención de semillas se controle la variabilidad genética. Para ello es necesario el conocimiento del origen de las mismas ya que naturalmente la amplia gama de áreas ecológicas asociadas con la latitud, longitud y elevación producen cambios. Éstos pueden manifestarse en la morfología, fisiología, adaptación a climas, suelo, que están impresos en su genética y se manifestarán en su descendencia (Hartmann & Kester, 2001).

En base a aquello, los propagadores, curadores e introductores del DBG realizan cosechas de especies tanto fuera como dentro de las instalaciones seleccionando diversas adaptaciones y expresiones genéticas que responden a ciertas condiciones de ambiente. Así, para perpetuarlas deben definir las zonas de recolección metodológicamente.

De esta forma, al coleccionar e iniciar cultivos por semillas se caracteriza en origen de las mismas en dos grandes grupos; las de colecta en las áreas dentro de la institución y las de zonas externas. Así, las semillas obtenidas en las colecciones son rotuladas con información de la exhibición de origen y las del otro grupo son etiquetadas mediante nombre de la ubicación geográfica, institución de origen o simplemente con coordenadas del sistema de posicionamiento global. Esta caracterización es una tarea que cada recolector realiza, y a su vez centraliza un departamento de registro, siguiendo un procedimiento graficado en la figura 6.



Figura 6. Diagrama explicativo del proceso de introducción y cultivo de especies en el DBG mediante semillas.

2.2. DEPARTAMENTO DE REGISTRO DE PLANTAS.

Esta dependencia existe para mantener y nutrir los registros de la colección viva y masiva que conforma el Jardín Botánico de Denver. Mediante el trabajo de registro, cada especie de las colecciones es catalogada. De esta manera, desde su germinación cada individuo posee un código de acceso que lo acompaña en su vida en los jardines en suelo o en contenedor (figura 7).



Figura 7. Detalle de etiqueta de registro de una especie perteneciente a la Patagonia Argentina. Presente en jardín de estepa de Sud América.

Este código condensa información como el nombre científico, familia, género, origen geográfico, el tipo de suelo donde se desarrolla, altura, diámetro, condiciones de luz, el nombre del introductor, su época de floración, si atrae polinizadores y otras características sobresalientes de su desarrollo. Además, consolida información de los procesos y departamentos donde fue lograda.

Al margen de aquella labor, este departamento se encuentra a cargo del mapeo en AutoCAD de los jardines e individuos pertenecientes a diferentes especies en ellos presentes. En paralelo generan y actualizan una base de datos de las colecciones con el software BG Base. En base a aquellos planos y datos obtienen mapas web, mediante software BG MAP, que conforma la plataforma sobre la que se apoya la aplicación web Gardens Navigator ³. Esta herramienta le permite al público explorar a distancia o en los

³ Aplicación disponible en <https://navigate.botanicgardens.org/>

jardines, las colecciones y datos relevantes de las especies exhibidas (figura 8).

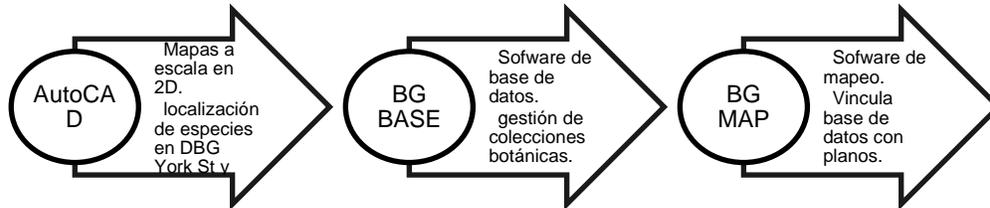


Figura 8. Diagrama explicativo del proceso de trabajo del Departamento de Registro de plantas, sobre el que se fundamenta la aplicación Gardens navigator.

Quien está a cargo de la dirección de este departamento es Cindy Newlander. En la ocasión de recorrer sus instalaciones exhibió los antiguos libros de registro, que inician en 1964 y acaban en los años 90, cuando se definió continuar de manera digital. Junto a esos registros, se observaron computadoras, áreas de dibujo y producción de cartelería para las exhibiciones (figura 9). Como también se observó un extenso registro escrito de la colección de semillas acopiadas en el banco de jardín, que respalda el seguimiento digital del mismo.



Figura 9. Detalle de cartelería presente en todas las colecciones exhibidas en los jardines. Producida por el departamento de registro.

El departamento se organiza con el trabajo de tres personas, y la intervención de pasantes o internos que se estén formando en tareas de registro o mapeo de colecciones botánicas. Los registros que generan están conectados con la Botanic Garden Collect Internacional BGCI, una organización internacional que tiene como objetivo promover y desarrollar un enfoque más eficiente, rentable y racional para la conservación de plantas en jardines botánicos (Botanic Gardens Conservation International, 2022) y posee dentro de sus funciones una base de datos interconectada de catálogos de más de 300 jardines botánicos en el mundo.

2.3. COSECHA EN INSTALACIONES DEL DBG.

Se considera que la semilla está madura cuando alcanza un estado tal que su separación de la planta no perjudica su germinación. Y cuando la sujeción a la planta madre ya no implique aumento de peso seco (Hartmann & Kester, 2001). Este estado muchas veces es visible al ojo humano gracias a cambios en tejidos de cubierta o fruto (Valla, 1979). En base a ello, color y textura son establecidos como indicadores visibles de madurez.

En este sentido, las instancias de cosecha requieren el conocimiento de las estructuras reproductivas y técnicas apropiadas de obtención y acondicionado acorde a cada especie resultando elemental la guía del curador, rol asignado al responsable de cada jardín, que resulta ser la persona que posee el conocimiento paisajístico y de requerimiento de cada especie presente en la colección bajo su cargo. En este sentido, aquí se describe la cosecha manual de semillas de plantas herbáceas, bajo la supervisión de Mike Kintgen licenciado en horticultura y curador de la colección de especies alpinas en el DBG.

En primer término, se realiza un recorrido guiado por el Sr. Kintgen a través del Jardín Alpino. Allí una gran cantidad de plantas representativas de aquel ambiente, de diversas regiones del mundo, se encuentran generando vistosos espacios donde resaltan los jardines de tipo rocosos y la presencia de suelos arenosos (figura 10).



Figura 10. Un área bajo riego por aspersión en el Jardín Rocoso Alpino. Exposición sobre la que se realizó recolección de semillas.

En términos prácticos, la tarea de cosecha se realiza sobre varios individuos de la misma especie. Concentrándose en los días de fin de la primavera, la estación de verano y primeros días de inicio del otoño. En ese lapso temporal, se practica colecta en varias especies de similar ambiente y tiempo de maduración de semillas o frutos.

De esta manera, la suma de varias cosechas de una especie constituye el lote que luego será objeto de acondicionamiento para ser almacenado hasta su uso. Para evitar errores se colecta una especie por operario, condición que requiere gran cantidad de mano de obra que se cubre gracias al aporte de trabajadores voluntarios del DBG.

En base a esos lineamientos, el Sr Kintgen identifica la especie a cultivar mediante el señalamiento físico de las plantas. Otorgando además insumos de protección, herramientas de mano, marcadores y recipientes.

Así, en la primera práctica de cosecha, se recolectaron semillas de *Caragana pigmaea*, una especie originaria de China y Siberia, comprendida dentro de la familia de las fabáceas. Esta especie posee sus semillas envueltas en vainas que al madurar poseen color marrón y se vuelven rígidas al tacto estando en condiciones de ser retiradas de la planta con tijeras. Para luego colocarlas en una bolsa de papel, que se rotula con datos de ubicación geográfica, fecha, especie y familia (figura 11).



Figura 11. Especie cosechada mediante el corte de vainas maduras con tijera de mano. Las vainas naturalmente se secan al extremo, abriéndose violentamente para diseminar las semillas maduras.

Luego de esta primera instancia, la cosecha continuó sobre otras especies bajo la tutoría de Kintgen y la colaboración de voluntarios. Durante la temporada, se realizó esta tarea con 28 especies pertenecientes al Rock Alpine Garden. Algunas de esas especies presentaban mecanismos de apertura (dehiscencia) de sus frutos, que permiten la liberación y dispersión de semillas. Condición que requiere el seguimiento minucioso para evitar la pérdida de semillas y la propagación descontrolada dentro de las exhibiciones.

En última instancia, cada cosecha fue derivada al Área de propagación, donde el Jardín cuenta con personal, instalaciones e insumos necesarios para realizar la limpieza o separación de la semilla propiamente dicha de fracciones de impurezas como son restos de frutos, tallos y hojas.

A continuación, se presenta una tabla resumen de las especies colectadas, nombre científico, área de recolección y tipo de fruto (tabla 1).

Tabla 1. Lista de especies sobre las que se practicó la cosecha de semillas, durante la estancia en DBG.

Nombre Científico	Familia	Área de Recolección	Fruto/semilla
<i>Aethionema caespitosa</i>	Brassicaceae	RAG-SL	Silicua
<i>Aquilegia barnebyi</i>	Ranunculaceae	RAG-AHW	Folículo
<i>Caragana erinacea</i>	Fabaceae	RAG-SL	Vaina
<i>Campanula sp</i>	Campanulaceae	RAG-NL	Cápsula

<i>Coreopsis auriculata nana</i>	Asteraceae	RAG-NL	Aquenio s/alas
<i>Daphne oleoides</i>	Thymelaeaceae	RAG-AHN	Drupa
<i>Degenia velebatica</i>	Brassicaceae	RAG-FF	Silicua
<i>Dianthus pawning</i>	Caryophyllaceae	RAG-MM	Cápsula
<i>Dodecatheon pulchellum</i>	Primulaceae	RAG-FF	Cápsula
<i>Erigeron caespitosum</i>	Asteraceae	WPS	Aquenio s/alas
<i>Erigeron leiomerus</i>	Asteraceae	RAG-MS	Aquenio s/alas
<i>Eriogonum umbellatum var. majus</i>	Polygonaceae	RAG-SL	Cápsula
<i>Eriogonum umbellatum var. purteri</i>	Polygonaceae	RAG-SL	Cápsula
<i>Glaucium fimbriigerum</i>	Papaveraceae	RAG-SL-C6	Cápsula larga
<i>Gypsophila ternafolia</i>	Caryophyllaceae	RAG-FF	Cápsula
<i>Hieracium villosum</i>	Asteraceae	RAG-FF	Aquenio s/alas
<i>Phlomis alpina</i>	Lamiaceae	RAG-SL	Drupa
<i>Phlomis herbel-venti</i>	Lamiaceae	RAG-WG	Drupa
<i>Plantago tweedyi</i>	Plantaginaceae	RAG-NL	Pixidio
<i>Primula virens</i>	Primulaceae	RAG-US	Cápsula
<i>Pulsatilla aurea</i>	Ranunculaceae	RAG-MM	Aquenio
<i>Saxifraga hostiie</i>	Saxifragaceae	RAG-SL	Cápsula
<i>Saxifraga x macnalima</i>	Saxifragaceae	RAG-FF	Cápsula
<i>Stellaria sipina</i>	Caryophyllaceae	RAG-SL	Cápsula
<i>Silene weldestansia</i>	Caryophyllaceae	RAG-FF	Cápsula
<i>Stipa jonis</i>	Poaceae	RAG-SL	Cariopse
<i>Stipa pennata</i>	Poaceae	RAG-MM	Cariopse
<i>Stipa tirsu</i>	Poaceae	RAG-FF	Cariopse

2.4. COSECHA EN ESPECIES SILVESTRES, PASTIZALES NACIONALES DE PAWNEE.

En adelante se describe la tarea llevada a cabo en la reserva de los Pastizales Nacionales de Pawnee. Estos se encuentran en el condado de Weld en la esquina noroeste de Colorado sobre la cuenca del río South Platte y a pocos kilómetros de la triple frontera que comparte dicho Estado con Wyoming y Nebraska (figura 12).

Estas reservas, son áreas presentes dentro de Colorado y en estados contiguos, que están bajo la administración del Departamento de Agricultura de Estados Unidos. En el caso de Colorado existen más de 78.000 hectáreas dispersas, que actualmente están deshabitadas y con acceso restringido mediante cerco perimetral, con fines de preservar la vegetación y fauna nativa.

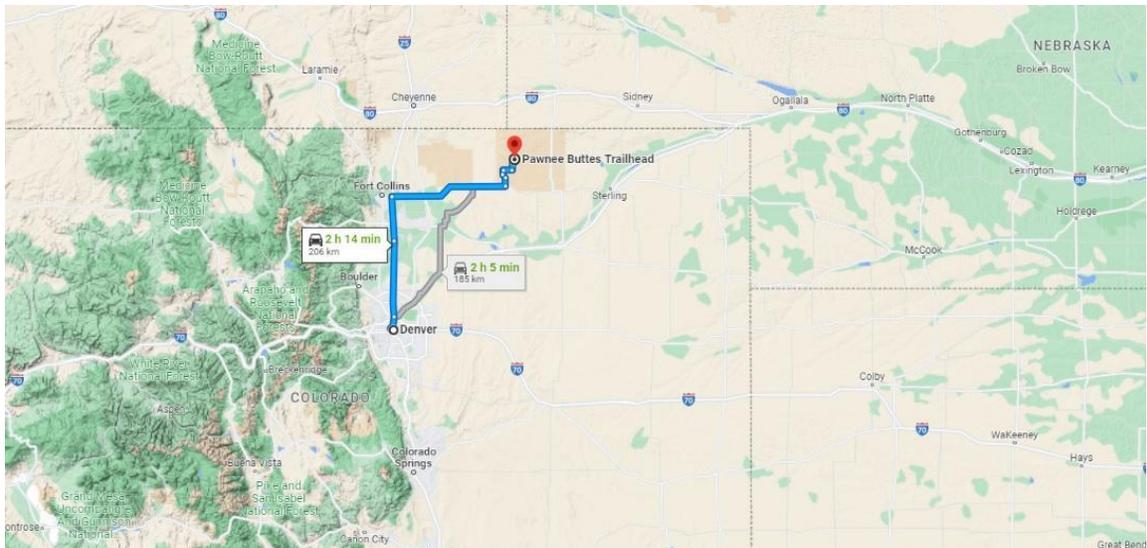


Figura 12. Mapa de recorrido desde Denver a las Pasturas Nacionales de Pawnee.

El surgimiento de la necesidad de conservación se remonta a inicios del siglo XX cuando con la llegada de colonos se cambiaron las prácticas de uso del suelo. Antes de ello, y según la cartelería presente, estas pasturas fueron áreas de caza y recolección de pueblos conocidos como Pawnee. Este uso fue modificado con la colonización y el consecuente desplazamiento de los pueblos nativos y sus presas.

En ese sentido, el Servicio Forestal del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (2022) sostiene que, en primer lugar, el asentamiento de colonos implicó la introducción del pastoreo de animales, principalmente vacas, a gran escala. Y luego, con la ley de Homestead de 1862, se impulsó el asentamiento de granjas de hasta 160 acres (647497 m²), de los cuales se debía cultivar una cuarta parte.

Aquella situación se intensificó con la aparición de tractores y cosechadoras, que permitieron arar más tierra, situación que propició que la agricultura de secano se convirtiera en la principal economía de la región. Y, para 1930 aproximadamente el 60 por ciento de los pastizales de las altas llanuras en el condado de Weld habían sido arados (Forest Service USDA, 2022).

Sin embargo, en aquel año las sequías y vientos de 80 a 100 kilómetros por hora se hicieron frecuentes en el Front Range de las Montañas Rocosas desde Texas a Canadá, llevándose la capa superior de suelo seco (Forest Service USDA, 2022).

Aquellas tormentas de polvo fueron conocidas como “Dust bowl” y son catalogadas actualmente como uno de los peores desastres ecológicos del país (figura 13). Derivado de la conjunción de factores ambientales, la carencia de prácticas agrícolas acordes a regiones de secano y el sobrepastoreo.

Debido a esta situación, y a la crisis económica que atravesó Estados Unidos en esos años, muchos colonos se vieron forzados a retirarse y vender sus derechos de propiedad de tierra al gobierno. Éste por su parte, para abordar el problema, en 1933 estableció el Servicio de

Erosión de Suelos que luego en 1935 se reorganizó bajo el Departamento de Agricultura y bajo el nombre de Servicio de Conservación de Suelos. Finalmente, en 1960 se concretó la reserva nacional de pastizales (Traylor, 2017).



Figura 13. El Dust Bowl fue el peor desastre ecológico en la historia de Estados Unidos. Luego de ello, nacerían las reservas de Pasturas Nacionales (Denver Post 1/8/2017).

Actualmente las praderas de Pawnee constituyen un refugio para especies nativas que se desarrollan en ambientes de pastizales. En base a ello, y con la atractiva presencia de dos grandes colinas de más de 90 metros conocidas como Buttes esta reserva es también un punto turístico, que ofrece la posibilidad de realizar avistaje de aves, observación de flora, fauna y senderismo (figura 14).

En este sentido, y gracias al trabajo de restauración que realizó el Departamento de Agricultura de Estados Unidos la zona en cuestión cuenta con la presencia de especies representativas de pastos nativos, motivo por el cual se arribó allí para recolectar semillas de algunos de éstos. Para introducir lotes nuevos al banco de semilla que posibilitan futuras siembras y estudios comparativos de calidad, frente a otros años y puntos de recolección.



Figura 14. Las Pasturas Nacionales de Pawnee, rodeadas por cerco perimetral. En el fondo las Buttes o motas sobresaliendo de las pasturas.

Para concretar dicha tarea, se contó con la guía de Larry Vickerman director de Chatfields Farms del DBG quien es especialista en plantas nativas, restauración y manejo de pasturas. Y Mike Bone, quien es curador de la colección de estepas que posee DBG en York Street y un reconocido paisajista e introductor de especies del Plant Select, con énfasis en especies de ambientes de estepa.

Así, en base a la planificación y gestión de estos expertos, se concurrió al punto de cosecha un 9 de agosto, día comprendido en la mitad del verano para el hemisferio norte donde suelen presentarse semillas terminadas en los pastos. Y también, temporada en la que se permite el acceso debido a que desde el 1 marzo al 30 de junio (primavera- verano) se restringe el ingreso con fines de evitar el disturbio de la fauna salvaje.

El camino al área de colecta se inició con dirección a las Buttes o colinas. En el trayecto, se observó diversas especies nativas representativas de aquel ambiente con presencia de flores. Se logró reconocer cactus *Opuntia sp*, cardos *Cirsium undulatum*, hierbas como *Cleome serrulata*, *Ratibida columnifera* (mexican hat), *Linum puberulum* (lino), *Oenothera albicaulis*, *Amapola espinosa*, *Plantago patagonica*, *Oenothera lavandulifolia*, *Argemone polyanthemos* y una especie de arvejita nativa forrajera *Pediomelum esculentum*, conocida como “Indian Breadroot” (figura 15).



Figura 15. Ejemplares de flora de Pawnee Buttes, de izquierda a derecha; *Cleome serrulata*, *Ratibida columnifera*, *Oenothera albicaulis* y *Linum puberulum*.

Por otro lado, también se observó ejemplares de *Yucca glauca* muy diseminada y un arbusto leñoso de frutos comestibles llamado *Rhus trilobata*. En cuanto a la fauna, resultó llamativa la aparición de varios ejemplares de lagarto de cuernos cortos (*Phrynosoma hernandes*).

Más adelante, sobre la base de una de las colinas, los guías seleccionaron un área de recolección. Allí se colectó semillas de *Aristida purpurea* o Red Threeawn, que según el herbario de especies nativas del Lady Bird Johnson Wildflower Center es una gramínea de ciclo anual de 30 a 50 cm de altura y hasta 60 cm de ancho, con raíces fibrosas, hojas alternas y simples. Además, es una planta adaptada a suelos arenosos con baja presencia de agua siendo un pasto resistente a la sequía y a suelos con carbonato de calcio. Por otro lado, posee una floración vistosa ya que cada flor presenta tres cerdas de hasta 10 centímetros que presentan coloración marrón a púrpura, tornando a las matas en plantas con aparente cabellera rojiza que brilla en destellos gracias al viento (Lady Bird Johnson Wildflower Center, 2022).

De esta manera, con el reconocimiento de la especie y la caracterización de semillas maduras presentes se establecen coordenadas de GPS rotulando sobres con coordenadas y nombre de especie. Luego, se toman las cerdas de la flor aún adheridas a la semilla y se tira de las mismas hasta desvincularse de la planta para colocando todo el material en sobre de papel para su posterior procesamiento en las instalaciones del DBG (figura 16 y 17).



Figura 16. Aristida purpúrea, pasto representativo de la pradera de pastos cortos de Colorado. Especie sobre la que se realizó cosecha.



Figura 17: Área de colecta en Pasturas Nacionales de Pawnee,

2.5. ACONDICIONAMIENTO DE SEMILLAS.

Existen diversos mecanismos que pueden ser utilizados en la limpieza de semillas. Particularmente, en DBG se utilizan principalmente métodos que responden a una gran cantidad de especies y con pequeñas cantidades de éstas. Usualmente, se realizan

tratamientos manuales o poco mecanizados, gracias al aporte de mano de obra que realizan los voluntarios. Estos tratamientos constan de la separación física con ayuda de lupas, pinzas y pinceles, el cribado y venteado.

En primer lugar, se observa bajo lupa el material y con ayuda de bibliografía o el señalamiento del curador, se define cual es la semilla a almacenar. De esta manera se deciden los procesos de limpieza que usualmente responden a las cualidades físicas de las mismas.

Así, se puede iniciar el proceso con la separación manual de fracciones, que se utiliza principalmente ante una pequeña cantidad de material. O cuando el tamaño heterogéneo de semillas e impurezas difieren significativamente.

Luego, el cribado mediante el uso de tamiz resulta ser más eficaz cuando la cantidad de material es considerable y los calibres de semilla e impureza difieren significativamente. En esa situación, mediante la adecuada elección de la trama de los tamices una semilla pequeña puede ser separada de impurezas de gran tamaño, o viceversa. Ese proceso puede repetirse con tamices diferentes para luego finalizar el proceso con la limpieza manual donde la fracción de semilla se vuelca en un plato y se quitan impurezas con ayuda de lupas, pinzas y pinceles (figura 18).



Figura 18. Tamizando con diversos calibres se elimina gran porcentaje de impurezas. Existen casos donde la semilla fue atacada por plagas y esto resulta en impurezas que se develan con uso de lupas.

Por otro lado, o de manera complementaria, cuando la semilla es acompañada de impurezas de menor peso, se implementa la limpieza mediante el venteo o limpieza por densidad. Para ello, se disgrega manualmente todo el contenido de una cosecha procurando separar semillas de sus estructuras de sostén, protección y dispersión. Luego se vuelca este material sobre un tamiz y con ayuda de un secador de pelo se sopla desde

abajo, aquellas partes livianas quedando solamente la semilla. Este método resulta efectivo cuando se logra dominar la velocidad del electrodoméstico, su ángulo y distancia de ataque.

Al finalizar el proceso, las semillas limpias se envasan en sobres de papel madera y se los sella con cinta para evitar pérdidas, se rotula el lote con nombre especie, familia, día, lugar, y año de recolección para luego ser ingresadas a instalaciones de almacenaje.

2.6. ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS.

Luego de la cosecha y limpieza, las semillas suelen ser almacenadas por periodos diferentes de tiempo. Su viabilidad o posibilidad de generar una nueva planta estará dada en primer lugar por su viabilidad inicial en la cosecha y determinada posteriormente por los procesos de producción, manejo y la tasa de deterioro (envejecimiento) de la semilla. Ese cambio de orden fisiológico varía con la especie en cuestión y con las condiciones de almacenamiento, principalmente temperatura y humedad (Hartmann & Kester, 2001).

En este sentido, según Hartman & Kester (2001), las semillas pueden agruparse en tres grandes grupos según su capacidad de ser almacenadas;

- **Especies de semillas de vida corta:** pierden su capacidad de germinar en pocos días, meses y hasta un año. Incluyen árboles de zonas templadas como son los del género *Acer*, *Salix*, *Ulmus*. Árboles con semillas muy desarrolladas y con alto contenido de sustancias de reserva conocidas como recalcitrantes, tales como encino y nogal. También especies de zonas tropicales como cítricos, palmeras, te, cacao. Y especies acuáticas como el arroz y especies del género *Cyperus*.
- **Especies de semillas de vida mediana:** pueden tener una viabilidad durante 2 hasta 15 años favorecidas mediante el almacenaje a condiciones de baja humedad y temperatura. En este grupo están la mayoría de hortalizas, flores y granos cultivados de forma comercial.
- **Especies de semillas de vida larga:** con semillas de longevidad de entre 15 a 20 años. Con casos de hasta 100 años o más, como el caso de la semilla de la flor del loto.

En base a ello, el DBG posee un banco de semillas para especies de semilla de vida mediana y larga que permite el inicio de procesos de propagación para distintos programas, a la vez que posibilita estudios de viabilidad y longevidad de semillas de especies nativas e introducidas.

El banco se encuentra anexo al Área de propagación y consta principalmente de una cámara frigorífica de marca “American Panel” de 1.30 de ancho x 2.05 largo x 2.23 de alto, que almacena material a 34°F (1,11 °C)⁴(Figura 19).

⁴ American Panel - Modular Blast Chiller-Model: AP20BC-2T.



Figura 19. A la izquierda banco de semilla refrigerado por cámara. A la derecha, lotes de semillas en envases plásticos en condiciones de ambiente.

Además, este espacio tiene estantes y recipientes plásticos herméticos que permiten el almacenamiento a condiciones ambientales. Allí, los lotes que no requieren frío, son almacenados y clasificados alfabéticamente por la familia a la que pertenecen.

Por otro lado, el banco posee instalaciones de soporte como un estante con bibliografía, mesa con lupa eléctrica, mesada con pileta, estantes con insumos para almacenar y rotular, incluyendo una computadora de escritorio para llevar a cabo un registro con información de especies, tiempo de almacenado, estudios de longevidad, tasa de germinación entre otros.

3. PROPAGACIÓN.

3.1. INTRODUCCIÓN.

La trabajadora Katy Wieczorek, Senior Horticulturist es quien dirige el departamento que produce plantas para los jardines expuestos y otros programas que desarrolla el DBG. Si bien existen propagadores y áreas exclusivas para jardines como el conservatorio de orquídeas y el jardín acuático, un gran número de especies son iniciadas bajo esta área.

En este sentido, la obtención y multiplicación de especies y variedades comprende la producción por vía sexual (por semillas), y el uso de técnicas de multiplicación asexual estaqueado y esquejado, exceptuando las técnicas de cultivo in vitro de tejidos.

A su vez, la producción de especies está mediada por un departamento de gestión que recibe el pedido del curador y a su vez emite la solicitud a Propagación. Así, cada planta posee un seguimiento desde su solicitud a su destino final y se produce en función de las demandas de cada colección.

Por otro lado, el trabajo de Wieczorek y personal a su cargo, comprende el sostenimiento de plantas madres de las que se obtiene tejido o semillas para multiplicarlas, el manejo integrado de enfermedades y plagas, la introducción de nuevas especies, mediante la confección de protocolos de propagación y el trabajo de introducción, monitoreo y estudio sobre el banco de semillas.

3.2. ÁREA DE PROPAGACIÓN.

El espacio destinado a este departamento comprende un porcentaje de los invernaderos que fluctúa del 30 al 50 % de los mismos, un espacio anexo a aquellos de 25 metros cuadrados (figura 20) donde hay mesadas con piletas de lavar, bajo mesadas, alacenas, estantes y cajoneras para acopio de herramientas de mano e insumos pequeños, un espacio lateral donde hay una computadora y material de referencia como libros y cartillas. Y una gran mesada corrediza para realizar tareas culturales como siembra, esquejado, transvasado y limpieza de semillas.



Figura 20. Imagen satelital de invernaderos del DBG resaltados en azul. En amarillo los pasillos lateral y central. En rojo el laboratorio de cultivo de tejidos y en verde el área de trabajo del departamento de Propagación.

3.2.1. DISEÑO CONSTRUCTIVO DE INVERNADEROS.

El área cubierta consta de más de 1600 metros cuadrados, y se constituye por doce invernaderos con orientación norte – sur, que resultan de la división de seis naves en batería, por medio de un pasillo central.

El acceso principal a éstos se encuentra en la cara norte a través de un amplio pasaje que también conecta las instalaciones de trabajo en propagación, el laboratorio de cultivo de tejidos y el banco de semillas.

Cada invernadero posee una cara frontal de 9.5 metros de ancho y 12.20 metros de longitud. Los 115 metros cuadrados resultantes están cubiertos por un techo tipo capilla centrado con altura a soleras de 5.2 metros y 7.2 metros de altura en cumbre, resultando el volumen bajo cubierta en 732 metros cúbicos aproximadamente.

En cuanto al área dedicada a ventilación, cada unidad posee ventilación cenital a lo largo de la cumbre en sus dos pendientes de techo, sumando 29 metros cuadrados. Estas áreas se complementan a cuatro extractores eléctricos presentes en el triángulo superior de la cara frontal que aportan 6 metros cuadrados y están en función de una pared húmeda presente sobre pared opuesta junto al pasillo central.

Por otro lado, respecto a los materiales estructurales y de cerramiento, cada invernadero tiene piso de concreto y zócalo perimetral de un metro de alto de mismo material. Sobre este último, se encuentran vinculadas columnas de hierro galvanizado que sirven de soporte a paredes, cubierta de techos y brindan soporte a algunas instalaciones de control ambiental. Además, adheridas a esas estructuras metálicas mediante tornillos, están las placas de policarbonato que cierran el ambiente constituyendo paredes y techos (figura 21).

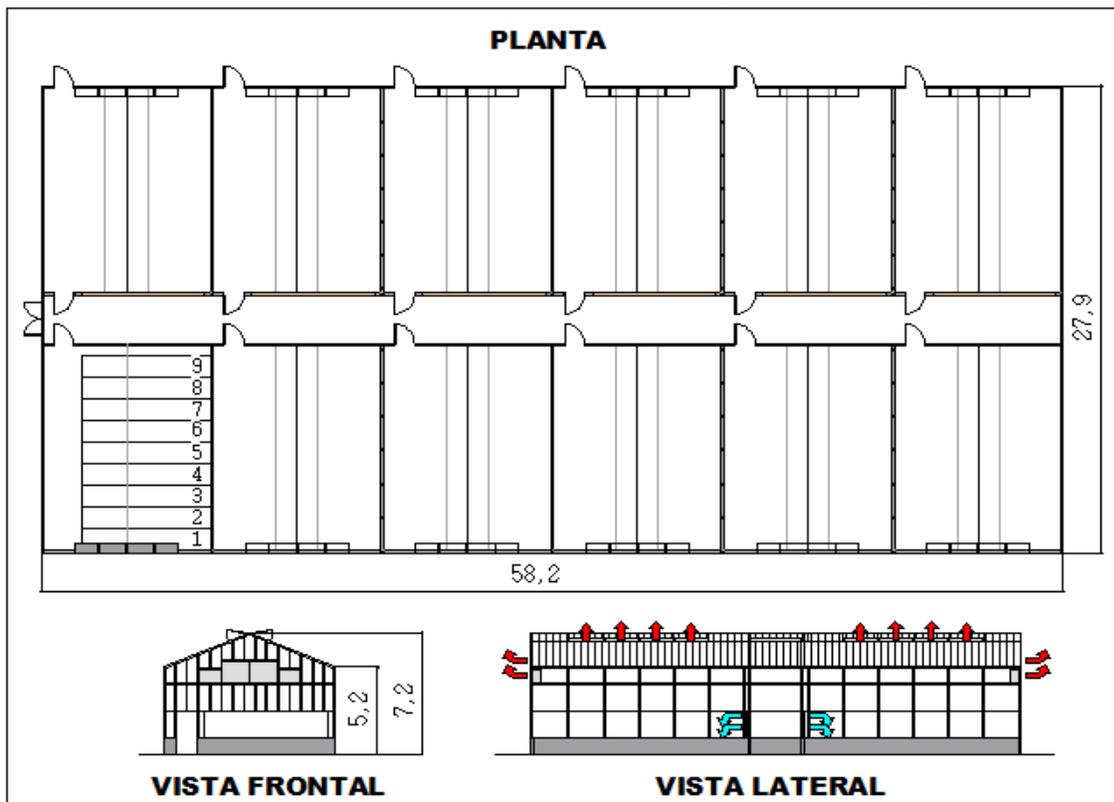


Figura 21. Planta y vistas de invernaderos donde se observa la división de las baterías por pasillo central, capacidad de hasta 9 mesadas corredizas por invernáculo y ventilación cenital y lateral mediada por pared refrigerante.

3.2.2. TECNOLOGÍAS PRESENTES.

La necesidad de los diferentes cultivos y sus etapas de desarrollo, requieren instalaciones tecnológicas que permiten adaptar las condiciones de ambiente bajo cubierta. En este sentido, cada invernadero en BDG está automatizado mediante una computadora central que monitorea y modifica mediante tecnologías aplicadas las condiciones de temperatura, humedad ambiente, ventilación e incidencia lumínica. A su vez, esa computadora gestiona el riego por aspersión o goteo para cada una de las mesadas presentes.

En base a esta lógica, la variable temperatura se controla pasivamente mediante el uso de mallas de sombreado que reducen la entrada de luz. O mediante el uso de pantallas térmicas que permiten minimizar la pérdida de energía calórica en forma de radiación lumínica durante la noche. En invernaderos del DBG, ambas coberturas se encuentran colgadas de la estructura de techo del invernadero y son extendidas o enrolladas mediante el uso de un motor eléctrico y un sistema de poleas.

Luego, con fines de modificar la temperatura mediante el uso de sistemas activos, cada invernadero posee radiadores térmicos en zócalos de hormigón, debajo de la cabecera de las mesadas y calderas de aire montadas en la estructura interna de techo. En ocasiones los cultivos requieren de forma puntual más temperatura, y se utilizan mantas térmicas eléctricas entre las mesadas y los porta-bandejas.

En este sentido, bajo cubierta se puede disminuir la temperatura mediante la presencia de una pared húmeda, que es un sistema de enfriamiento que se sirve de la evaporación de agua y consta de una pared porosa y permeable que es constantemente humedecida por un sistema de circulación de agua. A través de ella y con la ayuda de extractores eléctricos se fuerza a entrar aire caliente y seco desde el exterior, enfriando y humedeciendo esa masa, gracias al proceso de evaporación de agua que se da en la pared.

Por otro lado, la humedad del ambiente puede ser modificada mediante el riego por aspersión, que introduce agua a los contenedores como al aire interno al evaporarse mediante deriva. Sin embargo, en ocasiones el cultivo requiere alto contenido de agua en forma de vapor, como es el caso del invernadero de orquídeas y el conservatorio tropical, situación que es cubierta con un sistema de generación de niebla.

Luego, en esta descripción se encuentran las tecnologías que promueven el recambio del aire en el interior de invernaderos. Estas constan de brazos mecanizados por motores eléctricos que regulan apertura y cierre de aberturas en la cumbre del techo permitiendo así el flujo de aire caliente hacia el exterior por convección. Sumándose también, un sistema activo de extractores de aire impulsados por motor eléctrico.

Finalmente, dentro de cada invernadero la variable iluminación puede ser modificada hacia el interior, mediante filtros o mallas que disminuyen el acceso de ciertos espectros de luz solar. En suma a aquello, las horas de luz sobre cultivos pueden extenderse mediante un sistema de iluminación eléctrico mediante lámparas de sodio (figura 22).



Figura 22. A la izquierda iluminación con luces de sodio y mallas refractarias. En el centro de arriba hacia abajo; riego por aspersión automatizado, mesadas corredizas y calefacción por radiadores. En la derecha mallas de sombreo, calderas y panel húmedo.

3.3. PROPAGACIÓN SEXUAL DE ESPECIES.

3.3.1. INTRODUCCIÓN.

La propagación por semillas es uno de los principales métodos de reproducción de plantas en la naturaleza. Es la vía más eficiente y utilizada en la multiplicación de plantas cultivadas. A las plantas obtenidas por esta vía se las llama plántulas (Hartmann & Kester, 2001).

La semilla deriva del óvulo fecundado y a la madurez contiene el embrión y las sustancias de reserva rodeados por el tegumento seminal constituido por una capa interna conocida como tegmen y una capa exterior llamada testa. En su interior, cada semilla está presente la información genética necesaria para desarrollar una planta adulta (Hartmann & Kester, 2001).

En este sentido puede afirmarse que la siembra de la semilla es el inicio físico de la propagación de plántulas y que el mismo está mediado por el proceso de germinación que comprende el inicio del crecimiento del embrión en estado latente dentro de cada semilla. Para que ello ocurra “deben reunirse factores intrínsecos o propios de la semilla y extrínsecos relativos al ambiente que las rodea” (Valla, 1979).

En primer término, la semilla debe poseer un embrión vivo y capaz de germinar. No poseer barreras fisiológicas, físicas y químicas que inducen letargo o impedimento de germinación (Hartmann & Kester, 2001).

En segundo lugar, deben cumplirse condiciones de ambiente que posibiliten el proceso; temperatura, disposición de agua y presencia de aire, condicionan el inicio y la concreción de la germinación. Las temperaturas óptimas varían según la especie, existiendo temperaturas mínimas y máximas donde aquel proceso es imposible.

En esta línea, la disponibilidad de agua es indispensable debido a que, para que ocurra la germinación, en primer lugar, deben activarse sistemas enzimáticos y de orgánulos preexistentes lo que requiere un estado de hidratación mayor al de las semillas secas. Luego el embrión en crecimiento requerirá cantidades crecientes de agua para que sus células comiencen a multiplicarse y a alargarse activamente (Valla, 1979).

Por otro lado, los fenómenos metabólicos presuponen en la mayoría de los casos, una activa respiración, razón por la cual la presencia de aire es indispensable. (Valla, 1979).

Además, se puede mencionar aquí que ciertas especies requieren de iluminación extra o ausencia parcial o total de la misma. Esta es una variable que puede ajustarse para favorecer la multiplicación y establecimiento de plántulas.

En este sentido, Hartmann & Kester (2001) resumen el proceso de germinación en tres etapas con procesos fisiológicos que las caracterizan como se expresa en la figura 23.

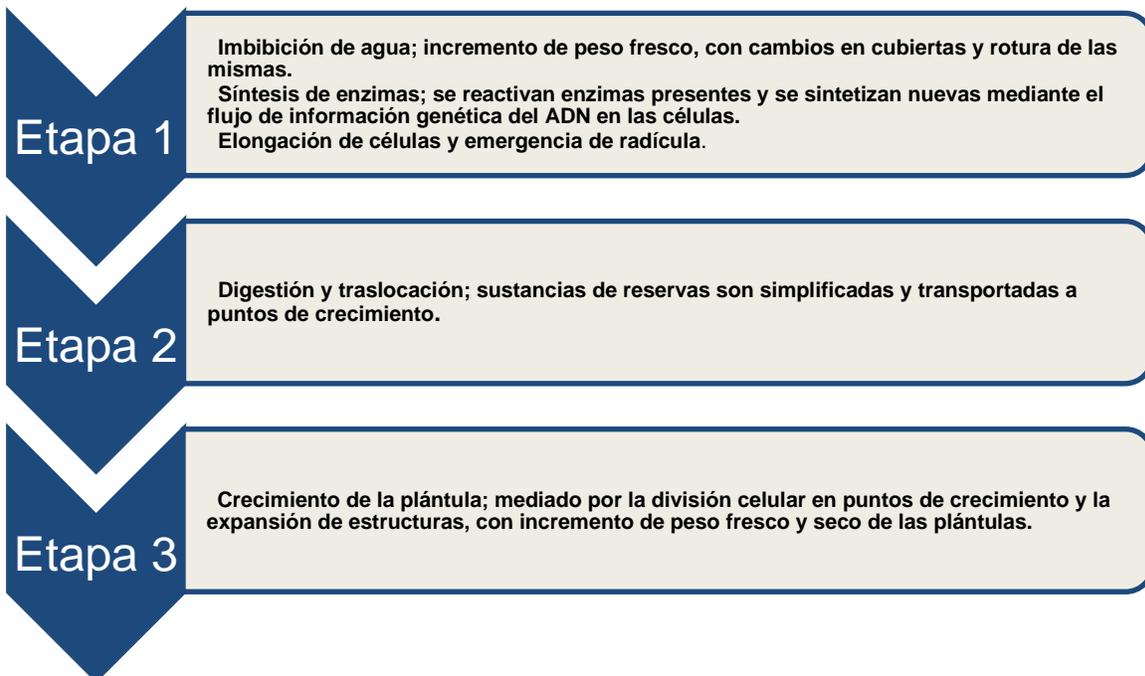


Figura 23. Las tres etapas de germinación y sus procesos centrales. Adaptado de Hartman et al.

En este sentido, para lograr plántulas utilizando eficientemente los espacios, el DBG utiliza mayormente la técnica de siembra en contenedores multi-celdas individuales optimizando

el control de variables de ambiente. Usualmente, luego de la aparición del primer par de hojas verdaderas se realiza un trasvase a contenedores individuales de mayor tamaño, en función de requerimientos de cada especie y sus fases previas a ser considerada una planta finalizada.

En esa línea, se presentan dos tareas que concentran los procesos de obtención de plantas mediante semillas que fueron replicados en dos experiencias con especies diferentes; siembra de *Viola cornuta* y de trasvase para *Erysimum*.

3.3.2. SIEMBRA de *Viola cornuta* ‘Sorbet XP Blue True’.

En la ya descrita área de propagación se realiza la siembra de violas, que son especies ornamentales perennes y rústicas (Hartmann & Kester, 2001) aunque se las utiliza en jardines como especies anuales.

En este caso, la producción está destinada para su comercialización al público en una jornada que se replica todos los años a inicios de primavera. Para comenzar, se nos otorga un lote de semillas de la marca Ball Seeds en cuyo rótulo el fabricante informa que el paquete contiene 5.000 semillas, que 1000 semillas pesan 0.805 gramos y el porcentaje de germinación en test es de 99%. A pesar de este último dato se opta por colocar dos semillas por cada celda, con el fin de asegurar que en cada uno de estos espacios emerja una plántula.

Para iniciar el cultivo se utilizan almácigos plásticos de 128 celdas que poseen 2,5 cm de lado y 3 cm de profundidad otorgando 19 cm³ para el crecimiento de la raíz. En esta línea, el relleno en esta etapa debe ser liviano y poco denso, debe mantener un volumen constante sin contraerse al secado, retener humedad para no requerir riego con mucha frecuencia y contener una porosidad que permita el drenaje y adecuada aireación. A su vez debe contener un bajo nivel de salinidad y brindar una provisión adecuada de nutrientes (Hartman & Kester, 2001).

En ese sentido, para cubrir esas condiciones, el sustrato que se utiliza es “Fafard® Ultra Container Mix” de la marca Sun Gro, que posee un balance adecuado de Turba *Sphagnum* canadiense, perlita expandida, compost y corteza compostada. Este insumo posee un tamaño de partículas intermedia que permite el adecuado drenaje y el aporte de la turba que permite una alta retención de agua. Además, posee fertilizante de liberación prolongada que otorga a las plántulas alimento por hasta 4 meses (Sun Gro Horticulture, 2022).

A continuación, se calcula la cantidad de almácigos necesarios bajo el siguiente criterio; para un almácigo se requieren 256 semillas (128 x 2u.). Si se tienen 5000 semillas, se podrán sembrar $5000/256= 19,5$ almácigos. Con ese dato, se inicia con el llenado al ras del almácigo con sustrato mencionado. Para ello se coloca el contenedor dentro de un carro que contiene el sustrato ya fuera de su envase y con la ayuda de una pala de mano, se llenan las celdas y se nivela al ras el contenido de las mismas.

El paso siguiente es llevar el plug a la mesada y realizar una leve presión con el dedo en el centro de cada celda, formando una depresión en todas las celdas. Hecho esto, se coloca una pequeña cantidad de semillas en un papel de 5x10 cm plegado en su mitad y con un pliegue lateral para evitar caídas. Con él se puede dosificar las dos semillas con pequeños golpes más la inclinación del papel y con la ayuda de pinzas.

Un aspecto relevante aquí, es la forma de avance de la siembra en el almácigo que inicia en una esquina y avanza siempre por el lado más corto del mismo y jamás a lo largo. Esto se replica en todo lo que respecta a especies en almácigo como siembras y esquejes, debido a que se pueden cortar los mismos evitando espacios no productivos.

Finalizada la siembra de un plug, se coloca una fina capa de vermiculita en forma de lluvia, mediante el uso de un cucharón semillero, luego de esto se riega y se lleva el producto finalizado a condiciones de invernadero (figura 24).

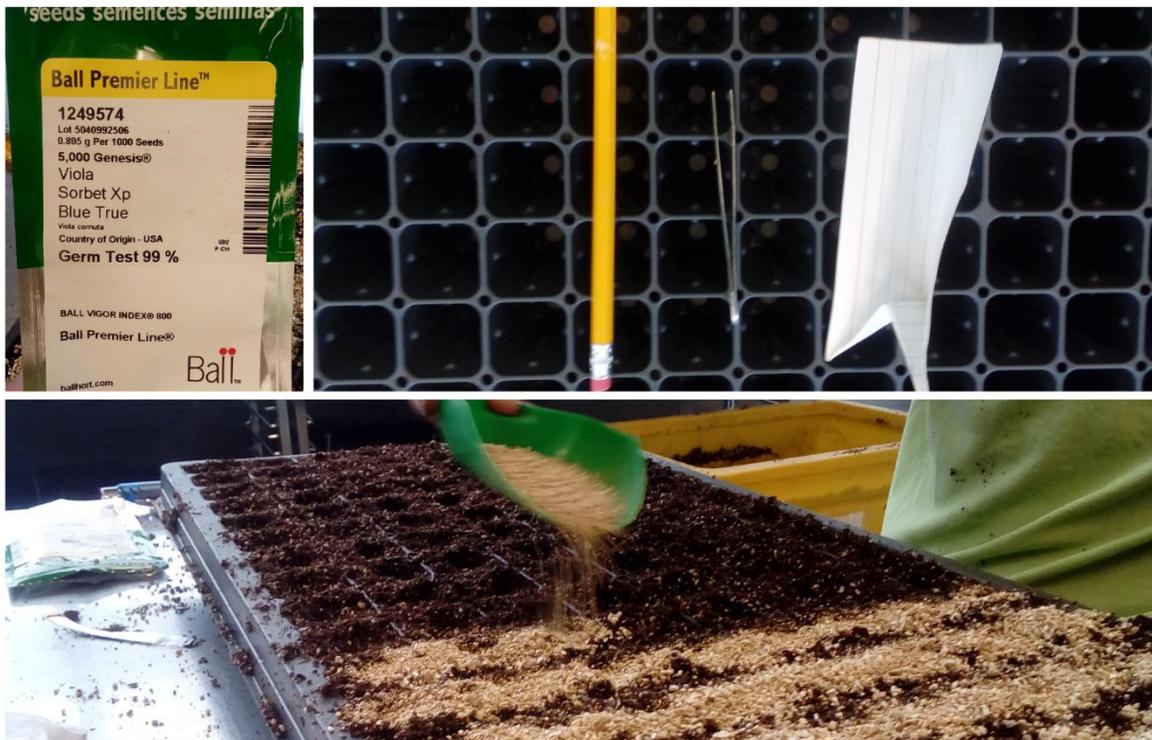


Figura 24. Arriba el rótulo de paquete de semillas, almácigos semilleros, pinza y sembrador casero. Abajo el acabado de siembra con mantillo de vermiculita fina.

La tarea descrita se realizó el 18 de julio y según se nos informa las violas estarán listas para la venta en 45 días. En este sentido se realizó un seguimiento y una semana luego de la siembra se observó una emergencia del 99% de las semillas. En consecuencia, se contaba con dos plántulas por cada celda, por lo que se realizó una división de las mismas y trasvasado cuando se observaron dos pares de hojas verdaderas, utilizando el mismo sustrato de relleno descrito, variando el volumen de contenedores.

De esta manera, para el 14 de agosto el cultivo estaba individualizado en recipientes de 5 centímetros de lado y 7,5 cm de profundidad llegando a los 187 cm³. El 23 de agosto cada

una de ellas contaba con más de seis pares de hojas verdaderas y finalmente el primero de septiembre, a 45 días de siembra, las plantas contaban con una flor considerándose finalizadas para su venta (figura 25).



Figura 25. De izquierda a derecha, evolución del cultivo de *Viola*, germinación 25/7, primer par de hojas verdaderas en contenedor individual 14/8, plantas con 5 a 6 pares de hojas verdaderas 28/8 e inicio de floración 1/9.

3.3.3. TRANSPLANTE de *Erysimum* ‘Sugar rush purple’.

Naturalmente las especies vegetales crecen en el suelo aumentando su tamaño mediante el crecimiento y ramificación de tallos y raíces. Estos ejes de crecimiento sobre y debajo de la superficie del suelo, aumentan su peso y tamaño explorando nuevas áreas.

En cambio, en la producción de plantas en contenedor, las semillas se siembran en recipientes para su germinación y luego las plántulas son trasplantadas a contenedores de mayor tamaño, donde permanecen hasta que se las implanta al exterior. Este procedimiento hace posible optimizar las condiciones ambientales para la germinación de semillas (Hartmann & Kester, 2001).

En DBG, tanto la siembra como el enraizamiento de estacas es realizada en contenedores pequeños con sustrato con un buen sostén, adecuado drenaje, alta retención de agua y presencia baja de nutrientes que permita a la planta progresar sin ser dañada.

En este sentido, la germinación, enraizamiento y crecimiento de especies en contenedores está en función del recipiente asignado y las cualidades del sustrato, resultando esencial en este método de producción la tarea cultural de trasvase.

En base a ello, se describe la práctica de trasvase de plántulas germinadas y con hojas verdaderas de *Erysimum 'sugar rush purple'*, que fueran transferidas desde almácigo plug de celdas de 19 cm³ a macetas individuales de 300 cm³.

En esta instancia, la mezcla utilizada dentro del contenedor difiere de la que se usa para la germinación. Ya que existe un visible aumento de tamaño de partículas que implica la disminución de la retención de agua y el aumento del drenaje y la aireación. En esta línea, también hay cambios en las condiciones químicas del medio, que presenta un pH levemente ácido y sales que contienen nutrientes necesarios para esta etapa de crecimiento.

En base a ello, el DBG utiliza aquí un sustrato de la marca canadiense Berger, llamado BM 6 que contiene turba gruesa de selección premium, perlita gruesa, calizas dolomíticas y calcítica, carga inicial de fertilizantes estándar, un agente humectante no iónico y un pH de 5.4 a 6.2 (Berger.ca, 2022).

La práctica de trasplante inicia con la preparación de los nuevos contenedores que son colocados en bandeja porta macetas y se llenan con sustrato hasta colmar y luego enrasados sin presionar con ayuda de pala de mano. Esta bandeja nueva se lleva a la mesada del Área de Propagación, donde se realiza un agujero central en cada recipiente con pinzas quedando listos para recibir una plántula.

En general, el cambio requiere rapidez para evitar provocar estrés en la plántula por deshidratación. Al mismo tiempo se debe ser cuidadoso al manipularlas para no dañar el tallo o el tejido de raíz, evitando especialmente la rotura y desagregado del pan de sustrato adherido a las raíces. Con esos recaudos, se inicia la tarea tomando con pinzas una plántula del plug para depositarla en maceta individual, realizando una leve presión para que el sustrato nuevo y las raíces queden en contacto. De esta manera, se continúa con el procedimiento hasta finalizar con el plug de plántulas y se riega saturando la maceta con varias pasadas de regadera de chorro fino permitiendo el drenaje de exceso de agua (figura 26).

Finalmente, se llevan macetas con porta bandejas al invernadero donde se introducen cambios en variables de ambiente que permiten el establecimiento, crecimiento y endurecimiento previo a la plantación a campo.



Figura 26. Proceso de trasvasado. De izquierda a derecha, proceso de pasaje de plug semillero a macetas individuales de 300 cm³.

3.4. PROPAGACIÓN ASEXUAL.

3.4.1. CASOS DE TRABAJO.

La reproducción asexual o agámica comprende a las técnicas de obtención de nuevas plantas mediante el empleo de partes vegetativas de la planta original. En este sentido, Hartmann y Kester (2001) en su apartado sobre aspectos generales de la propagación asexual, afirman que las nuevas plantas logradas por esta vía resultan ser clones con idéntica información genética y desarrollo a la de la planta desde la que se obtiene tejido.

Estas técnicas se fundamentan en dos propiedades de la célula vegetal. En principio cada célula nueva puede evolucionar, junto con otras, en tejidos específicos que requiere la planta mediante la adaptación de su forma y función. Esta capacidad se conoce como totipotencia y responde a la presencia de información genética suficiente y a la plasticidad celular que posibilitan aquellos procesos de diferenciación (Valla, 1979).

La segunda propiedad conocida como desdiferenciación describe la capacidad de cada célula vegetal de invertir el desarrollo antes descrito. Es decir, que una célula constituyente de un tejido específico (raíz, tallo, hoja) puede invertir este proceso para volver a un estadio inicial o embrionario.

Aquellas cualidades se concentran en los tejidos de crecimiento llamados meristemas, que se conforman con células de paredes celulares delgadas y pobres en celulosa, con

citoplasma muy activo y con núcleos celulares grandes. Condiciones que permiten el crecimiento y la división celular (Valla, 1979).

Ventajas de la propagación vegetativa:

- **Reproducción de especies no mediada por semillas:** condición favorable en cuanto a especies que produzcan semillas no viables o de número y calidad reducidas.
- **Mantenimiento de clones:** mediante esta vía se duplica la información genética posibilitando el resguardo de características específicas de cualquier planta individual tales como su valor ornamental, resistencia a enfermedades, características de floración y fructificación.
- **Reducción de periodos juveniles:** cuando se obtiene una planta mediante semillas, estas pueden requerir un lapso de tiempo prolongado antes de llegar a la fase adulta donde florecen y fructifican. Estos tiempos se sortean al clonar plantas en fase reproductiva.
- **Eliminación de plagas y enfermedades:** al iniciarse el cultivo con porciones de tejido pequeñas, estos se pueden limpiar y desinfectar. Aspecto que se potencia en multiplicación mediante micropropagación donde se usan minúsculos tejidos de meristemas que están inclusive libre de virus (Hartmann & Kester, 2001).

En base a aquellas ventajas, en el BDG se realiza la propagación mediante estacas de tallo donde porciones de tallo con yemas y hojas (o sin estas), son obtenidas mediante el corte y extracción de la planta de origen, llamada “madre” y acondicionadas para que las células próximas al corte o lesión inicien el proceso de rizogénesis.

Aquel proceso de formación de nuevas raíces implica a grandes rasgos el taponamiento de las células conductoras del xilema lesionadas en corte y la división y formación de tejido nuevo, llamado callo en células contiguas al tapón suberoso. Este nuevo tejido de callo contiene células de meristemas que serán las responsables de desarrollar diferenciándose nuevas raíces.

En ese sentido, Hartmann y Kester (2001), en su capítulo sobre bases anatómicas y fisiológicas de la propagación por estacas establecen que los cambios que pueden observarse en el tejido de tallo durante la iniciación de las raíces pueden dividirse en cuatro etapas:

1. Desdiferenciación de células maduras específicas.
2. Formación de iniciales de raíz, en células cercanas a haces vasculares, las cuales se volvieron meristemáticas por desdiferenciación.
3. Desarrollo de aquellos iniciales de raíz en primordios de raíces organizados.
4. Desarrollo y emergencia de estos primordios radicales hacia afuera y a través del tejido del tallo, más la formación de conexiones vasculares entre primordios radicales y tejidos conductores de la propia estaca.

El proceso descrito se desarrolla gracias a la presencia de sustancias químicas mensajeras que regulan la respuesta de las plantas a los cambios en su ambiente; las hormonas vegetales o fitohormonas son generadas en la planta, para controlar los procesos de los tejidos favoreciendo o restringiendo la actividad celular (Campbell & Reece, 2010).

En este sentido, la promoción de la rizogénesis en DBG se favorece con el aporte de hormona IBA o ácido indolbutírico, una hormona natural de la familia de las auxinas que posee demostrados efectos como regulador del crecimiento vegetal. Específicamente en el desarrollo de callo y raíces (Hartmann & Kester, 2001).

Además de ello, se realiza una adecuada provisión de sustrato de enraíce con buena capacidad de drenaje para evitar anegamiento y pudrición, y que a la vez que posee capacidad de retener humedad, para evitar la deshidratación. Además el sustrato contiene reducidos niveles de salinidad y puede generar un cepellón compacto con escasa contracción al secado. Para ello aquí se utiliza un sustrato comercial reformulado para aportar mayor drenaje, situación que luego se compensa con riegos periódicos y la posibilidad de producir niebla sobre mesadas para evitar la deshidratación. Así, la mezcla final llamada Cutting Mix es constituida con ½ parte de sustrato comercial Farfard Germinated mix de Sun Gro Horticulture, que contiene turba *Sphagnum* fina, perlita, vermiculita y cal dolomítica. Con la adición de 1 parte de perlita agrícola fina de la marca "Persolite".

En la dimensión productiva, el uso de esta técnica en los jardines responde a situaciones donde la reproducción por semillas es difícil o imposible, en ocasiones donde se desea perpetuar alguna característica genética por medio de obtención de clones y en situaciones donde estos métodos facilitan la limpieza de especies con problemas de sanidad.

En línea con esas premisas, se utilizó esta técnica en dos ocasiones donde se trabajó con plantas de gran valor genético, que se encontraban atacadas por plagas. En primer lugar, se propagaron variedades del antiguo Jardín de Rosas, atacadas por la plaga del "escarabajo japonés" *Popillia japonica* y luego con plantas madres de *Sedum booleum* atacadas por cochinillas harinosas o mealybugs.

3.4.2. RESCATANDO EJEMPLARES DEL ANTIGUO JARDÍN DE ROSAS.

El May Bonfils-Stanton Memorial Rose Garden es un área que presenta más de 175 variedades eclécticas y diversas de rosas. A menudo llamada la "reina de las flores", la rosa es una de las flores más queridas y es la flor nacional de Estados Unidos. Estas plantas se han cultivado durante al menos 3000 años y se han hibridado extensamente durante los últimos 200 años.

En este jardín, el DBG reúne las especies de rosas que existen en la naturaleza, las rosas de jardín antiguo con cultivares clasificados hasta 1867. Y las modernas o contemporáneas que comprenden cultivares desde 1867. El objetivo es exhibir las rosas más robustas y de jardín antiguo, que crecen en sus propias raíces y parecen prosperar mejor en el seco y

soleado Colorado. De esta manera también se muestran especies trepadoras y arbustivas, rosas resistentes como la rosa de Damasco y las últimas premiadas por el All-America Rose Selections (Denver Botanic Gardens, www.botanicgardens.org, 2022).

Para soportar dicha colección, se trabajó en algunas de estas especies debido a los daños producidos por *Popillia japonica* comúnmente conocido como el escarabajo japonés. Una especie exótica, que representa una plaga en Colorado y estados aledaños debido principalmente a la ausencia de predadores naturales y la presencia de una fase adulta alada que permite la dispersión geográfica significativa.

Según la divulgación del departamento de Extensión de la Universidad Estatal de Colorado, esta plaga provoca daños significativos en huertas y jardines, en su estado de larva y fase adulta. Por un lado, las larvas se desarrollan en el suelo consumiendo raíces de césped, y los adultos se alimentan de tejidos blandos de hojas, capullos y flores (figura 27) (Colorado State University, 2022).



Figura 27. *Popillia japonica*, según la Colorado State University, las flores de rosas son uno de los alimentos más escogidos por estos insectos.

El ciclo de vida de este insecto dura un año, con una emergencia de adultos a principio de junio, abundando más a principios de verano (junio - agosto), aunque se pueden encontrar algunos adultos en septiembre (inicio de otoño en hemisferio norte). Estos pueden observarse apareándose y alimentándose en flores y hojas de plantas hospedantes. Luego, las hembras apareadas, periódicamente depositan sus huevos en las tardes, enterrándolos 5 a 7 cm bajo el suelo en raíces de césped con humedad. Cada una de ellas puede depositar

un total de 40 a 60 huevos durante el transcurso de su vida estimado de 4 a 8 semanas (figura 28).

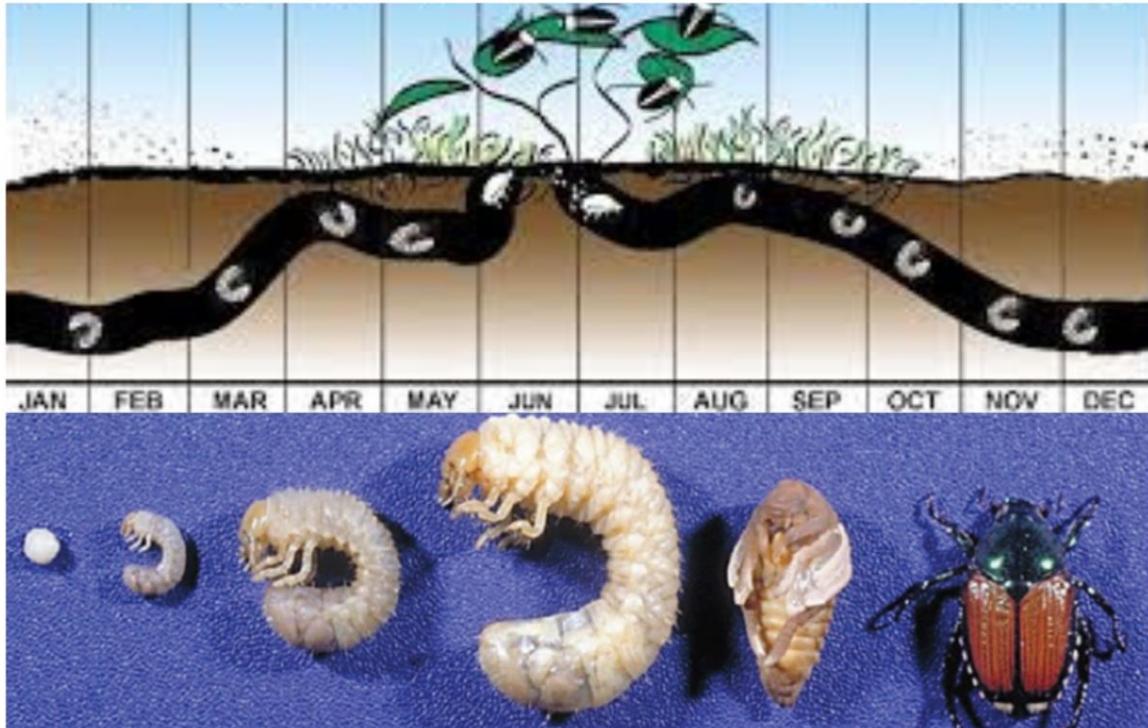


Figura 28. Arriba, el ciclo de vida anual del escarabajo japonés, con periodos en suelo y cultivos. Debajo de izquierda a derecha; huevo, larvas en estadios I, II y III, pupa y escarabajo adulto. Extraído de cartilla divulgativa de CSU Extensión.

Durante su estado de huevo y al principio de la fase de larvas, los escarabajos son sensibles a la sequía y pueden morir. Sin embargo, una vez establecidas las larvas son menos sensibles a este cambio en el ambiente. Así, las larvas alcanzan su desarrollo completo para principios de septiembre y su rápido crecimiento en este tiempo suele causar amplias podas de raíces en césped que se observan como síntomas superficiales de daños provocados por escasez de agua. Luego, cuando las temperaturas descienden por debajo de los 15 ° C, las larvas se sumergen en el suelo donde pasan todo el invierno, cesando su actividad cuando las temperaturas están debajo de los 10° C. La actividad se retoma a medida que el suelo se calienta en primavera, y luego de 4 a 6 semanas de alimentación, las larvas forman una celda de tierra y crisálida, para emerger como adulto unas semanas después (Colorado State University, 2022).

En consecuencia, se han desarrollado varios métodos para combatir esta plaga, que se diferencian por la fase en que se implementan. Para la fase adulta se han introducido trampas de color amarillo en forma de embudo, junto con fragancias florales que han dado buen resultado en lugares donde la plaga no está bien establecida. Por desgracia, donde el número de individuos es alto resulta contraproducente y no se aconseja su utilización, optando por la recolección manual en frascos con agua jabonosa, o la aplicación de químicos.

Por otro lado, existen compuestos químicos, controladores biológicos y tareas culturales sobre el césped que limitan el progreso de larvas. Allí, se aconseja el corte alto de césped y el riego profundo al inicio de la estación de crecimiento, para obtener raíces más desarrolladas y poder reducir el aporte de agua cuando se da la época de oviposición. Además, existe el uso de controladores biológicos en suelo, basados en la aplicación de nematodos parásitos de insectos, resultando eficaz *Heterorhabditis bacteriophora* y *Heterorhabditis megadis* (Colorado State University, 2022).

En base a lo expuesto, se observa que desde el DBG se controla la plaga únicamente mediante la colecta manual de escarabajos adultos en agua jabonosa. Evitando el uso de químicos por el carácter público de los cultivos y los controles biológicos por carecer de grandes extensiones de césped dentro de las instalaciones.

Sin embargo, el daño ocasionado por la plaga en los rosales ocasiona que las plantas no logran tener hojas sanas, situación que requiere la propagación mediante tejidos para salvar la genética presente en los cultivos.

En primer lugar, se realiza la extracción de tejido de las plantas madres con uso de guantes protectores y una tijera bypass que se desinfecta con solución de agua + alcohol isopropil al 70% entre cortes. El criterio de selección se basa en obtener tejidos de tallo con dos entrenudos, con presencia de yemas y tejido foliar en crecimiento, que a la vista demuestran vigorosidad. En el proceso, las colectas se disponen en vaso de precipitados con agua para evitar deshidratación.

Luego de la recogida, se llevan tejidos al área de propagación donde se desinfectan bajo corriente de agua fría y luego se sumergen en recipiente con agua lavandina al 10% durante 5 minutos. En este proceso se quitan algunas hojas para evitar deshidratación por transpiración como se observa en la figura 29.

En paralelo, se preparan los recipientes rellenando con sustrato Cutting Mix⁵ y enrasando con uso de pala de mano, luego se realiza un riego previo quedando así, el envase en condiciones de recibir el tejido.

Continuando con la manipulación del tejido las estacas de rosa tratadas con agua lavandina, se enjuagan y se escurren en un colador para luego ser sumergidas por la base en recipiente con hormona IBA al 0,1%, e insertadas en los envases con sustrato a una profundidad de 2 a 5 centímetros.

Finalmente, los contenedores con material a enraizar son llevados al invernadero donde se aplicará riego periódico y generación de niebla. A la vez que se aplicará monitoreo y prácticas de Manejo Integrado de Plagas ⁶. En la figura 30 se muestran las flores de los

⁵ Sustrato Cutting Mix: es generado con ½ parte de sustrato comercial Farfard Germinated mix de SunGro Horticulture + 1 parte de perlita fina de la marca "Persolite".

⁶ Este enfoque fue desarrollado por Vignera, Lucas H. En su informe "Prácticas de monitoreo, control biológico y manejo integral de plagas en el Jardín Botánico de la ciudad de Denver, Colorado, USA." Disponible en <https://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/6975>.

cultivares

de

rosas

propagados.



Figura 29. A la izquierda un tallo de rosa original con daños de *Popillia japonica*. En la derecha el tejido procesado, listo para la aplicación basal de hormona y siembra en contenedor.



Figura 30. Cultivares de rosas propagadas. Arriba de izquierda a derecha; *gallica* var *oficinalis*, *gallica* var *versicolor* y *golden wings*. Debajo de izquierda a derecha; *pérsica*, *pikes peak* y *damasco semperflorens*.

3.4.3. RESGUARDO DE PLANTA MADRE *Sedum booleanum*.

Esta planta endémica de Nuevo León, México, estaba presente en el área de propagación de la granja Chatfield como planta madre, presentando una grave afección de cochinilla harinosa. Para definir esta plaga, resulta útil la descripción que realiza la cartilla de detección de plagas que utilizan en área de propagación en las granjas de Chatfield, confeccionada por un proveedor de organismos e insectos benéficos llamado M&R Durango Inc. Allí se define a los Mealy Bugs (*Planococcus spp*) como pequeños insectos chupadores de cuerpo blando, conocidos por la sustancia blanca cerosa que cubre el cuerpo de las hembras adultas. Cuyo daño es provocado por las hembras jóvenes y adultas que se alimentan de la savia de las plantas y secretan melaza en la superficie de las hojas, generando hojas amarillentas, crecimiento atrofiado, pérdida de frutos o flores (M&R Durango Inc., 2017).

En base a una alta presencia de esta plaga sobre las plantas madres, se decidió su multiplicación vía enraizamiento de tallos. Para ello, se realizó en primer lugar la extracción de tejido terminal de tallo, procediendo a la quita de hojas que lo cubren densamente mediante el uso de tijeras. Luego de esto, el tejido se lavó manualmente con un cepillo de dientes y alcohol al 10% para quitar huevos de cochinillas (figura 31).



Figura 31. Tallos de *Sedum booleanum* a la izquierda con cochinillas, en centro bajo lupa se observan ejemplares y filamentos característicos. A la derecha los tallos limpios y desinfectados listos para siembra.

El siguiente paso, consistió en colocar los tejidos por cinco minutos en un recipiente con agua lavandina al 10%, luego se enjuagaron y se escurrieron en un colador. A continuación,

cada uno se sumergió por la base en recipiente con hormona IBA al 0,1% en polvo y se insertaron en envases con sustrato para esquejes Cutting Mix, que estaban llenos y enrasados con anterioridad. Finalmente se regó cada bandeja de esquejes y se llevó a invernadero donde se implementan monitoreo y control bajo manejo integrado de plagas.

En aquel invernáculo, en el marco del manejo integrado, y según la cartilla de M&R Durango Inc (2017), se aplican acciones preventivas, tales como reducir el volumen de agua de riego espaciando en varios turnos y reducción de la fertilización con nitrógeno, tomando en cuenta que las cochinillas se reproducen de forma óptima a humedad de 60%, temperatura de 26 °C y ante el elevado aporte de fertilizantes nitrogenados.

En ese sentido, también se implementa allí el monitoreo periódico y el control biológico con la aplicación de *Cryptolaemus montruzieri*, un coleóptero, cuya fase adulta se alimenta de huevos, larvas y adultos de la plaga. Y sus larvas depredadoras, también se alimentan de huevos y larvas de cochinilla harinosa (M&R Durango Inc., 2017).

3.4.4. CONSERVANDO GENES en CHATFIELD FARMS.

Con fines de salvaguardar lirios de variedades raras e históricas que podrían ser perdidas, el DBG trabaja en conjunto con la Sociedad de la conservación de Iris Histórico de Seattle y la Sociedad Americana del Iris, en el jardín de lirios de Chatfield.

El proyecto comprende a una plantación a campo de un cultivo histórico con fines de conservación, que cuenta con 300 variedades de lirios obtenidos mediante hibridación artesanal desde principios del siglo XIX por Geoge y Carla Lankow.

Los lirios son especies herbáceas perennes que poseen estructuras subterráneas llamadas rizomas y bulbos. En su apartado sobre propagación por medio de tallos y raíces especializados, Hartmann & Kester (2001) afirman que estas funcionan principalmente como almacenamiento de alimento para la planta en condiciones adversas, donde el tallo de las mismas muere al final de la estación de crecimiento y la planta continúa viva y durmiente, concentrada en esas estructuras, para luego producir nuevos tallos en posteriores estaciones con condiciones favorables de ambiente.

En base a esas características, con fines de perpetuar las variedades, se practica cada dos años la separación física de rizomas y bulbos, obteniéndose nuevas plantas clones jóvenes y sanas, mediante la quita de tejido viejo o muerto, mejorando las condiciones fisiológicas de ambiente y direccionando el crecimiento dentro de la exposición.

Esta tarea se realiza los primeros días del mes de agosto comprendidos en la mitad de la estación de verano. Allí se procede a la excavación de todo el perímetro de cada planta, quitando suelo para permitir el desanclado de raíces. Así, la mata liberada del suelo se deposita en mesa o carretilla. En ese momento, se selecciona el tejido con presencia de brotes laterales de tallo y raíces nuevos, que se distinguen por la firmeza de sus tejidos y la coloración blanca. Estos brotes son aislados con tijeras, quitándose el tallo presente, 15 centímetros por encima del bulbo, y las raíces viejas, largas o dañadas (figura 32).

De esta manera, el tejido obtenido es rotulado con marcador en su tallo y se deposita en bolsas de papel que también llevan rótulo con nombre de cultivar y su número de inventario. Luego se depositan en un área de almacenamiento frío y oscuro, para ser cultivados a inicios de primavera en macetas y bajo invernadero permitiendo el establecimiento y aclimatación para su posterior uso a campo.

En esta práctica se trabajó con los cultivares *Iris louvois* (35 u.), *Iris orchid* (34 u.) e *Iris 'Eleanor Roosevelt'* (76 u.).



Figura 32. Cartel educativo en las granjas de Cahtfield y tareas de división ejecutadas por trabajadores, voluntarios y estudiantes internos del DBG.

3.5. CULTIVO IN VITRO.

3.5.1. INTRODUCCIÓN.

Como ya se expresó en el apartado sobre propagación asexual de plantas, la célula vegetal tiene la habilidad de crecer y dividirse generando nuevas células, tejidos e individuos gracias a la totipotencia y la diferenciación.

El cultivo in vitro o micropropagación es el conjunto de técnicas que consiste en la producción de plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas. Tejidos y células son cultivadas asépticamente en tubos de ensayo o recipiente que permite el control estricto de condiciones de ambiente y la nutrición (Hartmann & Kester, 2001).

En su capítulo sobre principios de cultivo de tejidos para micropropagación, Hartamn & Kester (2001) establecen que los sistemas de cultivos de tejido tienen dos usos principales; la propagación rápida en masa de clones y desarrollo mantenimiento y distribución de clones específicos probados para organismos patógenos.

Por otro lado, esta técnica requiere instalaciones e insumos de elevado costo y la presencia de mano de obra calificada, junto a una rigurosa planificación de procesos. Ya que un error en alguna de las etapas genera altos porcentajes o pérdida total de la producción. Existiendo la posibilidad de errores respecto a la identidad de especies, introducción de organismos patógenos desconocidos o aparición de un mutante desapercibido, que pueden multiplicarse a escalas considerables y en tiempos muy cortos (Hartmann & Kester, 2001).

Salvando aquellos requerimientos y en función de las ventajas que brinda esta vía de obtención de plantas, el DBG concretó un laboratorio de micropropagación. Cuyo objetivo es proveer una vía de multiplicación y conservación genética al programa Plant Select⁷, con énfasis en la sanidad vegetal de los nuevos cultivos a introducir (Kintgen & Krishnan, 2013).

3.5.2. ORGANIZACIÓN DE LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS.

En el libro Técnicas de cultivo de tejidos para cultivos hortícolas Torres (1989) afirma que todo laboratorio en el que se realicen técnicas de cultivo de tejidos, independientemente de la finalidad específica, debe contener una serie de instalaciones básicas. Estos generalmente incluyen lo siguiente;

- Un área de lavado general.
- Un área de preparación, esterilización y almacenamiento de medios.
- Un área de transferencia aséptica.
- Salas de cultivo o incubadoras ambientalmente controladas.
- Un área de observación/recopilación de datos.

En el caso del laboratorio del DBG esas áreas se encuentran dentro de los 32 metros cuadrados (figura 33), que comprenden el laboratorio. Allí se encuentran refrigerador (1), autoclave (2), mesada con lavatorio doble (3), mesada de trabajo para preparar soluciones con instrumental de calibración (4). También, bajo mesadas y alacenas para almacenaje de químicos y material de laboratorio (5^a y 5^b), incubadoras móviles (6), flujo laminar (7), depósito de herramientas de laboratorio (8), microondas (9), mesada de revisión y sistematización (10), bajo mesada y alacena de acopio de material de librería, libros de referencia, protocolos y lupas (11a y 11b) y un área de sistematización y consulta digital a través de una computadora (12).

Por otro lado, en cuanto a organización y personal, el laboratorio depende de un departamento de cultivo de tejidos dirigido por la Dra. Sarada Krishnan y del trabajo de Mike

⁷ Plant Select: se desarrolla una reseña de este programa en anexo.

Bone y Mario Bertelmann quienes están a cargo de la introducción y seguimiento de cultivos.

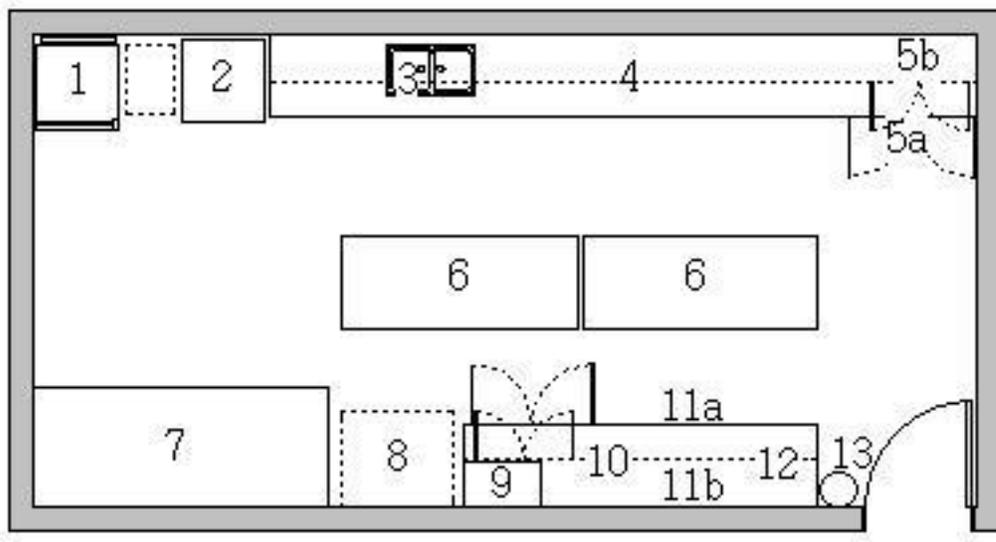


Figura 33. Plano de laboratorio de cultivo de tejidos, del Denver Botanic Gardens.



Figura 34. Equipamiento del laboratorio de cultivo de tejidos en DBG.

3.5.3. MICROPROPAGACIÓN EN EL JARDÍN BOTÁNICO de DENVER.

Desde la concreción del laboratorio, el DBG ha trabajado en la confección de protocolos de cultivo de especies que están dentro del programa Plant Select. Contando con protocolos

conformados para la multiplicación de *Syringa vulgaris* 'Prairie Petite', *Platycerium grande*, *Erodium absinthoides*, *Woodwardia areolata*, *Osteospermum* 'Avalanche', *Osteospermum* 'Lavander mist' y *Heuchera sanguinea* 'Snow angel'. Fue en base al protocolo de cultivo de esta última especie que se replicaron las tareas de las distintas etapas para su multiplicación.

En esta línea, *Heuchera sanguinea* es una especie nativa de Norte América, que pertenece a la familia de las Saxifragáceas. Es una planta perenne, de crecimiento herbáceo, con hojas redondeadas y ligeramente palmeadas. Su floración es de tipo racimos o panículas con pequeñas flores tubulares, a menudo con cálices coloridos que atraen colibríes. Además, posee resistencia a las condiciones de sequedad y crece a pleno sol o en la sombra, resultando atractiva y eficiente en jardines especialmente en cuanto al requerimiento de agua (figura 35).

Esta especie ha sido propagada mediante cultivo de tejidos para suprimir la manifestación de un virus (Kintgen & Krishnan, 2013), que se expresa en la coloración de tejidos viejos sin observarse en tejido de meristemas.



Figura 35. *Heuchera sanguinea* "snow angel" con escapos florales. Implantada en la exhibición Plant Select Garden.

En adelante, se resumen los trabajos realizados en las distintas etapas de cultivo (figura 36). Presentándose en el anexo de este informe el protocolo de cultivo, metodología de concreción de soluciones y medios, manipulación de tejido, material de laboratorio, insumos e instrumental, que posibilitaron la realización de esta experiencia.

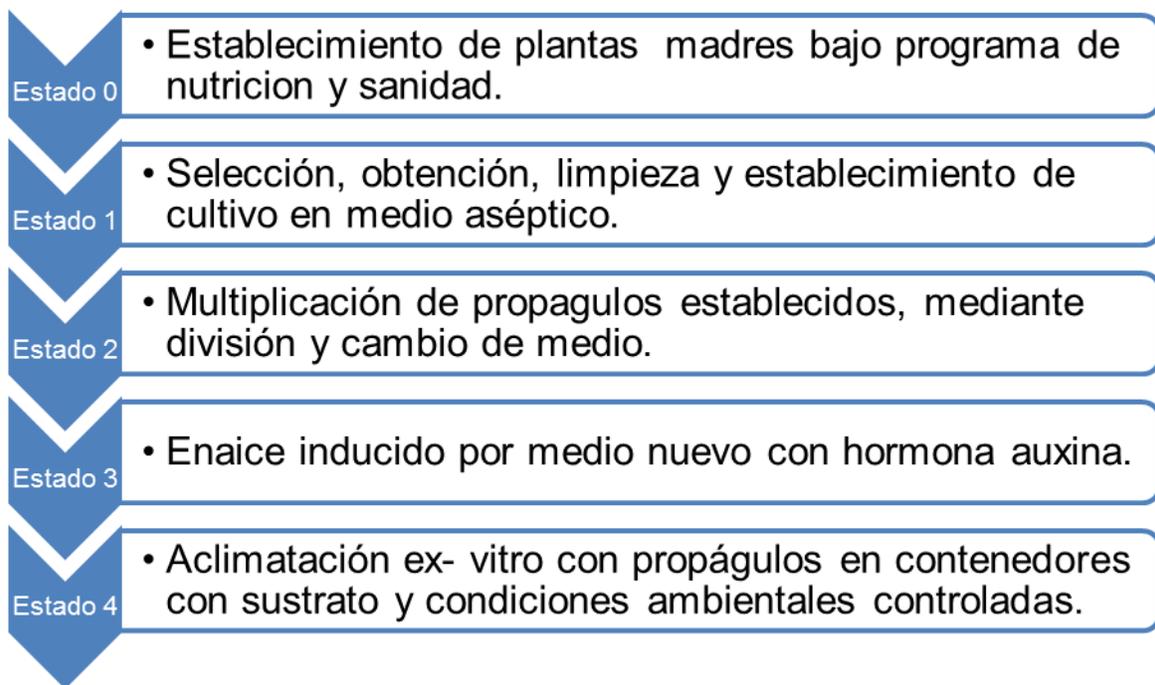


Figura 36. Esquema de fases y acciones en la propagación mediante el cultivo de tejidos mediante micropropagación.

En primer lugar, se inició en el Estado 0, con plantas madres o donantes de tejido, establecidas a campo en jardín de exhibición de Plant Select y con especies en contenedor bajo condiciones de invernadero y manejo integrado de plagas. De las mismas se obtuvo tejido nuevo del meristema de ápice de crecimiento mediante la extracción con bisturí.

Luego, aquel tejido se utilizó en el estado o fase 1, donde fue sometido a una desinfección superficial por medio de lavado durante 2 horas en agua corriente (figura 37), más una inmersión de 20 minutos en solución 10% v/v cloro + gotas de 0.1% polisorbato 20 (tensoactivo) en área de flujo laminar.

Posterior a la desinfección superficial, los explantes fueron fraccionados y seleccionados en el área de transferencia determinada por el flujo laminar, con utensilios esterilizados bajo autoclave. Allí mismo se introdujeron los mejores tejidos a tubos de ensayo esterilizados y con medio acorde para su establecimiento generado previamente⁸ (figura 38). En esa instancia se lograron 28 tubos con tejido en estado I, que fueron depositados según protocolo en condiciones de luz led blanca durante 16 horas y temperatura de 25 °C.

⁸ La esterilización y obtención de medio de cultivo se encuentran descritos en anexo.



Figura 37. Colecta y acondicionado de tejidos. Sobre la izquierda, colecta en el jardín Plant Select, en el centro colecta en invernadero de MIP y en margen derecho lavado bajo chorro de agua, en laboratorio de cultivo de tejidos.

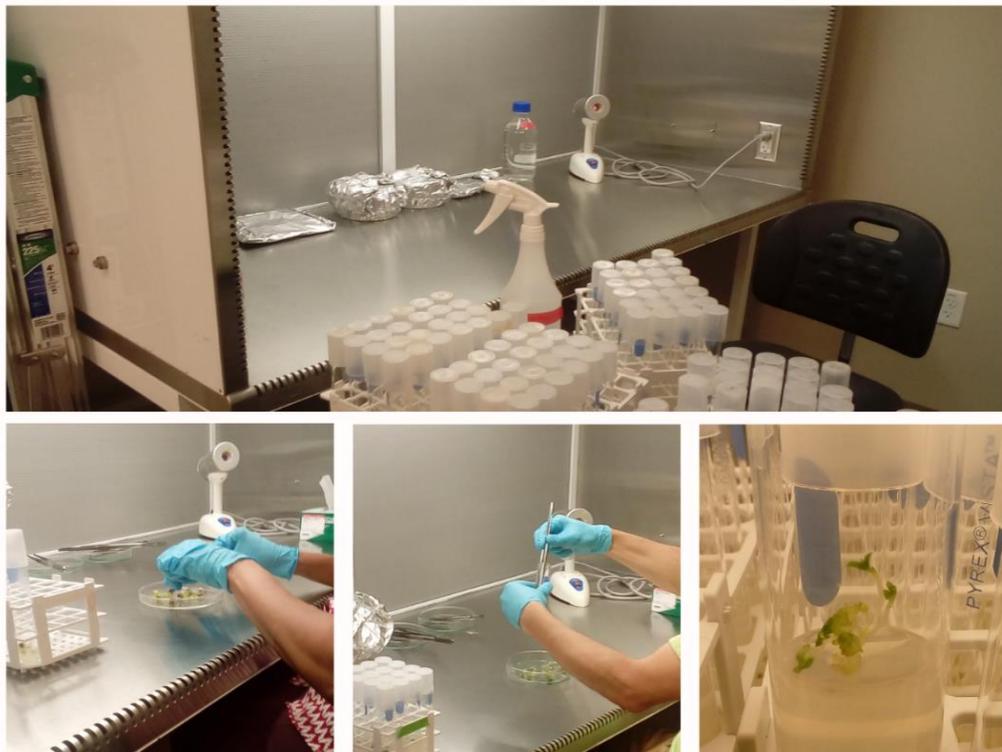


Figura 38. Arriba, área de flujo laminar con material esterilizado. Abajo, de izquierda a derecha, proceso de fraccionado y selección, introducción de tejido en tubo con medio y tubos con pecíolos de *Heuchera*.

Bajo condiciones de incubación, un cultivo debidamente establecido debería continuar creciendo y presentar nuevos brotes de yemas laterales, gracias al soporte del medio de cultivo. Sin embargo, luego de 8 días de establecimiento, 27 de 28 tubos presentaron contaminación con patógenos; en estos se observó coloración marrón o blanca en la superficie de medio y tejidos con color marrón. Situación que luego se atribuyó a contaminación de los explantes ya que con idénticos insumos se multiplicó tejido establecido en Fase 1 sin la aparición de contaminación (figura 39).

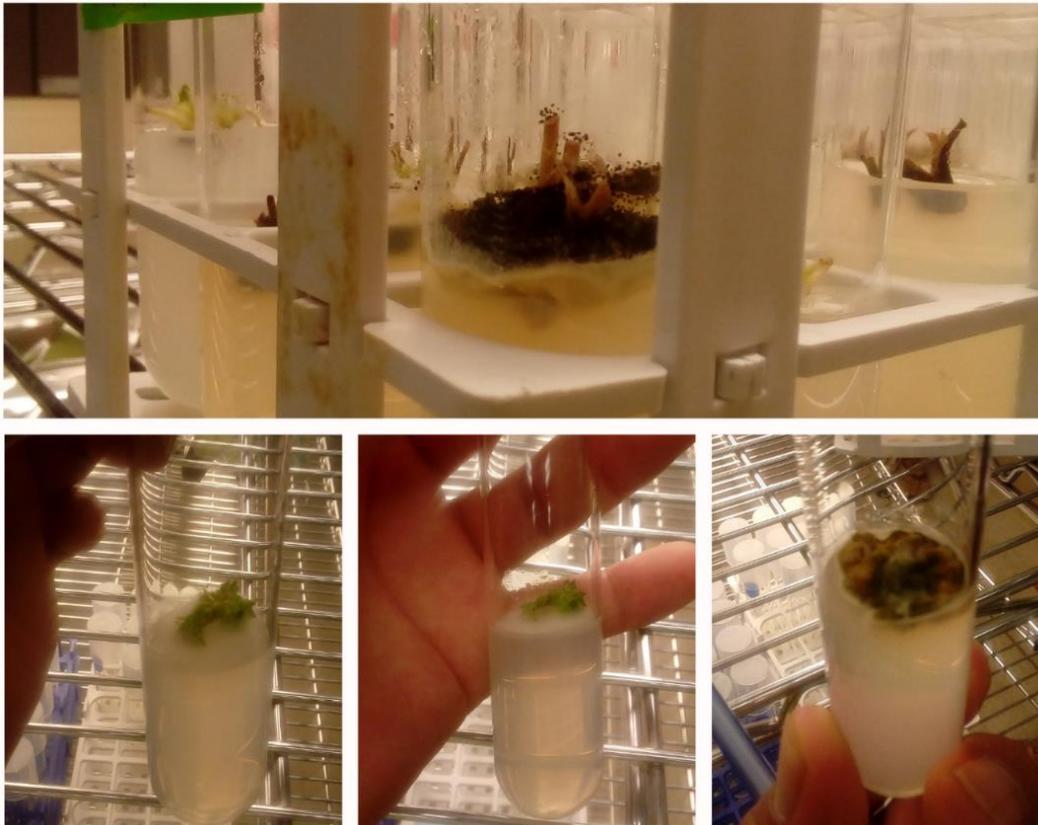


Figura 39. Cultivo de Heuchera sanguinea en fase I, con signo de contaminación en tejido y medio.

Luego de aquella experiencia, se replicó la Fase II de la técnica de cultivo de tejidos conocida como la etapa de multiplicación. Allí se dividieron tejidos establecidos correctamente en tubos con medio y en activo crecimiento de tallos y brotes axilares. El contenido de esos tubos fue procesado en flujo laminar, cortándose en 4 porciones que fueron implantadas en tubos nuevos con medio Murashige y Skoog más hormonas auxina y citoquinina, según protocolo (figura 40).

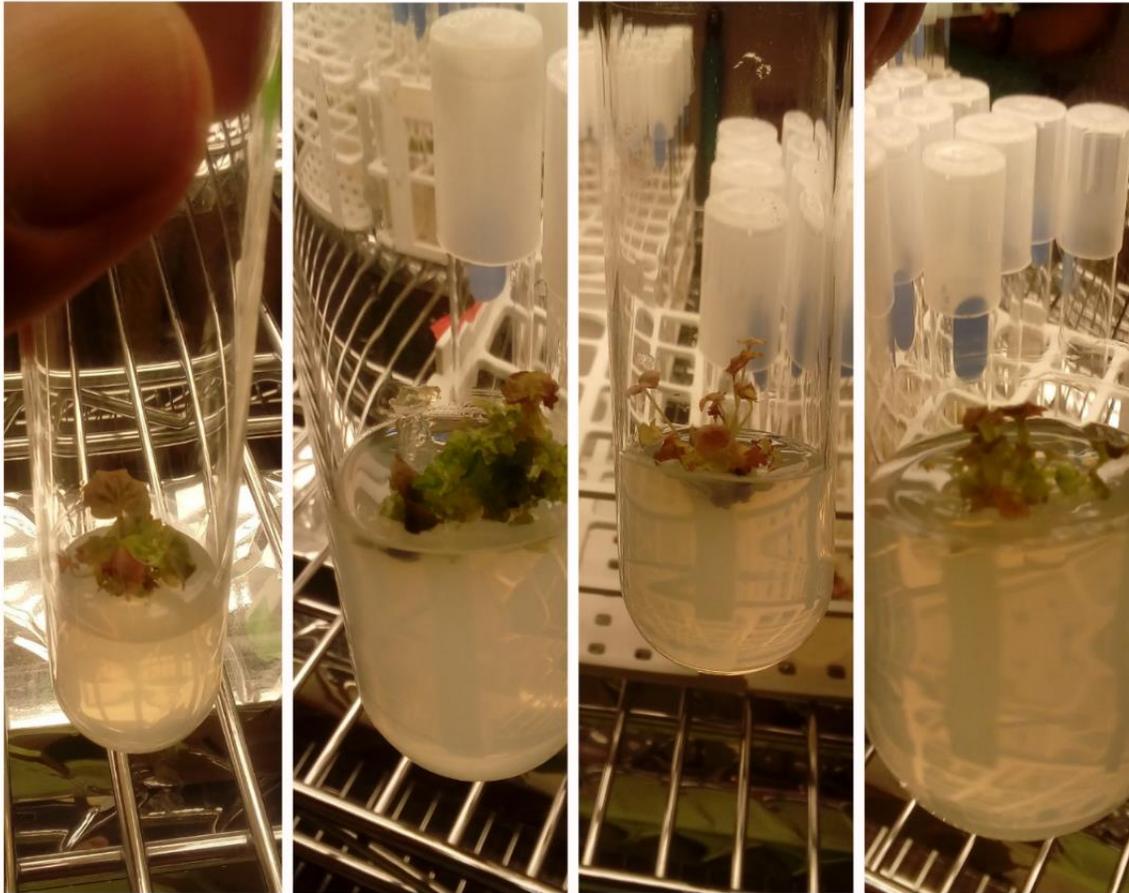


Figura 40. Evolución de tejido en fase II de *Heuchera sanguinea*, multiplicado el 17/7. De izquierda a derecha revisiones 25/7, 1/8, 14/8 y 29/8. Se puede observar aparición de callos e incremento de brotes de yemas.

Continuando con la propagación de *Heuchera sanguinea* mediante el cultivo de tejidos, se replicó la Fase III, conocida como fase de enraizamiento. Aquí se introducen los explantes a un medio nuevo sin citoquininas y con aumento de concentración de hormonas auxinas, mediada por el aporte del ácido indol butírico (I.B.A.), que provocan la iniciación de raíces y el alargamiento del tallo (Hartmann & Kester, 2001).

Aquel cambio se llevó a cabo en el área de transferencia aséptica comprendida por el área de trabajo del flujo laminar, allí se introdujeron tubos con tejido en Fase II y tubos con medio para Fase III. Junto con pinzas, porta bisturí y cajas de Petri esterilizados por autoclave previamente.

En primer lugar, se seleccionan los mejores tubos que son los de tejido vigoroso con mayor expansión en medio y en visible estado de crecimiento de tallos laterales. Luego, de ellos se extrajo el tejido, se fraccionó en cuartos que fueron introducidos en un tubo nuevo. Generando 96 tubos en Estado III, con una tasa de multiplicación de 1:4 aproximadamente (figura 41).



Figura 41. Sobre la izquierda, uno de los tubos con tejido dividido e introducido a medio para Fase III (23/8). A la derecha, tejido con raíces, tallos y hojas nuevas, luego de 11 semanas (8/11). Gentileza Mario Bertelmann.

Finalmente se llevó a cabo las tareas correspondientes a etapa de trasplante e inicio de aclimatación. Que implica el cambio del propágulo de medio aséptico a un contenedor con sustrato y bajo condiciones de invernadero. De esta manera, cada planta debe volverse autótrofa, desarrollando raíces, brotes funcionales e incrementar su resistencia a la desecación y al ataque de organismos patógenos (Hartmann & Kester, 2001).

Para concretar la tarea de cambio, se trabajó en el Área de Propagación, bajo la guía del señor Bertelmann, quien nos refirió que la práctica se centra en 10 tubos de ensayo, cuyo tejido estaba ocupando toda el área del medio de cultivo y según el rótulo su última transferencia (a Fase II) había sido en febrero de 2016.

Para el trasvase, se utilizaron 4 plugs de germinación, de cuatro celdas individuales de 15 cm³. Estos se llenaron con la mezcla de 3 partes de Fafard 4 p mix, un sustrato de la marca Sun Gro Horticulture, más 1 parte de perlita expandida fina. Por otro lado, en un recipiente metálico lleno con agua corriente, se extrajeron y lavaron individualmente los tejidos de cada tubo para eliminar el medio de cultivo.

Luego, se depositó una planta limpia en cada celda y se regó con aspersor en reiteradas pasadas a saturación. De esta manera, los plug se introdujeron dentro de porta bandejas

que permite crear un microambiente mediante la presencia de una cubierta plástica rígida y traslúcida. Cerrada aquella cubierta, se colocó sobre ella una malla de tela a modo de media sombra y se llevó la bandeja a condiciones de invernadero, regando a mano hasta que se retiró la tapa y el cultivo quedó bajo sistema de niebla y riego por aspersión.

Finalmente, se realizó una supervisión semanal del cultivo, donde se observó que las porciones pequeñas de tejido no sobrevivieron a las nuevas condiciones. Sin embargo, los tejidos más vigorosos, con presencia de hojas en desarrollo continuaron creciendo y estableciéndose en el nuevo medio, sobreviviendo 5 plantas de un total de 16 (figura 42).



Figura 42. Arriba proceso de trasvase de tubo con medio de cultivo a contenedor con sustrato. Abajo sobre margen izquierdo el cultivo el 25/7 día de trasvase y, sobre la derecha el mismo cultivo al 29/8.

4. CONCLUSIONES.

Durante mis prácticas en el Jardín Botánico de Denver. Logré conocer procesos, departamentos y actores que hacen posible el sostenimiento de las colecciones y exhibiciones vegetales. Estos son la base del desarrollo de múltiples programas y actividades, con el fin de contactar a las personas con las plantas.

En este sentido, en las instalaciones del Jardín, logré replicar distintas tareas que se enmarcan en procesos de obtención, multiplicación y uso de especies vegetales.

En primer lugar, participé en procesos de obtención, limpieza y almacenamiento de semillas. Conocí también, las acciones de catalogación y gestión de las mismas, logrando ponderar su peso específico en la cadena productiva, respecto del sostenimiento a corto y largo plazo de las exhibiciones.

En segundo término, logré replicar tareas para la obtención y multiplicación de especies utilizando diferentes métodos y técnicas que la posibilitan, como la propagación mediante semillas, la división de matas y la clonación mediante enraizado de tejidos vegetativos. Reconociendo métodos, insumos y herramientas que se utilizan en la cotidianidad y en las acciones emergentes respecto de la viverización y propagación de especies.

En tercera instancia, logré participar en cada fase establecida para la multiplicación a través del cultivo de tejidos, obteniendo experiencia en el trabajo de acondicionamiento de material vegetal y de laboratorio, y la posibilidad de ponderar su incidencia en esta vía de multiplicación a la luz de la contaminación de tubos y tejidos. A su vez participé en el dimensionado, concreción y calibración de soluciones stock y medios de cultivo que permitieron replicar el protocolo de propagación de *Heuchera sanguinea*.

En términos generales, mediante las prácticas de viverización logré conocer y participar del ámbito productivo del Jardín que usualmente es desconocido para los usuarios del mismo. A su vez logré conocer las políticas y programas que desarrolla la institución en torno a educación, relación comunitaria y desarrollo de arte y eventos y ser partícipe de numerosas actividades orientadas al público en general, como a las personas que buscan capacitarse en torno a la producción vegetal y los desarrollos que de esta parten.

En lo personal esta experiencia implicó la evaluación del conocimiento adquirido durante mi trayectoria como estudiante de la Tecnicatura en Viveros dentro de la UNRN. En esa dimensión, logré ponderar satisfactoriamente la formación académica que allí obtuve, y que me permitió abordar profesionalmente tareas frecuentes y problemas emergentes en los jardines.

Finalmente el trabajo en el DBG me permitió ampliar el conocimiento sobre la gestión botánica y reflexionar sobre la necesidad de la concreción de una institución similar en mi ciudad.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- 100,000 Strong in the Americas. (8 de 2022). <https://www.100kstrongamericas.org/>.
Obtenido de <https://www.100kstrongamericas.org/>
- Berger.ca. (2022). <https://www.berger.ca/en/horticultural-products/bm6-all-purpose/>.
Obtenido de <https://www.berger.ca/en/horticultural-products/bm6-all-purpose/>
- Botanic Gardens Conservation International. (2022). <https://www.bgci.org/>.
- Campbell, N., & Reece, J. (2010). Unidad 6. Forma y funcionamiento de las plantas. En N. Campbell, & J. Reece, *Biología* (págs. 910-911). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Colorado Department of Agriculture & Colorado State University. (7 de 2015). <https://ag.colorado.gov/>. Obtenido de <https://ag.colorado.gov/conservation/noxious-weeds/noxious-weed-species-id/russian-olive>
- Colorado Preservation, I. (7 de 2020). <http://coloradopreservation.org/>. Obtenido de http://coloradopreservation.org/crsurvey/rural/baca/sites/baca_resources_depression.html
- Colorado State University, U. D. (8 de 2022). <https://extension.colostate.edu>. Obtenido de <https://extension.colostate.edu/publications-2/spanish-publications/>
- Denver Botanic Gardens. (1 de 2021). www.botanicgardens.org. Obtenido de <https://www.botanicgardens.org/mission-values>
- Denver Botanic Gardens. (2022). www.catalog.botanicgardens.org/. Obtenido de www.catalog.botanicgardens.org/.
- DENVER BOTANIC GARDENS. (s.f.). *PROTOCOLO DE CULTIVO DE TEJIDOS*. DENVER - COLORADO.
- Forest Service USDA. (4 de 10 de 2022). Obtenido de www.fs.usda.gov:
https://www.fs.usda.gov/detail/arp/learning/history-culture/?cid=fsm91_058308
- González, M. (2008). *Avances en la investigación sobre cochinillas harinosas*. Mendoza: INTA.
- Hartmann, H. T., & Kester, D. E. (2001). *Propagación de Plantas*. México: Compañía Editorial Continental.
- Kelaidis, P. (7 de 8 de 2017). Consideraciones sobre el Jardín Botánico de Dénver. (R. Lincan, L. Vignera, & I. Edwards, Entrevistadores)
- Kintgen, M., & Krishnan, S. (2013). Plant Select® a brief overview, history and future of a plant introduction program. *Acta horticultrae*, (págs. 585-589).

- Lady Bird Johnson Wildflower Center. (8 de 2022). <https://www.wildflower.org>. Obtenido de <https://www.wildflower.org>.
- M&R Durango Inc. (8 de 2017). Beneficials and pest monitoring chart. Durango, Colorado, Estados Unidos de América.
- Plant Select. (8 de 2020). <https://plantselect.org/>. Obtenido de <https://plantselect.org/>
- Sun Gro Horticulture. (8 de 2022). <https://fafard.com/product/fafard-ultra-container-mix-with-extended-feed/>.
- Torres, K. C. (1989). Stages of Micropropagation. En K. C. Torres, *Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops* (págs. 53-63). New York: Springer Verlag New York Inc.
- Traylor, P. (1 de 8 de 2017). *FOTOS: El Dust Bowl en Colorado y las Grandes Llanuras*. (The Denver Post, Editor, & P. Traylor, Productor) Obtenido de www.denverpost.com: <https://www.denverpost.com/2017/08/01/dust-bowl-colorado-great-plains-photos/>
- Unites States Census Boreau. (8 de 2020). www.census.gov. Obtenido de <https://www.census.gov/search-results.html?searchType=web&cssp=SERP&q=Denver%20city,%20Colorado>
- Universidad de Wisconsin, d. d. (8 de 2022). <https://hort.extension.wisc.edu>. Obtenido de <https://hort.extension.wisc.edu>: <https://hort.extension.wisc.edu/articles/mealybugs>
- Universidad Nacional de Rio Negro. (29 de 6 de 2015). Resolución CDEyVE N°030/15. Viedma, Rio Negro, Argentina.
- Valla, J. J. (1979). *Botanica. Morfología de las plantas superiores*. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur S.A.
- www.census.gov/prod/cen2010/pl94-171.pdf. (2017). Obtenido de www.census.gov/prod/cen2010/pl94-171.pdf.

Anexo I – Denver Botanic Gardens – Protocolo de cultivo para *Heuchera sanguinea* ‘Snow angel’.

Selección de explante: se toman las hojas de desarrollo, de plantas a campo o de cultivo en invernadero. De estos, se utilizan secciones de pecíolo de 5 mm como explante.

Esterilización superficial: lavar el explante en agua corriendo durante dos horas. Luego se esteriliza bajo campana de flujo laminar con solución 10% v/v cloro + 0.1% tween20 (polisorbato 20, tensoactivo) durante diez minutos. Enjuague tres veces con agua estéril por ósmosis inversa.

Medios de cultivo: Estadio 1; M.S.+ 1,0 mg/l B.A. + 0,1 mg/l N.A.A.

Estadio 2; M.S.+ 1,0 mg/l B.A. + 0,1 mg/l N.A.A.

Estadio 3; M.S.+ 1,0 mg/l I.B.A.

Requisitos de crecimiento y tasa de multiplicación: los tejidos se cultivaron a 25°C en una cámara de crecimiento iluminada a aproximadamente 250 pies candelas⁹ con fotoperiodos de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, usando cuatro lámparas fluorescentes blancas de 17 w.

Estadio	N° Semanas	Tasa de multiplicación
Estado 1 (iniciación) a Estadio 2	4	1:8
Estado 2 (proliferación) a Estadio 2	4	1:4
Estado 2 a Estadio 3 (enraíce)	4	1:4*

* El factor 4 supone que no se devuelven plantas a la etapa 2 para continuar la producción.

Requerimientos del Estadio 4: plántulas transferidas a 3: 1 (Fafard 4 p mix¹⁰ y perlita) funcionaron mejor que las transferidas a 3: 1 (Farfard Germinated Mix¹¹ y perlita).

Nebulización: 5 días de niebla cada 3 minutos por lapso de 8 segundos. Y 7 días de niebla cada 11 minutos por 8 segundos.

Sombreo: media sombra durante 12 días.

Las plantas estaban bien enraizadas 3 semanas después del trasplante de la etapa 3 a la mezcla de sustrato para macetas.

⁹ Foot-candle: unidad de iluminación equivalente a un lumen por pie cuadrado (lm/pie²).

¹⁰ Sustrato comercial de SunGro Horticulture: contiene turba *Spagnum* de Canadá, corteza, perlita, vermiculita y cal dolomítica. Posee tamaño mediano de partículas y drenaje medio.

¹¹ Sustrato comercial de SunGro Horticulture: contiene turba *Spagnum* fina, perlita, vermiculita y cal dolomítica. Posee partículas pequeñas de alta retención de agua y bajo drenaje.

Débil para terminar (TBD). Tiempo total de producción (un ciclo) al menos 18 semanas (DENVER BOTANIC GARDENS).

Anexo II – Protocolo de obtención de soluciones previas para la obtención de medios de cultivo.

En su capítulo técnicas de micropropagación in vitro, Hartmann & Kester (2001) afirman que el medio de cultivo tiene dos funciones principales; en primer lugar, proporciona los nutrientes básicos para el crecimiento continuado de los explante aislados y posteriores propágulos. Luego, su función es direccionar el crecimiento y desarrollo del tejido, mediante el control hormonal siendo las auxinas y citoquininas hormonas primarias, a las que en situaciones se suman giberelinas y ácido abscísico.

En base a aquello, para preparar medio de cultivo para *Heuchera*, el DBG utiliza un medio nutricional base creado por Toshio Murashige & Folke Skoog que aporta macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y sacarosa, al tejido para vivir y continuar creciendo de forma dependiente (Hartmann & Kester, 2001). Medio al que se adhieren gelificante para estructurarlo, y hormonas 6- bencilaminopurina “B.A.” (citoquinina) y ácido 1-naftaleneacético “NAA” (auxina) de origen sintético, en concentraciones establecidas en protocolo.

En la práctica, para la confección de medios de cultivo, el DBG posee un protocolo donde el medio M.S. se fracciona en siete sub soluciones que se mantienen pre-elaboradas en refrigerador. Estas luego son dimensionadas y mezcladas con la adición de azúcar, hormonas y gelificante (tabla 1).

Stock	Compuestos Químicos (premezcla para medio M.S.)
A	Nitrato de Amonio
B	Nitrato de Potasio
C	Fosfato potásico monobásico, ácido bórico, yoduro de potasio, molibdato de sodio dihidratado y clorohidrato hexaidratado de cobalto.
D	Cloruro cálcico dixhidrato
E	Sulfato magnesio heptahidrato, Sulfato de magnesio (II) monohidrato, Sulfato de zinc heptahidrato y sulfato de cobre (II) pentahudrato.
F	Sulfato de hierro (II) heptahidrato y disodio EDTA
V	Tiamina HCL, Myo-inositol, glicina, ácido nicotínico, pyridoxine HCl

Tabla 2. Soluciones stock para la confección del medio M.S.

En cambio, las soluciones que contienen hormonas se efectúan al momento de su uso para evitar reacciones que impliquen la pérdida de propiedades.

En la práctica siempre se prepara un litro de medio de cultivo que se fracciona en tubos de ensayo con hasta 15 ml de la mezcla logrando obtener un total de 66 tubos. De esta manera, para lograr un litro de medio para Estadio 1 se requieren los siguientes ingredientes;

- 10 ml de cada una de las siete soluciones stock (A, B, C, D, E, F y V).
- 1,0 ml de solución BA,

- 0,1 ml de solución de NNA
- 30 gramos de sacarosa y 8 gramos de agar.
- Con el uso de base o ácido se lleva la solución a pH 5.

Anexo III – Preparación de solución de hormona B.A. 1,0 mg/l.

En base al dato de concentración requerida se establece que para un litro de solución se necesita 1 mg de hormona. Luego aplicando proporción directa, para 100 ml (0,1 litro) se requiere 0,1 mg. Con este último dato se enciende la balanza electrónica de precisión y abriendo solo una puerta lateral se deposita un recipiente plástico pequeño. Luego se cierra la puerta y se espera que la pantalla marque estabilidad de peso, cuando eso sucede se tara la balanza y con ayuda de una pequeña cuchara metálica se introduce abriendo solo una puerta lateral, pequeñas cantidades de BA (polvo) hasta llegar a pesar 0,1 mg.

Acto seguido, el polvo pesado se lleva a vaso de precipitados y se disuelve con 5 ml de HCl 0,5M y 50 ml agua destilada por ósmosis inversa. Luego se lleva a mezclador magnético a temperatura de 190° C y a velocidad 1 hasta que no se observa solutos libres. Cuando esto sucede se lleva la solución a bureta graduada y se enrasa a 100 ml con uso de piseta con agua destilada.

Finalmente, la solución se estabiliza a pH 5 con ayuda de pehachimetro y el agregado de gotas mediante pipeta de hidróxido de potasio 1M ó ácido clorhídrico 37%, según sea necesario. En esta oportunidad se logró obtener un pH final de 4,99 dando por concluida la solución hormonal (figura1).



Figura1. 100 ml de Solución 1mg/l de 6- bencil amino purina "B.A." a pH 4.99. Esta es una hormona citoquinina sintética que promociona la formación de callo y la proliferación de yemas axilares.

Anexo IV – Preparación de solución de hormona N.A.A. 0,1 mg/l.

Tal como se detalló anteriormente, con el dato requerido de concentración final se establece que para un litro de solución se requiere 0,1 mg de hormona. Por ello proporcionalmente para 100 ml (0,1 litro) se necesitan 0,01 mg. Con esa magnitud, se prepara la balanza nuevamente y se repite el procedimiento descrito anteriormente con la adición consecutiva de pequeñas cantidades de polvo NAA. Luego, se lleva la hormona a vaso de precipitados y se enjuaga el recipiente que contuvo el soluto con alcohol etílico que también es necesario para disolverlo inicialmente (2 a 5 ml).

Luego, se agrega agua destilada gradualmente hasta los 100 ml y en mezclador se disuelve a 190 °C y marcha 1, cuando no se observa polvo sin disolver se ajusta el pH 5 con adición de gotas muy pequeñas de hidróxido de Potasio 1 M finalizando la preparación.

Anexo V – Preparación de medio de cultivo para Estado I.

Con la presencia de las soluciones Stock y las soluciones hormonales, se procede a la concreción del medio de cultivo para Fase 1.

Con ese fin, en un vaso de precipitados de 1000 ml se colocan 200 ml de agua destilada y se lleva este recipiente a agitador magnético a marcha 1 y temperatura ambiente. Luego, con una pipeta se agregan 10 ml de soluciones stock A, B, C, D, E, F y V y se suman 1,0 ml de BA y 0,1 ml de NAA (figura 2).



Figura 1. La Dra. Krishnan realiza la primera medición y agregado de solución stock al vaso de precipitados de 1 litro sobre agitador magnético.

Por otro lado, siguiendo la descripción metodológica de pesaje descrita para realización de soluciones hormonales, se pesan en balanza electrónica 30 gramos de azúcar y 8 gramos de agar que se vuelcan al mismo vaso de precipitados.

Luego, con agua destilada se lleva esta solución a los 1000 ml dejando el agitador magnético en 168 °C y a velocidad 1, esperando que a misma comience a hervir mostrando burbujeo y coloración marrón clara. Para acelerar el hervor se decide llevar la solución a microondas; una vez aparecido el burbujeo se detiene el aparato y se extrae el vaso con solución finalizando la preparación de medio de cultivo.

En línea con estas tareas, y aprovechando que el medio generado aun presenta fluidez, se continua con el llenado de tubos de ensayo tomando gradillas porta tubos de 32 unidades con tubos de ensayo esterilizados previamente. En ellos se vierte medio hasta un cuarto de su volumen, que son aproximadamente 15 ml, luego se tapan con una tapa especial plástica y se depositan en otra grilla rotulada con la siguiente leyenda “*Heuchera* 7/12/17 – MS+1BA+0,1NAA”. El ese proceso se llenan un total de 52 tubos que se llevan a esterilizar mediante el uso de autoclave (figura 3) durante media hora con una presión de 15 psi y 100°C.



Figura 2. Tubos de ensayo en gradillas, con medio de cultivo luego de ser esterilizados por autoclave a 15 PSI y 100°C durante 30 minutos.

Finalmente, para concluir con las tareas previas para la introducción de tejido de *Heuchera sanguinea* a Estado 1, se procede a la esterilización por autoclave de los insumos metálicos y de vidrio necesarios para operar de forma aséptica. Así cajas Petri porta bisturí y pinzas se envuelven en papel aluminio colocándose una cinta adhesiva testigo en el exterior de los paquetes que cambian de color cuando el auto clave sobrepasa los 121°C asegurando la correcta esterilización.

Anexo VI – Colecta y establecimiento Estado I, de tejidos de *Heuchera sanguinea*.

En esta etapa el manejo apropiado de las plantas madres puede ser importante para obtener una regeneración exitosa y reducir la contaminación. En general, los tejidos más jóvenes, como las puntas de brotes terminales o axilares se regeneran mejor que otros tejidos del tallo más viejos y maduros (Hartmann & Kester, 2001). Con estas consideraciones la Sra. Krishnan nos guía en la obtención de material para obtener explanto.

En este sentido, las plantas madres donantes serán las más vigorosas y sanas presentes en la colección exhibida junto a un lote pequeño que se encuentra en invernadero bajo condiciones de ambiente controladas. La selección excluyente de brotes nuevos de estas dos fuentes nos asegura, según Krishnan, la obtención de tejido de mayor calidad.

Aquí cabe recordar, que esta planta posee un tallo corto sobre el cual aparecen las hojas de forma arrosetada junto al suelo, razón que implica cortar con bisturí por la base para obtener brotes de hojas nuevas como requiere el protocolo. De esa manera, el tejido desprendido contiene partes nuevas y viejas, por lo que se disgrega y selecciona resguardando en vaso de precipitados solo material nuevo. Ese proceso implica el corte de varias plantas por lo que se esteriliza el bisturí entre cortes con solución de alcohol isopropil y agua destilada al 70%.

Luego de la colección, y en instalaciones del laboratorio se coloca una malla fina sobre el vaso de precipitados contenedor ajustándola con un elástico. El recipiente luego se coloca en una pileta bajo un chorro de agua corriente durante dos horas y finalmente se escurre el agua y se lleva el vaso a flujo laminar. Allí se encuentran preparados los materiales esterilizados en autoclave junto con servilletas y aspersor con solución de alcohol isopropil al 70%, con el cual se limpia la superficie del flujo laminar y se rocían todos los elementos que ingresan a su área de trabajo incluidos los guantes de látex que protegen y aíslan las manos.

Continuando el proceso de desinfección superficial, se sumerge el tejido en solución 10% v/v de cloro + gotas de 0.1% polisorbato 20 (tensoactivo) durante veinte minutos. Luego se enjuaga tres veces con agua destilada y se da por finalizada la esterilización.

El paso siguiente es una segunda disgregación y selección del tejido para explante dentro de una caja de Petri, con ayuda de pinzas y bisturí. En el interior del cristal, se separan dos fracciones imaginando una línea divisoria a la mitad del contenedor, donde la fracción más cercana a la pared del flujo contiene peciolos aptos para cultivar y la otra orientada hacia el exterior contiene la fracción que será desechada debido a presencia de coloración marrón o daños provocados en proceso de desinfección.

Luego de aquello, se procede a la introducción del tejido dentro del tubo con medio buscando operar lo más adentro posible del flujo laminar, extendiendo los brazos y llevando caja con tejido y tubos hacia esa área. De esa manera, se toma por la base un tubo con

medio para Estado I destapándolo y con pinzas se deposita en su interior un explante haciendo una breve presión para que ambos queden en contacto. Procurando que el tejido quede en forma levemente diagonal y respetando el sentido de crecimiento. De esta manera, se cierra el tubo y se lo deposita en gravilla rotulada repitiéndose el procedimiento con todos los peciolo obtenidos, logrando llenar 28 tubos con tejido en estado I.

Finalmente, se lleva la gravilla completa a incubadora con luz led blanca durante 16 horas y temperatura de 25 °C controlando semanalmente la evolución de esta etapa que según el protocolo dura un total de cuatro semanas.

RESULTADOS DE ESTA ETAPA

Un cultivo debidamente establecido debería continuar creciendo y presentar nuevos brotes de yemas laterales, gracias al soporte del medio y las hormonas en él presente. Sin embargo, luego de 8 días del establecimiento se observó contaminación en 27 tubos de un total de 28. En ellos se observó coloración marrón en tejidos y coloración blanca cubriendo el medio de cultivo.

Aquel resultado, podemos atribuirlo al origen de los explante debido a que con similares insumos, instalaciones y procedimientos en esa jornada también se realizó una multiplicación de tejido ya establecido en Estado I para aprovechar el exceso de tubos con medio sin observarse en los mismos aparición de contaminación.

De esta manera, se puede centrar el origen de la contaminación a una desfavorable condición de crecimiento y ambiente de las plantas madres donantes. En este sentido, Hartmann & Kester (2001) en su apartado de principios de cultivo de tejidos para la micropropagación establecen que los orígenes de la contaminación de organismos patógenos pueden ser resultado de una ineficiente desinfección, debido a que esos agentes no solo están en la superficie, sino que están en áreas de difícil desinfección, como es el caso de la superficie pubescente en *Heuchera sanguinea*.

En suma, a esa condición los autores citados expresan que los patógenos pueden estar en el interior del tejido favorecidos por la presencia de alta humedad o presencia de contacto con el suelo (Hartmann & Kester, 2001). Estas condiciones se cumplen aquí debido a que el cultivo es de tipo herbáceo y de crecimiento arrosado junto al suelo y ambos lotes de plantas donantes se encontraban bajo riego por aspersion, y uno de los mismos implantado a campo, y podría ser causante de una contaminación hacia el interior de los tejidos.

Anexo VII – Estado II, de multiplicación para *Heuchera sanguinea*.

La función de la etapa de multiplicación es incrementar el número de propágulos para su enraizamiento posterior hasta el estado de plantitas. Los explante expandidos en la Etapa 1 se cortan y los propágulos se vuelven a cultivar en un nuevo medio (Hartmann & Kester, 2001).

Como se adelantó más arriba, esta etapa fue lograda gracias a la presencia de tejido establecido previamente y según su rótulo, en Estado 2 desde febrero de 2016.

En este procedimiento se trabajó con dos pares de pinzas y dos portas bisturí con hojas de corte, que se intercalaban entre cortes y tomas para desinfectarlos bajo alta temperatura en una resistencia eléctrica. De esta manera una pinza y bisturí usados sobre un tejido, eran llevados por unos segundos al rojo vivo mientras se continuaba la división e introducción con el otro par de herramientas.

Como en la fase anterior, aquí la esterilidad se favoreció al trabajar con brazos extendidos hacia dentro del flujo laminar, al abrir y exponer el material proveniente de autoclave recién cuando se utiliza y mediante la selección previa de los mejores tubos para multiplicar.

De esa manera, se retiró el envoltorio de una de las cajas de Petri colocándose sobre mesada dentro del flujo laminar. Se introdujo allí un tubo seleccionado abriéndolo y colocando en sentido horizontal. Con la ayuda de pinzas se extrajo el tejido tratando de extraer la menor cantidad de medio, depositando el material sobre la caja de Petri. Sobre ese cristal con bisturí y pinza se dividen en cuartos los tejidos, seleccionando la fracción sana, de buen tamaño y con presencia de peciolos y hojas de coloración verde. Y descartando la porción en mal estado o de tamaño muy pequeño.

Así, con un stock de nuevos explantes se tomó por su base a un tubo destapándolo. Con pinzas se depositó el explante en el medio nuevo respetando el sentido de crecimiento y procurando que ambos queden en contacto sin que las hojas terminen sumergidas en el medio.

Finalmente, replicada la tarea hasta finalizar con los tubos nuevos los mismos fueron depositados en incubadoras móviles en condiciones establecidas en protocolo bajo control semanal.

Anexo VIII – Estado III, de enraice de tejidos de *Heuchera sanguinea*.

En esta fase se inducen cambios en el medio de cultivo y consecuentemente en el tejido establecido. En las etapas anteriores, los explantes fueron introducidos en un medio rico en citoquinina, que promocionaba el crecimiento mediante brotes laterales e inhibía la producción de raíz y el alargamiento del tallo. A diferencia de aquello, aquí se reducen por completo las citoquininas y se provee al medio auxinas que provocan la iniciación de raíces y el alargamiento del tallo (Hartmann & Kester, 2001).

Para poder realizar este cambio, junto a Mario Bertelmann se realizó previamente la esterilización con autoclave de insumos y materiales incluidos los tubos de ensayo con nuevo medio.

En relación a este último insumo, se realizó 1,5 litros de medio M.S. con la eliminación total de hormonas ácido 1-naftalenacético “N.A.A” (auxina) y 6- bencilaminopurina “B.A.” (citoquinina) que fueron reemplazadas por una concentración de 1,0 mg/l de ácido indol butírico “I.B.A.” según protocolo.

El cambio de medio se llevó a cabo en el área de transferencia aséptica, comprendida por el área de trabajo dentro de flujo laminar; allí se introdujeron tubos con tejido en Estado II y

tubos con medio de Estado III, material de autoclave para manipulación comprendidos por par de pinzas, porta bisturí con hojas nuevas y cajas de Petri.

Como en ocasiones anteriores, se realizó primeramente una selección de los mejores tubos que fueron a simple vista los más vigorosos con mayor expansión en medio y en visible estado de crecimiento de tallos laterales.

El segundo paso fue abrir una caja de Petri y rociar con alcohol isopropil al 70%. Luego, trabajando lo más hacia adentro del flujo se tomó un tubo seleccionado, se destapó y se orientó horizontalmente quitando el tejido con pinzas largas y tratando que el mismo no traccione mucha cantidad de medio. Este tejido se depositó en el Petri donde se fraccionó con cortes de bisturí en cuartos, cada uno fue tomado con pinza e introducido en un tubo con medio nuevo.

En aquellas maniobras, como ya se expuso anteriormente, entre cortes y tomas se lleva porta bisturí con hoja y pinzas a esterilizar en resistencia eléctrica, además se desechó tejido pequeño que se disgregara en la división y se cambiaron las cajas de Petri cada cuatro tubos procesados. En simultáneo, frecuentemente se roció y limpió la mesa del flujo laminar con alcohol y servilletas.

En el proceso, se trabajó con tejido establecido en 25 tubos generándose tres gradillas con 96 tubos en Estado III, con una tasa de multiplicación de 1:4 aproximadamente.

Anexo IX – Estado IV, de trasplante y aclimatación de *Heuchera sanguinea*

Esta etapa final implica el cambio del propágulo del medio aséptico a un contenedor con sustrato bajo invernadero. Al principio, la nueva planta puede estar enraizada o no, y para que pueda sobrevivir debe pasar por un periodo de aclimatación volviéndose autótrofas, desarrollando raíces, brotes funcionales e incrementar su resistencia a la desecación y al ataque de organismos patógenos (Hartmann & Kester, 2001).

Para ello, se debe transferir la planta a un envase con sustrato que otorgue humedad, presencia de aire y buen drenaje, para favorecer el anclaje y desarrollo de raíces. Además, tallos y hojas deben contar con elevada humedad junto con un sombreado que evite la radiación solar directa.

En ese sentido, para concretar la tarea de cambio se trabajó en el Área de Propagación con la supervisión del señor Bertelmann quien nos expresó que la práctica se realizaría en 10 tubos de ensayo cuyo tejido estaba ocupando toda el área del medio de cultivo en crecimiento activo y según el rótulo su última transferencia (al Estado II) había sido en febrero de 2016.

Para el trasvase, se preparan 4 plugs de germinación que contienen cuatro celdas individuales de 15 cm³. Esos contenedores son llenados con la mezcla de 3 partes de Fafard 4 p mix un sustrato de la marca Sun Gro Horticulture más 1 parte de perlita

expandida fina. El primer componente según su rótulo contiene turba *Spagnum* de Canadá, corteza compostada, perlita, vermiculita y cal dolomítica, que le otorgan un tamaño mediano de partículas y drenaje medio. Por su parte, la perlita fina mejora el drenaje y la aireación de aquel sustrato comercial.

Estando los contenedores listos se coloca un recipiente metálico dentro de una pileta de lavar y se llena con agua corriente. En el mismo se depositan, con la ayuda de pinzas largas, los tejidos de cada tubo para limpiarlos del medio de cultivo remanente.

Por otro lado, en cada celda se hace un pequeño agujero donde se deposita una planta limpia haciendo una leve presión para que se vinculen. De esta manera, se llenan todos los contenedores y se riega con aspersor a gatillo en reiteradas pasadas buscando la saturación con agua permitiendo luego que el excedente sea drenado.

Implantados los propágulos, se colocan los plug dentro de porta bandeja que permite crear un microambiente mediante la presencia de una cubierta plástica rígida y traslúcida. Cuando se cierra esa cubierta se coloca sobre la misma una malla de tela a modo de media sombra quedando así la bandeja terminada.

Luego, el recipiente se lleva a invernadero adaptado para germinación donde por dos semanas se controla y riega a mano hasta que puede retirarse la tapa y el cultivo queda bajo sistema de niebla y riego por aspersion.

Finalmente, se realizó una supervisión semanal del cultivo donde se observó que las porciones pequeñas de tejido no sobrevivieron a las nuevas condiciones, marchitándose. Sin embargo, 5 individuos (de 16) con tejidos más vigorosos y presencia de hojas en desarrollo continuaron creciendo, estableciéndose en el nuevo medio.

Anexo X – Uso de especies viverizadas en programa Plant Select.

Al margen de las exposiciones vegetales, el DBG desarrolla una diversa y amplia cantidad de programas para fomentar el encuentro entre las personas y las plantas. Esas propuestas se fundamentan sobre las exposiciones y los cultivos presentes desarrollándose dentro y fuera de las instalaciones, entorno a ejes de educación, arte, ciencia e investigación.

En el transcurso de las prácticas, se indagó sobre una de estas iniciativas llamada Plant Select. En primer lugar, la trabajadora Sonya Anderson curadora del jardín que expone las especies bajo ese programa, realizó una presentación sobre este desarrollo promovido por el DBG y Colorado State University.

Según Anderson, la iniciativa fue diseñada para buscar, investigar, propagar y proponer las mejores plantas para jardines, de origen en las altas planicies de la región montañosa de Colorado y alrededores. Y que el programa, es administrado por las instituciones antes mencionadas, junto a horticultores diseñadores y productores profesionales de la región de Rocky Mountain.

En esa línea, se inició con la detección de una cantidad de plantas leñosas, que podían ser usadas por las personas en sus jardines, sobre las que no había conocimiento. Además, ese grupo de especies contaban con características sobresalientes en cuanto a adaptación y resiliencia al cambio climático de la región, así como también una destacada belleza en amplios tipos de jardines y paisajes.

En base a ello, y previo al diseño y planificación, en el año 1997 se dio inicio al trabajo formal del programa que actualmente genera una nómina de plantas que incluyen arbustos fuertes y resistentes, árboles, especies perennes, cubre suelos, enredaderas, frutales y plantas anuales que poseen desempeño sobresaliente en jardinería.

La recomendación de uso de una especie bajo este programa implica una etapa de implantación y propagación estabilizada, junto con evaluaciones ante enfermedades, al posible comportamiento como maleza, también a su desempeño frente a condiciones de clima, necesidades en cuanto a radiación solar, abastecimiento de agua, requerimientos de suelo y manifestación de su floración o forma en jardines.

Profundizando sobre las características de selección, Anderson expuso que las cualidades principales que se buscan en las plantas son:

1 – **Dureza o resistencia:** reacción a fluctuaciones climáticas, como lluvias/sequias, viento, exposición solar, etc.

2 – **Floración:** Selección de colores y formas. Duración, cantidad y estacionalidad de la misma en el año.

3 – **Forma:** variables de altura y diámetro de crecimiento. Posibilidad de asociación en jardines. Entre otras características.

4 – **Resistencia a plagas:** comportamiento ante enfermedades y plagas frecuentes en la zona de Colorado y zonas aledañas montañosas.

De esta manera, ejemplificó Anderson, si una especie va a ser recomendada como resistente al viento, debe ser evaluada satisfactoriamente por tres años a condiciones ventosas resistiendo a esa condición en el jardín de prueba. En base a los resultados se generan recomendaciones de uso de esa especie a los comercios de venta quienes en última instancia exponen y venden las plantas.

En base a los resultados y los datos relevantes de aquellas evaluaciones, se realizan folletos promocionales que anualmente se publican y rótulos que acompañan cada planta que se vende al público. Profundizando en ese aspecto, Anderson expresa que ensayos e introducciones son mayormente generados por Colorado State University y el DBG que poseen trabajadores, espacios e insumos para efectuar aquellas tareas. Aunque también hay cultivadores individuales y viveros que aportan a la nómina como High Country Gardens, Little Valey Nursery, Welby Gardens, Brown Nursery, Blue Birds Nursery¹².

¹² Aporta el 10% de la nómina de 200 especies presente en 2017.

En la actualidad, con más de veinte años de trabajo, Plant Select ha introducido el lema “plantas inteligentes” para hacer énfasis en la elección de especies resilientes, con eficiente y reducido uso de recursos nutricionales y de riego que además tienen alto desempeño ornamental. Dentro de su nómina, cuenta con un 95% de las especies perennes mientras que se proponen algunas especies anuales como un pasto llamado Dog Tuff Grass introducido por el DBG.

Luego de aquella reseña, Anderson propone y guía la implantación de tres individuos de *Daphne x burkwoodii* 'Carol Mackie', producidos en el área de propagación, en la exhibición Plan Select. En esa práctica logramos observar las condiciones que se promueven con la modificación del suelo y el riego, para imitar las condiciones de aridez típica de las regiones de las Montañas Rocosas.

Después de aquello, la curadora propone la observación de especies del programa exhibidas en aquel jardín con el uso de la aplicación online Gardens Navigator, que cuenta con una base de datos con información sobre las especies y también un mapa para contemplar la planta dentro de las colecciones. En ese recorrido, se observó más de 30 especies selectas, donde sobresalen en cantidad las hierbas perennes y arbustos (figura 4).



Figura 4. Especies Plant Select, arriba de izquierda a derecha; *Aquilegia chrysantha*, *Origanum libanoticum*, *Epilobium canum* subsp. *garrettii*, *Delosperma* 'P001S'. Debajo de izquierda a derecha; *Ribes uva-crispa*, *Arctostaphylos x coloradensis*, *Kniphofia caulescens* y *Calamagrostis brachytricha*.

Continuando con presentación del programa, son relevantes las consideraciones que realizaron Kintgen & Krishnan (2013) para caracterizar el desarrollo en una conferencia de

horticultura. En esa instancia aquellos trabajadores del Jardín sostienen, que si bien se han generado diversos programas como este en el mundo, el Plant Select se caracteriza por:

- Ser un producto de relación equilibrada entre un Jardín Botánico, una universidad estatal y socios locales e internacionales de la industria.
- Es un caso único geográficamente en cuanto a programas similares.
- Ha introducido plantas que se desempeñan en climas desafiantes.
- Ha promovido géneros relativamente nuevos dentro de las generalidades en horticultura.

Además, aquellos autores destacan que el programa publicó en 2009 un libro con 73 plantas promovidas (figura 5) y es pionero en la introducción de material vegetal seleccionado para desempeñarse en clima continental semiárido y frío o clima de estepa (Kintgen & Krishnan, 2013).



Figura 5. Arriba publicidad en viveros de venta al público. Abajo de izquierda a derecha; libro publicado por expertos del programa, catálogos anuales publicitarios a color y etiqueta presente en cada planta a la venta.

En esta línea descriptiva, se pueden agregar las consideraciones de Mike Bone, horticultor, curador e introductor de especies de estepa y del programa en cuestión. Quien explicó su trabajo en el jardín de prueba e introducción, que DBG tiene en Chatfield. Bone expresó que su trabajo consiste en individualizar, investigar y hacerse de plantas de ambientes de estepa que tengan características sobresalientes en cuanto al listado expresado por Anderson. Para ello él viaja y gestiona el acceso a germoplasma de especies, para

introducirlas a Estados Unidos¹³¹⁴, implantarlas en el jardín de prueba de Chatfield e iniciar cultivos nuevos mediante la hibridación. En ese sentido, y para ejemplificar su trabajo él se refirió a su trabajo con *Ziziphora clinopodioides*, una especie de las que el DBG posee dos individuos de Republica Checa y Jerusalén (figura 6) que presentan diferencias en follaje y floración. Estas son características promovidas y fijadas en individuos nuevos, por medio de la cruce a través de la polinización artificial. De esta manera, cuando el cultivar nuevo es estable se procede a registrarlo, condición que le permite a Plan Select cobrar impuestos por cada individuo vendido.



Figura 6. Plantas madres sobre las que obtienen híbridos para Plant Selec en Chatfield. De izquierda a derecha; *Ziziphora clinopodioides* (Jerusalén), *Cephalaria stellipilis* (Libano/Turquia) y *Pterocephalus depressus* (Marruecos).

En resumen, este programa del DBG posee un desarrollo amplio e histórico que nuclea diversos sectores en la industria para abordar la problemática de escasas de agua, presente en Colorado y diversas partes del mundo. Con la valorización de especies que se han

¹³ Para ello, debe regirse por el Plants for Planting Manual y las regulaciones establecidas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Ver mas información en artículo online de la Universidad Estatal de Colorado: <https://colostate.pressbooks.pub/fundamentalsofplantgenebanking/chapter/phytosanitaryregulatorypgr/>

¹⁴ Al respecto existen directivas del gobierno de Estados Unidos que promueven la importación y mejoramiento vegetal como la Plant Selection - E-Directives – USDA, disponible en; <https://directives.sc.egov.usda.gov/viewDirective.aspx?hid=27310>

desarrollado adaptándose a esas condiciones, se asume ese problema de forma sensible, práctica y resiliente.

Anexo XI – Uso de especies viverizadas en restauración en Chatfield Farms.

En cooperación con el Cuerpo de Ingenieros del Ejército de EE. UU el Denver Botanic Gardens Chatfield Farms es un refugio de plantas nativas y granja agroecológica que abarca 700 acres de tierra a lo largo de las orillas del río Deer Creek, en el sur del condado de Jefferson (figura 7).



Figura 7. Vista sur oeste donde se observa el cauce del río Deer Creek surgiendo de las montañas hasta llegar al reservorio Chatfield. En la mitad de ese trayecto se encuentra la Chatfield Farms del DBG.

La granja en cuestión y el trabajo en conservación y restauración resultan de gran importancia debido a que el Deer Creek alimenta el reservorio de agua Chatfield que es la fuente de agua para Denver y ciudades aledañas.

Antiguamente los granjeros que se asentaron en la zona enderezaron y encauzaron el río para tomar agua para sus chacras y animales. Así se generó una gran perturbación del ecosistema natural con la pérdida de especies nativas, lo que provocó inundaciones como las del año 1965, que obligaron al gobierno a constituir la presa y reservorio de Chatfield.

Para mitigar esos desequilibrios y restaurar el cauce, el equipo de restauración del DBG, trabaja en la elaboración de terraplenes artificiales y siembra de árboles de humedales como el nativo *Salix exigua* (figura 8). Con fines de reducir la corriente haciendo que el arroyo serpentee lentamente para que sea amigable a las plantas y los animales nativos.

Con este mismo fin, se trabaja en la eliminación de los disturbios en cuanto a la vegetación presente mediante la poda y extracción especies no nativas y la reintroducción de ejemplares nativos. Esta línea de trabajo se ejecuta en base a la herborización, acopio y sistematización de información de especies presentes, su clasificación en nativas y no nativas. Junto con información sobre el ciclo y forma de vida, forma de dispersión de semillas y métodos de eliminación ó de propagación según correspondiere.



Figura 8. Algunas de las tareas en el marco del proyecto de restauración. Se observa quita manual de especies herbáceas no nativas, cartelera informativa y diques artificiales con fibra de coco que permiten inundar áreas y bajar la velocidad de la corriente.

En base a aquella información, el DBG ejecuta periódicamente la quita de plantas exóticas en su etapa de emergencia como también de individuos desarrollados, realizando también acciones que reducen el número de esas, tales como la poda de flores y semillas no maduras, que son acciones en el marco del Manejo Integrado de Malezas¹⁵ aplicado en la restauración.

Por otro lado, la práctica de reintroducción de plantas nativas se basa en la obtención y sostenimiento de un banco de semillas para iniciar plantas nuevas junto con la propagación mediante enraíce de tejidos de especies nativas presentes en la rivera. Acciones de viverización que se ejecutan en el área de propagación en Chatfield, bajo condiciones de invernadero.

¹⁵ Las bases de este método pueden encontrarse en “Manejo Integrado de Malezas” por O. A. Fernández, disponible en: <https://www.scielo.br/j/pd/a/Cxn84R98Nt8sx767cXSCZgF/?lang=es&format=pdf>

De esta manera se delimitan áreas de trabajo con carteles y cintas que informan e impiden el paso. Luego se procede a la extracción de especies exóticas y la introducción de un sistema de riego por aspersión elevado, para favorecer el prendimiento de especies re introducidas. Esta práctica permite la implantación de especies nativas obtenidas en invernaderos.

Bajo estas directivas y con la supervisión de trabajadores se practicó en diversas jornadas, con previo reconocimiento a campo, la extracción de especies no nativas herbáceas y la quita de individuos de *Eleagnus angustifolia*, un árbol invasor de ambientes de rivera^{16 17}.

Finalmente, en esta línea de trabajo, se llevó a cabo la introducción de especies nativas *Carex brevior* y *Juncus ensifolius* obtenidas en el área de propagación de la granja de Chatfield (figura 9).



Figura 8. Riego por aspersión elevado y especies nativas re introducidas *Carex brevior* y *Juncus ensifolius*.

¹⁶ Esta especie catalogada como invasora es administrada bajo directivas del Departamento de Agricultura de Colorado y la Universidad Estatal de Colorado, bajo enfoque de manejo integrado de malezas. Documento disponible en;

<https://drive.google.com/file/d/18pDzVp6Gwl42CQmQQdyQh4PvMqkatahk/view>

¹⁷ Esta especie presente en la Patagonia argentina, es abordada en el libro: Olivo de Bohemia.

Estrategias ecológicas de "*Eleagnus angustifolia*" en el Valle Medio de Rio Negro, Patagonia Norte Argentina, Klich (2013). Disponible en <https://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/6126>.