



Conclusiones

Florent Engelmann¹,
María Teresa González-Arno²

1. Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD - UMR DIADE), Francia, florent.engelmann@ird.fr.

2. Facultad de Ciencias Químicas de Orizaba, Universidad Veracruzana, México, mtgarnao1@hotmail.com y/o teregonzalez@uv.mx.

Las contribuciones recibidas de nueve países de América Latina y el Caribe (ALC), así como de las representaciones en esa región de dos organismos internacionales, la Red de Cooperación Técnica en Biotecnología Agrícola (REDBIO/FAO) y *Biodiversity International*, demuestran que la crioconservación vegetal es un área de investigación que está ganando gran importancia en ALC. Lo anterior se refleja en el incremento progresivo del número de especialistas que trabajan en esa área y de la cantidad de especies para las que se han desarrollado protocolos criogénicos. A modo de ejemplo, se pueden mencionar cultivos agroindustriales como el café, la caña de azúcar y la palma de aceite; cultivos de subsistencia como los frutales, los tubérculos y raíces y las leguminosas, entre otros; y especies forestales, algunas raras y/o amenazadas, originarias de regiones de clima tropical y templado. La mayoría de esas plantas son de propagación vegetativa o producen semillas no ortodoxas, por lo que su crioconservación cobra aún mayor relevancia.

Como se ha mostrado en los capítulos de este libro, se han logrado mayores avances en la crioconservación de especies que se propagan vegetativamente que de especies de semillas no ortodoxas. Sin embargo, muchas de las plantas de propagación vegetativa crioconservadas hasta ahora son fundamentalmente especies de importancia comercial, para las cuales las técnicas de cultivo y propagación *in vitro* están bien establecidas. Además, el material en condiciones asépticas se encuentra relativamente “sincronizado” y homogéneo en términos de tamaño, composición celular, estado fisiológico y respuesta de crecimiento, lo que incrementa las posibilidades de éxito y contribuye a obtener un comportamiento más uniforme ante los tratamientos que involucra la crioconservación de germoplasma (Engelmann 2011).

Por otro lado, la mayoría de las especies silvestres están clasificadas como no ortodoxas o recalcitrantes, lo que genera mayores dificultades para el desarrollo de un protocolo criogénico eficiente. Además, en muchos casos no existe o solo se dispone de información muy limitada sobre la biología y el comportamiento de las semillas frente al almacenamiento. Por lo tanto, para avanzar en la crioconservación de ellas, es de crucial importancia el intercambio de experiencias con botánicos, fisiólogos de semillas y otros especialistas. Existen ejemplos de cultivos, como los cítricos (Hor *et al.* 2005) y el café (Dussert *et al.* 2011), para los cuales se pensó que no sería posible obtener supervivencia después de la exposición de sus semillas al nitrógeno líquido. Sin embargo, finalmente se logró crioconservarlos en forma exitosa mediante el control de los niveles de desecación y la optimización de los métodos de enfriamiento y calentamiento, lo que permitió ampliar los conocimientos sobre esas plantas.

La crioconservación de embriones, ejes embrionarios y ápices constituye una alternativa estratégica para preservar especies con semillas recalcitrantes e incluso las que presentan un comportamiento intermedio. Sin embargo, es indispensable establecer con antelación a los ensayos criogénicos un protocolo de cultivo *in vitro* que sea operativo para el explante seleccionado. Por consiguiente, la participación de especialistas en el cultivo de tejidos vegetales es una condición requerida desde el inicio de un proyecto de crioconservación y durante todo su desarrollo.



Otro aspecto importante que se debe considerar es no restringir el uso de la criopreservación únicamente a las especies de propagación vegetativa y con semillas no ortodoxas. Investigaciones recientes han demostrado la necesidad de contemplar y extender la criogenia para almacenar a largo plazo germoplasma de plantas que producen semillas ortodoxas. En los últimos 30 años ha salido a la luz la evidencia de que la conservación a la temperatura de los bancos de semillas ofrece una longevidad menor de la esperada (Li y Pritchard 2009). Los autores detectaron que las semillas de casi 200 especies originarias de localidades muy cálidas y secas, acorde a mediciones anuales de temperatura y lluvia, tendían mayormente hacia la clasificación de P50, que se refiere al tiempo de almacenamiento en que la viabilidad cae al 50 %, y que reflejaban un envejecimiento acelerado en comparación con las semillas provenientes de condiciones climáticas frías y húmedas (Probert *et al.* 2009). Se encontró que las especies con valores P50 se correlacionaban con el comportamiento de accesiones de diferentes plantas que perdieron significativamente su viabilidad después de 20 años de almacenamiento pre-equilibradas a 15 % de humedad relativa y a -20 °C en bancos de semillas (FAO e IPGRI 1994).

Otro estudio realizado con semillas de 276 especies almacenadas a -5 °C durante un promedio de 38 años y a -18 °C por 25 años arrojó que la vida media de las semillas de solo 61 de esas especies sería mayor a 100 años, lo que equivale a 22 % (Walters *et al.* 2005). Esto demuestra que la criopreservación puede ser considerada como una alternativa extra de seguridad, incluso para las plantas que producen semillas ortodoxas e independientemente de que se mantengan conservadas por la vía clásica bajo las condiciones de los bancos de semillas (Pritchard *et al.* 2009). Además, se corrobora el valor de todas las estrategias de conservación, tanto *ex situ* como *in situ*, para aprovechar de forma complementaria las ventajas que ofrece cada una y compensar las respectivas desventajas.

Al revisar los trabajos sobre criopreservación de germoplasma vegetal que se presentan en este libro, se puede apreciar que en ALC las actividades en esa área se iniciaron en el período 1988-1990 y que estuvieron primeramente dirigidas a la capacitación de especialistas fuera de sus países de residencia. Sin embargo, hoy en día ya son varios los proyectos que se han desarrollado en diversas instituciones de las naciones latinoamericanas y que abordan estudios de criopreservación para más de 30 especies de importancia mundial y específica para la región (González-Arno y Engelmann 2011). Dichos trabajos también evidencian el uso de herramientas tecnológicas avanzadas, como la calorimetría diferencial de barrido (Gámez-Pastrana *et al.* 2011), los marcadores moleculares y bioquímicos (Martínez-Montero *et al.* 2002, Escobar 2005) y más recientemente las denominadas “ómicas” (González-Arno *et al.* 2011a). Todo ello ha servido para profundizar en aspectos básicos relacionados con el establecimiento y la optimización de diferentes protocolos criogénicos, así como para verificar la estabilidad del material criopreservado. Incluso se han realizado ensayos con tejidos aislados de plantas genéticamente modificadas para aumentar su capacidad de biosíntesis de trehalosa y evaluar posteriormente la respuesta de la tolerancia frente a la criopreservación (González-Arno *et al.* 2011b; Osorio Saenz *et al.* 2011).

La criopreservación de germoplasma vegetal es un proceso dinámico que se enriquece día a día con el conocimiento que se adquiere de estudiar diferentes aspectos físicos,



biológicos y moleculares asociados a las especies y a sus mecanismos de respuesta. En ALC existen cinco redes para los recursos genéticos de plantas: CAPGERNET (Red de Recursos Fitogenéticos del Caribe), REMERFI (Red Mesoamericana de Recursos Fitogenéticos), REDARFIT (Red Andina de Recursos Fitogenéticos), TROPIGEN (Red Amazónica de Recursos Fitogenéticos) y REGENSUR (Red de Recursos Genéticos del Cono Sur). Todas estas redes serán decisivas para impulsar la implementación de las técnicas criogénicas en los bancos de germoplasma, así como para establecer y estructurar colecciones crioconservadas en los diferentes países miembros. Sin embargo, como se muestra en los diferentes capítulos de este libro, la investigación en el campo de la criobiología vegetal en ALC ha estado mayormente concentrada en institutos de investigación y universidades, por lo que es necesario que todos los investigadores unan sus esfuerzos para el establecimiento conjunto de una red regional. Esta red podría contar con el apoyo de las instituciones que impulsan la conservación de los recursos fitogenéticos en ALC, como la FAO, *Bioversity International* y el IICA, entre otras.

La publicación de este libro constituye el primer paso en la identificación de especialistas e instituciones que trabajan en el área de la crioconservación vegetal en ALC y en la divulgación de los avances logrados en esa área en dicha región. La colaboración entusiasta de todos los contribuyentes demuestra el gran potencial de la crioconservación en ALC. Para aprovechar plenamente ese potencial, ahora se requiere que en forma conjunta y organizada se impulse la creación de una red temática, la cual podrá contribuir significativamente a la capacitación de recursos humanos, a la incorporación de nuevos participantes y, sobre todo, a la aplicación de los conocimientos generados en el campo de la crioconservación, que beneficiará la conservación a largo plazo de la rica, y en algunos casos única, diversidad genética vegetal de ALC.

Referencias

- Dussert, S; Couturon, E; Bertrand, B; Joët, T; Engelmann, F. 2011. Progress in the implementation of the French Coffee Cryobank. *In* Abst. COST Action 871 “Cryopreservation of crop species in Europe” Final Meeting (2011, Angers, FR).
- Engelmann, F. 2011. Germplasm collection, storage and preservation. *In* Plant biotechnology and agriculture: prospects for the 21st century. Eds. A Altman; PM Hazegawa. Oxford, UK, Oxford Academic Press. p. 255-268.
- Escobar, RH. 2005. Aspectos logísticos de manejo y determinación de la estabilidad genética de materiales crioconservados de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis de maestría. Palmira, CO, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 99 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT); IPGRI (Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, IT). 1994. Genebank standards. Roma, IT.



- Gómez-Pastrana, R; González-Arno, MT; Martínez, Y; Engelmann, F. 2011. Thermal events in calcium alginate beads during encapsulation-dehydration and encapsulation-vitrification protocols. *Acta Horticulturae* 908:47-54.
- González-Arno, MT; Durán, B; Valdés-Rodríguez, S; Jiménez, B; Guerrero, A; Lázaro-Vallejo, C. 2011a. Cryopreservation and proteomic analysis of vanilla (*V. planifolia*) apices treated with osmoprotectants. *Acta Horticulturae* 908:67-72.
- _____; Engelmann, F. 2011. Current development and application of plant cryopreservation in Latin America and the Caribbean. *Acta Horticulturae* 908:447-51.
- _____; Mascorro-Gallardo, JO; Osorio-Saenz, A; Valle-Sandoval, MR; Engelmann, F. 2011b. Improvements in tolerance to cryopreservation using shoot-tips of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* Kitam.) from genetically modified plants that accumulate trehalose. *In* Cryogenics: theory, processes, and applications. Ed. AE Hayes. Nueva York, US, Nova Science Publishers. p. 137-148.
- Hor, YL; Kim, YJ; Ugap, A; Chabrilange, N; Sinniah, UR; Engelmann, F; Dussert, S. 2005. Optimal hydration status for cryopreservation of intermediate oily seeds: *Citrus* as a case study. *Annals of Botany* 95(7):1153-1161.
- Li, DZ; Pritchard, HW. 2009. The science and economics of *ex situ* plant conservation. *Trends in Plant Science* 14:614-621.
- Martínez-Montero, ME; Ojeda, E; Espinosa, A; Sánchez, M; Castillo, R; González-Arno, MT; Engelmann, F; Lorenzo, JC. 2002. Field performance of cryopreserved callus-derived sugarcane plants. *CryoLetters* 23(1):21-26.
- Osorio Saenz, A; Mascorro-Gallardo, JO; Valle-Sandoval, MR; González-Arno, MT; Engelmann, F. 2011. Genetically engineered trehalose accumulation improves cryopreservation tolerance of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* Kitam.) shoot-tips. *CryoLetters* 32(6):477-486.
- Pritchard, HW; Ashmore, S; Berjak, P; Engelmann, F; González-Benito, ME; Li, DZ; Nadarajan, J; Panis, B; Pence, V; Walters, C. 2009. Storage stability and the biophysics of preservation. *In* Conference: Plant Conservation for the Next Decade. A Celebration of Kew's 250th Anniversary (2009, Londres, UK). Proceedings. Londres, UK, Royal Botanic Gardens Kew.
- Probert, RJ; Daws, MI; Hay, F. 2009. Ecological correlates of *ex situ* seed longevity: a comparative study on 195 species. *Annals of Botany* 104 :57-69.
- Walters, C; Wheeler, LJ; Grotenhuis, JM. 2005. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. *Seed Science Research* 15:1-20.



Sobre los editores

María Teresa González-Arno se dedica a las investigaciones criobiológicas en plantas, fundamentalmente de especies tropicales, las cuales inició en La Habana, Cuba. Actualmente es responsable del Laboratorio de Biotecnología y Criobiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Químicas adscrita a la Universidad Veracruzana en Orizaba, Veracruz, México. Es autora de más de 50 publicaciones en revistas, libros y memorias de eventos científicos especializados. Ha dirigido varios proyectos de cooperación técnica internacional y ha contribuido a la formación de otros especialistas de América Latina y el Caribe.

Florent Engelmann es el Director de Investigación en el Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD). Actualmente trabaja en el Centro del IRD ubicado en Montpellier, Francia, donde lidera el equipo de investigación que estudia los mecanismos de adquisición de tolerancia a la desecación de los tejidos de plantas y órganos. Es uno de los pioneros de la criopreservación aplicada a la conservación de especies vegetales tropicales. Ha publicado más de 130 artículos de investigación en esta área.



Crioconservación de Plantas en América Latina y el Caribe



Editores
María Teresa González-Arno
Florent Engelman

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura

CRIOCONSERVACIÓN DE PLANTAS EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE

Editores:

María Teresa González-Arno
Facultad de Ciencias Químicas de Orizaba
Universidad Veracruzana, México

Florent Engelmann
Instituto de Investigación para el Desarrollo
(IRD-UMR DIADE), Francia

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
(IICA), 2013



Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe por IICA
se encuentra bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 3.0 Unported.
Basada en una obra en www.iica.int.

El Instituto promueve el uso justo de este documento. Se solicita que sea citado apropiadamente cuando corresponda.

Las ideas y planteamientos expresados en este documento son propios de los autores y no representan necesariamente el criterio del IICA.

Esta publicación también está disponible en formato electrónico (PDF) en el sitio web institucional en <http://www.iica.int>.

Este documento contó con el apoyo editorial de Máximo Araya, María Elena Cedeño y Federico Sancho, todos del IICA.

Corrección de estilo: Máximo Araya

Diagramación: Carlos Umaña

Diseño de portada: Karla Cruz

Impresión: Imprenta del IICA

Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe / Editado
por María Teresa González-Arno y Florent Engelmann --
San José, C.R.: IICA, 2013.
XII, 204 p.; 15.24 x 22.86 cm.

ISBN 978-92-9248-446-0

1. Recursos genéticos vegetales 2. Biotecnología 3. Con-
servación biológica 4. Reserva genética. 5. Germoplasma
6. América Latina 7. Caribe I. IICA II. Título

AGRIS
F30

DEWEY
631.523.3

San José, Costa Rica
2013