



CONSERVACION EX-SITU

UNIDAD DE RECURSOS GENÉTICOS
DOCUMENTACIÓN

Rigoberto Hidalgo H¹

022601

06 MAR 1996

INTRODUCCION

La mayoría de las especies que se domesticaron hace 10 000-15 000 años, son de las que hoy depende el hombre moderno. Desafortunadamente, con el progreso de las civilizaciones hasta llegar a la era presente, tres factores principales hacen peligrar toda esa gama de variabilidad que se produjo durante el proceso de domesticación, es decir, del continuo evolutivo desde especies silvestres ancestrales hasta las variedades modernas, este proceso de la desaparición de la variabilidad genética es parte del fenómeno llamado "erosión genética". En síntesis, esos 3 factores son

- ▶ La destrucción o modificación de los centros de origen de cultivos o centros de variabilidad
- ▶ El desplazamiento de las variedades tradicionales o razas nativas por las variedades modernas
- ▶ La actual presión sobre genetistas y mejoradores, para producir variedades con mayor producción por área y con unos estándares muy exigentes de consumo, hacen que las variedades modernas sean genéticamente más uniformes y con una base genética muy estrecha. Esta característica de uniformidad genética las hace también uniformemente susceptibles a ataques de plagas y enfermedades

La única fuente actual de genes que pueden solucionar los limitantes de producción de las especies cultivadas, se encuentran en el germoplasma que se produjo en el proceso evolutivo de domesticación desde silvestres hasta cultivadas

Los planteamientos anteriores demuestran la urgente necesidad de conservar todos los recursos genéticos que sean posibles, ya que el problema no es sólo solucionar las limitaciones de las variedades actuales, sino también los problemas de las variedades del futuro

¹ Ing. MSc, Unidad de Recursos Genéticos CIAT, Cali, Colombia

1 Recursos Genéticos de especies cultivadas

Dentro del concepto de "Recursos Genéticos" de una especie, se tienen en cuenta varios factores dependiendo de si trata de una especie total o parcialmente domesticada. La gran mayoría de las especies que son de importancia primaria para el hombre caen dentro del grupo de las domesticadas, es decir, aquellas que han sufrido una presión de selección y de uso intensivos. Ese proceso de domesticación, que tiene un promedio de 10 000 años para los cultivados, ha generado toda una gama de variabilidad genética que ha sido clasificada de acuerdo a su secuencia evolutiva y también de acuerdo a su uso.

- 1 1 Desde el punto de vista evolutivo se puede hablar de 4 grandes grupos, no queriendo decir que estos sean fácilmente identificables, puesto que en una secuencia evolutiva no existen límites divisorios tan evidentes para separar las diferentes etapas, ni tampoco que cada uno de los grupos esté representado en todas las especies domesticadas. Dichos grupos son
 - 1 1 1 Silvestres ancestrales, las cuáles dieron origen a las cultivadas
 - 1 1 2 Formas intermedias que no son silvestres propiamente ni tampoco son completamente domesticadas. En la literatura se les ha denominado como formas maleza ("weedy" en Inglés), o como formas regresivas
 - 1 1 3 Especies domesticadas o cultivadas en forma de razas nativas o variedades tradicionales, las cuales han sido el resultado de un proceso empírico de selección por parte de los agricultores en los centros de domesticación y diversificación
 - 1 1 4 Variedades modernas, resultado de una selección científica, las cuales surgen a principios de este siglo después del descubrimiento de la genética por parte de Mendel

Los grupos anteriores son una generalización de los componentes de los recursos genéticos de una especie, los cuales son tratados de diferentes maneras por diferentes autores.

- 1 2 Chang (1985) indica que el reservorio genético del germoplasma de una especie tiene 3 fuentes principales
 - 1 2 1 Germoplasma de los centros de diversidad tales como cultivares primitivos, híbridos naturales entre la especie domesticada y las especies silvestres ancestrales, especies silvestres ancestrales y formas intermedias (weedy, en Inglés)

- 1 2 2 Germoplasma de los centros de cultivo y de producción intensiva, donde se pueden encontrar tipos comerciales, variedades obsoletas, variedades menores y tipos con propósitos especiales
 - 1 2 3 Germoplasma de los programas de mejoramiento, en los que se pueden encontrar líneas puras extraídas de las variedades de los agricultores, variedades híbridas élite o híbridos F1, líneas de mejoramiento, genotipos especiales, mutantes, poliploides, aneuploides, híbridos interespecíficos e intergenéricos, fuentes citoplasmáticas, compuestos o sintéticos
- 1 3 Por su parte Esquinas (1981) propone solo dos grandes clases
- 1 3 1 Especies cultivadas
 - 1 3 2 Especies silvestres
- 1 3 1 Dentro de las especies cultivadas, identifica cuatro grupos variedades comerciales, variedades locales tradicionales, líneas de mejoramiento y otras combinaciones genéticas
- 1 3 2 Dentro de las especies silvestres identifica 3 grupos
- 1 3 2 1 De uso directo los cuales son usados pero no se las siembra ni cultiva, como es el caso de maderables y algunas pasturas
 - 1 3 2 2 De uso indirecto, son aquellas que tienen afinidad con las cultivadas y que se pueden cruzar
 - 1 3 2 3 De uso potencial, las cuales no son utilizadas actualmente, pero que pueden ser cultivadas en el futuro por poseer características especiales como fuente de productos químicos, energéticos, o medicinales

Cualquiera que sea el tipo de clasificación que se use para agrupar los recursos genéticos de una especie, lo importante es tratar de coleccionar todo el espectro de variabilidad genética que se ha producido durante la domesticación de la especie y, hasta donde sea posible, coleccionar también la variabilidad que se produjo durante el proceso evolutivo de especiación, este último proceso involucra todas las especies que se formaron durante la evolución del género. En efecto, hasta mediados de la década del 70, había casi que exclusivamente interés por coleccionar y conservar germoplasma de las especies domesticadas, sin embargo, ese criterio ha cambiado radicalmente en los últimos 15 años y la importancia de las especies silvestres está

fuera de cualquier duda. El énfasis se ha aumentado debido quizás al desarrollo de técnicas biotecnológicas, las cuales intentan hacer más factible la utilización de la variabilidad genética que poseen estas especies para mejorar las domesticadas.

2 Tipos de Conservación

Tomando en cuenta la situación actual, tanto de los centros de origen como de los centros de diversidad, existen dos posibilidades para conservar el germoplasma:

- 2.1 *In situ*, el cual sugiere tratar de conservar las especies y su variabilidad en el hábitat natural de ellas sin perturbar su dinámica.
- 2.2 *Ex situ*, intenta conservar la variabilidad de las especies fuera de su hábitat natural.
 - 2.1 La conservación *in situ* puede incluir varias alternativas:
 - 2.1.1 Preservación de vastas zonas para conservar plantas y animales como una biomasa integral.
 - 2.1.2 Preservación de especies silvestres en comunidades naturales no denominadas como reservas.
 - 2.1.3 Preservación de las domesticadas, es decir, las razas nativas en sus áreas de cultivo tradicionales (Frankel y Soule, 1981).
 - 2.2 Por su parte la conservación *ex situ* puede incluir también varias alternativas:
 - 2.2.1 Jardines botánicos, que conserva plantas enteras.
 - 2.2.2 Bancos de germoplasma, los cuales pueden ser de varios tipos dependiendo de la parte de la planta que se pretende conservar: bancos de semillas, bancos de polen, bancos de clones, bancos de propagación y conservación *in vitro* (Frankel y Soule, 1981, Cuevas, J., 1988).

3 Conservación *Ex Situ*

Como se mencionó anteriormente, la conservación *ex situ* pretende conservar las especies fuera de su hábitat natural. Ahora, si nos referimos a las especies domesticadas, la conservación *ex situ* es la que intenta conservar fuera de sus centros

de origen o de diversidad, tanto las especies, como la variabilidad producida, durante el proceso evolutivo de domesticación. Para las especies domesticadas, esta forma de conservación ha tenido mucha acogida durante este siglo, debido a los problemas tan complejos que presenta la conservación *in situ* en los centros de origen o de diversidad, ya que en ellos es donde se presenta la mayor tasa de erosión genética para estas especies.

3.1 Principios básicos Una adecuada conservación *ex situ* requiere del conocimiento de unos principios básicos, que son esenciales para disminuir hasta donde sea posible los efectos del "nuevo" ambiente, en las especies que se tratan de conservar, (Cuevas, 1988)

3.1.1 Conocimiento profundo de la biología de las especies a conservar, especialmente su adaptación ecológica, sus sistemas de propagación y las condiciones óptimas para su reproducción, dentro de las que se incluyen necesidades para una buena germinación (por ejemplo rompimiento de dormancia, escarificación), condiciones para el adecuado crecimiento de la planta tales como fotoperíodo, termoperíodos, tipo de polinización, autoincompatibilidad

3.1.2 Conocimiento y aplicación de técnicas adecuadas para representar la variabilidad genética de la especie y asegurar que no van a existir factores de selección que alteren la composición genética original de las muestras

3.1.3 Consecución de información, lo más completa posible, acerca del origen y de las condiciones ambientales en las que colectó el germoplasma (datos pasaporte), se incluye el entorno cultural en el que el germoplasma es colectado, pues esto ayudará a la mejor comprensión de la variabilidad como recurso del hombre. Esta documentación se complementa con los datos de caracterización, que deben ser escogidos cuidadosamente para que produzcan información útil a los investigadores

3.2 Alternativas de conservación *ex situ* En cuanto a las alternativas de conservación *ex situ*, éstas se pueden agrupar en dos tipos

3.2.1 Jardines Botánicos

3.2.2 Bancos de Germoplasma

3.2.1 En lo que toca a los jardines botánicos se podría decir que también son bancos de germoplasma, pero con una concepción diferente. En efecto, estos fueron creados hace ya más de un siglo y surgieron como

templadas Debido a la naturaleza de su creación, los jardines botánicos tienen una gran limitación para ser usados por los genetistas y mejoradores, la cual se refiere a la no representatividad de variabilidad genética intraespecífica, por lo general, siempre con propósito de clasificación taxonómica Para buscar una mayor utilidad de este tipo de conservación, se ha sugerido la creación de jardines etnobotánicos en centros de origen o centros de diversidad, en los que todavía existan regiones de agricultura tradicional, con el fin de conservar tanto el germoplasma como la cultura circundante en que se desarrolló (Cuevas, 1988)

3 2 2 En lo que se refiere a los bancos de germoplasma, estos pueden ser de 4 tipos Bancos de semillas Bancos de polen Bancos de clones y bancos de conservación *in vitro* (Cuevas, 1988 Chang, 1985)

3 2 2 1 Los bancos de semillas son hasta el presente el medio más eficiente para la conservación de los recursos genéticos Las técnicas para conservación de semillas buscan el máximo tiempo de almacenamiento con el mínimo de actividad fisiológica y el mínimo de pérdida de la viabilidad Los bancos de germoplasma se pueden organizar en base a la proyección de la longevidad de las semillas y a los ciclos de rejuvenecimiento En efecto, el panel de expertos de la FAO ha designado dos tipos esenciales de bancos de germoplasma de semillas Colecciones básicas y Colecciones activas (Frankel, 1975) Sin embargo, hay una característica que se debe tener en cuenta para establecer los dos tipos anteriores de conservación, ésta se refiere a la respuesta de las semillas a los procedimientos pre-almacenamiento, específicamente al secado

En efecto, los fisiólogos de semillas han clasificado la mayoría de las semillas de las especies cultivadas en 2 grandes grupos a) Ortodoxas y b) Recalcitrantes a) Las semillas de comportamiento ortodoxo son aquellas que toleran secamiento a muy bajos niveles, de contenido de humedad de la semilla (menor del 10%) y por ende toleran almacenamiento a bajas temperaturas Estas características permiten conservar intacta la viabilidad de las semillas por períodos largos (más de 10 años), por fortuna, la gran mayoría de las especies cultivadas caen dentro de este tipo de semillas ortodoxas b) Por el contrario, las semillas de comportamiento recalcitrante no permiten secado ni almacenamiento a bajas temperaturas, pues pierden su viabilidad rápidamente, caen dentro de esta

categoría especies generalmente arbustivas o árboles, como el té, café, cacao y caucho (Roberts, 1975)

La gran mayoría de la investigación hecha hasta el presente para buscar técnicas adecuadas de conservación, ha sido hecha para semillas de comportamiento ortodoxo. Sólo en la última década se ha iniciado la búsqueda de técnicas factibles para la conservación de semillas recalcitrantes, por ejemplo, cultivo de tejidos, imbibición en soluciones especiales

Teniendo en cuenta que la mayoría de las especies domesticadas son de tipo ortodoxo, se han establecido algunas pautas a seguir para los diferentes propósitos de conservación. En las colecciones básicas se recomienda que las semillas sean secadas al 5-6%, empacarlas herméticamente, y almacenarlas a temperaturas entre -10° y -20°C , para almacenamiento a largo plazo, el propósito es mantener la variabilidad intacta y sólo usar la semilla para rejuvenecimiento. Para las colecciones activas se recomienda secar las semillas entre 8-11% y almacenarlas a temperaturas un poco superiores a 0°C , para almacenamiento a corto y mediano plazo, el propósito es semilla de uso inmediato, es decir, para distribución, intercambio, multiplicación, y caracterización-evaluación

3.2.2.1.1 Factores de Conservación en Bancos de Semillas

Chang (1985) enumera tres tipos de factores que se deben tener en cuenta para asegurar el éxito de la conservación en bancos de germoplasma de semillas: A) Biológicos B) Físicos C) Humanos

A) Entre los factores biológicos se pueden enumerar:

- a) La madurez fisiológica: las semillas tienen su mayor potencial de viabilidad cuando han alcanzado la madurez fisiológica, lo cual sugiere cosechar las semillas poco después de la madurez.
- b) Estado sanitario de la semilla: éstas deben ser cosechadas de plantas completamente sanas que no hayan tenido ataques de hongos, bacterias, virus o insectos y que no hayan sufrido estrés ambiental (temperatura, agua, suelo).
- c) Métodos de cosecha que no produzcan daño mecánico, de tal manera que las partes de la semilla no sufran deterioro y produzcan plantas anormales.
- d) Determinar si hay dormancia: en varios casos la dormancia puede ayudar a prolongar la longevidad.
- e) Determinar si hay variabilidad respecto a la

longevidad, tanto a nivel intervarietal o interespecífico f) Determinar si es ortodoxa o recalitrante

B Los principales factores físicos son a) Temperatura Junto con la humedad relativa determinan la longevidad de la semilla El efecto de la temperatura en la semilla se extiende desde la madurez fisiológica hasta la cosecha, durante el secado y durante el tiempo que permanezca fuera de los cuartos de conservación b) Contenido de humedad Debido al carácter higroscópico de las semillas, éstas se equilibran en un contenido de humedad de acuerdo a la temperatura y a la humedad relativa circundantes Cada especie tiene una curva isotérmica de equilibrio En el caso de semillas de comportamiento ortodoxo, la longevidad se afecta mucho a altas humedades relativas, especialmente si la temperatura es también alta c) La interacción de temperatura y contenido de humedad Existen ciertos rangos de temperaturas y humedades, en los que se pueden tener varias combinaciones de los dos factores, para estimar períodos de viabilidad Por ejemplo algunas especies con 10% de contenido de humedad, almacenadas a 20°C tendrán el mismo período de longevidad que si se almacenan a 8% de contenido de humedad y a 30°C, Robert y Ellis (1987) han elaborado ecuaciones para predecir longevidad d) Otros factores Se refiere principalmente a contenidos de oxígeno, dióxido de carbón y nitrógeno Sus efectos son poco medibles en condiciones de almacenamiento convencionales

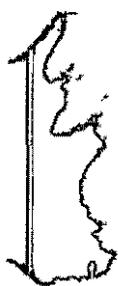
C Factores Humanos Se refieren principalmente a que el personal trabajando en recursos genéticos debe ser especializado y tener continuidad, ya que los recursos genéticos de plantas requieren de cuidadosa investigación en el largo plazo y por ello el trabajo en este aspecto debería estar libre de los efectos políticos o de guerras La colaboración con otras disciplinas como fisiólogos, ingenieros de refrigeración, mejoradores y otros, es una necesidad imperiosa

3 2 2 1 2 Instalaciones Para conservar semillas ortodoxas se necesita construir facilidades refrigeradas para largo y corto-mediano plazo Debido al costo de estas facilidades es imperativo que el diseño, el equipo y el sitio sean cuidadosamente escogido para las necesidades que se tienen, al mínimo del costo

3 2 2 1 3 **Semillas** En lo que respecta a la semilla *per se*, también deben tenerse en cuenta los siguientes factores que maximizarán la utilidad potencial del germoplasma que representan a) Monitoreo periódico de la viabilidad de la semilla escoger el test adecuado, principalmente desde el punto de vista del tamaño de muestra, porque la semilla en los bancos de germoplasma es escasa b) Decidir los niveles críticos de viabilidad y cantidad de semilla para pasar a rejuvenecimiento de la misma Niveles entre 50-85% de viabilidad pueden escogerse como criterio c) Cuidar que la estabilidad genética de las accesiones sea mantenida, para ello hay que establecer pruebas en aquellas semillas que tienen más tiempo almacenadas para detectar si hay efectos genéticos debidas al envejecimiento (mutaciones, aberraciones cromosómicas)

3 2 2 2 **Bancos de Polen** La preservación de plasma germinal usando polen es aconsejable cuando no es posible conservar las especies *in situ*, ya sea porque estén en peligro de extinción o porque no se conozcan las técnicas adecuadas para conservar las semillas, los clones, o su propagación *in vitro* Se ha reportado que el polen de muchas especies se pueden almacenar a temperaturas entre 5 a 23°C, y una humedad relativa de 0-50%, también se han hecho ensayos de criopreservación teniendo buenos resultados

3 2 2 3 **Bancos de Clones** Este tipo de bancos aparece como alternativa cuando se tienen especies de semillas recalcitrantes, o especies que tienen alta heterocigocidad y por ello hay que mantener vegetativamente el genotipo, o existen problemas de germinación (tiempo y condiciones) que limitan la propagación sexual, o porque la producción de semilla sexual es muy baja Generalmente, se aplica en especies de propagación vegetativa tales como estacas, rizomas, estolones, tallos subterráneos, etc, y se mantienen como colecciones vivas en campo Los limitantes que presenta estas colecciones se refieren principalmente a costos de mantenimiento y al peligro potencial de pérdidas de la colección en caso de una enfermedad epidémica, o un ataque masivo de algún insecto, o un factor ambiental que produzca devastación de las plantas Se conocen bancos de clones de papa, yuca y batata entre otros



Bancos de Conservación *in vitro* Esta técnica de conservación apareció a principios de siglo como técnica para conservar genotipos de especies de interés comercial. Su desarrollo se basa en el principio de que casi todas las partes de la planta están capacitadas de regenerar en planta, a través de diferentes técnicas de cultivo de tejidos tales como células simples, callos, y suspensiones de células. La técnica más desarrollada hasta el presente es la de cultivo de meristemas cuyo proceso se puede sumarizar como sigue

- A Escoger el material adecuado
- B Aislamiento de especímenes sanos
- C Desarrollo de métodos de aislamiento del meristema y la regeneración de las plantas
- D Optimización de las condiciones de cultivo para la regeneración de las plantas a partir de meristemas
- E Almacenamiento de cultivares en condiciones medio nutriente, o en temperatura baja (6 - 9°C) dependiendo de la especie, o usando criopreservación con nitrógeno líquido
- F Regeneración de los nutrientes para producir plantas

Withers (1980) concluye que mucha investigación es necesaria en las áreas de fisiología y biofísica, para entender los fenómenos de regeneración, tanto a nivel de meristemas, como a nivel de permanencia y rescate vivo del meristema en criopreservación. Los bancos de conservación *in vitro* tienen un costo inicial relativamente alto, pero en el largo plazo los costos pueden ser relativamente menores que los de bancos de clones. Se sugiere que estos bancos sean un complemento de los bancos de clones, los cuales seguirían actuando como activos. Su principal beneficio es de que el germoplasma está protegido de ataques de enfermedades, insectos, cambios climáticos, problemas de suelos. Existen colecciones de conservación *in vitro* de papa, yuca, batata y ñame.

BIBLIOGRAFIA

- Chang, Te-Tzu, 1985 Plant Genetic Resources - Key to Future Plant Production Plant Science Lecture Series, 1984 Iowa State Journal of Research Vol 59, No 4 p 323-496
- Cuevas S, Jesus A, 1988 Recursos Fitogenéticos Bases conceptuales para estudio y conservación Universidad Autónoma Chapingo Dpto Fitotecnia Chapingo, Mexico 244pp
- Esquinas A, José T, 1981 Los Recursos Fitogenéticos una Inversión Segura para el Futuro Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos - Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias Madrid, 44pp
- Frankel, O H 1975 Genetic Resources Centres - a cooperative global network In O H Frankel and J G Hawkes (Eds) Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow Cambridge University Press Cambridge pp 473-482
- Frankel, O H and M E Soule 1981 Conservation and Evolution Cambridge University Press
- Hidalgo, R 1988 "The *Phaseolus* World Collection" In Genetic Resources of *Phaseolus* Beans Paul Gepts, Editor Kluwer Academic Press Dordrecht, Holland pp 269-295
- Roberts, E H 1975, Problems of Long Term Storage of Seed and Pollen for Genetic Resources Conservation In Crop University Press Cambridge O H Frankel and J G Hawkes (Eds), pp 269-295
- Roberts, E H, and R H Ellis 1977 Prediction of Seed Longevity at sub-zero Temperatures and Genetic Resources Conservation Nature pp 431-433