

Conservación *in vitro* de germoplasma, un método para salvar el acervo genético en plantas

MANUEL MARTÍNEZ ESTEVÉZ^{1,2}

¹Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Calle 43 No. 130 x 32 y 34. Col. Chuburná de Hidalgo, 97205, Mérida, Yucatán, México.

²Banco de Germoplasma, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, Km. 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburná Puerto, Tablaje 31257, 97302, Sierra Papacal, Mérida, Yucatán, México.

luismanh@cicy.mx

La conservación del acervo genético de las plantas es una tarea de vital importancia para el mantenimiento de la biodiversidad, que se ha visto seriamente amenazada a consecuencia de los problemas de erosión genética provocados, entre otras cosas, por el cambio de uso de suelo, la acción antropogénica y eventualmente se estima que por el cambio climático. No todas las plantas se pueden conservar en forma de semillas debido a sus características fisiológicas; por lo tanto, el cultivo de tejidos vegetales es una herramienta vital para este objetivo, permitiéndonos mantener este acervo durante tiempos relativamente largos de conservación y a un bajo costo.

Palabras clave:
Biodiversidad, cultivo de tejidos, erosión genética, multiplicación asexual.

La erosión mundial de la variabilidad fitogenética se atribuye a muchos factores importantes, incluidos la degradación parcial del hábitat natural, cambios en el uso de la tierra, reemplazo de variedades tradicionales con cultivares modernos, intensificación de la agricultura, incremento de la población mundial, pobreza, degradación de la tierra por uso indiscriminado de químicos y cambio climático (FAO 2017). Para mitigar los efectos de esa erosión, se han establecido métodos de conservación de germoplasma *in vitro* para aquellas especies que están en algún tipo de peligro y que son susceptibles de conservar por esta vía.

En este sentido, la base teórica para el cultivo de tejidos vegetales la propuso Gottlieb Haberlandt en 1902 (Haberlandt 1902). Este reportó que de una sola célula eventualmente se podría producir una planta completa y funcional. Los primeros cultivos de tejidos de plantas obtenidos por Gautheret correspondieron a tejido del cambium de *Acer pseudoplatanus* L. (Gautheret 1934).

Sin duda, la micropropagación o propagación clonal *in vitro* es una de las aplicaciones más utilizadas de cultivo de tejido (Figura 1). Esta forma del cultivo de tejidos vegetales es una excelente herramienta para la multiplicación de aquellas especies que naturalmente se reproducen asexualmente, pero también se usa para superar algunos problemas de germinación de semillas en diferentes especies de plantas. Por ejemplo, las especies recalcitrantes son

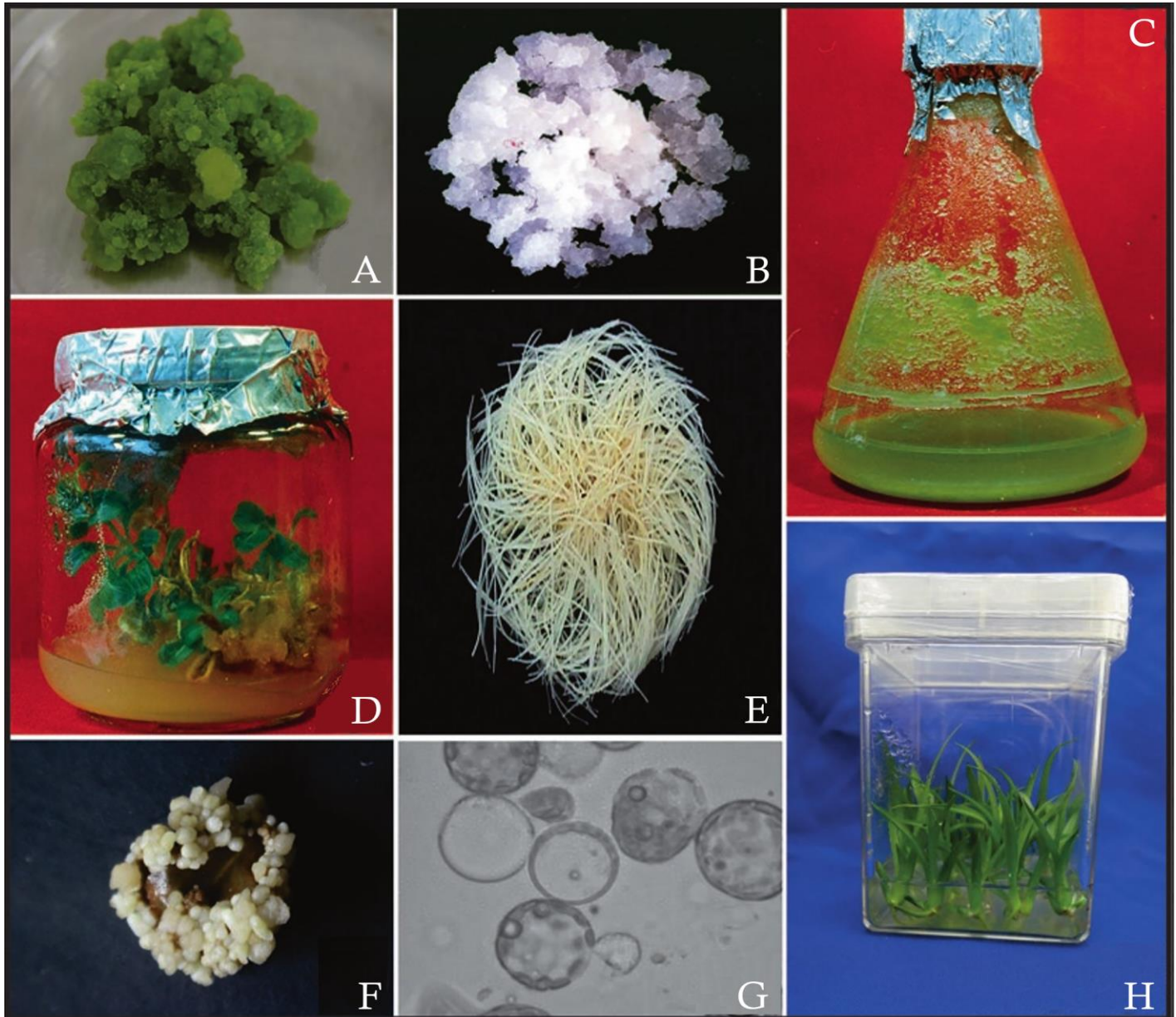


Figura 1A. Callo mixotrófico de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **B.** Callo heterotrófico de *Catharanthus roseus*. **C.** Cultivo en suspensión de *Catharanthus roseus*. **D.** Regeneración de plantas de *Catharanthus roseus* a partir de callos. **E.** Cultivo de raíces de *Catharanthus roseus*. **F.** Embriogénesis somática en *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. **G.** Protoplasto de *Coffea canephora*. **H.** Micropropagación de *Agave fourcroydes* Lem. (Fotografías: **A-G.** Laboratorio del autor. **H.** Clelia De la Peña, tomado de Loyola-Vargas V.M. y Ochoa-Alejo N. 2018).

particularmente caracterizadas por la corta viabilidad de sus semillas (semillas recalcitrantes). También es de suma importancia para la conservación de material biológico y, por lo tanto, la multiplicación asexual es una excelente alternativa.

Cualquiera que desee iniciar cultivos de tejidos vegetales seguirá los siguientes principios básicos: (1) seleccionar un explante de una planta sana y vi-

gorosa, (2) eliminar la contaminación de la superficie de este, (3) inocularlo en un medio de cultivo adecuado y (4) proporcionar al explante en cultivo las condiciones ambientales controladas adecuadas.

En el caso de las plantas regeneradas *in vitro*, se someten a un proceso de adaptación (aclimatación) en invernadero antes de la transferencia a condiciones *ex vitro*. Dependiendo de la parte de la planta

que se cultive, podemos referirlos como cultivo celular (células gaméticas, suspensión celular y cultivo de protoplastos), cultivo de tejidos (callos, tejidos indiferenciados como los meristemos), y cultivo de órganos (cualquier órgano como son los embriones cigóticos, las raíces, los brotes, las anteras, entre otras).

El cultivo en crecimiento lento (también llamado almacenamiento de crecimiento mínimo) es un método de bajo costo que permite preservación de un gran número de brotes sanos *in vitro*, al disminuir su metabolismo y consecuentemente reducir las tasas de crecimiento de los cultivos vegetales. Este método modifica las condiciones del medio de cultivo y permite una expansión significativa de los intervalos de subcultivo, con una reducción del mantenimiento, de los costos y del riesgo de contaminación durante el manejo de los brotes. Se utiliza fundamentalmente en especies que tienen semillas recalcitrantes, difíciles de conservar por el método tradicional en bancos de semilla a temperatura y humedad controlada. Es un método más costoso que la conservación en bancos de semilla, pero nos permite la conservación a largo plazo de especies con algún interés, sea académico, evolutivo o comercial.

Los cambios al medio de cultivo pueden incluir la modificación de la fuente de carbono y su contenido, la concentración en sales minerales (macro y microelementos), la variación de los niveles de reguladores del crecimiento de las plantas (calidad y concentración) y la inclusión de retardantes del crecimiento, como el ácido abscísico. La limitación de nutrientes generalmente se impone reduciendo la sacarosa y el nitrógeno en el medio, a la mitad o cuartos de la concentración estándar (Benson *et al.* 2011).

Esta forma de conservación se basa en la reducción del metabolismo vegetal mediante modificaciones de las condiciones físicas de los brotes cultivados y de la composición química del medio nutritivo. Entre los factores físicos, la baja temperatura juega un papel importante en la reducción del crecimiento. Las temperaturas utilizadas para la conservación a mediano plazo de las especies de zonas templadas suelen oscilar entre 2° C y 12° C, siendo 4–5° C el rango de temperatura más frecuente aplicado (Lambardi y Ozudogru 2013).

El Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY) cuenta con un banco de germoplasma, que es una colección fundamentalmente

dedicada a la conservación de material biológico (semillas) en bóvedas frías y plantas en colecciones de campo, este método de conservación hoy todavía no es utilizado dentro del banco de germoplasma, pero esperamos que en un futuro muy cercano lo estemos estableciendo como un método rutinario de conservación *ex situ*, de especies con semillas que no pueden ser conservadas a bajas temperaturas.

En conclusión, esta herramienta que se desarrolló desde inicios del siglo XX es hoy una posibilidad de recuperar plantas completas, que estén en peligro de extinción, así como preservar el acervo de algunas especies importantes para generaciones futuras.

Referencias

- Benson E.E., Harding K., Debouck D., Dumet D., Escobar R., Mafla G., Panis B., Panta A., Tay D., Van den Houwe I. y Roux N. 2011.** *Refinement and standardization of storage procedures for clonal crops*. Global Public Goods Phase 2: Part III. Multi-crop guidelines for developing *in vitro* conservation best practices for clonal crops. System-wide Genetic Resources Programme, Rome, Italy. 145 pp.
- FAO 2017.** *La estrategia de la FAO sobre el cambio climático*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Rome, Italy. 52 pp.
<http://www.fao.org/3/i7175s/i7175s.pdf>
- Gautheret R.J. 1934.** Culture du tissu cambial. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences (Paris) Sér. III* 198: 2195–2196.
- Haberlandt G. 1902.** Kulturversuche mit isolierten pflanzenzellen. *Akademie der Wissenschaften in Wien, Sitzungsberichte, Mathematisch-naturwissenschaftliche* 111: 69–92.
- Lambardi M. y Ozudogru E.A. 2013.** Advances in the safe storage of micropropagated woody plants at low temperature. *Acta Horticulturae* 988: 29–42.
- Loyola-Vargas V.M. y Ochoa-Alejo N. 2018.** An introduction to plant tissue culture: Advances and perspectives. In: Loyola-Vargas V.M. y Ochoa-Alejo N. (eds.) *Plant cell culture protocols*, 3–13 pp. Springer, New York, NY.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_1

Desde el Herbario CICY, 13: 83–86 (29-abril-2021), es una publicación semanal editada por el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., con oficinas en Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Tel. 52 (999) 942-8330 Ext. 110, www.cicy.mx/Sitios/Desde_Herbario/, webmas@cicy.mx. Editores responsables: Germán Carnevali Fernández-Concha y José Luis Tapia Muñoz. Reserva de Derechos al Título Exclusivo No. 04-2016-041413195700-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN: 2395-8790. Responsable de la publicación: José Fernely Aguilar Cruz, Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Fecha de última modificación: 29 de abril de 2021. Las opiniones expuestas por los autores no necesariamente expresan la postura del editor de la publicación. De la misma manera, la responsabilidad sobre la veracidad y la precisión de los contenidos, le corresponde totalmente a los autores de los ensayos.