

Producción Forestal y Biotecnología

La importancia de los bosques en la vida terrestre está fuera de toda duda. Según el último informe de la FAO (FAO, 2006), la superficie total de los bosques del planeta se sitúa alrededor de los cuatro mil millones de hectáreas, lo que supone sobre el 30% de la superficie total. Sin embargo, la deforestación o pérdida de masa forestal es el problema más grave que afecta a los bosques, con cifras realmente alarmantes, pues se estima que se pierden unos 13 millones de hectáreas al año. Aparte de su función primaria como es la producción de madera y productos forestales no madereros, los bosques son necesarios para realizar otras funciones fundamentales como es la protección del suelo y el agua, la conservación de la diversidad biológica (el 11% de los bosques mundiales se dedican a esta función), la actuación como sumideros de carbono (se calcula que almacenan 283 gigatonnes de carbono sólo en su biomasa) y los fines recreativos.

A. Ballester, A. M. Vieitez • Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia, CSIC

La deforestación antes mencionada conlleva un descenso en la producción de madera de aproximadamente unos 7.0 millones m³ año⁻¹ y de alguna forma este déficit industrial debería evitarse mediante nuevos programas de reforestación utilizando árboles con características superiores obtenidas a través de procesos de mejora clásica, a través de procesos biotecnológicos o mediante una combinación de ambos. Es decir, deberían utilizarse plantaciones forestales de alto rendimiento y debe entenderse y aceptarse que la actividad forestal para uso industrial se asimilará, en los próximos años, a un proceso agrícola. En la actualidad, las plantaciones forestales cubren menos del cinco por ciento de la superficie mundial dedicada a los bosques, pero en regiones como Asia y Europa, se ha observado un notable incremento en los últimos años. La mejora genética convencional en árboles es una tarea que se alarga en el tiempo debido, fundamentalmente, a la propia naturaleza del árbol: crecimiento lento, floración tardía, dificultades para propagarse vegetativamente, etc. La biotecnología puede aportar unas herramientas importantes para

acelerar los programas de mejora en especies forestales y, en concreto, mediante i) la tecnología del cultivo in vitro que permite la clonación de genotipos superiores o árboles plus; ii) el uso de los marcadores moleculares y la bioinformática, que permite el estudio y función de genes específicos y iii) la transformación genética, que permite la inserción de genes específicos en el genoma del árbol y así poder acelerar los programas de mejora.

El cultivo in vitro permite la multiplicación vegetativa o clonación de árboles seleccionados por características determinadas mediante el cultivo y proliferación de yemas axilares o la inducción de embriogénesis somática. La capacidad de multiplicación de estas técnicas es enorme pues, dadas sus características, puede desarrollarse durante todo el año, independientemente de la estación o período del año. El Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia lleva más de 25 años aplicando la tecnología del cultivo in vitro a especies leñosas, en general, y a especies forestales en particular. En concreto, hemos puesto a punto la propagación de castaños resistentes

A. Plantas transgénicas de álamo, aclimatadas en invernadero



B. Plantas transgénicas de álamo (T) y no transgénica (C) creciendo en suelo de mina con elevada concentración de metales pesados





a la enfermedad de la tinta, mediante la metodología del desarrollo de yemas. Esta tecnología ha sido transferida a la empresa privada quien en estos momentos está multiplicando alguno de los clones de castaño resistentes a nivel comercial. La metodología del cultivo in vitro permite también el almacenamiento (crioconservación), por tiempo indefinido, de material vegetal seleccionado. Para ello, se aíslan los ápices de las yemas terminales y, después de diversos tratamientos de protección de los tejidos, se sumergen en nitrógeno líquido (-196° C), en donde pueden estar almacenados indefinidamente. Esta tecnología se está aplicando en la práctica a través de un convenio entre el IIAG y la empresa TRAGSA, interesada en mantener bajo estas condiciones al menos parte de su colección clonal de castaños. En esta especie también se ha conseguido la multiplicación clonal mediante la inducción de embriogénesis somática, que permite la formación de embriones a partir de un tejido distinto de un gameto o del producto de fusión de gametos (embrión cigótico). La maduración y germinación de los embriones somáticos da lugar a una planta exactamente igual a la planta de donde se ha originado el embrión. La técnica permite una multiplicación masiva (incluso en biorreactores) y los embriones somáticos pueden someterse al proceso de crioconservación durante el tiempo que se necesite para la evaluación en campo de las distintas líneas embriogénicas. Después de esta evaluación, sólo los genotipos más interesantes se rescatarían del nitrógeno líquido y se propagarían a la escala que sea necesaria.

Un protocolo similar al del castaño lo hemos desarrollado en otras especies forestales tales como el abedul, el cerezo forestal, el cerezo japonés, el álamo, el haya y el roble. En este último caso la clonación se ha obtenido tanto mediante la vía del desarrollo de yemas axilares como con la inducción de embriones somáticos. Estamos trabajando con material de reproducción de rodales de Caldas de Reies (Pontevedra) y Becerreá (Lugo): copias de algunos de estos árboles seleccionados están

almacenados en nitrógeno líquido en nuestro Instituto; si por algún accidente o causa natural (incendio, terremoto, riada, etc.) alguno de estos ejemplares se perdiese se podrían reproducir copias genéticamente iguales a los originales.

En roble, se ha iniciado un trabajo de investigación con la empresa Foresta Capital para la propagación, mediante tecnología del cultivo in vitro, de clones seleccionados de *Quercus alba*, proyecto en el que también participa la empresa gallega CULTIGAR.

Otra herramienta importante dentro de la biotecnología es la de los marcadores moleculares. Existen en las bases de datos un gran número de secuencias génicas de árboles y el genoma del álamo se ha secuenciado en su totalidad, hechos que permitirán su utilización en la identificación de diferencias en la expresión génica que tienen lugar en diferentes procesos fisiológicos. La aplicación más inmediata de estos marcadores en los trabajos de producción de plantas mediante cultivo in vitro es asegurar la conformidad genética del material propagado por esta técnica. La tecnología puede originar algún cambio no deseado en el genotipo, por eso, el material debe evaluarse antes y después del cultivo in vitro. Técnicas como RAPD, RFLP, AFLP, microsátelites, etc., son utilizadas de forma rutinaria en muchos laboratorios.

La tercera herramienta que puede incidir de forma notable en la mejora de las plantaciones forestales es la transformación genética, es decir, la producción de árboles transgénicos. Independientemente de la repercusión social que existe alrededor de las plantas transgénicas, nos interesa describir, desde el punto de vista científico, las posibilidades de mejora forestal utilizando esta técnica. En un principio, dos son las ventajas de la transformación genética sobre los programas de mejora convencional:

1) Como hemos dicho anteriormente, estos programas en árboles se alargan durante décadas pues es necesario desarrollar diferentes generaciones mediante retrocruzamientos hasta insertar en el genoma los genes adecuados para que se desarrollen los caracteres por los que se hace la mejora. Por el contrario, mediante la transformación se podría insertar el gen deseado en una sola generación.

2) Cuando se desarrolla un híbrido entre dos especies distintas por cruzamientos convencionales, el producto resultante puede perder alguna de las características propias de cada uno de los parentales, algo que no ocurre si se utiliza la transformación genética.

En el caso concreto del castaño, los híbridos resisten-

El Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia lleva más de 25 años aplicando la tecnología del cultivo in vitro a especies leñosas y forestales

1. Rodal de robles seleccionados de Caldas de Reis (Pontevedra)



2. Proliferación de embriones somáticos de ejemplares de roble de Caldas



3. Plantas de roble, genéticamente iguales al material de partida, derivadas de la germinación de embriones somáticos que han estado sometidos al proceso de criopreservación en nitrógeno líquido



tes a la tinta son el producto del cruzamiento de la especie europea (*Castanea sativa*, susceptible a la enfermedad de la tinta) y la japonesa (*Castanea crenata*, con resistencia parcial a dicha enfermedad). En Galicia, se utilizan estos híbridos de primera generación en programas de reforestación. Es posible que algunas características específicas de la especie europea (porte, tamaño y calidad de la castaña) se hayan perdido. Por esto, nuestro grupo está estudiando los sistemas de transformación genética del castaño, en principio con genes marcadores (que no producen ningún cambio en las plantas transformadas) para, posteriormente, tratar de insertar genes que le confieran una mayor resistencia a las enfermedades fúngicas. El protocolo con genes marcadores está ya desarrollado habiéndose transformado embriones somáticos de castaño.

La aplicación más inmediata de los marcadores en los trabajos de producción de plantas mediante cultivo *in vitro* es asegurar la conformidad genética del material propagado por esta técnica

Existe mucho interés, a nivel internacional, en el desarrollo de árboles modificados genéticamente con una composición alterada de la lignina, un aspecto que pretende abaratar la producción de pasta de papel. La tolerancia a herbicidas, la resistencia a insectos o la tolerancia a estreses abióticos son otros aspectos que se están estudiando en todo el mundo aunque, de momento y en los países en donde se dispone de una información fiable, no hay ninguna plantación comercial con este tipo de árboles.

Nuestro grupo está trabajando en el desarrollo de árboles transgénicos tolerantes a la toxicidad del suelo debido a la acción de los metales pesados y a los derivados de explosivos. Existen suelos contaminados como consecuencia de la actividad urbana o industrial (por ejemplo, el derivado de la actividad minera) en donde el crecimiento vegetal está muy limitado. Hemos transformado álamo mediante la incorporación de genes que codifican fitoquelatinas sintasas, enzimas que promueven resistencia al estrés por metales pesados en suelos. Hasta el momento, hemos comprobado una mayor acumulación de plomo y cadmio en las plantas transformadas que en las no transformadas y un mejor crecimiento vegetativo en las primeras que en las segundas cuando crecen en un suelo que deriva de la actividad minera. Por otra parte, hemos transformado también plantas de álamo con genes aislados de una bacteria que son capaces de eliminar del suelo elevadas cantidades de contaminantes nitrogenados derivados, por ejemplo, de la fabricación de explosivos. En estos dos ejemplos, la función de los árboles desarrollados no sería la productiva, sino la remediadora de zonas contaminadas.

En conclusión, la investigación en el ámbito forestal ha de observarse como una inversión a largo plazo, incluso cuando se trata de la utilización de las herramientas biotecnológicas, hecho forzado por los propios ciclos de desarrollo de los árboles. Los logros que se consigan con estas metodologías hay que situarlas a medio y largo plazo, pero no sería razonable frenar la inversión en la investigación en este campo pues las expectativas que se vislumbran son realmente interesantes.

FAO (2006) www.fao.org/forestry/fra2005