



Estrategias biotecnológicas aplicadas en la conservación de especies forestales nativas bonaerenses.

Sandra SHARRY¹ y Walter I. ABEDINI²

Lugar de trabajo: Centro Experimental de Propagación Vegetativa. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. Casilla de Correo 31. (1900) La Plata. Argentina. Fax: (54-221) 4252346. E-mail: ceprove@agro.unlp.edu.ar. CICPBA

SUMARIO: Introducción general. Ecosistemas forestales de la Pcia. de Buenos Aires. Conservación y Biodiversidad Qué ofrece la biotecnología vegetal para la conservación de recursos genéticos forestales. Biotecnología. Biotécnicas. Crioconservación y almacenamiento *in vitro*. Marcadores moleculares. Selección *in vitro*. Técnicas de ADN recombinante. Variación somaclonal. Fusión de protoplastos. Cultivo de haploides. Rescate de embriones. Propagación clonal *in vitro*. Producción de metabolitos secundarios. Control *in vitro* del estado de maduración. Cultivo de tejidos *in vitro*. Banco de Germoplasma de especies forestales nativas de la Prov. de Buenos Aires. Fundamentos para la creación de un Banco de Germoplasma en la Prov. de Buenos Aires. Banco de Germoplasma. Definiciones. Tipos. Biotécnicas utilizadas Especies bajo estudio Alcances y perspectivas de la biotecnología vegetal aplicada a la conservación de especies forestales nativas. Conclusiones. Referencias bibliográficas.

Introducción general.

En la actualidad, fruto de modelos de desarrollo no sustentables, nos encontramos en una verdadera emergencia ecológica: lluvias ácidas, deterioro de la capa de ozono en la estratósfera, acumulación de gases efecto invernadero en la atmósfera, desarrollo industrial incontrolado y una creciente y alarmante pérdida del patrimonio forestal del planeta (Merenson, 1992).

La destrucción y degradación de los ecosistemas forestales en todo el mundo es objeto de gran preocupación. Es particularmente grave en las zonas tropicales húmedas y secas, donde cada año se talan más de 17 millones de hectáreas de bosques densos y claros a un ritmo de 32 ha/min (FAO, 1991) para dedicar la tierra a otros usos, y donde además, grandes extensiones de bosques naturales se están viendo afectadas por la explotación para madera y leña, el sobrepastoreo y los repetidos incendios. La situación se ha hecho crítica también en muchas zonas templadas, en las que la contaminación atmosférica, junto con el uso de los plaguicidas, las enfermedades y los incendios, están causando la pérdida de grandes extensiones de bosques.

¹ D.Sc. Profesora Titular Ordinaria (UNRN).

² M.Sc. Profesor Titular Ordinario (UNLP).



La Argentina está lejos de estas cifras en materia de deforestación. Sin embargo, y a pesar de la precariedad de los datos disponibles, se estima que en lo que va del siglo se han perdido 2/3 del patrimonio forestal original (Adamoli, 1993). Según Cozzo (1992), en Argentina se perdieron 280.000 km² de bosques, selvas y montes (10% del territorio nacional), con una tasa histórica de deforestación de 860.000 ha/año (Merenson, 1993).

Las masas forestales de la Argentina están experimentando un acelerado proceso de conversión, fragmentación y degradación, traducido en una alarmante tasa de deforestación, que sin lugar a dudas se relaciona fuertemente con la tasa de extinción de especies vegetales y animales (Merenson, 1992). La destrucción de los bosques es la causa más importante de erosión de las reservas genéticas silvestres de las especies vegetales útiles o potencialmente útiles que contienen. Su recuperación, mejoramiento y enriquecimiento debería constituir uno de los tópicos de primera prioridad de la política forestal nacional.

Ecosistemas forestales de la Provincia de Buenos Aires

La provincia Buenos Aires tiene una extensión de 308.000 km², con una latitud media de 37-38°. Ubicada en la región neotropical, cuenta con aproximadamente 1500 especies nativas, no sabiendo con exactitud cuántas especies han desaparecido a través de los años por acción de sobrepastoreo y agricultura intensiva, que provocan un disturbio de tipo catastrófico para la flora y la fauna del lugar. De esta forma el banco de semillas del suelo, que constituye la memoria del ecosistema, se pierde irremisiblemente. El área cultivada en la provincia de Buenos Aires, según el censo agropecuario del año 1988, es de unos 111.700 km², lo que representa un 36% de la superficie total de esa provincia y que, sumado al área ganadera (53%), nos da una idea del grado de alteración ambiental producida por el hombre. Del 11% que queda como área no explotada, prácticamente no se conserva ningún remanente prístino.

Delucchi y col. (1992) reconocen cuatro etapas históricas en la retracción de las especies vegetales de la provincia de Buenos Aires: etapa prehispánica, etapa pastoril, etapa agropecuaria y etapa urbana. En cada una de ellas se va acentuando la presión sobre las regiones prístinas, que conduce a la situación actual. En el mismo trabajo, los autores elaboran una lista de representantes de la flora nativa amenazada o en peligro de extinción tendiente a la confección de un libro rojo de la flora bonaerense.

En el territorio de la Prov. de Buenos Aires, las comunidades boscosas se encuentran restringidas al cordón costero del Río de la Plata (Selva Marginal y Talares) y a la región Oeste de la Provincia (bosques de caldén) (Parodi, 1939). Según Cozzo (1992), en la época de la fundación de Buenos Aires (1590), existían en los alrededores arbustales y árboles de tala y algarrobo. Su explotación para leña fue muy intensa, sumando a esto la utilización de los frutos de tala para alimento de aves de corral. La ciudad de Buenos Aires se quedó sin leña antes de comenzar el siglo XIX. En 1940, Parodi describía las asociaciones de talares con agrupaciones de matorrales de "curro" (*Colletia cruciata*) además de algunos algarrobos xerófitos y chañares. De todas estas formaciones leñosas sólo quedan algunos relictos, como los talares.

Existen diferentes clasificaciones de las formaciones boscosas de la Prov. de Buenos Aires.



Cabrera y Zardini (1978) definen numerosas comunidades, entre las que se encuentran las siguientes **comunidades arbóreas**:

A. *Bosque fluviales de ribera*

I. Xeromorfos

- a) Espinillales de *Acacia caven*
- b) Talaes de *Celtis tala*

II. Mesomorfos latifoliados, inermes

- a) Sauzales de *Salix humboldtiana*
- b) Bobadales de *Tessaria integrifolia*
- c) Lecheronales de *Sapium haematospermum*
- d) Seibales de *Erythrina crista-galli*
- e) Bosque fluvial mixto subclimático

B. *Palmares*

- a) Pindosales de *Syagus roamanzoffiana*

C. *Selvas subtropicales subclimáticas en galería*

- a) Monte blanco

Según un documento de la Administración de Parques Nacionales (APN), la región NE de Buenos Aires posee tres unidades naturales, las que relaciona con clasificaciones previas:

A. *Unidad de los espinales y algarrobales pampeanos.*

- a. Subdistrito del Tala.

Esta unidad ha sufrido un intenso proceso de transformación, inclusive se hace difícil caracterizar su flora y su fauna climáticas. Para la flora, son propios además del tala, los algarrobos, el chañar, el espinillo y el incienso.

Respecto al estado de conservación, ésta es la segunda área de mayor antropización, luego de los pastizales. Sólo quedan zonas poco alteradas en las regiones de menor aptitud productiva. Las principales modificaciones que ha sufrido son: reemplazo de comunidades naturales por agroecosistemas, modificaciones del suelo, incorporación de agroquímicos, cambios del balance hídrico regional e introducción masiva de especies exóticas (Liotta J. 1999).

B. *Unidad de las Islas y delta del Paraná*

C. *Unidad de los pastizales pampeanos bonaerenses*

En la Guía Ecológica Bonaerense (HCD, 1994), se menciona la siguiente formación boscosa:

- I. Provincia del Espinal, incluida en el Dominio Chaqueño, que se extiende en forma de arco alrededor de la Prov. Pampeana hasta el sur de Buenos Aires y por el noroeste por la costa hasta Mar Chiquita. Abarca el:



I.a. Distrito de los Talaes

I.b. Distrito del Caldén.

Según Cabrera (1976), los talaes constituyen un subdistrito dentro del Distrito del Algarrobo en la Provincia Fitogeográfica del Espinal, o bien los incluye como una comunidad edáfica dentro de la Provincia Pampeana (Cabrera y Wlillink, 1980).

Finalmente, Burkhart (1957) indica la presencia de otra unidad ambiental, la de los Espinales Pampeanos.

Los Talaes

Los Talaes, fisonomía boscosa dominada por *Celtis tala* Gill et Planch (Fam.Ulmaceae, "tala") y *Scutia buxifolia* Reiss (Fam Rhamnaceae, "coronillo"), representan la mayor superficie boscosa de la Prov. de Buenos Aires. Estos se distribuyen desde San Nicolás hasta Mar Chiquita por la ribera Platense y la costa Atlántica (Vervoorst, 1967) (Fig. 1). Este ecosistema ha sufrido un proceso de degradación muy importante desde principios de siglo como consecuencia de la creciente actividad humana (Parodi, 1940). En la actualidad dicho proceso ha llevado a su desaparición en la zona Norte de la Prov. de Buenos Aires. Su estructura boscosa solamente puede observarse al sur de la localidad de Magdalena, donde se encuentra la porción remanente mejor conservada (Arditti et al., 1988).

Los Talaes están conformados por las siguientes especies arbóreas: *Celtis tala* (tala), *Scutia buxifolia* (coronillo), *Jodina rhombifolia* (sombra de toro), *Schinus longifolius* (molle), *Sambucus australis* (sauco), *Phytolacca tetramera* (ombusillo) y *Sapium haematospermum* (curupí), entre otras.

Las particularidades fitogeográficas sumadas a sus características paisajísticas, culturales e históricas motivaron la inclusión de una porción considerable de los Talaes del Partido de Magdalena en una Reserva de la Biosfera (Murriello et al., 1989). La Reserva de Biosfera "Parque Costero del Sur" (MAB-UNESCO), fue creada en 1984 como patrimonio natural y cultural. Se trata de un conjunto de interfases naturales, con una excepcional flora y fauna. Esta reserva posee una superficie de 26.581 hectáreas, formadas por un 73% de distintos pastizales, 9% de Talaes, 9% de pajonales y 1% de bosques ribereños. El 8% restante lo constituyen áreas cultivadas (Goya et al., 1992). Además del Parque Costero del Sur, existen otras áreas protegidas en el territorio bonaerense.

Los bosques nativos de la Prov. de Buenos Aires se encuentran sometidos a una presión intensiva de utilización, poniendo así en peligro de extinción o de agotamiento genético a muchas especies y poblaciones existentes. El conocimiento insuficiente de la biología de las especies nativas, las posibilidades para distintas aplicaciones finales y la variación genética inter e intraespecífica, pueden conducir a pérdidas irreversibles de un gran número de especies, incluso antes de que se hayan realizado estudios sobre su variación y características. Por este motivo se hace imprescindible implementar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* de las especies que los componen.

En este sentido, la Comisión de Biodiversidad Bonaerense (Co.Bio.Bo,1999) da un ejemplo de gestión para un área protegida, y sugiere:



- promover programas integrales de forestación con especies autóctonas.
- conservar recursos genéticos vegetales.
- promover la investigación científica aplicada a especies forestales nativas

Conservación y biodiversidad

La **conservación** está definida en la “Estrategia Mundial para la Conservación” (UINC, PNUMA, WWF, FAO, UNESCO, 1980), como “*la gestión de la utilización de la biósfera por el ser humano, de tal suerte que produzca el mayor y sostenido uso para las generaciones actuales, pero que mantenga su potencialidad para satisfacer las necesidades y las aspiraciones de las generaciones futuras*”. La utilización sostenida es la aportación forestal a dicha Estrategia (PFA, 1992). En el mismo documento, se señala que en la mayor parte de los casos en nuestro país, previo al diseño y ejecución de verdaderos planes de ordenación forestal, se debe desarrollar una intensa tarea restauradora. Dentro de esta línea la CNUMAD (ECO’92) adoptó la “Declaración de los principios para un consenso mundial respecto de la Ordenación, la Conservación y el Desarrollo de las Masas Forestales”. La Agenda XXI (ECO’92) aprobada por los países participantes de la CNUMAD, prevé en sus capítulos 11 y 21 las siguientes “Medidas contra la deforestación”:

- Mantenimiento de las múltiples funciones de todos los tipos de bosques, tierras forestales y regiones forestadas.
- Aumento de la protección, ordenación sostenible y conservación de todos los bosques y aumento de la cubierta vegetal en las tierras degradadas, mediante la rehabilitación, la siembra de árboles, la reforestación y otras técnicas de bonificación de tierras.
- Promoción de métodos eficaces de aprovechamiento y evaluación para recuperar el valor íntegro de los bienes y servicios derivados de los bosques, las tierras forestales y las regiones forestadas.
- Promoción de la identificación de razas más productivas de árboles de crecimiento rápido, especialmente de especies para leña y el desarrollo de métodos rápidos de propagación para ayudar a su más amplia difusión y utilización.

De éstas medidas a adoptar se desprende claramente un objetivo principal, que es el mantenimiento de la **diversidad biológica**. Esta se define como “*la totalidad de genes, especies y ecosistemas de una región*”. (Estrategia Global para la Biodiversidad, 1992)

La mera variedad de la vida tiene enorme valor. La diversidad de especies, comunidades y habitats bien diferenciados influye sobre la productividad y los servicios que brindan los ecosistemas. La biodiversidad guarda una relación tan estrecha con las necesidades humanas que su conservación debería considerarse con justicia como elemento de la seguridad nacional (Estrategia Global para la Biodiversidad, 1992).



Sedjo (1992) señala los principales beneficios de la biodiversidad:

- Es fuente directa de química natural y compuestos que pueden ser consumidos en forma directa.
- Provee información e ideas indicadoras para desarrollar síntesis química y compuestos útiles
- Es fuente de genes individuales o conjuntos de genes para caracteres genéticos deseables que pueden ser utilizados en el mejoramiento o el desarrollo de novedosas técnicas biotecnológicas.

Los recursos forestales están desapareciendo a un ritmo sin precedentes. Un importante componente de los ecosistemas forestales son los árboles, los que proveen alimentos, combustible, materiales de construcción, productos industriales y recursos genéticos. Además, son reconocidos como elemento crítico en el mantenimiento de la estabilidad a nivel atmosférico en el planeta. Por otro lado, es bien conocida la erosión de la variabilidad genética de determinadas especies. Por lo tanto, el manejo *in situ* y *ex situ* son necesarios para la conservación de la variabilidad genética y en consecuencia para el mejoramiento genético de árboles. (Fig. 2).

La conservación de la biodiversidad supone un cambio de actitud, desde una postura defensiva (protección) hacia una labor activa que procure satisfacer las necesidades biológicas de la población al mismo tiempo que asegure la sostenibilidad. El convenio sobre Biodiversidad sugiere reforzar y aplicar más ampliamente los mecanismos de conservación de la biodiversidad. Así mismo, indica que al elaborarse los planes de conservación de la biodiversidad, debería tenerse en cuenta toda la gama de técnicas y tecnologías disponibles actualmente para tal fin.

Indudablemente, existen problemas urgentes de conservación y preservación de especies forestales, principalmente entre especies nativas no industriales. En este contexto, la biotecnología, y dentro de ella, la conservación *in vitro*, la criopreservación de material vegetativo y el cultivo de tejidos ofrecen una solución para problemas urgentes de erosión genética de especies forestales indígenas.

A fin de utilizar una mayor variedad de las condiciones ecológicas y suministrar productos que normalmente se obtienen mediante la explotación de bosques naturales, es probable que en una parte considerable de las plantaciones se introduzcan especies indígenas que actualmente no son explotadas en gran escala. Algunas de estas especies pueden ser objeto de mejoramiento, mientras que otras presentan problemas de floración, producción de semillas, susceptibilidad a insectos y enfermedades. La distribución y uso de muchas especies no se conocen bien, y es probable que sus acervos genéticos estén amenazados. La implementación de programas de mejoramiento, propagación y conservación será una prioridad importante en estas especies. La experimentación con especies potencialmente útiles, la descripción de sistemas de reproducción, los estudios de procedencias, el establecimiento de ensayos en diferentes ambientes, la aplicación de medidas de conservación de la diversidad genética y el inicio de otras actividades del mejoramiento genético plantean importantes desafíos.



Algunos taxa no industriales se reproducen fácilmente en forma natural, pero algunas especies presentan dificultades, a veces por la pérdida de polinizadores naturales, bajo poder germinativo y degradación de habitats, por ello, ciertos acervos génicos están amenazados. La mayor parte de las especies forestales no industriales están aún en fase de evaluación y experimentación.

Que ofrece la biotecnología vegetal para la conservación de recursos genéticos forestales

1. Biotecnología

En ningún otro sector de la investigación científica se está avanzando hoy tan rápidamente como en el de la *biotecnología*. La misma ha sido definida en forma extensa como "cualquier técnica que use organismos vivos o partes de ellos, para hacer o modificar productos, mejorar plantas o animales o desarrollar microorganismos para usos específicos" (Persley, 1990). La irrupción de la biotecnología es un claro ejemplo de cómo las innovaciones científicas y tecnológicas, pueden llegar a influir en distintas dimensiones. La forestal no escapa al proceso de cambio global (Merenson, 1992)

En el marco de los acuerdos y convenciones mundiales, la FAO considera firmemente que la conservación de los recursos genéticos constituye una actividad básica y fundamental. La biotecnología aplicada a especies forestales ofrece un medio no sólo para la rápida y masiva multiplicación de stocks para producción de madera, sino también para la conservación de árboles indígenas, los cuales están degradados o en peligro de extinción. Debido a la rápida tasa de deforestación y degradación de los recursos genéticos forestales, deben ser llevados a cabo esfuerzos concertados que contemplen métodos para la propagación masiva, incluyendo las actuales biotécnicas (Bajaj, 1986).

2. Biotécnicas

Dentro de las técnicas biotecnológicas de aplicación en especies forestales, las que tienen más posibilidades de insertarse con éxito son:

a- Almacenamiento *in vitro* y criopreservación.

- * Conservación de germoplasma.
- * Mantenimiento de la juvenilidad.
- * Intercambio de germoplasma.

b- Marcadores moleculares.

- * Diversidad genética.
- * Conservación de genes.
- * Verificación de genotipos.
- * Taxonomía .
- * Estudios poligenéticos.
- * Estudios biológicos.



* Técnica de la huella digital.

c- Selección *in vitro*.

* Resistencia a enfermedades.

* Tolerancia a herbicidas.

* Tolerancia a factores abióticos (salinidad, altas y bajas temperaturas, metales pesados y estrés hídrico).

d- ADN recombinante.

* Resistencia a insectos, nematodos, virus, hongos y bacterias.

* Tolerancia al frío, a herbicidas, a metales pesados

* Esterilidad

* Incompatibilidades de cruzamiento.

* Enraizamiento.

* Simbiosis.

* Maduración de frutos.

* Baja producción de lignina

e- Variación somaclonal.

* Resistencia a enfermedades.

* Tolerancia a herbicidas.

* Tolerancia a salinidad y otros stress abióticos.

f- Fusión de protoplastos.

* Híbridos somáticos

* Cíbridos

g- Cultivo de haploides.

h- Rescate de embriones *in vitro*.

i- Propagación clonal *in vitro*.

* Micropropagación.

* Embriogénesis somática.

* Microestacas

* Microinjertos

j. Control *in vitro* del estado de desarrollo

k. Otros (Aplicaciones no relacionadas directamente con la mejora genética de forestales)



- * Simbiosis
- * Biopulpaje y bioblanqueo
- * Fermentación de residuos
- * Producción de metabolitos secundarios.

Todas estas biotécnicas pueden ser aplicadas a especies forestales, pero deben ser utilizadas adecuadamente en lo que se refiere a los objetivos planteados, tomando como punto de partida las necesidades de la región.

A continuación, se resumen los aspectos más importantes de cada una de estas técnicas.

2.a. Almacenamiento *in vitro* y criopreservación

El almacenamiento *in vitro* de células tejidos u órganos se logra mediante la disminución de intensidad lumínica, temperatura, nutrimentos y/o mediante la inmersión en nitrógeno líquido, técnica denominada criopreservación. Hasta el momento su aplicación se ha centrado fundamentalmente en especies de valor alimenticio, por lo que será necesario ajustar la metodología para otros tipos de especies. (Fig. 3)

2.b. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares implican la identificación, mediante técnicas bioquímicas muy perfeccionadas, de variaciones de moléculas celulares como el ADN y las proteínas. Ofrecen la ventaja de no cambiar por efecto del sitio forestal ni por el estado ontogénico de la planta. Entre ellos se encuentran como tecnologías disponibles, la técnica de la huella digital, la cuantificación de la variación genética y la selección temprana. Gracias a sus atributos inherentes, los marcadores moleculares son mucho más precisos que los rasgos morfológicos que ayudan a establecer la identidad de un determinado árbol o a analizar su interacción genética con otros árboles.

IV. 2.c. Selección *in vitro*

Las técnicas de selección *in vitro* por medios de agentes selectivos adecuados (medios con presión de selección), permiten el crecimiento preferencial de células variantes o mutantes, facilitando la selección en gran número de células en menor tiempo y espacio. Así mismo se puede simular *in vitro* un ambiente desfavorable y cultivar células en tales condiciones, para obtener plantas con tolerancia o resistencia a tal adversidad.

2.d. Técnicas de ADN recombinante

Las técnicas del ADN recombinante aplicadas a células vegetales constituyen la herramienta de mayor futuro en mejoramiento genético de especies forestales. Sin embargo, es necesario una gran cantidad de estudios básicos antes de que esta tecnología pueda aplicarse exitosamente a escala industrial. La recombinación genética *in vitro* comprende la extracción de ADN de diferentes especies, la construcción de una molécula híbrida de ADN y la reintroducción de la molécula recombinante en una célula viva, con miras a la expresión de un nuevo carácter, como



puede ser la producción de una proteína determinada. Recientemente se han iniciado algunos proyectos de ingeniería genética de especies forestales, orientados a la reducción de la biosíntesis de lignina; sin embargo quedan todavía por resolver numerosas dificultades técnicas. La transformación de una especie con genes actualmente disponibles, resistentes a insectos o herbicidas, constituye un importante logro de la investigación, cuyo éxito depende de la capacidad de regeneración de plantas completas a partir de células transformadas.

2.5. Variación somaclonal

Las plantas obtenidas por organogénesis indirecta, han demostrado cierta inestabilidad genética dando origen a nuevos tipos o somaclones; el cultivo *in vitro* de callos por tiempos prolongados aumenta esta posibilidad. Este es el fundamento de la técnica de la variación somaclonal.

La velocidad de obtención de nuevas variantes utilizando este método es considerablemente superior a las técnicas clásicas de mejoramiento genético, esto posibilita aumentar la base genética de una especie forestal para no perder el vigor híbrido de los futuros cruzamientos. Utilizando ésta técnica es posible obtener individuos, que propagados vegetativamente, manifiesten resistencia a enfermedades o a condiciones de sitio adversas (suelos salinos, bajas o altas temperaturas, etc.).

2.6. Fusión de protoplastos

La fusión de protoplastos (células sin pared) permite el desarrollo de plantas híbridas imposibles de obtener mediante cruzamientos clásicos. Se han obtenido con éxito algunas especies de uso agronómico y en el sector forestal por el momento es promisoría.

2.7. Cultivo de haploides

La utilización de gametos (células con un sólo juego de cromosomas) para la regeneración de plantas *in vitro* permite disponer de nuevas variantes genéticas; esta biotécnica se denomina cultivo de haploides. El objetivo del uso de los individuos así originados es evitar la pérdida de características deseables de los árboles por cruzamiento. Esta técnica puede ser acompañada por la propagación clonal de las plantas haploides logradas, para luego, ser empleadas en planes de mejora genética.

2.8. Rescate de embriones *in vitro*

El rescate de embriones *in vitro* puede ser utilizada en ciertas especies forestales en las que naturalmente por incompatibilidad el embrión aborta antes de formar la semilla. Se rescata el mismo y se siembra *in vitro* en condiciones especiales, para que culmine el proceso de formación del propágulo.

2.9. Propagación clonal *in vitro*

La propagación clonal *in vitro*, micropropagación y embriogénesis somática, proveen la posibilidad de producir en gran escala copias idénticas de una planta, ya que todos los árboles que se obtengan por estos métodos son isogénicos. Por medio de esta tecnología también es posible obtener en forma masiva, en condiciones de laboratorio y en cualquier época del año, plantas de sanidad controlada, si se utiliza



como explante el meristema. Hay dos objetivos principales para desarrollar técnicas de micropropagación de especies forestales, en primer lugar, ajustar un sistema de clonación viable a gran escala para árboles selectos y en segundo lugar, son necesarios protocolos reproducibles para ser utilizados en manipulación genética. (Harry and Thorpe, 1994).

2.10. Producción de metabolitos secundarios

La producción de metabolitos secundarios *in vitro* se basa en la inmovilización de células de especies vegetales que deben permanecer vivas durante largos períodos para la producción y liberación al medio de los metabolitos secundarios, que luego, por extracción serán utilizados en las diferentes industrias como la farmacéutica, perfumería, etc.. Esta forma de producir compuestos de química fina, evita la destrucción de gran cantidad de biomasa vegetal, lo que atenta en algunos casos contra la preservación de la especie.

2.11. Control *in vitro* del estado de desarrollo

Se ha encontrado en varios casos de yemas maduras cultivadas *in vitro* una regresión hacia un estado juvenil como respuesta a técnicas y condiciones de cultivo. El rejuvenecimiento *in vitro* puede ser una solución al enraizamiento deficiente y a la falta de vigor que muestran explantes provenientes de árboles adultos. El mantenimiento, por técnicas clonales, de la fase juvenil es tan útil para muchos fines como el rejuvenecimiento y podrá conseguirse mediante tecnologías como la crioconservación o “coppicing”.

Ninguna de las técnicas anteriormente citadas tiene mucho sentido por sí sola. Es el uso integrado de todas estas diferentes tecnologías es el que hace que las nuevas biotecnologías sean tan poderosas y comercialmente interesantes.

3. Cultivo de tejidos *in vitro*

La regeneración de plantas completas ya sea a partir de tejidos somáticos o gaméticos, es indispensable para el éxito de muchas de las áreas anteriormente mencionadas.

Las plantas pueden ser propagadas en dos formas, vegetativamente (asexual) y generativamente (sexual, por semillas). El uso de las técnicas de cultivo de tejidos puede extender y mejorar las posibilidades de la propagación vegetativa para algunas especies. Uno de los objetivos prioritarios del mejoramiento de especies no industriales será probablemente las actividades relacionadas con la conservación de la variabilidad genética (Haines, 1994). El cultivo *in vitro* de tejidos es un área de la biotecnología cuya importancia en la conservación de los recursos fitogenéticos está aumentando, especialmente en las especies que se propagan vegetativamente. La propagación vegetativa representa un camino más directo para retener las características genéticas deseables de un árbol o de una especie amenazada. Dentro de este tipo de propagación, el cultivo de tejidos ofrece un gran potencial de apoyo a los métodos tradicionales.



Podemos definirlo como *la técnica mediante la cual cualquier parte de una planta(explanto) es cultivada en un medio nutritivo, bajo condiciones estériles, con el propósito de inducir el crecimiento.*

Dos formas diferentes de crecimiento pueden ser inducidas en los explantes :

- Crecimiento diferenciado: resulta en la formación de brotes, raíces o embriones.
- Crecimiento indiferenciado: resulta en la formación de callos, los cuales son una masa de células poco diferenciadas, en activa división.

Las técnicas de cultivo de tejidos tienen potencial aplicación en la conservación de recursos genéticos de un gran número de plantas, dentro de las cuales, dos categorías son de particular interés:

- las que son normalmente propagadas en forma vegetativa
- las que tienen semillas recalcitrantes

Un amplio rango de sistemas de cultivo de tejidos están hoy disponibles para usar en la conservación de recursos genéticos.

Mediante el uso de técnicas *in vitro*, un árbol deseado, seleccionado en base de su comportamiento pasado, puede ser vegetativamente propagado y clonado a una alta tasa y de forma rápida, lo cual por métodos convencionales (estacas, injertos y otras prácticas) puede llevar años. Esta tasa de multiplicación permite la rápida producción de fitomasa para realizar reforestaciones y restaurar ecosistemas degradados.

Uno de los objetivos prioritarios del mejoramiento de especies no industriales será probablemente las actividades relacionadas con la conservación de la variabilidad genética (Haines, 1994). El cultivo *in vitro* de tejidos es un área de la biotecnología cuya importancia en la conservación de los recursos fitogenéticos está aumentando, especialmente en las especies que se propagan vegetativamente. La propagación vegetativa representa un camino más directo para retener las características genéticas deseables de un árbol o de una especie amenazada. Dentro de este tipo de propagación, el cultivo de tejidos ofrece un gran potencial de apoyo a los métodos tradicionales.

Banco de germoplasma de especies forestales nativas de la Provincia de Buenos Aires

1.Fundamentos para la creación de un Banco de Germoplasma de especies forestales nativas.

El hecho de reconocer el peligro de erosión de nuestra base genética, ha originado acciones destinadas a detenerla, especialmente en el terreno de los recursos fitogenéticos. Por eso se ha planteado la posibilidad de utilizar bancos de genes de alta tecnología para almacenar y conservar la diversidad genética para las futuras generaciones.

Hasta el año 1995 no existía en la Provincia de Buenos Aires ninguna normativa referida a la protección de la biodiversidad en la región. En diciembre de ese año, la



Legislatura provincial sanciona la Ley 11.723 “Ley Integral del medio ambiente y los Recursos Naturales”. En el Capítulo 5 de dicha Ley (de la Flora), artículo 55, se expresa: “A los fines de protección y conservación de la flora autóctona y sus frutos, el estado Provincial tendrá a su cargo:

- a) la implementación de un relevamiento y registro, incluyendo localización de especies, fenología y censo poblacional periódico,
- b) la creación de un sistema especial de protección, *ex situ* e *in situ*, de germoplasma de especies autóctonas, dando prioridad a aquellas en riesgo de extinción,
- c) la fijación de normas para autorización, registro y control de uso y manejo de flora autóctona;
- d) la planificación de recupero y enriquecimiento de bosques autóctonos
- g) la promoción de planes de investigación y desarrollo sobre especies autóctonas potencialmente aplicables en el agro, la industria y el comercio”.

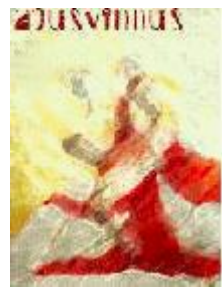
Basado en esta normativa y desde el ámbito de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, situada geográficamente en una región ambientalmente muy comprometida, se propuso crear un Banco de Germoplasma para la Provincia de Buenos Aires, con el fin de conservar los recursos genéticos forestales nativos y en especial, aquellos en peligro de extinción. El Proyecto fue aprobado por el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (Expediente N° 200-2140/97). Para hacer posible esta iniciativa, fue necesaria la participación activa de los entes gubernamentales consustanciados con la problemática, y es así que, en septiembre de ese mismo año, se firma el Convenio de Cooperación y Asistencia Técnica recíproca entre la Secretaría de Política Ambiental de la Provincia de Buenos Aires y la Universidad Nacional de La Plata. De esta forma se logra el financiamiento por parte de la Provincia para la ejecución del Plan. La Unidad Ejecutora es el Centro Experimental de Propagación Vegetativa (C.E.Pro.Ve.) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

A los fines de integrar y promover el intercambio de información multidisciplinaria, la Secretaría de Política Ambiental crea la Comisión para el Estudio y Uso Sustentable de la Biodiversidad Bonaerense (Co.BIO.BO). A esta Comisión se adhiere el C.E.Pro.Ve. y el programa PROBIOTA, a cargo de Investigadores de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, y que está abocado al relevamiento de la flora y fauna bonaerense con el objeto de lograr un inventario actualizado de los Recursos Genéticos existentes.

El Proyecto fue declarado de Interés Provincial e Interés Legislativo por la Honorable Cámara de Senadores de la Provincia de Buenos Aires (Exptes N° F-720/97-98 y F-721/97/98) y auspiciado por la Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable de la Presidencia de la Nación (Resolución N 90/98).

2. Bancos de Germoplasma. Tipos.

Los **bancos de germoplasma** son los sitios donde se realiza el servicio de conservación *ex situ* del material genético, base física de las cualidades heredables de



los organismos. El material vegetal que en éstos se conserva, representa reservas genéticas capaces de proporcionar germoplasma para la regeneración de plantas, las que podrán ser utilizadas para realizar replantaciones con el fin de recuperar tierras degradadas, reintroducir especies en su medio natural o reponer poblaciones vegetales en peligro de extinción.

Su número ha aumentado en todo el mundo con el correr de los años, aunque, históricamente, el material elegido para conservar consiste fundamentalmente en especies de valor alimenticio, en detrimento de especies forestales, medicinales y cultivos ornamentales.

La Dirección de Recursos Forestales de la FAO inició recientemente el desarrollo de un sistema de información, a escala mundial, sobre Recursos Fitogenéticos Forestales denominada REFORGEN, (FAO, 1997). El objetivo es brindar información exacta y actualizada sobre las actividades en materia de recursos genéticos forestales, para su uso en la planificación y adopción de decisiones de tipo subregional, regional e internacional. En el año 1998, se estableció el primer Programa de conservación de especies forestales para la Oficina Regional de la Américas del IPGRI.

Este Proyecto está basado en las directivas emanadas de organismos internacionales para la Conservación de Recursos Fitogenéticos en general, y en particular, para la instalación y manejo de Bancos de Germoplasma, con reconocida experiencia en el tema. Fundamentalmente está apoyado en la FAO y el IPGRI, organismos que tienen entre sus objetivos desarrollar y promover estrategias y tecnologías para la conservación de recursos genéticos vegetales. (FAO/ IPGRI 1994).

La conservación de germoplasma puede realizarse *in situ* o *ex situ*. En el primer caso (conservación *in situ*), el mantenimiento de la biodiversidad se concreta en su habitat natural, sin perturbar su dinámica evolutiva. En cambio, la conservación *ex situ* consiste en un sistema de mantenimiento de componentes vivos de la biodiversidad fuera de su habitat o entorno natural, en este caso mediante colecciones a campo, jardines botánicos, banco de semillas o conservación *in vitro*. (Fig 4).

El criterio aplicable al almacenamiento depende de la biología de la especie y de los órganos vegetales seleccionados para la conservación y posterior regeneración. Las colecciones vivas de poblaciones seleccionadas continúan siendo el método de conservación más importante utilizado para la mayoría de las especies forestales y agroforestales aunque, debido a los riesgos de las colecciones *in situ* o en el campo, debe insistirse con los bancos de semillas y el almacenamiento *in vitro*.

El almacenamiento de semillas, con el fin de contar con material genético para reforestar o para intercambio con otras instituciones, se realiza en Bancos Activos. En este caso es necesario verificar periódicamente la viabilidad y las características de las plantas obtenidas. Esta modalidad está restringida al tipo de simientes llamadas ortodoxas, que si bien admiten la desecación, disminuyen su viabilidad con el tiempo. Las semillas recalcitrantes no sobreviven a la desecación y por lo tanto no admiten este tipo de conservación.



En los casos de las especies elegidas para conservar en un Banco, se hace necesario el estudio de los aspectos morfofisiológicos de las semillas, con el objeto de conocer la viabilidad y las condiciones óptimas de germinación *in vivo* e *in vitro*.

Como se mencionó en párrafos anteriores, la conservación de explantes del material seleccionado puede realizarse *in vitro*, usando distintas partes de la planta, bajo un sistema de almacenamiento de crecimiento mínimo llamado IVAG (Banco Genético Activo *in vitro*). Se caracteriza por emplear temperaturas inferiores a 10 °C y aprovisionamiento reducido de oxígeno y nutrientes. Otra opción es la crioconservación (almacenamiento de germoplasma en nitrógeno líquido) (Kartha, 1985). Estos bancos se denominan IVBG (Banco Genético Base *in vitro*). El sistema de almacenamiento de crecimiento mínimo permite conservar material vegetal sin pérdida de la supervivencia por unos pocos meses, dependiendo de la especie. Sin embargo, bajo la criopreservación, (a -196 °C) los procesos metabólicos se detienen y, teóricamente, el material puede ser conservado indefinidamente (Kartha, 1985; Grout, 1995). Debido a que sólo partes muy pequeñas del material pueden soportar el estrés de la congelación, los explantos usados para este propósito incluyen: yemas axilares, trozos de callos, alícuotas de cultivo en suspensión y polen.

Un rasgo esencial del Banco, es que el material pasa por un proceso cíclico en el cual las muestras son multiplicadas. La frecuencia de estos procesos varían con la especie y está relacionada con los procedimientos prácticos que determinen la capacidad de viabilidad y estabilidad genética con un mínimo consumo. La colección es mantenida por sucesivos subcultivos, los cuales renuevan automáticamente el material conservado y proveen muestras para el monitoreo y para la distribución de material (plantas completas) cuando éste fuera requerido.

Debido a que el material en IVAG es mantenido por largos períodos, bajo condiciones subóptimas, el riesgo de variaciones somaclonales debe ser minimizado mediante una cuidadosa elección del material inicial y del sistema de multiplicación.

La metodología general a utilizar está basada en las normativas internacionales dictadas por el Advisory Committee on *in vitro* Storage del IBPGR (1986). Las mismas son adaptadas a las especies forestales nativas bonaerenses seleccionadas para conservar y a la infraestructura disponible. Para la instalación de un Banco Activo (IVAG), se hace necesario evaluar y ajustar las técnicas de propagación vegetativa por estacas, para contar con material clonado como fuente donante de explantes. En el caso de las especies elegidas para el Banco de Germoplasma de la Prov. De Buenos Aires, se requiere de un estudio previo de la fisiología del crecimiento y desarrollo, ya que se trata de taxa poco conocidos en esos aspectos.

El criterio de selección del germoplasma a conservar surge de la información preexistente acerca de:

- características y distribución de la especie.
- categoría de amenaza
- capacidad de restauración de ecosistemas degradados
- beneficios reconocidos y potenciales para el hombre.

3. Biotécnicas utilizadas

Para lograr la conservación *in vitro* de las especies bajo estudio, se emplean las dos principales vías que caracterizan la micropropagación, que son: la organogénesis adventicia y la embriogénesis somática. Para esto, se deben determinar los explantos con reales posibilidades de proveer una cantidad suficiente de tejido para la propagación vegetativa masiva de individuos isogénicos. Su recolección se efectúa de individuos selectos, en sus diferentes etapas de crecimiento y desarrollo. Luego, se procede a la desinfección de los explantos para lograr condiciones axénicas de cultivo *in vitro*.

Con el objeto de provocar la inducción y la proliferación de yemas y raíces o la aparición de embriones somáticos en los explantes, estos son cultivados en distintos medios, con diferentes concentraciones de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y sacarosa, suplementados con reguladores de crecimiento (auxinas, citocininas y giberelinas), con el objeto de desencadenar los procesos de organogénesis y/o embriogénesis (Roca W. y Mroginski L.1991). Las condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de los cultivos se logra en cámaras climatizadas con temperatura, luz y fotoperíodo controlado.

De acuerdo a los antecedentes sobre el tema, se capitalizan los resultados obtenidos para especies afines. Seguidamente se realiza un seguimiento de las distintas etapas morfogénicas de los cultivos a través de análisis histológicos de los explantes vegetales en estudio. Una vez ajustada la técnica de obtención de plántulas o embriones somáticos *in vitro*, se procede a modificar todos aquellos factores que contribuyen a la disminución de la tasa de crecimiento, para la conservación de germoplasma *in vitro*, a saber:

- a- temperatura
- b- nutrientes inorgánicos y orgánicos
- c- inhibidores
- d- potencial osmótico del medio
- e- tipo de envase
- f- calidad y concentración de los agentes gelificantes
- g- oxigenación
- h- intensidad de la luz y fotoperíodo.

Se debe realizar periódicamente la evaluación de la viabilidad de los cultivos *in vitro*. Las características más significativas a evaluar en el almacenamiento del material en condiciones de crecimiento lento son:

- a- contaminación
- b- senescencia
- c- presencia o ausencia de embriones somáticos
- d- tasa de crecimiento



e- presencia o ausencia de brotes y raíces

f- ocurrencia de callo

4. Especies bajo estudio

Actualmente, las especies en estudio para conservación en Banco Activo, en la primera etapa del proyecto, son:

- *Acacia caven* (espinillo)
- *Parkinsonia aculeata* (cina-cina)
- *Scutia buxifolia* (coronillo)
- *Celtis tala* (tala)
- *Erythrina crista-galli* (seibo)
- *Jodina rhombifolia* (sombra de toro)

Toda la información sobre la conservación *in vitro* y su relación con otras áreas de la investigación científica, se asienta continuamente en una base de datos. (Perry M.C. et al.1993). Los datos a registrar para estas especies incluyen:

- a. caracterización sistemática y bioquímica.
- b. origen de las muestras
- c. ratamientos previos
- d. condiciones de cultivo
- e. condiciones de mantenimiento
- f. pruebas de viabilidad
- g. pruebas de estabilidad genética
- h. distribución e intercambio

El germoplasma coleccionado y conservado debe ser caracterizado y evaluado. Históricamente la sistemática se ha basado en la información morfológica que permite establecer las relaciones intra e interespecíficas. Actualmente, se están utilizando marcadores bioquímicos (isoenzimas) y marcadores moleculares (RFLPs, AFLPs, RAPDs, microsatélites, etc.) en la evaluación y caracterización del germoplasma. Estos permiten estimar la diversidad genética en las entradas de los Bancos de Germoplasma y verificar el mantenimiento de la estructura genética y la estabilidad de los materiales a través de las sucesivas multiplicaciones. Además, permiten diferenciar genotípicamente los materiales conservados.

Desde el comienzo de la ejecución del Proyecto se han relevado las especies a conservar en distintas áreas naturales, como la Reserva natural estricta Otamendi, Parque provincial Pereyra Iraola y Reserva de la Biósfera "Parque Costero del Sur". De los ejemplares marcados de *Acacia caven* (espinillo), *Parkinsonia aculeata* (cina-cina), *Erythrina crista galli* (seibo), *Celtis tala* (tala) y *Scutia buxifolia* (coronillo), se extrajo material para herborizar, para ajustar la propagación vegetativa convencional (enraizamiento de estacas, injertos) y para aplicar diferentes biotécnicas, como el



cultivo *in vitro* de tejidos vegetales (micropropagación por organogénesis adventicia, microinjertos, embriogénesis somática y cultivo de meristemas). Con la utilización de estas técnicas se han obtenido plantas completas, actualmente en etapa de rusticación. Estos individuos clonados forman una población base para su conservación en banco *ex situ*. (Fotos 1, 2, 3, 4, 5).

También se han recolectado semillas para los ensayos preliminares de viabilidad y germinación. Para que los análisis de germinación puedan ser repetidos, se realizan conforme a las reglas dictadas por ISTA.

Este banco de semillas cuenta con la infraestructura necesaria la cual se rige por la reglamentación vigente del INASE (Instituto Nacional de Semillas), Resolución 37/98, que considera los requisitos para su habilitación. El cumplimiento de estas normas en forma sistemática habilita al C.E.Pro.Ve como Centro Certificador de Semillas Forestales, lo que permite el intercambio de simientes con otras instituciones.

Alcances y perspectivas de la biotecnología vegetal aplicada a la conservación de recursos genéticos forestales. Conclusiones.

Los recursos naturales básicos son, sin duda, el suelo, el agua y el aire. Sin cualquiera de estos recursos no hay vida posible. Sin embargo, existe un **cuarto recurso, la información genética**, igualmente importante, que recibe, en comparación con los otros tres, limitada atención. Los recursos genéticos son el verdadero fundamento de todos los seres vivos. Los genes son la base física de la información hereditaria. La diversidad de los recursos genéticos es la piedra angular de todo esfuerzo por mantener o aumentar el rendimiento de nuestros cultivos, ya sea agrícolas como forestales. Es asimismo un requisito crucial para que los ecosistemas naturales respondan a situaciones cambiantes ahora y en el futuro. Sin embargo, pese a la obvia importancia del **cuarto recurso**, gran parte de la diversidad genética se está perdiendo actualmente a un ritmo sin precedentes. Esto es especialmente el caso de los países en vías de desarrollo donde se encuentra localizada la mayor parte de la diversidad biológica del planeta.

En la Novena Reunión del Cuadro de Expertos de la FAO en Recursos Genéticos Forestales, se llamó la atención sobre la demanda creciente de una acción mundial en el campo de los recursos genéticos forestales y sobre la expansión del alcance de aquellas actividades que están estrechamente relacionadas con las nuevas dimensiones del desarrollo sostenible y con las nuevas oportunidades que ofrecen los recientes avances científicos en materia genética, como la biotecnología.

Los efectos de la deforestación y la degradación forestal son diversos y de largo alcance, produciendo impactos ambientales, económicos y sociales. Los bosques sirven para numerosas funciones ambientales, que aún no se conocen plenamente en todos sus aspectos. Nuestra falta de conocimientos sobre el funcionamiento de los ecosistemas, especialmente de los forestales nativos, es aún muy pronunciada, dificultando nuestra capacidad de manipular y manejar los bosques para un uso sostenido y también para diseñar normas para la conservación de tales ecosistemas y de los recursos genéticos que contienen. Los próximos años son de importancia fundamental para una buena ordenación ambiental; el tiempo para actuar se está agotando con rapidez.



A veces es imperativo tomar decisiones tácticas sin contar con datos suficientemente confiables. En otras palabras, el riesgo de no actuar so pretexto de la necesidad de mayores estudios, puede ser peligroso en una crisis (Soulé, 1986). Esto cuadra perfectamente en la situación forestal argentina, donde se pierde mayor superficie forestal por inacción que por acción (PFA, 1992).

Es fundamental afrontar el reto que se nos presenta, mediante acuerdos internacionales y una acción vigorosa en consonancia con los conocimientos disponibles actualmente, complementados con investigación y estudios para mejorar tal acción.

Si bien la Biotecnología aplicada a especies forestales tiene gran potencial para contribuir sustantivamente en el sector forestal, su impacto será más productivo cuando se combine con programas de mejoramiento convencional o bancos de germoplasma. La Biotecnología por sí misma es poco apropiada cuando es aplicada aisladamente. Ella depende de una alta utilización y efectividad de los recursos en los programas de mejoramiento o conservación, del "know-how" para la manipulación de características cuantitativas (mapeo genómico e ingeniería genética), de las técnicas y facilidades para la evaluación a campo y de los canales de transferencia. Para el aprovechamiento pleno de las ventajas que ofrecen las numerosas biotécnicas, éstas deben ser integradas a un plan de mejoramiento genético o de conservación de germoplasma, volcado a mantener la biodiversidad.

Estos métodos biotecnológicos deben aplicarse a especies forestales industriales y las que hoy no se consideran como tales, con el fin de mejorar y preservar el germoplasma existente. Esto se puede lograr con una selección inteligente de las líneas de investigación y desarrollo en Biotecnología de acuerdo a escalas sectoriales, considerando su impacto ambiental. Se deben concentrar los esfuerzos humanos y tecnológicos en forma armónica y descentralizada para resolver los problemas que enfrentan el sector forestal, además, llevar los programas biotecnológicos hacia la sustitución de insumos importados y proveer la generación de productos orientados al aumento de las exportaciones. Se deben integrar regionalmente los esfuerzos e inversiones en biotécnicas que incluyan la formación de recursos humanos y la asistencia técnica recíproca, y por último, identificar formas, mecanismos y acciones de manera de inducir a los investigadores, universidades y empresas de la región para que integren acciones conjuntas en Biotecnología forestal.

Los países deben tomar medidas encaminadas a hacer que los beneficios del uso de los recursos genéticos se recojan a escala nacional y local. La biotecnología está alterando radicalmente el valor de mercado de los recursos genéticos. Si se establecen las políticas adecuadas, los países ricos en especies y recursos genéticos deben beneficiarse considerablemente. Con la ayuda de la comunidad internacional todos los países deberían establecer medidas que promuevan la elaboración, adquisición y adaptación de biotecnologías, y el desarrollo y experiencia técnica interna del país (Estrategia Global para la Biodiversidad, 1992).

En el futuro deberán plantearse estrategias inteligentes para racionalizar y otorgar mayor equidad en el uso de genes vegetales que provienen de plantas cuyo centro de origen y dispersión se encuentra en Iberoamérica. Una forma



de proteger esta riqueza fitogenética es precisamente entregar un apoyo decisivo a proyectos que apliquen métodos biotecnológicos para utilizar, recolectar, evaluar y mantener dicho germoplasma. Aún más, los investigadores que trabajan en recursos forestales deben estar conectados para potenciar sus proyectos y evitar o minimizar la "erosión genética" en curso de especies arbóreas nativas. Un instrumento provincial para la conservación y desarrollo de los bosques aporta un marco general para realizar esfuerzos nacionales de mayor alcance y para reconciliar los enfoques ecológicos y económicos dirigidos a la utilización de los recursos forestales. Al mismo tiempo, podría servir de mecanismo para lograr consenso y compromiso entre países desarrollados y en desarrollo y también para asegurar un aumento indispensable del apoyo y cooperación internacional a aquellas políticas y programas dirigidos a la conservación y desarrollo sostenido de los bosques nativos y de los recursos que contienen.

En síntesis, se puede afirmar que la conservación de la biodiversidad podrá hacerse efectiva si logramos su puesta en valor, en otras palabras, resulta indispensable que estos beneficios intangibles se conviertan en tangibles, frente a lo cual, los recientes y significativos avances de la biotecnología, los cuales parecen no tener límites, hacen presumir un notable incremento en la transformación de los hasta hoy considerados subproductos, en productos útiles y tangibles a partir de las especies silvestres, tanto animales como vegetales.

Como se manifiesta en este documento, los recursos genéticos forestales y la diversidad presente en los millares de especies arbóreas útiles existentes en la Tierra, constituyen un recurso inter-generacional de gran importancia social, económica y ambiental. Las grandes amenazas a la integridad de los recursos genéticos incluyen la deforestación debida a los cambios en el uso de las tierras, las prácticas inadecuadas de aprovechamiento de la madera y la leña y también, al movimiento incontrolado e indocumentado de germoplasma forestal. En este contexto, la conservación de los recursos genéticos forestales en Bancos de Germoplasma es una materia de gran importancia nacional y provincial.

Aunque algunos reportes (Wang ,1978; Frankel, 1978) afirman que, con excepción de las especies propagadas vegetativamente, no se cree probable que la conservación de recursos genéticos forestales mediante el cultivo de tejidos vaya a adquirir una gran importancia en el futuro inmediato, ejemplos de resultados eficientes en diversos Bancos de Genes demuestran lo contrario. El Banco de Germoplasma de la Prov. de Buenos Aires es uno de estos ejemplos.

Referencias bibliograficas

- AAVV. A Review of Approaches to Forestry Research on Structure, Succession and Biodiversity of Undisturbed and Semi-natural Forests and Woodlands in Europe. European Forest Institute. Working Paper N° 3. 1994. Finland.
- Abedini W. 1998. Biotecnología y desarrollo. Rev. Bosques y desarrollo. Nro. 18-19. Pp. 68-70.
- Abraham de Noir, F. 1992. Información sobre Bancos de semillas forestales de Santiago del Estero, Argentina. Recursos genéticos forestales FAO. 19: 60-62.



- Abraham de Noir, F.; Ruiz de Riberi, M. 1995. Laboratorio de semillas forestales. Bosques y desarrollo. 14: 24-28. Buenos Aires. Ed. Acme.
- Adamoli, J. 1993. Seminario Taller "La Universidad de Buenos Aires y el Medio Ambiente". Fac. de Filosofía y Letras, Cap. Fed.
- Administración de Parques Nacionales, 1991. El sistema nacional de áreas naturales protegidas de la Rca. Argentina. Diagnóstico de su desarrollo institucional y patrimonio natural. Bs. As., 127 p.
- Arditti S.; Goya J., Murriello S., Placci G., Ramadori D y Brown A. 1988. Estructura y funcionamiento de los bosques nativos de tala y coronillo del área costera del Río de la Plata. Actas VI Congr. For. Arg.: 182-188.
- Bajaj, Y. P. S. 1991. Automated micropropagation for en masse production of plants. En Y.P. S. Bajaj, de. Biotechnology in agriculture and forestry 17. High-tech and micropropagation 1. pp 3-16. Berlin, Springer Verlag.
- Banco Nacional de Prosopis. 1991. Recomendaciones y Manejo de Germoplasma. Universidad de Córdoba.
- Burkart, A. 1952. Las leguminosas argentinas (silvestres y cultivadas). Acme, 2º edición.
- Burkart, A. 1957. Ojeada sinóptica sobre la vegetación del Delta del río Paraná. Darwiniana, 11 : 457-561.
- Cabrera A. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Tomo II : 85.
- Cabrera A. y Willink A. 1980. Biogeografía de América Latina. Serie de Monografías de OEA. Washington DC: 117.
- Cabrera A. y Zardini E. 1978. Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Ed. ACME :755.
- Cozzo D., 1992. Las pérdidas del primitivo paisaje de bosques, montes y arbustiformes de la Argentina con especial referencia a sus territorios áridos y húmedos. Academia Nacional de Ciencias, Miscelánea Nro.90. Córdoba.
- Crisci, J., Posadas, P. y Morrone, J.. 1996. La Biodiversidad en los umbrales del siglo XXI. Ciencia Hoy.
- Crisci, J.V; Posadas, P.E; Morrone, J. J. 1996. Ciencia Hoy. Elementos de Política Ambiental. (1993). Goin, F. y Goñi, R. Editores. Honorable Cámara de Diputados de la Provincia de Buenos Aires. Vol. 6, Nº 36: 34-40.
- Crop genetic resources the conservation of difficult material. 1980. Proc. of an International Workshop held the University of Reading, UK.
- Delucchi G. Correa R. 1992. Las especies vegetales amenazadas de la Provincia de Buenos Aires. Situación Ambiental de la provincia de Buenos Aires. A. Recursos y rasgos naturales en la evaluación ambiental. Año II –Nro. 14 CIC ISSN 0327-5671.
- Estrategia Global para la Biodiversidad. 1992. WRI-UICN-PNUMA. FAO-UNESCO
- FAO 1956. La manipulación de semillas forestales. Colección FAO: cuaderno de fomento forestal. 4.
- FAO 1980a. Recursos genéticos de especies arbóreas en las zonas áridas y semiáridas. Estudios sobre el mejoramiento de la vida rural en América Latina, Africa, India y Asia suboccidental. FAO/IBPGR. FAO, Roma.
- FAO 1984a. Conservación *in situ* de los recursos fitogenéticos. Bases científicas y técnicas. FORGEN/MISC/84/1.



- FAO 1989. Recursos Fitogenéticos. Su conservación *in situ* para el uso humano. FAO.
- FAO 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Estudio FAO Montes 20/2.
- FAO . 1991. "Proyecto de la evaluación de recursos forestales". Informe provisional sobre la situación de los bosques tropicales. Roma.
- FAO 1993. Recursos Genéticos Forestales. Nº 20. FAO.
- FAO 1997. Recursos Genéticos Forestales. Nº 24. FAO.
- Frankel, O. H y Soulé, M. E, 1981. Conservation and evolution. Cambridge y Nueva York, Cambridge University Press.
- Perry, M.C., Painting, K.A. and Ayad, W.G. 1993. Genebank Management System Software User`s Guide. International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
- Geneflow. Publicación de Recursos Fitogenéticos en el Mundo. 1990. International Board for Plant Genetic Resources. FAO.
- Goya J., Placci, G., Arturi M. y Brown A. 1992. Distribución y características estructurales de los Talares de la Reserva de la biosfera "Parque Costero Sur". Rev. de la Facultad de Agronomía, Tomo 68. Pp. 53-64.
- Grout, B 1995. Cryopreservation of excised meristems, shoot tips and somatic embryos. En Genetic preservation of plant cells *in vitro*, ed B.Grout, pag 47-61, Sprig-Verlag. Berlín.
- Guía Ecológica de Buenos Aires. Fasc. 3. Fauna y Flora de la Prov. de Buenos Aires. Honorable Cámara de Diputados.
- Haines, R. 1994. Biotechnology in forest tree improvement, with especial reference to developing countries. Estudio FAO-Montes. Forestry paper Nº118. Roma ISSN 0258-6150.
- Hall, J. B.,1983. Positive management for strict natural reserves: Reviewing effectiveness. Forest Ecology and Management. 7: 57-66.
- Harry I. And Thorpe T. 1994. *In vitro* culture of forest trees. In: Plant cell and tissue culture, 539-560. Vasil and Thorpe eds. Kluwer Ac. Press. Netherlands
- Hobbelink, H. 1992. La biotecnología y el futuro de la agricultura mundial. Redes Amigos de la Tierra, Nordan Comunidad.Uruguay.
- IBPGR, Design, Planning and Operation of *In vitro* Genebanks.1985. Advisory Committee on *In vitro* Storage. Rome.
- IBPGR. 1985. Ecogeographical surveying and *in situ* conservation of crop relatives. Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo.1996. en Conferencia Técnica Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos. FAO Leipzig. Alemania.
- Kartha, K.K. 1985 Cryopreservation of Plant cell and organ. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pag 276.
- Lahitte,H.B. Hurrell J.A. 1996. La Plantas de la medicina popular de la isla Martín García. Serie Informe N50, 95-96. CIC Ministerio de la Producción. Provincia de Buenos Aires. Comisión de Investigaciones Científicas.
- Lauridsen, E. B. 1994. Establishment and mangement of seed sources. Lecture note B12. Danida Forest Seed Centre.



- Liotta J. Pautas Generales para un Sistema de Areas Protegidas del N.E Bonaerense. 1999. COBIOBO Nro. 1. Comisión de Biodiversidad Bonaerense. Convenio Secretaría de Política Ambiental- UNLP.
- Martín, C. E. 1992. Panorama de la Conservación. Ciencia Hoy.
- Mc Crone, J. D. (1984). Cluster biosphere reserves. En Conservation, Science and Society: The Contributions of Biosphere Reserves for Human Welfare. J. Mc Neely y D. Davis (eds.). Paris, Unesco. (in press).
- Mejora genética de árboles forestales. 1980. Estudio FAO Montes Nro. 20. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.
- Merenson, C. 1992. Desarrollo Sustentable: un desafío para el tercer milenio. El ejemplo Forestal. Seminario sobre Ecología Productiva CIEF, BsAs. Argentina.
- Merenson, C. 1993. La dasonomía del siglo XXI. Congreso Forestal Argentino y latinoamericano. AFOA. Paraná, Entre Ríos
- Murriello S., Arditti S., Goya J., Placci G., Relva A., Ramadori D y Brown A. 1989. El Parque Costero del Sur como Reserva Mundial de la Biosfera. III Jorn. Reg. de Medio Ambiente, La Plata, Bs. As. : 22-28.
- Namkoong, G. 1986. La genética y los bosques del futuro. Unasylva. Vol. 38 N°152: 2-18.
- Orfila, E. N. 1995. Frutos, semillas y plántulas de la flora leñosa argentina. Edificiones Sur.
- Parodi L. 1939. Los bosques naturales de la Prov. de Buenos Aires. Ac. Nac. De Cs. Exactas y Nat. de Bs.As.
- Parodi L. 1940. Distribución geográfica de los talaes de la Prov. de Bs. As. Darwiniana 4:33-56.
- Persley, G. 1990. Beyond Mendel's garden: biotechnology in the service of world agriculture. C.A.B. International, Wallingford, U.K.
- Recursos Genéticos Forestales. 1991. Información N° 18. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO.
- Reglas Internacionales para ensayos de Semillas. 1974. Congreso Internacional de Ensayos de Semillas.
- Roca W. y Mroginski L. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. CIAT, Cali, Colombia.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP), Consejo Federal Agropecuario (CFA). 1995. El deterioro de las tierras en la República Argentina.
- Soule, M. (ed.) 1986. "Conservation biology, the science of scarcity and diversity". Sinauer Assoc. Inc. Publ. Mass. USA: 1-571.
- Vervoorst F. 1967. La vegetación de la Rca. Argentina VII. Las comunidades vegetales de la depresión del Salado, Prov. de Bs. As. INTA, Serie Fitogeografica 7 :259.
- Villalobos V., 1989. Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. CATIE, Costa Rica.
- Westhoff, V. 1970. The dynamic structure of plant communities in relation to the objectives of conservation. En The Scientific Management of Animal and Plant Communities for Conservation. Duffey, E. y Watt, A. S. (eds). London, Blackwell Scientific.
- Withers, L.A. 1990. Cryopreservation of plant cells. Biol. J. Linnean Society 43: 31-42.



WWF-UICN-BGCI.1989. La Estrategia de los Jardines Botánicos para la Conservación. Zalba, S. 1991. Evaluación de los Jardines Botánicos Argentinos. Situación actual y perspectivas para desarrollar tareas en el campo de la conservación de especies. Missouri Botanical Garden-WWF-US-Sociedad Argentina de Botánica.

GLOSARIO DE TÉRMINOS ESPECÍFICOS

Accesión: Muestra de una planta, cepa o población mantenida en un banco genético o programa de mejoramiento para su conservación o uso.

Acervo genético: Número total de genes o complejos genéticos en una población vegetal.

Banco genético: Sitio donde se almacena germoplasma en forma de semillas, plantas y órganos.

Base genética: Cantidad total de diversidad genética en una población.

Centro de diversidad: Zona donde se produce una gran variación genética de una especie.

Centro de origen: Zona donde se originó un taxon vegetal.

Clon: Material vegetal genéticamente uniforme derivado de un solo individuo y que se propaga de modo exclusivo vegetativamente.

Colección activa: Colección de accesiones que mantiene su viabilidad a mediano plazo desde 0°C hasta 15°C con 3-7% de humedad.

Colección base: Colección de accesiones almacenadas a largo plazo desde 1°C hasta -20°C y no usada para distribución.

Criopreservación: Conservación de células, tejidos, embriones o semillas a temperaturas muy bajas.

Electroforesis de isoenzima: Técnica para separar formas múltiples de una enzima en un campo eléctrico dentro de un gel.

Erosión génica: Pérdida gradual de diversidad genética.

Explante: Tejido obtenido de su sitio original y transferido a un medio artificial para crecimiento (proliferación) o mantenimiento (conservación).

Forestar: Establecer bosques, creándolos donde no había antes o eran insuficientes.

Germoplasma: Material base de la herencia, transmitido de generación en generación.

Macropropagación: Obtención de plantas a partir de órganos o porciones vegetativas, por mitosis.

Micropropagación: Propagación clonal de plantas, a partir de explantes cultivados *in vitro*.

Propagación clonal: Reproducción asexual de plantas que se consideran genéticamente uniformes y originadas a partir de un único individuo o explante.



Propagación in vitro: Propagación de plantas en un ambiente artificial controlado, usando recipientes plásticos o de vidrio, técnicas de asepsia y un medio de crecimiento definido.

Propagación vegetativa: Reproducción de plantas a través de un proceso asexual.

Reforestar: Reemplazar una masa forestal existente por otra de igual o diferente identidad botánica.

Semilla ortodoxa: Semillas que se pueden secar a niveles de baja humedad y almacenar a bajas temperaturas sin dañarse.

Semilla recalcitrante: Semillas que no admiten desecación.

SIGLAS DE ORGANISMOS INTERNACIONALES

BGCI (Organización para la Conservación en Jardines Botánicos)

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza de Costa Rica)

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical de Colombia)-CGIAR

CIFOR (Centro para los Recursos Forestales Internacionales de Indonesia)-CGIAR

CIRF (Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos)

CGIAR (Grupo Consultivo de Investigación Agrícola Internacional)

CSIRO (Organización de Investigación Cient. e Ind. del Commonwealth, Australia)

DANIDA (Centro de Semillas Forestales de Dinamarca)

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación)

IABG (Asociación Internacional de Jardines Botánicos)

IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources)

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria)

IPGRI (Comité Internacional de Recursos Genéticos Vegetales)

IUFRO (Unión Internacional de Organizaciones para la Investigación Forestal)

PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente)

UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza)

UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura)

WNF (Fondo Mundial para la Naturaleza)