

APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE CULTIVO DE TEJIDOS EN LA PROPAGACIÓN Y CONSERVACIÓN DE ESPECIES AMENAZADAS

M. Fay* & M. Clemente**

* Royal Botanic Gardens, Kew (United Kingdom)

**Jardín Botánico de Córdoba (España)

RESUMEN: Las técnicas de micropropagación están siendo utilizadas de forma creciente en los Jardines Botánicos, especialmente con especies raras o amenazadas de extinción. Se presenta el papel de estas instituciones en la conservación de recursos fitogenéticos, las ventajas y desventajas de las técnicas *in vitro* y la elección de especies a las que deben aplicarse estas técnicas. Se realiza un análisis sobre la interacción de los programas de cultivo de tejidos con los de conservación *in situ* y con otras técnicas *ex situ* (bancos de semillas). Finalmente se señala la urgente necesidad de desarrollar un código ético para la conservación *in vitro*.

PALABRAS CLAVE: Especies amenazadas, cultivo *in vitro*, Jardines Botánicos.

SUMMARY: Micropropagation and related techniques are being used increasingly in Botanic Gardens, often with rare and endangered species. The role of Botanic Gardens in plant conservation, the advantages and disadvantages of *in vitro* techniques and the choice of species to be worked on will be discussed. The interaction of tissue culture programmes with other *in situ* and *ex situ* programmes (e.g. seed banks) and the urgent need to develop an ethical code for *in vitro* conservation are also considered.

KEY WORDS: Endangered species, *in vitro* culture, Botanic Gardens.

INTRODUCCIÓN

La pérdida de recursos genéticos vegetales, es un fenómeno que va en aumento a nivel mundial, con el subsiguiente empobrecimiento de la biodiversidad. Las cifras de especies vegetales silvestres amenazadas son por todos conocidas y oscilan entre 18.000 y 25.000. Es decir, sobre aproximadamente el 10% de las especies superiores del planeta, existe algún tipo de riesgo de extinción.

De diversos informes de la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN), sobre el número de plantas amenazadas o raras a nivel mundial, puede extraerse que el 23% de éstas se encuentran en América Central, Islas del Caribe, Sur América e Islas Atlánticas del Océano Sur.

El Dr. Esquinas Alcázar (Secretario de la Comisión de Recursos Fitogenéticos de la FAO) considera los recursos fitogenéticos, como recursos naturales limitados de valor incalculable, que proporcionan genes, para la obtención de nuevas y mejores variedades vegetales. Bajo esta óptica se incluyen las siguientes categorías de plantas: variedades primitivas y modernas de especies cultivadas; especies silvestres y malas hierbas afines a las especies cultivadas; especies silvestres de valor actual o potencial y determinadas combinaciones genéticas útiles en los programas de mejora.

Actualmente se depende de apenas una docena de especies comestibles y el número de las ampliamente cultivadas no llega a doscientas. Esta situación de reducción de la diversidad resulta muy peligrosa. Por lo tanto, la conser-

vación de especies amenazadas resulta imprescindible no sólo ya desde un punto de vista idealista, sino desde la más egoísta y antropocéntrica perspectiva.

Son muchas las voces que se alzan en defensa de la conservación de los ecosistemas, dejando de lado las posibilidades que ofrecen las nuevas tecnologías para la conservación *ex situ* de muchas especies que irremediablemente se perderán. Sin embargo, conservación *in situ* o *ex situ* no son términos alternativos sino complementarios y de la actuación coordinada en ambas direcciones depende la supervivencia de las especies silvestres amenazadas.

Reiteradamente organismos internacionales relacionados con la conservación y los Jardines Botánicos están haciendo llamamientos para fomentar la propagación artificial de especies amenazadas. Se persiguen tres objetivos fundamentales: lograr una mayor efectividad en la distribución de especies cultivadas; introducir para exhibición en los Jardines Botánicos sólo especies artificialmente propagadas y estimular la propagación artificial al máximo. Las plantas silvestres sólo deberían formar parte de las colecciones si su finalidad es científica.

Las técnicas de cultivo de tejidos han sufrido un desarrollo espectacular en la última década. A través de ellas es posible la producción, en espacio reducido y corto tiempo, de un gran número de especímenes. El material obtenido al estar en condiciones asépticas, presenta la ventaja adicional de poder ser distribuido sin problemas de tipo fitosanitario. Estas técnicas también pueden ser utilizadas en el mantenimiento de colecciones *in vitro*, para conservar cierto tipo de especies a las cuales no se pueden aplicar otros métodos (recalcitrantes; perennes de largos ciclos; amenazadas de extinción...).

En los últimos años los Jardines Botánicos están comenzando a utilizar estas técnicas aplicándolas a especies amenazadas y a otras que presentan problemas especiales de propagación.

COLECCIONES *IN VITRO*

Con este método de conservación se evitan las posibles pérdidas por plagas y enfermedades, incidentes climatológicos y desastres naturales a las que están sometidas las colecciones de material genético mantenidas en el campo. No obstante, hay que tener en cuenta su elevado costo y la necesidad de mantener la estabilidad genética y el potencial regenerativo de los especímenes.

El sistema ha sido aplicado de forma extensiva en la conservación de recursos fitogenéticos de plantas cultivadas como por ejemplo patata (DODDS & al, 1991), mandioca (VILLEGAS & BRAVATO, 1991), batata (KUO, 1991) y especies frutales (WILKINS, 1991).

Los principales finalidades que deben perseguirse en la conservación *in vitro* son las siguientes: 1) mantener la estabilidad genética; 2) evitar los riesgos del subcultivo regular; 3) lograr su aplicación a un amplio rango de genotipos; 4) permitir propagación a gran escala; 5) facilitar el intercambio del material entre países e instituciones; 6) desarrollar una tecnología económica y sencilla que disminuya la cantidad de trabajo (SCHILDE, 1979; WITHERS, 1986).

Las colecciones *in vitro* pueden establecerse mediante crecimiento continuo en condiciones normales. Para ello se utilizan los métodos habituales de iniciación de cultivo aséptico, estimulación del crecimiento y/o desarrollo de repicados periódicos a medio fresco, el intervalo de repicado depende de la especie y puede ser de unos días o de varios meses (WITHERS, 1983). Esta forma de mantenimiento es costosa y se aumenta el riesgo de contaminación y de pérdida de la estabilidad genética.

Una forma de paliar estos inconvenientes es establecer las colecciones de forma tal que su crecimiento sea limitado y de esta forma se alargue el periodo entre repiques. Se trata de

modificar las condiciones de cultivo de forma que se reduzca el desarrollo del material vegetal y para ello se pueden utilizar diversos mecanismos tales como: reducción de la temperatura y/o iluminación; inducción de estrés osmótico; desecación del medio; reducción de componentes esenciales para el crecimiento normal; incorporación de niveles subletales de retardantes de crecimiento (WILKINS & DODDS, 1983; SCOWCROFT, 1984, Ng & Ng, 1991). No obstante hay que señalar que la utilización de bajas temperaturas y la manipulación de la composición del medio son hasta el momento las formas más sencillas y eficaces de retardar el desarrollo de los cultivos (WITHERS, 1980a).

Finalmente hay que mencionar otra de las formas de mantener las colecciones mediante la supresión de todo crecimiento (crioconservación). El material se mantiene en nitrógeno líquido si bien es necesario determinar el tipo de explanto que puede ser utilizado y seguir una serie de pasos: 1) elección del explanto y establecimiento de un cultivo estéril; 2) tratamiento con un agente crioprotector; 3) congelación; 4) almacenamiento de los cultivos congelados en nitrógeno líquido; 5) descongelación; 6) eliminación del agente crioprotector; 7) determinación de la supervivencia de los cultivos; 8) determinación de otros posibles efectos del proceso sobre el material congelado (WITHERS, 1980b). Esta forma de mantener las colecciones ofrece unas perspectivas de futuro espectaculares, pero será necesario profundizar en su utilización antes de que pueda emplearse de forma rutinaria.

OBJETIVOS DE LAS UNIDADES DE MICROPROPAGACIÓN EN LOS JARDINES BOTÁNICOS

Las finalidades de este tipo de instalaciones en los Jardines Botánicos pueden ser muy variadas, pero por lo general hay tres que suelen ser

comunes a todas las instituciones: producción de plantas para exhibición en las colecciones; obtención de especímenes de especies silvestres, con interés económico potencial, para su puesta en cultivo o domesticación y propagación de especies amenazadas con fines de conservación. Es evidente que con frecuencia existe una superposición entre estos tres objetivos, ya que los especímenes obtenidos por cultivo de tejidos pueden proceder de una especie rara o amenazada, potencialmente útil, que pueden ser exhibidos en las colecciones del jardín y con los cuales también pueden realizarse programas específicos de conservación *ex situ* (colecciones *in vitro*) o *in situ*.

EXHIBICIÓN

Las técnicas de micropropagación han sido utilizadas ampliamente como una poderosa herramienta para la propagación de plantas que son de difícil o imposible obtención por técnicas convencionales. De esta forma su aplicación a ciertas especies hace posible que éstas puedan ser incorporadas a las colecciones de los jardines botánicos.

Por ejemplo, la obtención de orquídeas a partir de semillas ofrece dificultades ya que es necesaria la presencia de hongos (micorrizas). Para un amplio grupo de orquídeas epifitas y algunos grupos de orquídeas terrestres, la germinación y el crecimiento *in vitro* de las jóvenes plantitas es posible sin la presencia de hongos. Este método es utilizado de forma rutinaria en el Jardín Botánico de Kew, para producir especímenes de especies difíciles de conseguir por otros métodos. De esta manera se obtienen especímenes reproducidos artificialmente que son incorporados a las colecciones y también se evitan continuas extracciones de plantas silvestres. Algunos ejemplos de especies amenazadas que han sido propagadas con éxito son: *Cattleya dowiana* de Costa Rica, *Peristeria elata* de Panamá, *Clowesia rosea* de México y *Dendrobium spectatissimum* de Borneo. Además,

cuando se producen excedentes de especímenes es posible su distribución a otros Jardines Botánicos y a otras instituciones, reduciéndose así más aún la posible presión de extracción de plantas de la naturaleza. También plántulas de *Dendrobium spectatissimum* han sido enviadas a Borneo, para realizar ensayos de reintroducción.

CULTIVO/DOMESTICACIÓN

Como ya se ha mencionado las técnicas de cultivo *in vitro* son aplicadas para mantener germoplasma de especies cultivadas cuyas semillas no pueden ser conservadas mediante sistemas convencionales. Por ejemplo, algunos cultivos propagados clonalmente, tales como la patata, son mantenidos *in vitro* libres de virus y de otras enfermedades.

Algunas plantas cultivadas menos conocidas y especies silvestres próximas a ellas han sido puestas en cultivo utilizando técnicas *in vitro*. Este es el caso de *Ceratonia oreothauma*, única especie silvestre conocida pariente del algarrobo (*Ceratonia siliqua*), que vive en Omán y Somalia y está amenazada. Posee una resistencia a la sequía mayor que la del algarrobo y tiene un valor económico potencial por su sistema radicular o como parental en ensayos de hibridación para producir especímenes resistentes. Material de Kew ha sido utilizado para micropropagación y se han enviado especímenes a una estación de mejoramiento de algarrobo en Portugal para continuar con otros ensayos.

Diversas instituciones, entre las que se incluye el Jardín Botánico de Córdoba, están trabajando con *Narcissus* spp. y otras bulbosas que están amenazadas debido a su sobrecolección en la naturaleza. Se pretende con ello poner a punto la técnica de propagación que permita obtener un elevado número de unidades, para así intentar reducir la presión sobre las poblaciones silvestres.

CONSERVACIÓN

CONSERVACIÓN *EX SITU*

Los Jardines Botánicos tienen una especial responsabilidad en la propagación de especies raras y amenazadas, para asegurar su existencia al menos en cultivo. Esto es particularmente importante en el caso de especies que viven en hábitats que están sometidos a ciertos riesgos. Como ya se ha señalado, una de las mayores ventajas de obtener los especímenes *in vitro* es que las plantitas se encuentran bajo condiciones estériles y pueden ser distribuidas a instituciones de otros países de una forma más fácil que el material obtenido por técnicas convencionales. Por ejemplo *Atractylis arbuscula*, especie amenazada de Gran Canaria, fue micropropagada en el Jardín Botánico Canario Viera y Clavijo y enviada al Jardín Botánico de Kew, desde donde ha sido distribuida a otras muchas instituciones, para asegurar así su supervivencia en cultivo.

En un futuro cercano los Jardines Botánicos establecerán colecciones *in vitro* de especies silvestres que no puedan ser mantenidas en bancos de semillas para su conservación a largo plazo. De hecho ya se están realizando ensayos en Perth (Australia), Cincinnati (EE.UU.) y serán iniciados en breve en Kew y Córdoba.

CONSERVACIÓN *IN SITU*

Los Jardines Botánicos también pueden tener un importante papel en la conservación de plantas en sus hábitats. En este sentido, cuando es necesario refortalecer las poblaciones existentes o establecerlas de nuevo, el cultivo *in vitro* puede ser a veces una herramienta fundamental. Ejemplos de plantas que están siendo utilizadas para este tipo de programas *in situ* son *Artemisia granatensis*, especie medicinal amenazada endémica de Sierra Nevada que ha sido micropropagada en el Jardín Botánico de Córdoba (España); *Pyrus cordata*, especie rara del Oeste de Europa pariente del peral y varias orquídeas terrestres producidas por el Jardín Botánico de Kew (Reino Unido); endemismos

canarios reproducidos por el Jardín Botánico Canario (España); diversas especies de Cactáceas obtenidas en el Jardín Botánico de la UNAM (México) y *Microcycas calocoma*, especie amenazada endémica de Cuba, propagada por el Jardín Botánico Nacional de Cuba.

PERSPECTIVAS DE LAS UNIDADES DE CULTIVO *IN VITRO* EN LOS JARDINES BOTÁNICOS

El número de instituciones que disponen de estas instalaciones está incrementándose a nivel mundial y se está produciendo mucha información sobre la micropropagación de especies amenazadas. En la Tabla 1 se recogen ejemplos de especies raras y amenazadas propagadas *in vitro* en Jardines Botánicos. Generalmente existen buenos canales de intercambio de estas experiencias entre estas instituciones mediante revistas especializadas y las propias reuniones y congresos que periódicamente convocan la Organización Internacional para la Conservación en los Jardines Botánicos (BGCI) y la Asociación Internacional de Jardines Botánicos (IABG). La cooperación entre las Unidades de cultivo *in vitro*, que trabajan con especies amenazadas, es fundamental para establecer en un futuro próximo un programa coordinado, que permita salvar el mayor número de especies en el menor tiempo posible.

BIOTECNOLOGÍA Y RECURSOS FITOGENÉTICOS: LA NECESIDAD DE ELABORAR UN CÓDIGO ÉTICO

La micropropagación de especies amenazadas puede ser abordada, como ya se ha seña-

lado, con diversas finalidades: suministrar material de exhibición a diferentes Jardines Botánicos u otras instituciones de carácter similar (Parques Naturales, Nacionales ...); intentar su puesta en cultivo y posterior explotación comercial; conservar la diversidad genética.

Especies	Material de partida
Amaryllidaceae <i>Narcissus</i> spp.	Catáfilos
Boraginaceae <i>Echium</i> spp.	Yemas axilares
Campanulaceae <i>Nesocodon mauritianus</i> <i>Trichodesma scottii</i>	Yemas axilares Yemas axilares
Compositae <i>Argyroxiphium kauense</i> <i>Artemisia alba</i> <i>Artemisia granatensis</i> <i>Atractylis arbuscula</i> <i>Centaurea carratracensis</i> <i>Psiadia coronopus</i> <i>Saussurea lappa</i> <i>Senecio hadrosomus</i> <i>Staelhelina baetica</i>	Semillas Yemas axilares Yemas axilares Yemas apicales Yemas axilares Yemas axilares Semillas Yemas apicales Yemas axilares
Cruciferae <i>Iberis nazarita</i> <i>Coronopus navasii</i>	Yemas axilares Yemas axilares
Droseraceae <i>Dionaea muscipula</i> <i>Drosera regia</i> <i>Drosera</i> spp.	Semillas Segmentos foliares Semillas
Epacridaceae <i>Leucopogon obtectus</i>	Yemas axilares
Gentianaceae <i>Centaurium rigualii</i>	Yemas axilares
Labiatae <i>Coleus forskohlii</i>	Yemas axilares
Leguminosae <i>Ceratonia oreothauma</i> <i>Lotus berthelotii</i>	Yemas axilares Yemas apicales
Malvaceae <i>Lavatera oblongifolia</i>	Yemas axilares
Meliaceae <i>Turraea laciniata</i>	Yemas axilares
Nepenthaceae <i>Nepenthes khasiana</i> <i>Nepenthes</i> spp.	Semillas Semillas
Orchidaceae <i>Diuris longifolia</i> <i>Diuris purdiei</i> <i>Renanthera imschootiana</i> <i>Vanda coerulea</i>	Yemas axilares Ovarios inmaduros Hojas jóvenes Hojas jóvenes
Pandanaceae <i>Savaranaga sinuosa</i>	Semillas
Piperaceae <i>Peperomia reticulata</i>	Yemas axilares
Pittosporaceae <i>Pittosporum balfourii</i>	Yemas axilares
Sarraceniaceae <i>Sarracenia</i> spp.	Semillas

TABLA 1: Algunas especies raras y amenazadas cultivadas *in vitro* en Jardines Botánicos en 1992.

Con las dos primeras se consigue paliar o eliminar la extracción continuada de plantas en sus hábitats naturales, e incluso conseguir una rentabilidad económica. El problema ético subsiguiente que se plantea en el segundo caso, es decir en la puesta en valor comercial, es como devolver este patrimonio genético explotable a las comunidades campesinas de origen.

En este sentido la FAO, a través de la Secretaría de Recursos Fitogenéticos, a puesto en marcha un Compromiso Internacional sobre los Recursos Genéticos Vegetales. Los objetivos del mismo son garantizar la conservación, fomentar la disponibilidad sin restricciones y la utilización duradera de los recursos fitogenéticos para las generaciones presente y futura, proporcionando un marco flexible que permita compartir los beneficios y las cargas. El sistema abarca la conservación *ex situ* e *in situ* y la utilización de los recursos fitogenéticos a nivel molecular y de poblaciones, especies y ecosistemas. Los componentes institucionales básicos del sistema son los siguientes:

a) Un marco flexible que proporciona el Compromiso Internacional en sus 11 artículos (Resolución 8/83 of the Twenty-second session of the FAO Conference, Rome, 5-23 November 1983) y los anexos a este compromiso que se han ido desarrollando: "Agreed Interpretation of the International Undertaking" (Twenty-fifth Session of the FAO Conference, Rome, 11-29 November 1989); "Farmers' Rights" (Twenty-fifth Session of the FAO Conference, Rome, 11-29 November 1989) y "Annex 3 to the International Undertaking on Plant Genetic Resources" (Twenty-sixth Session of the FAO Conference, Rome, 9-28 November 1991).

b) Un foro intergubernamental único que es la Comisión de Recursos Fitogenéticos.

c) El comienzo de un mecanismo financiero, el Fondo Internacional para Recursos Fitogenéticos.

En 1992 formaban parte del Compromiso Internacional más de 130 países como miem-

bros de la Comisión o por haberse adherido al compromiso internacional o bien por haber adoptado ambas medidas.

La Comisión es un foro mundial intergubernamental único en el que los países que son donantes o usuarios de germoplasma, información, tecnología y fondos, pueden debatir, en un plano de igualdad, asuntos relativos a los recursos fitogenéticos y supervisar el cumplimiento de los principios que figuran en el Compromiso Internacional.

El Compromiso Internacional sobre Recursos Fitogenéticos tiene por objetivo asegurar la prospección, recolección, conservación, evaluación, utilización y disponibilidad, para fitomejoramiento y otros fines científicos, de los recursos fitogenéticos, en particular para las especies de importancia económica y social, presente o futura. Se basa en el principio de que los recursos fitogenéticos, como parte del patrimonio de la humanidad, deben de ser conservados para las generaciones futuras y está sujeto a los derechos soberanos primordiales de los países sobre sus recursos genéticos.

El Fondo Internacional para Recursos Fitogenéticos se estableció el 1988 en aplicación del artículo 6 del Compromiso. Es un mecanismo mediante el cual los países, las organizaciones intergubernamentales y no gubernamentales, la industria privada y particulares a título personal pueden apoyar la conservación y fomentar el uso de los recursos fitogenéticos de manera duradera a nivel mundial. Los donantes que contribuyen al Fondo, pueden mantener su identidad asignando contribuciones a proyectos concretos. El carácter, el ámbito y los procedimientos del Fondo evolucionarán con la orientación de la Comisión. Es de esperar que se convierta en un elemento decisivo para asegurar la equidad del Sistema Mundial y la aplicación de los derechos del agricultor. El gasto de los recursos, mediante proyectos y programas, podría efectuarse luego por medio de instituciones nacionales y regionales o, cuando fuera oportuno, por medio de programas de la FAO o de otras

instituciones con competencia técnica en este sector.

Todo lo anterior puede parecer utópico pero la UICN también incide en esta problemática en "Cuidar la Tierra: Estrategia para el futuro de la Vida", y así en su acción 13.9: Promover la acción internacional en pro de la conservación de los Recursos Fitogenéticos, lo señala, especificando que una vía es precisamente utilizar el Fondo establecido en el marco del Acuerdo Internacional de Recursos Fitogenéticos de la FAO como forma de reconocer los derechos de las comunidades rurales de origen. También en la misma acción recomienda que todos los países se sumen a la Comisión y se adhieran al Compromiso Internacional.

En 1992 existen en proyecto dos códigos internacionales de conducta. Uno relativo a la recolección y transferencia de germoplasma vegetal, cuyo objetivo fundamental es la conservación y la utilización racional de la biodiversidad para un desarrollo duradero. En él se establecen normas de carácter amplio para la recolección y transferencia del material vegetal. Este código de conducta no afecta de ninguna manera a los derechos soberanos de los países sobre sus recursos fitogenéticos. Establece normas de comportamiento ético de los recolectores sobre el terreno. Propone que la planificación y aprobación de las misiones de recolección, la organización de las colecciones y la transferencia, conservación y utilización del germoplasma sean responsabilidad en la que participen los patrocinadores de la misión de recolección, las personas u organizaciones que en el país huésped o en otra parte conservan y administran los recursos fitogenéticos y la información correspondiente y los usuarios.

Los términos del código aunque están diseñados para misiones internacionales, son de plena aplicación a misiones nacionales de recolección. El código de conducta no afecta en ninguna manera a los derechos soberanos de los países sobre sus recursos fitogenéticos.

También la Comisión de Recursos Fitogenéticos está elaborando un Código de Conducta en Biotecnología Vegetal, que contempla los efectos que pueden presentar la manipulación y liberación de organismos modificados genéticamente.

Los objetivos de este Código se agrupan en torno a cinco puntos principales: promoción de la utilización duradera de la biotecnología en la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos; acceso garantizado, sin restricciones, a los recursos fitogenéticos; promoción de la bioseguridad con objeto de reducir al mínimo los riesgos para el medio ambiente en todo el mundo; promoción de una distribución equitativa de los beneficios de la biotecnología entre los que la han puesto a punto y los donantes del germoplasma que se utiliza; biotecnología apropiada para los países en desarrollo.

Los investigadores que se ocupan de la conservación de la biodiversidad, a través de programas de tipo biotecnológico y que están involucrados en transferencias de material vegetal, tienen una responsabilidad ineludible en conocer y respetar toda esta normativa ética internacional en torno al uso y manejo de los recursos fitogenéticos, así como los convenios internacionales vigentes (Biodiversidad, CITES..).

CONCLUSIONES

Las técnicas de cultivo *in vitro* son hoy en día un elemento fundamental en los trabajos de conservación de especies raras y amenazadas y pueden ser aplicadas tanto para los programas *ex situ* como a los desarrollados *in situ*.

Las plantas producidas *in vitro* pueden ser utilizadas en proyectos de refortalecimiento o de introducción de poblaciones silvestres, siendo necesaria una coordinación a nivel internacional para el intercambio de experiencias y en

la medida de lo posible evitar duplicaciones de trabajos.

La obtención de especímenes mediante cultivo de tejidos, con la finalidad de conservarlos en cultivo o a largo plazo en colecciones *in vitro*, es de vital importancia para aquellas especies que por sus especiales características no pueden ser mantenidas en bancos de semillas de tipo convencional. La crioconservación de especies amenazadas está todavía en una etapa inicial de experimentación, pero ofrece unas buenas perspectivas para convertirse en una herramienta fundamental para la conservación *ex situ* de especies tropicales de semillas con corta viabilidad y que no soportan la desecación necesaria para ser conservadas en frío.

La producción de plántulas *in vitro* de especies amenazadas facilita su envío a otras instituciones de diferentes países, ya que están libres de enfermedades dado su crecimiento y desarrollo en condiciones asépticas. Todo ello contribuye a que estas especies puedan ser distribuidas a diferentes Jardines Botánicos con la finalidad de conservarlas bajo cultivo *ex situ*.

Muchas de las especies amenazadas tienen una potencialidad económica importante como futuros cultivos o como donantes de genes, por ello es de gran importancia que los investigadores y Jardines Botánicos que trabajan con ellas sean respetuosos con los códigos éticos desarrollados sobre biotecnología y con los convenios internacionales que regulan el acceso a estas especies (Biodiversidad, CITES).

BIBLIOGRAFÍA

- DODDS, J.H.; HUAMAN, Z. & LIZARRAGA, R. (1991). Potato germplasm conservation. In: J.H. DODDS (Ed.). *In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources*. pp.93-110. Chapman and Hall, London.
- KUO, C.G. (1991). Conservation and distribution of sweet potato germplasm. In: J.H. DODDS (Ed.). *In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources*. pp. 123-150. Chapman and Hall, London.
- NG, S.Y.C. & NG, N.Q. (1991). Reduced-growth storage of germplasm. In: J.H. DODDS (Ed.). *In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources*. pp. 11-40. Chapman and Hall, London.
- SCHILDE, L. (1979). *In Vitro* maintenance of valuable *Solanum* resources at CIP. A report of the Plaining Conference on the Exploration, Taxonomy and Maintenance of Potato Germplasm 3:182-189.
- SCOWCROFT, W.R. (1984). **Genetic Variability in Tissue Culture: Impact on Germplasm Conservation and Utilization**. IBPGR Report, Roma.
- VILLEGAS, L. & BRAVATO, M. (1991). Conservation *in vitro* of cassava germplasm. In: J.H. DODDS (Ed.). *In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources*. pp. 111-122. Chapman and Hall, London.
- WILKINS, C.P. & DODDS, J.H. (1983). The application of tissue culture techniques to plant genetic conservation. *Sc. Prog. Oxf.* 68:259-284.
- WILKINS, C.P. (1991) Conservation of tree crops. In: J.H. DODDS (Ed.). *In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources*. pp. 151-238. Chapman and Hall, London.
- WITHERS, L.A. (1980a). **Tissue Culture Storage for Genetic Conservation**. IBPGR Report, Roma.
- WITHERS, L.A. (1980b). Low temperature storage of plant tissue cultures. In: A. FIECHTER (Ed.). *Advances in Biochemical Engineering*, 18:102-150. Springer Press, Berlin.
- WITHERS, L.A. (1983). **Germplasm preservation through tissue culture: An overview**. pp. 315-341. Academia Sinica/International Rice Research Institute. Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Science Press, Beijing.
- WITHERS, L.A. (1986). *In Vitro* approaches to the conservation of plant genetic resources. In: L.A. WITHERS & P.G. ALDERSON (Eds). **Plant Tissue Culture and its Agricultural Applications**. pp. 261-276. Butterworths, London.