

Los recursos genéticos vegetales *in vitro*: una alternativa de conservación

Javier Orlando Mijangos Cortés / Nancy Santana Buzzy / Luis Latournerie Moreno

Los recursos genéticos proporcionan un servicio valioso al desarrollo de los países. Sin embargo, su distribución natural no es homogénea en el mundo, por lo que hay países que tienen una mayor concentración de recursos genéticos y, por lo tanto, tienen que asumir una mayor responsabilidad en su conservación y uso sostenible por el bien propio y de la humanidad en su conjunto. Todos los países y sus correspondientes sociedades dependen de forma directa o indirecta de los recursos genéticos vegetales, pero muchos carecen de programas para la conservación y uso sostenible de esos recursos.

Gran parte de la diversidad genética de plantas útiles del mundo está almacenada en centros de conservación *ex situ*, los cuales tienen el propósito de conservar el germoplasma fuera de los hábitat naturales en los que se desarrollan los organismos. Las estrategias de conservación de este tipo pueden ser: jardines botánicos, bancos de semillas, colecciones de ejemplares vivos, bancos de polen, colecciones *in vitro*, colecciones en crioconservación y bancos de genes. A nivel mundial, muchos de estos centros operan sobre la base de principios y políticas de acceso libre y abierto a sus materiales biológicos. En la mayoría de los procedimientos de conservación *ex situ* se considera que la evolución es estática; el germoplasma se protege y preserva en el estado o momento en que se realizó la colecta.



Banco de semillas. (Foto: R. Durán)

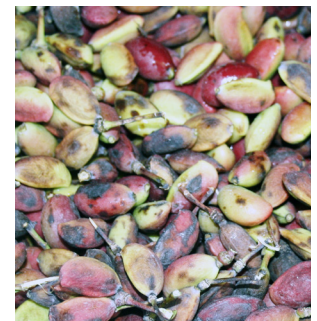
Alternativamente, la conservación puede realizarse *in situ*, la cual se efectúa en los hábitat naturales en los que el ecosistema es la unidad más importante para mantener y recuperar poblaciones viables de especies, o bien, en los agroecosistemas tradicionales donde se considera que se registra una evolución dinámica. Es importante considerar que las

estrategias dinámica y estática no son excluyentes, sino complementarias; por ejemplo, una especie amenazada puede ser llevada a conservación *ex situ* y, por su parte, la conservación *in situ* generalmente puede ser complementada con intervenciones temporales y espaciales de la conservación *ex situ*; o bien, registrarse retroalimentación de *in situ* a *ex situ* de forma tan conveniente como sea adecuado para la especie. De todas las estrategias *ex situ*, el tema de interés de esta contribución es el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, así como algunas de sus variantes y derivaciones.

Conservación *ex situ*

La conservación de semillas o plantas individuales *ex situ* trata de conservar tanto como sea posible la integridad genética de los individuos o las poblaciones. Esto significa que aun cuando los genotipos pueden sufrir cambios inevitables, se minimiza la erosión de genes y alelos y se evita la recombinación con material extraño. El propósito es retener genes y arreglo de genes que han evolucionado en las poblaciones nativas, las poblaciones silvestres y/o en las nuevas variedades, así como también en varias colecciones genéticas que son o pueden ser requeridas en el futuro.

Las especies vegetales pueden ser clasificadas en tres tipos diferentes por el comportamiento de su semilla botánica: 1) convencionales u ortodoxas, que se pueden almacenar por largos periodos de tiempo a bajas temperaturas y baja humedad relativa; 2) recalcitrantes, que no toleran la deshidratación y pierden viabilidad cuando la temperatura de almacenamiento es baja y el contenido de humedad en ellas se reduce a niveles relativamente bajos (entre 10 y 30%); y 3) intermedias, que presentan comportamiento y características entre los extremos de especies ortodoxas y recalcitrantes (Ellis y otros, 1990). Esto implica que para poder conservarlas adecuadamente habrá que tener un conocimiento adecuado de su biología.



Caesalpinia gaumeri / *Protium copal*. (Fotos: A. Dorantes, R. Durán)

La mayoría de las especies vegetales que habitan la Península de Yucatán presentan características que las hacen difíciles de conservar y, en consecuencia, requieren un mayor costo para este fin.

Un gran número de especies recalcitrantes e intermedias se conservan como colecciones vivas, pero este procedimiento se aplica principalmente en especies que no producen semilla botánica: alternativamente se propagan asexualmente (por tubérculos, rizomas, bulbos, hijuelos, etc.); muchas de estas especies pueden ser conservadas a través del almacenamiento de órganos de las plantas, aunque el tiempo de vida en almacenamiento es corto o mediano. Esta estrategia de conservación, además de requerir grandes extensiones de terreno -en proporción a la cantidad y características de las especies que desean conservarse-, puede ser vulnerable a desastres naturales, quedar expuesta al efecto de plagas y enfermedades y afrontar elevados costos de mantenimiento, entre otros factores adversos.

Con el paso del tiempo y el avance tecnológico y científico han surgido estrategias nuevas que pueden ser empleadas para complementar y eventualmente suplir a las colecciones vivas de especies recalcitrantes, como la crioconservación y el cultivo *in vitro*.

Conservación *in vitro*

La ausencia de producción de semillas y, como alternativa, la propagación clonal en algunas especies indujo la exploración del cultivo de tejidos vegetales como una posibilidad de conservación (Whiters, 1989). Cultivo *in vitro* de plantas es una denominación genérica para un conjunto de técnicas que tienen como característica el uso de células, tejidos u órganos como material para propagar el germoplasma, manteniéndolo viable en condiciones asépticas en recipientes que contienen un medio de cultivo sintético, incubado en condiciones medioambientales controladas.

Esta estrategia presenta ventajas diferentes a las de las colecciones vivas en campo: proporciona mayor seguridad al germoplasma en conservación (al tenerlo confinado en instalaciones seguras, en resguardo y vigilancia constantes) ante el efecto de desastres naturales y eventualidades que en campo no pueden ser controladas; mantiene el germoplasma libre de patógenos por medio de su propagación en condiciones asépticas y la limpieza de material biológico de microorganismos por cultivo de meristemos y/o combinación con otros tipos de métodos como la termoterapia; permite un mayor número de accesiones al mantener en recipientes pequeños una gran cantidad de individuos miniaturizados y tejido germinal. Las condiciones de asepsia y tejidos libres de patógenos proporcionan adicionalmente una mayor capacidad de movilidad para el intercambio internacional de germoplasma fiel al tipo, simplificando los procedimientos cuarentenarios.

Dadas las características del cultivo *in vitro*, se generó una nueva categoría de germoplasma que incluye líneas celulares con atributos especiales y la obtención de organismos genéticamente modificados.



Stemadenia donnell-smithii. (Foto: R. Durán)

Propagación convencional *in vitro*. Este procedimiento permite la propagación clonal y la conservación de las especies bajo condiciones medioambientales controladas para una propagación rápida, pero representa la estrategia más costosa e impráctica, pues demanda mayor ocupación de mano de obra y consumo de insumos para su mantenimiento; además de que permite el mantenimiento de germoplasma sólo a corto y mediano plazo (Engelmann, 1998). Bajo este método, muchas especies, dada la biología particular de cada una, pueden requerir reintroducciones o renovaciones continuas (en términos de meses o pocos años) que eviten la degeneración del germoplasma, sea a causa de demasiadas generaciones bajo condiciones aceleradas de multiplicación (por brotación o cualquier otro proceso), o bien, por iniciarse un proceso degenerativo fisiológico que conduzca a la atrofia de tejidos y su eventual pérdida de viabilidad como germoplasma.

Cultivo en crecimiento lento. Estos métodos son empleados cuando se requiere conservar germoplasma a mediano plazo. Tiene como punto de partida un buen protocolo de cultivo *in vitro*, el cual, por modificaciones, induce una respuesta de baja o lenta actividad fisiológica y metabólica de los tejidos, lo que lleva a extender el cultivo *in vitro* al prolongarse el periodo en que los tejidos permanecen en el mismo medio de cultivo, antes de ser renovado o realizar las actividades de manipulación de los tejidos que permitan su mantenimiento. Para lograr esta respuesta se recurre a la alteración de los factores medioambientales: 1) la manipulación de la composición del medio de cultivo; 2) la modificación de las condiciones de incubación; y 3) una combinación de ambas. La primera involucra la adición de sustancias químicas, como reguladores retardadores del crecimiento en sustitución de los que lo promueven, adición de compuestos osmoreguladores y modificación de la formulación de las vitaminas, minerales y nutrientes. La segunda comprende el empleo de bajas temperaturas, luz (fotoperiodo e intensidad) y modificaciones de la fase gaseosa del recipiente y de los tamaños del contenedor, lo que influye en el medio ambiente gaseoso del cultivo, cantidad de medio nutritivo, y en ocasiones control sobre la recepción lumínica y sobre la tasa de evaporación de agua del medio y humedad relativa en el contenedor (Engelmann, 1998).

Criopreservación. Se ha observado que las semillas ortodoxas y diversos tejidos germinales pueden ser almacenados a temperaturas ultra bajas (-196°C) en nitrógeno líquido, sin ningún problema de daño físico o efectos genéticos. Este procedimiento permite conservar sin modificaciones o alteraciones genéticas por largos periodos de tiempo, esto es, contar con una capacidad de conservación por periodos mayores a 50 o 100 años. Esto permite manejar reducidos volúmenes de material biológico de forma segura, de manera que el mantenimiento del material se reduce enormemente, ya que no requiere pruebas de viabilidad, ni la propagación periódica para mantener viable el germoplasma; esto conduce a una menor manipulación, menor empleo de mano de obra en su mantenimiento y baja inversión en la compra de insumos para la conservación.

Perspectivas en Yucatán

Es un hecho el rezago en materia de conservación *ex situ* que existe en la Península de Yucatán. A nivel sureste (los estados de la península, Chiapas y Tabasco), según determinó el Informe Nacional 2006 sobre Recursos Fitogenéticos en México para la alimentación y la agricultura, sólo existen tres cuartos fríos, que representan el 13.6% de los existentes en el país destinados a conservación de semillas.



Cámara de germinación con fotoperiodo. (Foto: R. Durán)

Los tres cuartos reúnen un volumen de 132 m^3 , que representa el 5.6% de la capacidad de almacenamiento (volumétrico) nacional. Considerando el número de accesiones en conservación, en los cuartos fríos del sureste se reportaron 324 (76 géneros), que representan tan sólo el 0.59% del germoplasma conservado a nivel nacional en forma de semilla, y de las que sólo se han caracterizado 230 (71% de las conservadas). En colecciones de trabajo en la región sureste se registra el 1.8% de las accesiones (20 géneros), destacando, por su número, maíces, chiles y arroz. En cuanto a colecciones de campo, que sería el método preferente para especies recalcitrantes, intermedias o de propagación vegetativa, la región sureste posee el 30% de las accesiones nacionales, superando a las demás regiones.

Uno de los tres cuartos fríos de la región sureste se localiza en Yucatán, el cual, por sus características de temperatura y humedad relativa, puede ser clasificado o permite la conservación sólo a corto plazo, lo que implica condiciones de un banco de germoplasma activo, con semilla disponible para la multiplicación y distribución inmediata. Esto significa que en Yucatán no se cuenta con infraestructura de conservación mediante banco de semillas de manera formal a mediano y largo plazo, quedando este sistema de conservación fuera de una estrategia integral de conservación de plantas, lo cual, a su vez, deja en riesgo a un gran número de especies.

En los jardines botánicos de la región sureste se conservan 127 géneros, el 17% de los ejemplares conservados a nivel nacional (bajo esta estrategia), siendo superada tan sólo por la región centro.

Considerando los ecosistemas y especies de la región sureste, las técnicas de conservación para especies recalcitrantes e intermedias, así como las aplicadas a las especies de propagación vegetativa deberían ser muy empleadas, y la región debería contar con la mayor cantidad de accesiones a nivel nacional, tal como se observó en las colecciones de campo. No obstante, es evidente que en el sureste existe un rezago tecnológico y de infraestructura que impide optar por la conservación *in vitro*, como lo demuestra el hecho de tener tan sólo el 9% de las accesiones del total nacional, en su mayoría de especies ornamentales. Es de particular interés destacar que a pesar del polo de desarrollo de masa crítica científica en Yucatán, en comparación con los demás estados de la región, no existe de manera formal un programa que involucre la conservación *in vitro*, aunque se sabe que en diversas instituciones se manejan estas técnicas con fines de micropropagación e investigación de procesos biológicos de plantas *in vitro*.

Es importante remarcar que la estrategia de cultivo *in vitro* debe ser considerada como una alternativa más de conservación que complementa las demás mencionadas, considerando para su implementación diversos criterios de decisión.

Conclusiones y recomendaciones

La toma de decisiones para conservar las especies puede sustentarse en el germoplasma a conservar y cómo conservarlo. De ahí, entonces, plantear las directrices de la estrategia a seguir en función de los demás factores (recursos materiales, económicos, humanos, etc.), pero siempre enfocadas en la mejor manera de conservar cada especie.

Para la adecuada conservación *ex situ* se debe tener un amplio conocimiento sobre las especies y, en función de este conocimiento, desarrollar las estrategias adecuadas y medidas pertinentes que permitan recuperar, rehabilitar y reintroducir las especies amenazadas en sus hábitat naturales. Existen múltiples aspectos dentro de una estrategia de conservación en los que se debe tener cuidado: selección del germoplasma a almacenar a corto, mediano y/o largo plazo, recolección de los recursos biológicos, caracterización y evaluación, procedimientos de conservación y procedimientos para su uso racional con fines de explotación y/o de reintroducción en los agroecosistemas o hábitat naturales.

Los problemas de detención total de la evolución o la disminución de la tasa evolutiva de una especie en conservación *ex situ* podrían ser parcialmente superados con programas de mejoramiento o mediante liberaciones y reintroducciones sucesivas a los ecosistemas o agroecosistemas donde se desarrollan naturalmente. La importancia y razón principal de la conservación deberá buscar la forma más efectiva y eficiente (sustentada en estudios genéticos) de mantener e incluso incrementar la variación genética.

Los mecanismos de conservación *ex situ* deben operar en paralelo programas y procedimientos adecuados de renovación de germoplasma y programas de mejoramiento que le den utilidad a éste, considerando como parte fundamental la diversidad de las especies involucradas.

La conservación estática *ex situ* (*in vitro*) es complementaria a la conservación *ex situ* (*in vivo*), y ambas complementarias a la conservación dinámica *in situ*. La conservación *in vitro* puede ser considerada como una opción con diferentes estrategias: el cultivo *in vitro* bajo condiciones normales de crecimiento para conservación a corto plazo; la conservación



Pithecellobium dulce. (Foto: A. Dorantes)

en condiciones de lento crecimiento; y combinaciones con la crioconservación para estrategias a largo plazo.

Es urgente que se destinen los recursos necesarios para su desarrollo e implementación, considerando programas de trabajo a mediano y largo plazo que comprendan, no sólo el desarrollo de la infraestructura adecuada, sino también recursos necesarios para la gestión de la conservación de los recursos genéticos vegetales: realización de colectas periódicas en una serie de especies, registro y mantenimiento en condiciones propicias, evaluación y caracterización de las colectas, pre-mejoramiento, reproducción, intercambio con otros bancos de germoplasma e investigación estratégica sobre los procedimientos de gestión de la conservación de nuestros recursos. Esto es, conceptualizar los bancos de germoplasma, no como simples reservorios o museos de germoplasma, sino como una estrategia dinámica para un uso racional de los recursos.

El objetivo de estos métodos no debe ser la conservación a ultranza, lo que quiere decir no tocar en absoluto los individuos de la especie, sino la conservación racional, es decir, la búsqueda de la sustentabilidad de los recursos como parte integral del uso racional en beneficio de la sociedad y de las especies vegetales de la región.