

## **Estrategias para la conservación y utilización de la biodiversidad agrícola del departamento del Chocó**

### **Strategies for the knowledge, conservation and use of agricultural biodiversity at the Department of Chocó**

**Miguel Ángel Medina-Rivas<sup>1</sup>, Fernando Nuez-Viñals<sup>2</sup>, Jaime Proen-Thomas<sup>2</sup>**

#### **Resumen**

Para el conocimiento, conservación y utilización de la biodiversidad agrícola del Chocó es necesario adoptar una serie de estrategias, basadas fundamentalmente en la utilización real de nuestros recursos vegetales promisorios, un material genético que se caracteriza por su calidad organoléptica y su adaptación específica a las condiciones agroclimáticas; con este fin se proponen algunas estrategias para su utilización y conservación. Es importante anotar que los recursos vegetales promisorios son recursos genéticos imprescindibles para el desarrollo de futuras variedades. Estos recursos de alta calidad se pueden introducir o se están introduciendo en programas de mejora destinados al desarrollo de variedades de alto rendimiento, propias de la agricultura comercial hoy día dominante.

**Palabras clave:** Biodiversidad agrícola; Biotecnología; Marcadores genéticos; Morfogénesis *in vitro*.

#### **Abstract**

In order to increase our knowledge and to promote conservation plans that guarantee the appropriate use of the agricultural biodiversity of the Department of El Chocó it is necessary to adopt a serie of strategies, that should be based on the actual use of our promising plant resources, genetic material selected on the basis of their organoleptic quality, and their specific adaptations to the agroclimatic conditions. To reach these objectives we propose a pool of strategies oriented to optimize their use and conservation. It is important to point that plant resources are promising genetic resources, essential for the development of future varieties. These high-quality resources can be incorporated in breeding programs to develop high yielding varieties, such those dominating the typical of current commercial agriculture.

**Keywords:** Agricultural biodiversity; Biotechnology; Genetic markers; Morphogenesis *in vitro*.

#### **Introducción**

Los recursos genéticos son imprescindibles para mantener la productividad agrícola. La población mundial alcanzará los 7000 millones de personas en tres años (en el 2010 es de 6866 millones) y rebasará los 9000 millones en 2050, lo que representa un 49.6% más que en el año 2000 (Tabla 1). Son las estimacio-

nes revisadas de la ONU, presentadas en Nueva York por la dirección de la división de población de ese organismo (Zlotnik 2009).

Sin embargo, los recursos genéticos vegetales de los que depende la seguridad de la alimentación mundial, están desapareciendo a un ritmo alarmante. Estos recursos se deben conservar, analizar y comparar de una forma sostenible si se quieren desarrollar

1. Grupo de Investigación en Biotecnología y Recursos Fitogenéticos, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia. e-mail: mmedinarivas@gmail.com
2. Instituto de Conservación y Mejora de la Agro Diversidad Valenciana (COMAV), Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

Fecha recepción: Octubre 25, 2010

Fecha aprobación: Febrero 22, 2011

**Tabla 1.** Crecimiento de la población mundial

	Población mundial en millones de habitantes									
	% neto 2010-2050*	2010	2015	2020	2025	2030	2035	2040	2045	2050
Total mundial	39	6,866.9	7,269.5	7.3	8.027,5	8,373.1	8,698.6	9,003.2	9,284.4	9,539.0

nuevas variedades de cultivos para satisfacer la demanda de necesidades de toda esta población a largo plazo, lo que requerirá mejorar el rendimiento de los cultivos y buscar otras fuentes de materiales para la medicina, la industria y la alimentación de manera eficiente y sostenible aprovechando la biodiversidad.

Estas cifras indican que los recursos genéticos vegetales para la seguridad alimentaria están desapareciendo a un ritmo similar al del aumento de la población mundial, lo que demuestra que el principal benefactor de los recursos genéticos los está destruyendo. El reconocimiento de este problema no es nuevo. A finales de la década de 1960, aunque la toma de conciencia sobre los problemas medio-ambientales estaba experimentando un fuerte auge, la preocupación por la erosión genética y la pérdida de los recursos genéticos, se debió sobre todo a agrónomos (Pistorius 1997):

*«... la erosión de nuestros recursos biológicos puede afectar gravemente a las futuras generaciones, las cuales, muy acertadamente, nos culparán de falta de responsabilidad y de falta de previsión. Pero ya en este momento, nosotros mismos estamos igualmente muy limitados, dado que muchos, por no decir la mayoría de estos recursos genéticos, no están disponibles para su utilización general por los mejoradores, agrónomos, forestales y horticultores de todo el mundo».* Frankel en Bennett (1968).

Pero ¿qué es lo que hay que conservar? Lo que importa es mantener un capital genético lo más diversificado posible, soporte básico para la selección clonal de genotipos sobresalientes para establecer cultivos comerciales y la mejora de plantas. Los recursos fitogenéticos incluyen cultivares modernos y tradicionales, variedades primitivas, especies adventicias y silvestres relacionadas.

Aunque no representan más que una parte del resto de los recursos fitogenéticos, los cultivares tradicionales albergan en general una gran variabilidad genética. Este tipo de materiales, se podrían también utilizar directamente mediante una adecuada comercialización.

### Importancia de conservar la biodiversidad

Los recursos genéticos son la base de la seguridad alimentaria indispensable para mantener la productividad agrícola. En sentido general, el hombre tiene una dependencia absoluta de las plantas. Estas constituyen la base de la alimentación, proporcionan los elementos para suplir la mayoría de las necesidades, y además, se utilizan en la industria para fabricar combustible, medicina, fibras, caucho y otros productos. Sin embargo, el número de plantas que el hombre utiliza en su alimentación es mínimo comparado con el número de especies existentes en la naturaleza. Tan sólo treinta cultivos entre los que se destacan el arroz, el trigo y el maíz, proporcionan un 95% de las calorías presentes en la dieta humana (FAO 1996). La dependencia de un número tan limitado de cultivos amenaza la seguridad alimentaria de la humanidad.

*«Los recursos genéticos son la suma de todas las combinaciones de los genes resultantes de la evolución de las especies. Comprenden desde especies silvestres con potencial agrícola hasta genes clonados (el término recursos genéticos implica que el material (el germoplasma) tiene o puede tener valor económico o utilitario, actual o futuro, siendo especialmente importante el que contribuye a la seguridad alimentaria»* (IBPGR 1991).

Como son de gran utilidad, el hombre aprovecha

los recursos vegetales promisorios y para ello debe conocerlos, manejarlos, mantenerlos y utilizarlos racionalmente.

Por tanto, los recursos genéticos constituyen la fracción de la biodiversidad que potencialmente se utiliza para el desarrollo agrícola, medicinal e industrial, y están constituidos por variaciones genéticas organizadas en un conjunto de materiales diferentes entre sí, denominados germoplasmas, que constituyen el elemento de los recursos genéticos e incluyen variabilidad genética intra e interespecífica, con fines de utilización en la investigación en general y especialmente en la mejora genética (Nuez *et al.* 1990).

**Importancia de la biodiversidad en la producción agrícola.** La biodiversidad en la producción agrícola es necesaria por las siguientes razones:

Permite salvaguardar los recursos genéticos, indispensables para futuros avances genéticos. La uniformidad de los cultivares modernos erosiona la agrobiodiversidad existente o los recursos genéticos en los que se basa, con lo que se comprometen las posibles mejoras en el futuro. Se ha hecho un importante esfuerzo de recolección y conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos para evitar su pérdida, por lo que en algunos de los cultivos más importantes, gran parte de la biodiversidad se puede considerar recolectada; sin embargo, en otros muchos cultivos, plantas adventicias y plantas silvestres relacionadas con los cultivos, se está todavía en una fase precaria.

Explotar la interacción genotipo medio, utilizando genotipos habituados a ambientes específicos, se maximiza la productividad y se reduce la necesidad de utilización de insumos adicionales. La estrategia de acostumar las plantas al medio, además de mantener y generar agrobiodiversidad a través del desarrollo de numerosos cultivares adaptados a condiciones específicas, permite reducir el nivel de insumos, minimizar la contaminación ambiental y mantener un ecosistema más adecuado, contribuyendo como estrategia de mejora al desarrollo de una agricultura más sostenible.

**Una mayor estabilidad de la producción.** Es bien sabido que un incremento en la diversidad genética se asocia con un incremento de la estabilidad de la producción, porque la biodiversidad actúa como amortiguador frente a los cambios ambientales y disminuye los riesgos de plagas y enfermedades.

**Conservar la experiencia y profundos cono-**

**cimientos etnobotánicos asociados con la biodiversidad.** Este saber fue adquirido por los agricultores durante cientos de años a partir de sus necesidades y sistemas de cultivos. De estos conocimientos se derivaron muchos beneficios, no sólo en relación con la alimentación, el vestido y la vivienda, sino también en otros campos como la sanidad, industria química, etc. El mantenimiento de este saber se asocia necesariamente al mantenimiento de la diversidad biológica.

**Contribuir a la mejora de las condiciones de vida de muchos agricultores,** en especial de aquellos con escasos recursos. En determinadas situaciones, la sustitución de la diversidad por variedades modernas genéticamente uniformes y sus requerimientos asociados, han contribuido a la destrucción de las estructuras sociales, y a la pobreza y malnutrición de muchos agricultores que han perdido sus variedades tradicionales y se han visto obligados a depender del suministro de semillas, fertilizantes y pesticidas a precios muy altos.

Conserva el medio ambiente como tal porque, como se hizo evidente en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y Desarrollo llevada a cabo en Río de Janeiro en 1992, la biodiversidad es una parte sustancial del medio ambiente. Este aspecto va más allá del sector agrario y trasciende a aspectos más generales de la sociedad. En este sentido el departamento del Chocó es una de las zonas con más alta biodiversidad del mundo y muchos cultivos con gran potencial están sin explotar.

La mejora genética no se aplica con la misma intensidad y éxito en todos los cultivos, de forma que la competitividad económica de cultivos específicos determina los flujos de apoyo económico para su desarrollo en un proceso de retroalimentación. Los programas de mejora formal han hecho un énfasis mínimo en cultivos menores, especies promisorias y silvestres.

Algunos cultivos en los que la mejora hace mucho énfasis, como el arroz y el trigo, son cultivos de lujo en algunas zonas, mientras que otros que tienen una importancia considerable reciben poca atención en sus zonas. La recuperación de cultivos locales marginados u olvidados, recursos biológicos promisorios y especies silvestres, permitiría aumentar la sostenibilidad. Muchos de estos cultivos han evolucionado durante largo tiempo bajo condiciones

locales, por lo que se encuentran muy bien adaptados y presentan una alta resistencia frente a todo tipo de presiones ambientales, tales como inundaciones, sequías, granizo, plagas y enfermedades.

Los organismos subvencionadores han premiado de forma casi exclusiva la productividad. Esto discrimina a las variedades tradicionales, las especies promisorias y silvestres frente a las variedades modernas. Una vía por la que se podría promocionar la diversidad agrícola sería mediante un apoyo económico condicionado a los grupos que realicen mejora para condiciones específicas y usen métodos que no colapsen la variabilidad (Nuez *et al.* 1997).

El departamento de Chocó, Colombia, es fuente de cultivos locales infrautilizados, recursos vegetales promisorios y especies silvestres que se pueden aprovechar para obtener nuevos cultivares de gran variabilidad para evitar el peligro asociado con la vulnerabilidad de los cultivos homogéneos. La utilización de los recursos permitiría un desarrollo sostenible en una región en donde las necesidades básicas están insatisfechas y en donde la biodiversidad no sólo haría aportes a la seguridad alimentaria, sino también al vestido, la vivienda, la medicina y la industria, y en general al desarrollo regional y nacional (Medina *et al.* 2007).

## La conservación de la biodiversidad agrícola en el departamento del Chocó

**Estrategia N° 1. Crear un banco de germoplasma para la conservación *ex situ*.** Para ello se requiere disponer de un área para la instalación de cámaras frías de -3°C para la conservación de semillas, cámaras para la desecación y una casa de malla para actividades de multiplicación y caracterización. La actividad del banco se debe centrar fundamentalmente en especies cultivadas y silvestres con uso actual y relacionado con las cultivadas a nivel regional y nacional.

**Actividades de recolección del banco.** Esta actividad se debe iniciar recolectando especies que se encuentren en grave riesgo de extinción. Las expediciones de recolección del banco se llevarán a cabo siguiendo las normas sugeridas en el manual de colectas de Hawkes (1980).

1. Los recolectores participantes en cada expedición deben estar familiarizados con el cultivo o los cultivos objetivos de cada expedición.

2. Deben tener un buen conocimiento previo de la región de recolección.

3. Los datos se deben registrar en el campo al mismo tiempo que se realizan las colectas.

En cualquier caso, se deben seguir prácticas correctas de recogidas, según establece el Código Internacional de Conducta para la Recolección y Transferencia de Germoplasmas Vegetal de la FAO 1993.

**Multiplicación y regeneración del material conservado.** En el banco de germoplasma se deben llevar a cabo actividades de multiplicación de las entradas por una de las tres razones siguientes [Handbook of Seed-Technology in Genebanks (IBPGR 1985)]:

- a. Cuando ha sido colectada, para su reproducción y evaluación.
- b. Cuando la viabilidad de las semillas sea igual o menor de 85%.
- c. Cuando el número de semillas conservadas sea igual o menor que tres veces las necesarias para una multiplicación.

**Caracterización.** Para que los materiales del banco sean de utilidad, es imprescindible que estén adecuadamente caracterizados, es decir, que se conozcan cuáles son las características de cada entrada o muestra. Se pueden distinguir tres niveles de datos de caracterización, siguiendo al IBPGR en su publicación *Scientific management of germoplasm characterization, evaluation and enhancement* (IBPGR, 1989):

- a. Datos de pasaporte. Sirven para identificar la procedencia de la muestra y se toman al momento de la recolección de la muestra; se emplea el modelo oficial recomendado por el IBPGR.
- b. Datos de caracterización. Sirven para identificar la muestra mediante caracteres fácilmente observables, poco afectados por el ambiente o bien de alto valor agronómico.
- c. Datos de evaluación. Sirven para definir características específicas como resistencia a enfermedades, respuesta a estrés ambiental, etc.

## Conservación

**Almacenamiento.** El almacenamiento de semillas en condiciones de propagación indefinida es una de las actividades más importantes a realizar en un banco de germoplasma. Dentro de las colecciones de germoplasma, se distinguen las *colecciones base*,

aquellas que se mantienen bajo condiciones ideales de almacenamiento durante períodos de tiempo muy largos (50 ó 100 años, incluso más en algunos casos) y las colecciones activas, que se mantienen en condiciones por debajo de las ideales de corto a mediano plazo (de 5 a 20 años) y se emplean para regeneración, multiplicación, distribución, evaluación y documentación de las entradas (Hawkes 1980, citado por Nuez y Ruiz 1999).

Nuez *et al.* (1992a) recomiendan almacenar las semillas en colecciones base con un contenido de humedad interna de aproximadamente 6% y una temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ ; estas condiciones permiten mantener una buena viabilidad en la mayoría de las especies. Los términos «colección base» y «colección activa» no hacen referencia a las condiciones en que se almacenan las semillas y a la organización y funciones de la colección (CPF 1993a). No obstante, con el objeto de facilitar los movimientos de muestras, las colecciones activas se suelen mantener a temperaturas superiores. Esta temperatura puede ser de  $-3^{\circ}\text{C}$ . La sequedad de las muestras se garantiza mediante el uso de frascos herméticos con silica-gel que absorbe humedad.

Antes de introducirlas en las cámaras frías, todas las muestras que se han recibido, procedentes de cualquier origen, siguen unos procesos previos que se pueden sintetizar en: limpieza, determinación de la germinabilidad y desecación. La limpieza se realiza de forma manual. Para valorar la germinabilidad de las muestras se siguen estrictamente las normas ISTA, conservándose las muestras cuando su germinación supera el 85%. La desecación se realiza de forma gradual mediante silica-gel.

**Mantenimiento y atención de peticiones en un banco de germoplasma.** Para evitar la erosión genética dentro de muchos bancos activos no basta con aplicar sistemas adecuados de conservación; las colecciones se regeneran mediante la multiplicación de las muestras cuando la germinabilidad de las semillas desciende de 85%.

No se debe confundir la viabilidad de un material recogido y no multiplicado con la de un material conservado en una colección base o activa. La de aquel puede ser muy mala e incluso nula, pues debe ser altamente prioritaria la recolección de semillas cuando existe peligro de extinción. El recolector debe «cargar» con lo que encuentre con la esperanza de que

alguna semilla germine. Por el contrario, las muestras conservadas en las colecciones deben tener una germinabilidad superior a 85%.

**Informatización y documentación.** Se habla de variedades y cultivares tradicionales o primitivos. Sin embargo, vivimos en la era de la información. Para una mejor conservación de la biodiversidad agrícola chocoana, así como para mejorar la utilización de esta biodiversidad, se deben informatizar los datos relativos al origen y características de todas las muestras del banco de germoplasma y a su gestión, esto es, relativo al mantenimiento de las colecciones y su distribución entre los usuarios. No es posible el buen funcionamiento de un banco activo sin un sistema eficiente de manejo de la información.

Ya se ha insistido en que a nuestro modo de ver, la conservación de la biodiversidad agrícola debe estar estrechamente ligada a su utilización de una forma equitativa y sostenible, gracias a lo cual se ve reforzada. Por tanto, se considera prioritaria la publicación de datos de utilidad para la mejora y para facilitar el acceso dirigido a las colecciones activas. Sin embargo, un catálogo útil no es un simple listado de entrada con algunas de sus características. Interesa más que las entradas estén estructuradas en grupos de reconocido valor agronómico, presentando dentro del tipo las peculiaridades y diversidades de las diferentes entradas incluidas en él.

## Selección de especies

**Estrategia N° 2.** Los aportes de la bioquímica y la biología celular y molecular, y las interpretaciones de la genética clásica han permitido crear herramientas eficaces de biotecnología para el conocimiento, conservación y utilización de la biodiversidad. Entre las técnicas biotecnológicas existentes sobresalen las relacionadas con:

1. La aplicación de metodologías genéticas; y
2. Morfogénesis *in vitro*. En lo referente a las metodologías genéticas sobresalen:
  - a) el desarrollo de mapas genéticos saturados;
  - b) el aislamiento, clonación y secuencias de genes;
  - c) el marcado de genes cuantitativos y cualitativos;
  - d) la selección asistida por marcadores;
  - e) la transferencia de genes a través de barrera de cruzabilidad desde especies silvestres; y
  - f) la caracterización molecular de patógenos.

En lo referente a morfogénesis *in vitro* tenemos:

- a) la regeneración exitosa de plantas a partir del cultivo de tejidos y células;
- b) la producción de plantas transgénicas portadoras de genes de interés agronómico;
- c) la producción de híbridos y cíbridos somáticos;
- d) el desarrollo de nuevos cultivares mediante el cultivo de anteras (Haploides duplicados); y
- e) la obtención de variantes somaclonales útiles (Pérez de la Vega 1995).

En lo referente a las herramientas genéticas, se hace necesario identificar marcadores estrechamente ligados a los genes para los que se quiere realizar selección; de este modo, el marcador permite realizar la selección a nivel de genotipos en vez de a nivel de fenotipos que son de especial utilidad para caracteres que son difíciles de valorar en el campo. Además de permitir una selección eficaz, posibilitan la selección en estado de plántula, pudiéndose evaluar miles de genotipos sin necesidad de cultivarlos hasta la madurez.

**Marcadores genéticos.** Existen varias definiciones de marcadores genéticos. *Un marcador genético es cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente y utilizada en análisis genético.* Gale (1994) lo define como cualquier medio para identificar cualquier locus específico en un cromosoma. En definitiva, se puede utilizar como marcador el efecto de un gen observable con facilidad en los individuos (genéticamente conocidos como caracteres morfológicos), metabólicos característicos de bajo peso molecular, proteínas que se puedan extraer y observar con facilidad, isoenzimas, proteínas de reservas, proteínas del suero), por lo general por medio de un fraccionamiento mediante electroforesis o segmentos de DNA que se pueden obtener e identificar por toda una serie de técnicas moleculares. Es obvio que para ser informativo un marcador debe estar presente en formas alélicas alternativas en los individuos en estudio (parentales de un cruzamiento, individuos de una población, etc.) y para una mejor utilidad es necesario saber dónde se localizan en un cromosoma específico.

*Característica de un buen marcador genético.* Un marcador genético debe llenar unos requisitos para que se considere de gran utilidad en el estudio de la biodiversidad; entre esos requisitos tenemos que sea: *polimórfico* (mutialélico); *codominante*; *no*

*epispástico*, es decir, que se pueda leer el genotipo a partir del fenotipo de manera independiente del genotipo de otros loci; *neutro* que las sustituciones alélicas no tengan otros efectos fenotípicos; *insensible al medio*, es decir que el genotipo se infiera a partir de fenotipo, independiente del medio.

*Utilización de los marcadores en el conocimiento, valoración y aprovechamiento de la biodiversidad vegetal.* En relación con la biodiversidad, especialmente con los recursos fitogenéticos, los marcadores moleculares se pueden utilizar con varios fines:

*Mapas genéticos.* Los mapas genéticos o de ligamiento consisten en la ubicación de diferentes marcadores moleculares en los cromosomas de una especie, conociendo las distancias genéticas entre ellos. La construcción de un mapa genético puede permitir la localización de marcadores asociados a genes de interés.

*Identificación de material vegetal. Patrones y variedades.* Los marcadores moleculares se pueden utilizar para realizar análisis de paternidad y caracterizar el material vegetal de patrones y de variedades. Por tanto, los marcadores moleculares pueden ser útiles en la protección del derecho del investigador, en la conservación de germoplasma evitando posible duplicación de material o en la clarificación de errores en sinonimias (la misma variedad con distintos nombres) y homonimias (diferentes variedades con el mismo nombre) frecuentes en algunas especies frutales.

*Construcción de colecciones «nucleares» en los bancos de germoplasmas.* La información molecular de la diversidad y distancias genéticas puede ayudar en los bancos de germoplasmas a estimar la redundancia y deficiencias de las colecciones vegetales, estableciendo colecciones nucleares (corecollection) de especies vegetales. Estas colecciones pueden minimizar la repetitividad de la diversidad genética recogida en el banco de germoplasma y facilitar el acceso de los mejoradores, por ejemplo, a las colecciones.

*Identificación de germoplasma superior.* La caracterización molecular de la diversidad genética en el germoplasma puede proporcionar datos útiles para ayudar al mejorador a seleccionar progenies básicas en los programas de mejora.

*Relaciones filogenéticas.* La mayor parte de las aplicaciones de los marcadores ADN en el manejo

de recursos fitogenéticos se centra en el ADN nuclear porque evoluciona más rápidamente que los genomas de organelas y su mayor tamaño aporta un mayor número de marcadores polimórficos. Sin embargo, las diferencias en los genomas de cloroplastos y mitocondrias pueden ser particularmente útiles en algunos casos. Así, los polimorfismos a nivel de cloroplasto han sido útiles en el análisis de relaciones filogenéticas entre especies y taxones superiores, y algunos polimorfismos a nivel de mitocondrias están asociados con la androesterilidad.

*Selección asistida por marcadores.* Este tipo de selección se basa en el ligamiento entre marcadores moleculares y un carácter de interés agronómico, con el que en lugar de seleccionar directamente el carácter de interés, el investigador puede seleccionar el marcador, lo que permite la selección en un estado temprano de desarrollo y, al mismo tiempo, la utilización de un alto número de plántulas.

*Mejora de caracteres cuantitativos.* Potencialmente, el mayor impacto de la selección asistida por marcadores moleculares se espera que sea para características cuantitativas (QTL).

*La identificación de sistemas reproductivos.* Las plantas se reproducen por autogamia, alogamia o por propagación vegetativa, existiendo situaciones estrictas y otras intermedias.

El sistema reproductivo condiciona la estructura genética de la población de plantas. Así, en una población cleistógama, de autogamia estricta, la autofecundación continuada conduce a la fijación, quedando la población constituida por individuos homocigotos. Este tipo de población soporta bien la consanguinidad, siendo la depresión consanguínea escasa. En las poblaciones alógamas los heterocigóticos se destruyen y se vuelven a reconstruir, alcanzándose situaciones de equilibrio en el que persisten homocigotos y heterocigotos. En estas poblaciones la autofecundación suele generar pérdida de vigor. En las poblaciones formadas por plantas de multiplicación vegetativa los individuos son réplicas clonales de los fenotipos parentales, conservándose inalteradas las combinaciones de genes.

*La identificación precoz del sexo.* La técnica RAPDs se ha utilizado en especies para localizar un marcador ligado al sexo (Hormaza et al. 1994a).

*Introgresión asistida por marcadores.* La utilización de marcadores moleculares en programas de

introgresión vía retrocruzamiento es una aplicación concreta de esta tecnología en la mejora. Marcadores moleculares fuertemente ligados a los genes que se desean introducir se utilizan como monitores en generaciones de retrocruzamiento.

## Tipos de marcadores moleculares ADN

*RAPDs* (Randomly Amplified Polymorphic DNA). Se utilizaron inicialmente en los años 90 (Williams et al. 1990). Para desarrollar este marcador el ADN no se digiere con enzimas de restricción, sino que se amplifican determinados fragmentos de genoma mediante la técnica de PCR Polymerase Chain Reaction, utilizando una enzima ADN polimerasa.

*AFLPs* (Ampified Fragment Length Polymorphisms). En la década de los noventa, Vos et al. (1995) desarrollaron los marcadores AFLPs; estos marcadores se fundamentan en dos técnicas necesarias para el desarrollo de marcadores ADN: 1. Digestión del ADN genómico con enzimas de restricción y 2. La reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Por tanto, los AFLPs consisten en digerir el ADN genómico con dos enzimas de restricción, ligarlos a dos adaptadores específicos cuyos extremos son complementarios con los cortes hechos por las enzimas y amplificarlos mediante PCR.

*SCARs* (Sequence Characterised Amplified Region). Los marcadores tipo RAPD y AFLP, anteriormente descritos, se pueden convertir en marcadores específicos de PCR de más fácil utilización. Así, los fragmentos de ADN procedentes de un marcador RAPD pueden ser clonados, secuenciados y transformados en marcadores más específicos que permitirán la amplificación por PCR de la banda RAPD de interés; este tipo de marcadores se conoce como SCAR (Sequence Characterised Amplified Region) (Paran y Michelmore 1993).

*Microsatélite SSRs* (Simple Sequence Repeats) o STRs (Short Tandem Repeats). Los microsatélites, también conocidos como SSRs o STRs, fueron descubiertos por primera vez por Hamada et al. (1982) como secuencias cortas de ADN constituidas por motivos de 1 a 6 nucleótidos repetidos en tándem. Estas clases de secuencias simples de ADN se encuentran de forma abundante y uniforme en los genomas en la mayoría de organismos eucariotas.

*ISSRs* (Inter-Simple Sequence Repeats) o *SPARs* (Single Primer Amplification Reaction). Los *ISSRs*, también llamados *SPARs*, se basan en la amplificación por PCR de regiones de ADN contenidas entre dos microsatélites. Para ello se usa un cebador de aproximadamente 20 bases que tienen las repeticiones de di-, tri- o tetranucleótidos habituales presentes en los microsatélites.

*STSs* (Sequence-Tagged Sites). Los marcadores *STS* son marcadores de PCR que se obtienen a partir de fragmentos cortos de ADN provenientes de clones genómicos o cADNs. Estos clones son secuenciados, lo que permite el diseño de cebadores específicos para cada uno de ellos (Olson *et al.* 1989). Los *STSs* amplifican habitualmente fragmentos de ADN de copia única, lo que los convierte en un tipo de marcador muy útil para construcción de mapas físicos.

*CAPS* (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence). Existen varios métodos para detectar polimorfismo después de una amplificación de PCR: uno de ellos consiste en dirigir los fragmentos amplificados con diversos enzimas de restricción hasta encontrar un enzima que produzca un polimorfismo de digestión. El marcador obtenido se produce como *CAPS* (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence). Se trata de un tipo de marcador ampliamente usado, sobre todo tras la conversión de otros tipos de marcadores en marcadores de PCR.

*SNPs* (Single-Nucleotide Polymorphisms). Los *SNPs* representan el tipo más frecuente de variación de ADN en genoma humano (Wang *et al.* 1998). Se trata de sustituciones nucleotídicas que ocurren con una frecuencia relativamente alta a lo largo del genoma y que son muy útiles en la confección de mapas físicos.

*Interpretación genética.* El resultado observable del desarrollo de cualquier tipo de marcadores es un patrón de bandas (o de picos cuando se obtiene con secuenciadores automáticos). Cada banda corresponde a la posición de un fragmento de ADN separado previamente en función de su tamaño por medio de la electroforesis en una matriz porosa, habitualmente un gel de agarosa o acrilamida. La hipótesis de partida es que cada banda corresponde a un alelo de un locus determinado. Si el marcador estudiado es codominante, cada individuo heterocigoto tiene otro alelo situado en otra posición del gel, es

decir, corresponde por lo general a un fragmento de ADN con un número de bases distinto. Si el marcador es dominante, solamente existen dos fenotipos. El que presenta una banda y el que no la tiene. La presencia de banda es lógicamente dominante sobre su ausencia.

**Morfogénesis *in vitro*.** El otro aspecto importante en el conocimiento, conservación y utilización de la biodiversidad es la morfogénesis *in vitro* lo cual comprende el cultivo de células y tejidos vegetales.

**Cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales.** El cultivo *in vitro* es un conjunto de técnicas que permiten explorar el potencial genético de las células vegetales; generalmente consisten en el cultivo de explantes en un medio de cultivo que aporta un soporte físico y los requerimientos nutricionales necesarios. Un explante es cualquier porción de una planta: una célula, un tejido o un órgano que se separa de la planta para cultivarlo en un medio de cultivo y regenerar, en última instancia, plantas enteras por dos vías alternativas, organogénesis somática y la embriogénesis somática, por lo que se denomina morfogénesis *in vitro*, lo que constituye una alternativa biotecnológica para el conocimiento, conservación y utilización de la biodiversidad.

Por tanto, cabe resaltar el rápido desarrollo en el campo del cultivo de células y tejidos vegetales, que bien puede considerarse como una de las áreas de mayor éxito, tras casi medio siglo de progreso (Giacometti 1990). Las células y tejidos vegetales creciendo *in vitro* proporcionan una herramienta ideal para el estudio de una amplia gama de aspectos relacionados con la biología vegetal, en su vertiente básica y aplicada. Por ejemplo, el cultivo *in vitro* ha permitido importantes avances en el conocimiento del metabolismo primario y secundario, cito diferenciación, morfogénesis, fisiología vegetal, etc., pero además, ha proporcionado una herramienta poderosa para la propagación a gran escala de especies de interés económico (Brown 1990), para la generación de nueva variabilidad (variación somaclonal), la obtención rápida de líneas puras mediante el método haplo-diploide, la obtención de nuevos híbridos somáticos por fusión de protoplastos y, sobre todo, la obtención de plantas transgénicas vía *Agrobacterim*, electroporación o métodos biolísticos.

Así, el éxito del cultivo de tejidos ha confirmado las previsiones efectuadas en la década de 1980 res-



pecto a su contribución a la mejora vegetal y a la agricultura de los países desarrollados o en vía de desarrollo (Mejía *et al.* 1992), aumentando radicalmente la capacidad de manipulación de los cultivos mediante las técnicas de clonaje y la subsiguiente expansión o creación adicional de nueva variabilidad génica. Por si esto fuera poco, las investigaciones en esta área han proporcionado un mayor conocimiento sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Con esto, la biotecnología ha abierto el camino para el aprovechamiento de recursos filogenéticos que, hasta ahora, quedaban fuera del alcance del mejorador.

La propagación clonal, vegetativa o asexual de plantas es la producción de un grupo de individuos genéticamente iguales a su progenitor, y se logra mediante el uso de injertos, estacas, acodos, divisiones, etc. Los individuos resultantes forman un clon. Se realiza para mantener en la descendencia las características genéticas del individuo original o planta madre. Los clones producidos se consideran una extensión de la línea celular somática de la planta madre, logrando así perpetuar las características de ésta.

La propagación clonal *in vitro*, o micropropagación, se realiza con el mismo objetivo aunque con diferentes métodos. Entre ellos se encuentran:

- El cultivo de meristemos o microinjerto.
- El cultivo *in vitro* de yemas terminales o axilares.
- La organogénesis adventicia.
- La embriogénesis somática.

La micropropagación presenta una serie de ventajas frente a los métodos tradicionales (George 1963): Requiere poco espacio para mantener o multiplicar plantas. Permite la obtención de plantas sanas libres de virus siempre que se utilicen técnicas del cultivo de meristemos o microinjerto combinado o no con termoterapia y/o quimioterapia. La producción es independiente de las condiciones climáticas y puede ser continua durante todo el año. Permite un manejo más flexible de las condiciones de propagación, nutrientes, luz, temperatura. Requiere menos energía y espacio para la propagación y el mantenimiento de la planta madre. Las vías más utilizadas hasta el momento para la micropropagación se basan en el cultivo de meristemos y/o de ápices caulinares y yemas axilares. Estas vías se prefieren frente a aquellas que implican la regeneración de novo o inducción de yemas adventicias, como la organogénesis o la embriogénesis somática, porque en éstas existen

mayores posibilidades de obtener plantas genéticamente diferentes (George 1963).

La micropropagación se practica con éxito en especies hortícolas y ornamentales (Mosella, Ascuí 1991). En papa, banano y plátano se cuenta con sistemas comerciales completamente establecidos para la producción de plantas sanas libres de patógenos (Angarita, Perea 1991).

*Morfogénesis a partir de explantes primarios.* La morfogénesis es el proceso que conduce a la regeneración de plantas a partir de células cultivadas *in vitro*. Fundamentalmente, la morfogénesis es el resultado de la división diferencial de células organizadas, con patrones definidos y, básicamente, depende de la actividad de la expresión de determinados genes (Handro, Floh 1990). La regeneración de plantas *in vitro* se verifica mediante dos vías: la embriogénesis somática, a través de la formación de estructuras de crecimiento bipolar (Mathews *et al.* 1993) y la organogénesis, a través de la formación de estructuras de crecimiento unipolar (yemas y brotes) (Hossain *et al.* 1993).

*Micropropagación vía organogénesis.* Esta es la principal ruta actualmente usada para la regeneración de plantas *in vitro*. Es un proceso que ocurre por lo menos en cuatro etapas:

1. Establecimiento del cultivo y/o inducción de yemas;
2. Desarrollo de brotes y multiplicación;
3. Enraizamiento de los brotes; y
4. Aclimatación o endurecimiento de las plantas. En muchos casos cuando el enraizamiento se hace *ex vitro*, las etapas 3 y 4 se combinan.

*Brotación axilar.* Este es el método que se emplea con mayor frecuencia para la micropropagación de arbustos maderables (Thorpe, Patel 1984). Los ápices caulinares, yemas laterales y esquejes nodales son los explantes más utilizados en micropropagación porque regeneran plantas con más facilidad. La regeneración suele producirse además de forma directa sin la intervención de una fase de callo y en general, se obtienen plantas genéticamente idénticas a la planta madre. La propagación clonal por esta técnica es una adaptación de los procedimientos convencionales de propagación vegetativa, pero al realizarlas en condiciones asépticas presentan ventajas tales como mejores condiciones fitosanitarias, mayor tasa de multiplicación y menor tiempo (Krikorian 1982;

George, Sherrington 1984).

**Brotación adventicia.** Como en el caso de la brotación axilar, la formación de brotes adventicios es el resultado de la interrelación entre el explante, el medio de cultivo y las condiciones de incubación. Este método se usa con menos frecuencia en angiospermas, los brotes se inducen por lo general de manera directa desde el explante, evitando la formación de callos. En general, cuanto más juvenil sea el explante, mejor será su respuesta a los tratamientos *in vitro* conducentes a una organogénesis de novo.

**Micropropagación vía embriogénesis somática.** La embriogénesis somática es el proceso por el que se forma un embrión a partir de una célula, sin necesidad de la fusión de gametos (Tisserat *et al.* 1979). No es un fenómeno artificial y es conocido en la naturaleza como una forma de apomixis llamada embrionía adventicia, descrito por primera vez por Strasburger en 1878.

**Características de la embriogénesis somática.** La característica más distintiva de la embriogénesis somática es que origina un nuevo individuo con estructura bipolar (raíz y ápice) capaz de dar lugar a una planta. Según Sannasgala (1989) el embrión somático presenta las siguientes características:

- Es autónomo frente al tejido que le ha generado, porque no tiene conexión vascular con el tejido que le dio origen y por esta razón los embriones somáticos pueden ser separados fácilmente del tejido original.
- Es una estructura bipolar con un ápice radical, apical y cotiledones.
- Presenta bandas precambiales entre las porciones apicales y radiculares.

Morfológicamente un embrión somático es muy similar a uno cigótico, sobre todo en su desarrollo desde preembrión, pasando luego por las fases globular, corazón, torpedo y cotiledonar o embrión maduro.

**Enraizamiento y aclimatación o endurecimiento de las plantas.** Estos dos procesos se pueden llevar a cabo separada o conjuntamente, dependiendo de si el enraizamiento se realiza *in vitro* o *ex vitro*. La principal ventaja de usar condiciones *ex vitro* es que el enraizamiento y la aclimatación se pueden llevar a cabo de manera simultánea. Otra consideración importante es que no hay posibilidad de formación de callo en la base del vástago, como puede ocu-

rrir *in vitro*, lo que asegura una conexión vascular entre el vástago y la raíz.

**Obtención de plantas haploides.** Las plantas haploides, son aquellas que tienen un número cromosómico que coincide con el número gamético es decir «n»; estas plantas son de mucha importancia en estudios genéticos y en la mejora vegetal, también tienen gran aplicabilidad en estudios genéticos: análisis de ligamiento, mutagénesis, especialmente en la selección de mutantes recesivos, fusión somática y transferencia de genes, permiten la obtención de líneas puras, diaploides, homocigotas para todos los locis, en tan sólo dos pasos mediante el método haplodiploide, porque los métodos clásicos de obtención de líneas puras requieren varias generaciones de consanguinidad continuada, por ejemplo, mediante autofecundación, lo que implica un largo período de tiempo.

Los haploides existen espontáneamente en la naturaleza (Bhojuwani y Razdan 1996), como resultado de un proceso de partenogénesis, pero con una frecuencia muy baja.

**Haploides mediante cultivo *in vitro*.** Por este método, los haploides se pueden obtener mediante androgénesis, es decir, cultivo de anteras y microspora, ginecogénesis, mediante cultivo de rodajas de ovarios y ovulo, y rescate de embriones. La duplicación cromosómica y la subsiguiente obtención de dihaploides se puede lograr mediante técnicas de cultivo *in vitro* o mediante tratamientos *in vivo* o *ex vitro* con agentes químicos como colchicina y orizalina.

**Obtención de haploides.** Las plantas haploides tienen dos mecanismos para desarrollarse; directamente, a partir de las células pregaméticas de las anteras e indirectamente a través de una fase de callo. Cuando la androgénesis es directa, las microesperas de las anteras dan origen a proembriones, embriones somáticos y posteriormente plántulas. Cuando la androgénesis es indirecta, se produce inicialmente un crecimiento desorganizado y posteriormente, se orienta la regeneración bien sea por embriogénesis somática u organogénesis (Bohanec *et al.* 1995, Bohanec y Jakse 1999; Brisibe *et al.* 1997; Burnett *et al.* 1992; Bueno *et al.* 1997).

## Conclusión

Con esta biodiversidad, el departamento del Chocó

inicialmente no requiere abordar programas de mejora para el aprovechamiento de la biodiversidad, sólo requiere establecer programas de selección clonal para obtener los mejores individuos por sus características organolépticas y sus propiedades alimenticias y medicinales. Una vez realizada esta selección, se puede aportar a la mejora de la calidad de productos comerciales relacionados en otras regiones del mundo, en donde los procesos de adaptabilidad son costosos por la vulnerabilidad asociada a la uniformidad de los cultivos o falta de biodiversidad. Estos materiales constituirán lo que se suele llamar «germoplasmas adecuados», es decir, el que realmente suministra la mayor cantidad de beneficio con el menor costo, por lo que se encuentran muy bien adaptados y presentan una alta resistencia frente a todo tipo de presiones ambientales, tales como inundaciones, sequías, plagas y enfermedades.

### Literatura citada

- Angarita A, Perea M. 1991. Micropropagación de plátanos y bananos. En: Roca WM, Miroginski, L. A. (eds.) *Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones*. Cali: CIAT. p. 495-512.
- Bennet T. E. 1968. *FAO/IBP Technical conference on the exploration, utilization and conservation of the plant genetic resource*. Roma: FAO.
- Bhojwani SS, Razdan MK. 1996. Haploid production. In: *Plant tissue culture: theory and practice, a revised edition*. Amsterdam: Elsevier Science B.V. p. 167-213.
- Bohanec B, Jakse M, Ihan A, Javornik B. 1995. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. *Plant Sci*. 104: 215-24.
- Bohanec B, Jakse M. 1999. Variations in gynogenic response among long-day onion (*Allium tepa* L.) accessions. *Plant Cell Reports*. 18: 737-42.
- Brisibe E A, Olesen A, Andersen SB. 1997. Characterization of anther culture-derived cell suspensions exclusively regenerating green plantlets in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 93: 321-9.
- Brown JT. 1990. The initiation and maintenance of callus culture. In: Pollard JW, Walker JM. (eds.) *Planta cell and tissue culture*. Clifton: The Humana Press Inc. p. 57-63.
- Burnett L, Yarrow S, Huang B. 1992. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L. ssp. *Oleifera*. *Plant Cell Reports*. 11: 234-7.
- Bueno MA, Gómez A, Boscaiu M, Manzanera JA, Vicente O. 1997. Stress-induced formation of haploid plants through anther culture in cork oak (*Quercus suber*). *Physiol Plantarum*. 99: 335-41.
- CPF. 1993a. *Normas para bancos de genes*. Roma: FAO.
- FAO. 1993. *Proyecto de Código internacional de conductas para la recolección y transferencia de germoplasma vegetal*. Roma: FAO.
- FAO. 1996. *FAO Focus. Biodiversity preserved: in situ and ex situ; CGIAR*. En línea [fecha de acceso: abril 20, 2010] URL disponible en: <http://fao.org/focus/e/96/06/default/.htm>
- Gale MD. 1994. Genetic marker, maps and wheat breeding. *JR Agricul Soc Engl*. 155: 162-76.
- George, E. F. 1963. Plant propagation and micropropagation. In: *Plant propagation by tissue culture*. Part 1. The Technology. 2nd. ed. London: Exegetics Limited: p. 350-583.
- George EF, Sherrington PD. 1984. *Plant propagations by tissue culture: Handbook and directory of commercial laboratories*. Eversley: Exegetics, Hants Ltda. 709 pp.
- Giacometti DC. 1990. Impacto actual da cultura da tecidos de plantas. En: Torres AC, Caldas LS. (eds.). *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Parte I. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq. p. 19-25.
- Hamada H, Petrino MG, Kakunaga T. 1982. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionary diverse eukaryotic genomes. *Proc Natl Acad Sci*. 79: 6465-9.
- Handro W, Floh EIS. 1990. A organização de um laboratório de cultura de tecidos de plantas. En: Torres AC, Caldas LS. (eds.). *Técnicas e aplicação da cultura de tecidos da plantas*. Parte II. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq. p. 29-36.
- Hawkes JC. 1980. *Crop genetic resources. Field Collection Manual*. Birmingham: IBPGR y EUCARPIA. p. 835-1250.
- Hormoza JI, Dollo L, Polito VS. 1994a. Identification of RAPD markers linked to sex determination in *Pistacia vera* using bulked segregant analysis. *TAG*. 89: 9-13.
- Hossain M, Rahman SM, Islam R, Joarder OI. 1993. High efficiency plant regeneration from petiole explant of *Carica papaya* L. through organogenesis. *Plant Cell Report*. 13: 99-102.
- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). 1991. *Elsevier's Dictionary of Plant Genetic Resources*. Roma: Elsevier Science Publishers BV. 187 pp.
- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). 1985. *Procedures for handling seed in genebanks*. Roma: IBPGR.
- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). 1989. *Scientific management of germplasm: characterization, evaluation and enhancement*. Lecture Series 2. Roma: IBPGR.
- Krikorian AD. 1982. Cloning higher plants from aseptically cultured tissues and Cell. *Biol Rev*. 57: 151-218.
- Mathews H, Schopke C, Carcamo R, Cahvarriaga P, Fauquet C, Beachy RN. 1993. Improvement of somatic embryogenesis and plant recovery in cassava. *Plant Cell Reports*. 13: 328-33.
- Medina M, Prohen J, Neuz F. 2007. Survey of cultivated and wild edible plant species used in the Department of Chocó, Colombia. *PGR Newsletter*: 150.
- Mejía R, Haicour R, Rossignol L, Sihachakr D. 1992. Callus

- formation from cultured protoplasts of banana (*Musa* sp.). *Plant Sci.* 85: 91-8.
- Mosella LC, Ascui L. 1991. Frutales libres de virus partiendo de ápices meristemático cultivados *in vitro*. En: Roca WM, Mroginski LA. (eds.). *Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones*. Cap. 5. Cali: CIAT; p. 95-126.
- Nuez F, Fernández de Córdova P, Diez MJ. 1992a. Collecting vegetable seeds in the Canary Islands. *FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter* 90: 34-5.
- Nuez F, Ruiz JJ. 1999. *La biodiversidad agrícola valenciana: estrategias para su conservación*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Nuez F, Ruiz JJ, Prohens J. 1997. *Mejora genética para mantener la diversidad en los cultivos agrícolas*. Nº 6. Documento informativo. Roma: FAO.
- Nuez F, Diez MJ. 1990. Genebank of the Politechnical University of Valencia. En: Hernández, JE, Clemente M, Heywood V. (eds). *Conservation techniques in botanic gardens*. Konigstein: Koeltz Scientific Book. p. 157-9.
- Olson M, Hood L, Cantor C, Botstein D. 1989. A common language for physical mapping of the human genome. *Science*. 245: 1434-5.
- Paran I, Michelmore RW. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downey mildew resistance genes in lettuce. *Theor Appl Genet.* 85: 985-93.
- Pérez M. 1997. Uso de los marcadores moleculares en genética vegetal y mejora. *Invest Agr Prod Prot Veg.* 12: 35-60.
- Pistorius R. 1997. *Scientists, plants and politics. A history of the plant genetic resources movement*. New York: International Plant Genetic Resources Institute: p. 355-950.
- Sannasgala K. 1989. *In vitro somatic embryogenesis in musa*. Thesis. Leuven: Katholieke Universiteit Leuven. p. 172.
- Strasburgers, E. 1878. Über polyembryonie. *Jenaische Z Naturwiss.* 12: 647.
- Thorpe TA, Patel K. 1984. Clonal propagation adventitious buds. En: *Cell culture and somatic cell genetics of plant*. Vol. 1. Vasil, I.(ed.). Orlando: Academic Press. p. 49-58.
- Tisserat B, Esan E, Murashige T. 1979. Somatic embryogenesis in angiosperms. *Hort Rev.* 1: 1-78.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, et al. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res.* 23: 4407-14.
- Zlotnik H. 2009. *Informe anual de las Naciones Unidas*. Nueva York: ONU.
- Wang DG, Fan, JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Saposky R, et al. 1998. Large-scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the genome human. *Science*. 280: 1077-82.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SIV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res.* 18: 6531-5.