



*El cultivo **in vitro** es un método adecuado para la conservación de especies vegetales de reproducción vegetativa.*

CONSERVACION DE RECURSOS FITOGENETICOS

Por: José Manuel Pita Villamil* y José M^a Iriondo Alegría*

La preocupación por la conservación de los recursos fitogenéticos es tan antigua como la propia civilización humana. No obstante, la percepción de la erosión genética como un problema a escala mundial y la toma de medidas para evitarla, no ha tenido lugar hasta bien entrado el siglo XX.

A comienzos de este siglo numerosas zonas agrícolas, tanto de Europa como de América del Norte, comenzaron a ser cultivadas con variedades obtenidas mediante mejora genética. Sin embargo, este cambio en los hábitos agrícolas no afectó de forma drástica a la diversidad genética mantenida en las explotaciones tradicionales, en las que los antiguos cultivos siguieron siendo los predominantes.

Es a partir de la Segunda Guerra Mundial cuando se producen profundas modificaciones en el sector agrícola con la intro-

De los Jardines Botánicos a los Bancos de ADN

Diversos métodos de conservación, complementarios y no excluyentes

ducción de variedades, altamente productivas y homogéneas, que sustituyeron a las numerosas variedades tradicionales utilizadas hasta ese momento. Este fenómeno alcanza su máximo en los años 60, cuando millones de hectáreas son cultivadas con las nuevas variedades, a la vez que se comienzan a implantar, de forma generalizada, nuevas técnicas de cultivo, que conllevan la utilización masiva de fertilizantes, herbicidas, pesticidas, irrigación y maquinaria especializada.

Los beneficios asociados a este cambio en los hábitos agrícolas fueron evidentes, se produjo un incremento drástico en la productividad de los cultivos y con ello se logró paliar, en gran medida, los problemas de alimentación de gran parte de la población mundial. No obstante, ello también implicó la pérdida irreparable de muchas variedades, caracterizadas por su heterogeneidad y baja productividad, pero también por su resistencia a condiciones adversas (sequías, enfermedades, plagas, etc.) y, en muchos casos, por su valor nutricional.

La toma de conciencia de esta situación determinó la puesta en marcha, ya en la dé-

(*) Dpto. Biología Vegetal.
 E.U.I. Técnica Agrícola
 Universidad Politécnica de Madrid

cada de los 60, de medidas para la conservación generalizada de los recursos fitogenéticos. Hoy en día, la necesidad de su conservación es aceptada como una responsabilidad social y parte esencial de las actuaciones encaminadas a la preservación de la biodiversidad.

Los métodos de conservación de recursos fitogenéticos pueden clasificarse en dos grandes categorías: métodos de conservación *in situ* y métodos de conservación *ex situ*. Los primeros permiten la conservación de las especies en los sistemas ecológicos y culturales, en los que han desarrollado sus propiedades específicas; mientras que los segundos se basan en la conservación de las especies fuera de sus entornos naturales.

venia de las especies a conservar. Así, una adecuada gestión de un área protegida, puede requerir medidas de intervención como el control de parásitos, plagas y competidores, la potenciación de relaciones de mutualismo (polinizadores, asociaciones micorrizicas...), y el mantenimiento de condiciones ambientales apropiadas (control de la erosión, control de incendios, mantenimiento del régimen hídrico...). Por todo ello este tipo de conservación es, frecuentemente, muy costosa y de difícil aplicación.

Los costes de conservación disminuyen cuando en el área protegida están incluidas diferentes especies. Sin embargo, en esta situación la necesidad de establecer marcos legales de protección, habitualmente,

material y, en general, los menores costes que los asociados a los métodos de conservación *in situ*. En cuanto las desventajas son: el cese de la evolución o selección natural y la pérdida de variabilidad genética durante la recolección y/o multiplicación del material vegetal, lo que puede conllevar una erosión genética igual o superior a la que se producía en los hábitats naturales.

COLECCIONES DE PLANTAS

Las colecciones de plantas, son uno de los métodos tradicionales de conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos, básicamente se pueden dividir en dos grandes grupos: Jardines Botánicos y Colecciones en Campo.

Los Jardines Botánicos pueden considerarse las primeras instituciones dedicadas a la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos. La práctica de establecer colecciones de diferentes tipos de plantas se remonta a la antigüedad, estando, en muchos casos, vinculada a prácticas religiosas.

Pero el gran desarrollo de los Jardines Botánicos, tal como los conocemos en la actualidad, llega de la mano de las grandes potencias coloniales, que establecen numerosos jardines en sus posesiones de ultramar y en sus propios países como método de introducción de plantas y cultivos exóticos.

La conservación en Jardines Botánicos presenta una serie de problemas derivados del escaso soporte financiero que, en general, reciben para su mantenimiento y de su irregular distribución por el mundo. Así, en la mayoría de los países tropicales, donde reside el mayor número de especies, es donde hay menos Jardines Botánicos. Por ello, en el conjunto de los Jardines Botánicos, la flora de los países tropicales y subtropicales, está menos representada que la de los países de climas templados. A ello hay que unir el hecho que la variabilidad intraespecífica mantenida suele ser baja, frecuentemente una entrada está sólo representada por uno o unos pocos ejemplares.

COLECCIONES DE PLANTAS EN CAMPO

Una colección de plantas en campo es un conjunto de individuos de una misma especie seleccionados para que sean representativos de la mayor variabilidad genética posible. Este método de conservación *ex situ* es adecuado para especies perennes que tardan años en producir semillas, como es el caso de las especies forestales o especies que se reproducen exclusivamente de manera vegetativa. Asimismo es uno de los métodos más ampliamente utilizados para la conservación de germoplasma cuyas semillas no pueden ser fácilmente almacenadas (semillas recalcitrantes).

Entre los cultivos que se conservan en colecciones de este tipo se encuentran numerosos cultivos tropicales: cacao (*Theo-*



Los Bancos de Semillas son, en la actualidad, el método más económico y eficaz para la conservación de recursos fitogenéticos. Banco de Semillas de la E.T.S. de Ingenieros Agrónomos (Universidad Politécnica de Madrid).

MÉTODOS DE CONSERVACION IN SITU

El mantenimiento en cultivo de las variedades tradicionales, es el método propuesto para la conservación *in situ* de este tipo de recursos fitogenéticos.

Los problemas asociados a este método de conservación son evidentes: dificultad para el control de su aplicación y la necesidad de subvenciones muy altas, para evitar el rechazo de los agricultores a mantener unos cultivos poco productivos y poco rentables económicamente.

En el caso de especies silvestres, la conservación *in situ* hace necesaria una adecuada protección y gestión de los ecosistemas en los que habitan. Para ello, existen un gran número de figuras de protección de espacios naturales (parque natural, parque nacional, reservas, etc.) en donde la actividad humana queda condicionada o restringida en mayor o menor medida. No obstante, la simple restricción de la actividad humana en un área concreta no suele resultar suficiente para asegurar la supervi-

originan conflictos de interés con otras actividades humanas, lo que puede suponer el rechazo social y dificultades políticas para la ejecución de este tipo de medidas de protección. Además, en muchos casos, las áreas de distribución de las especies implicadas son demasiado extensas como para considerar la posibilidad de una protección global.

No obstante, existen ejemplos como son la reserva de Mazatlán (México), creada para la protección de *Zea diploperennis*, o las reservas delimitadas, en Israel, dentro del área de distribución de las poblaciones de cebada silvestre y trigos tetraploides.

MÉTODOS DE CONSERVACION EX SITU

Los métodos de conservación *ex situ* se basan en la recolección de muestras representativas de la variabilidad genética de una especie o cultivar y su mantenimiento fuera de las condiciones naturales en las que la especie o cultivo ha evolucionado o ha sido seleccionado. Las ventajas de estos métodos son un control directo sobre el



SEMILLAS • TECNICAS DE CULTIVO

broma cacao), árbol del caucho (*Hevea brasiliensis*), coco (*Cocos nucifera*), mango (*Mangifera indica*), mandioca (*Manihot esculenta*) y ñame (*Dioscorea* spp.).

También son de destacar las colecciones de árboles (huertos semilleros) dedicadas a la conservación de recursos forestales y que se constituyen con plantas procedentes de ejemplares selectos.

Los problemas asociados a este tipo de colecciones son que requieren una gran superficie de terreno y están expuestas a todo tipo de desastres (incendios, enfermedades, plagas, etc.), además de presentar unos elevados costes fijos de mantenimiento.

BANCOS DE CULTIVO *IN VITRO*

Bajo el término de cultivo *in vitro* se incluyen un gran número de técnicas de cultivo de material vegetal, en estado de asepsia, en un medio nutritivo sintético y definido, bajo condiciones ambientales controladas. Mediante las técnicas de cultivo *in vitro* resulta posible controlar el crecimiento y desarrollo de un explanto y obtener a partir del mismo plantas completas. La naturaleza del explanto puede ser muy diversa pudiéndose establecer el cultivo a partir de órganos o fragmentos de órganos (semillas, embriones, hojas, tallos, yemas, raíces), tejidos, células aisladas y protoplastos.

El cultivo *in vitro* es por tanto una alternativa a las colecciones de plantas en campo, de especies o cultivares de reproducción vegetativa: patata (*Solanum tuberosum*), cítricos (*Citrus* spp.), frutales (*Prunus* spp., *Malus* spp.), plataneras (*Musa* spp.), etc.

Las ventajas de las técnicas de cultivo *in vitro* son principalmente la obtención de elevadas tasas de multiplicación, el reducido espacio ocupado por las colecciones y la reducción del riesgo de pérdidas de material debido a catástrofes naturales. Asimismo es una alternativa para la conservación de especies con semillas recalcitrantes o con problemas en la germinación de sus semillas. Entre los inconvenientes que conlleva la utilización de estas técnicas se puede mencionar el elevado coste de infraestructura, la necesidad de personal cualificado y los riesgos de alteraciones genéticas durante el cultivo (variación somaclonal).

BANCOS DE SEMILLAS

Las semillas presentan una serie de características que hacen que su almacenamiento sea el método más eficaz y económico para la conservación *ex situ* de especies vegetales.

- Las semillas, en general, son de pequeño tamaño lo que facilita el almacenamiento de un gran número de muestras.

- En muchas especies, cada semilla posee una constitución genética diferente; ello asegura que cada muestra contenga una gran variabilidad genética.

- La mayoría de las semillas son capaces de permanecer viables, de forma natural, durante largos periodos de tiempo.

Por ello el almacenamiento de semillas ha sido una práctica habitual de la humanidad desde el inicio de la Agricultura. Los antiguos agricultores almacenaban semillas para su utilización en la siembra del siguiente año o como reserva de alimento.

No obstante, no es hasta mediados del presente siglo cuando se inicia de forma sistemática el almacenamiento de semillas con fines científicos o de conservación. Así en la primera mitad del siglo se establecen colecciones de semillas en Rusia y Estados Unidos, principalmente para ser utilizadas en programas de mejora genética y estudios taxonómicos.

Las condiciones de conservación de estas colecciones no eran las más adecuadas

mic y sobre todo por el daño que puede sufrir la semilla al congelarse el agua de sus tejidos.

En la actualidad las vigentes Normas para Bancos de Semillas publicadas por IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) recomiendan como condiciones más idóneas para el almacenamiento de semillas a largo plazo (colecciones base), un contenido en humedad del 3-7% (según la especie) y una temperatura de almacenamiento de -18°C. Condiciones menos estrictas, principalmente en lo que se refiere a la temperatura, se admiten para la conservación a medio plazo (colecciones activas).

Independientemente de las condiciones de almacenamiento utilizadas la viabilidad de las muestras debe ser controlada periódicamente; si la germinación es menor del 85% en muestras almacenadas en colec-



(condiciones ambientales), lo que conllevó la pérdida de numerosas muestras. Este hecho, unido a la imposibilidad de nuevas recolecciones por haber desaparecido los cultivos o las poblaciones originales, condujo a la necesidad de desarrollar técnicas de conservación a largo plazo.

El contenido de humedad de las semillas y de la temperatura de almacenamiento, se mostraron como los dos factores determinantes para el éxito en el almacenamiento de semillas. La disminución simultánea de estos dos factores permite, teóricamente, mantener durante cientos de años la viabilidad de las semillas.

Desde un punto de vista práctico la disminución del contenido en humedad y de la temperatura presenta una serie de limitaciones. La disminución del contenido en humedad por debajo de un 2% presenta dificultades técnicas y produce alteraciones fisiológicas que dañan irreversiblemente a las semillas. En cuanto a la disminución de la temperatura de almacenamiento también está limitada por razones técnicas, econó-

miciones base y de un 65% en colecciones activas se recomienda su regeneración, ya sea mediante nuevas recolecciones o por multiplicación a partir de las semillas que permanecen viables.

La regeneración mediante recolección en muchos casos no es posible al haber desaparecido las poblaciones naturales o haber caído en desuso los cultivos originales y la multiplicación inevitablemente conlleva alteraciones en la composición genética de las muestras.

A partir de 1974, con la creación del IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), se han establecido numerosos bancos de semillas en todos los lugares del mundo. Hoy en día existen cerca de 1000 instituciones, tanto a nivel nacional como internacional, que tienen entre sus objetivos la conservación de semillas.

Algunos están especializados en la conservación de un solo cultivo, es el caso del International Rice Research Institute (Filipinas), que almacena únicamente variedades de arroz. En cambio otros como el Vavilov

Institute (Rusia) o el National Seed Storage Laboratory (Estados Unidos) almacenan semillas de todo tipo de cultivos.

En España, el Centro de Recursos Fito-genéticos (Ministerio de Agricultura), posee importantes colecciones de semillas, entre las que destacan la de cereales de invierno (7300 entradas) y la de leguminosas grano (7000 entradas) (Ver Agricultura nº 763, Febrero 1996, pp. 149-161). Además, tiene como responsabilidad el almacenamiento, en colecciones base, de duplicados de las colecciones activas de otras instituciones integradas en la Red de colecciones del Programa de Conservación y Utilización de Recursos Fito-genéticos del Ministerio de Agricultura.

Por todo lo anterior es evidente la eficacia de la conservación de recursos fito-genéticos en bancos de semillas. No obstante, si bien la mayoría de los cultivos poseen semillas ortodoxas, capaces de ser sometidas a los protocolos de conservación de un banco de semillas (deseccación-bajas temperaturas), otras especies poseen semillas recalcitrantes, semillas que no pueden ser desecadas por debajo de un 12-30% de contenido en humedad. En este último grupo se encuentran especies tropicales y subtropicales de gran interés económico: aguacate (*Persea americana*), cacao (*Theobroma cacao*), coco (*Cocos nucifera*) café (*Coffea* spp.), mango (*Mangifera indica*), árbol del caucho (*Hevea brasiliensis*) y especies arbóreas de zonas templadas *Quercus*

spp., *Acer* spp., *Aesculus* spp.

Para la conservación de este tipo de semillas se deben utilizar otras técnicas de conservación o bien buscar condiciones de almacenamiento compatibles con sus características fisiológicas. En este sentido, nuevas técnicas como la crioconservación, ya sea de semillas o de embriones, se han mostrado como una herramienta eficaz en la conservación de estas especies (ver Agricultura nº 775, Febrero 1997, pp 123-125).

BANCOS DE ADN

Con el avance de las técnicas de ingeniería genética que, en principio, permiten la transferencia de genes entre especies totalmente distintas, una nueva alternativa que comienza ahora a perfilarse es la creación de bancos de ADN. Para ello se procede a la extracción del ADN procedente de individuos de una determinada especie o cultivar y posteriormente, se conserva a bajas temperaturas (-80°C, -196 °C). En la actualidad, esta alternativa solo presenta utilidad en el caso de especies o cultivares cuyo genoma ha sido profundamente estudiado y donde se conocen las secuencias de numerosos genes. Sin embargo, es posible que en un futuro este tipo de bancos vayan generalizándose a medida que se vayan implantando las técnicas de ingeniería genética en los procesos de mejora y obtención de nuevos cultivares.

CONCLUSION

Los recursos fitogenéticos forman parte del patrimonio biológico y económico de una sociedad; son esenciales para la estabilidad de los ecosistemas, particularmente de los agrícolas, y constituyen un reservorio de información genética imprescindible para la solución de muchos de los problemas a los que se enfrenta la agricultura.

Los métodos para asegurar su conservación son diversos y, tal como se ha descrito, cada uno de ellos posee sus propias ventajas e inconvenientes. Por ello, en la actualidad se considera que el conjunto de técnicas de conservación *in situ* y *ex situ*, deben considerarse medios complementarios, no excluyentes, para lograr el objetivo común de preservar los recursos fitogenéticos, como parte esencial de una estrategia global para la conservación de la biodiversidad.

Todavía, con las adecuadas medidas políticas y económicas, estamos a tiempo de conservar lo que aún queda de un patrimonio esencial para nuestra sociedad y para las generaciones futuras; lo que se ha perdido, es irrecuperable.

BIBLIOGRAFIA

- Esquinas-Alcazar, J.T. (1993). Plant Genetic Resources. En: Plant Breeding: Principles and prospects. M.D. Hayward, N.O. Bosemark, I. Romagosa (eds). Chapman & Hall. London. pp. 33-51.
- Hawkes, J.G. (ed.). (1991). Genetic Conservation of World Plants. Academic Press. 87 pp.

INFORMATICA Y GESTION

ISAMARGEN

GESTION TECNICO ECONOMICA DE SU EXPLOTACION

*Novedad
Para Windows*



REMITIR A ISAGRI

Avda Blasco Ibáñez, 194-11
46022 VALENCIA

Deseo recibir información sobre las soluciones ISAGRI

Nombre : _____

Dirección : _____

C.P. : _____

Localidad : _____

Tfno : _____ Fax : _____

- ▼ Seguimiento técnico de cultivos
- ▼ Planing y control de trabajos
- ▼ Gestión de almacén
- ▼ Márgenes por parcela / cultivo
- ▼ Costes y presupuestos
- ▼ Enlazado con ISAPLAN
- ▼ Formación y mantenimiento

... y una gama de 11 programas de gestión agrícola-ganadera

Tfno : 96/3560865

Fax : 96/3560864



ISAGRI

Nº1 en soluciones informáticas para el campo