

TECNICAS RADIOLOGICAS APLICADAS EN LA FITOGENETICA Y FITOTECNIA MULTIPLICANDO LOS BENEFICIOS

POR BEANT S. AHLWOOWALIA

La producción mundial de alimentos se basa en obtener una amplia variedad de frutas, vegetales y cultivos mediante la aplicación de los adelantos de la ciencia. Los fitotécnicos han producido múltiples variedades que crecen bien en diversos tipos de suelos y climas de diferentes regiones del mundo.

Tradicionalmente, eso se hace mediante hibridación sexual, lo que implica la transferencia del polen de una planta progenitora a otra con el fin de obtener híbridos. Las generaciones posteriores de estos híbridos se cultivan con el fin de seleccionar las plantas que combinen los caracteres deseados de los progenitores.

Sin embargo, existe otro método que permite cambiar la constitución genética de una variedad de planta determinada sin necesidad de cruzarla con otra variedad. Con este método, la variedad conserva todas sus características originales, pero se mejora en una o dos características modificadas. El método se basa en cambios genéticos radioinducidos, y se le conoce con el nombre de "mutaciones inducidas".

En los últimos treinta años, se han aceptado más de 1800 variedades mutantes de plantas, muchas de las cuales fueron radioinducidas. El cultivo de células y tejidos vegetales (también denominado cultivo *in vitro*), combinado con la radiación es una técnica eficaz para inducir mutaciones, sobre todo, para mejorar los cultivos de propagación vegetativa. Entre estos cultivos están la yuca, el ajo, la

patata, la batata, el ñame, la caña de azúcar, plantas ornamentales como el crisantemo, el clavel, la rosa, el tulipán, el narciso trompón y muchas frutas (por ejemplo, la manzana, el banano, el plátano, los cítricos, la palma datilera, la uva, la papaya, la granadilla y el kiwi). Algunas de estas plantas no poseen un conjunto de semillas (como el banano), o la progenie de las semillas produce plantas que no tienen la debida combinación de los caracteres deseados. Estas técnicas también pueden emplearse para el mejoramiento de árboles forestales que demoran muchos años en producir frutos o semillas.

En el presente artículo se examinan brevemente los adelantos logrados en las técnicas de fitotecnia con miras a mejorar la transferencia de tecnologías a más países.

ACELERACION DEL PROCESO

En las técnicas de cultivo de tejidos y de células, en lugar de propagar una planta a partir de una semilla o un esqueje, se cultivan pequeños fragmentos o partes de la planta en un ambiente controlado y en condiciones asépticas en medios nutritivos definidos, de los cuales se pueden obtener muchas plantas en miniatura.

Al cultivo de tejidos *in vitro* se le suele llamar cultivo de plantas en "tubos de ensayo". Sin embargo, los recipientes empleados en el cultivo no siempre son tubos de ensayo de cristal. Pueden ser vasijas mucho más baratas y de múltiples usos, como por ejemplo, los

potes de alimentos para niños y de mermelada, así como los envases plásticos desechables que se utilizan para el café o el yogur.

El cultivo de tejidos vegetales —técnicas independientes o en combinación con las mutaciones inducidas y las técnicas moleculares— se emplean para acelerar la fitotecnia convencional y multiplicar rápidamente plantas libres de enfermedades.

Los métodos de cultivo de células y de tejidos vegetales sirven para inducir mutaciones empleando radiaciones y productos químicos. Con todo, la radiación es el método preferido para efectuar cambios genéticos, ya que facilita el tratamiento de grandes poblaciones, los problemas de manipulación y la eliminación de productos químicos. Por lo general, la inducción de mutaciones se realiza en variedades de plantas muy conocidas y de buena adaptación, cultivadas en una región determinada. Las plantas de estas variedades, seleccionadas y libres de enfermedades, se cultivan *in vitro*, y se irradian con los rayos gamma o X. Después, las plantas, los tejidos o las células irradiados se multiplican muchas veces, también *in vitro*, para obtener así plantas adultas que posteriormente se cultivan en la tierra para seleccionar los tipos deseados.

Durante los últimos veinte años, se han desarrollado diver-

El Sr. Ahloowalia es funcionario de la División Mixta FAO/OIEA de Técnicas Nucleares en la Agricultura y la Alimentación.

sas técnicas de cultivo *in vitro*, entre las que se encuentran:

■ **La micropropagación.** Mediante esta técnica se cultivan pequeñas muestras, de un tamaño de tres a cinco milímetros, tomadas de tallos con brotes terminales o de hojas, las cuales se reproducen por proliferación en muchos brotes y vástagos que al transferirlos a otro medio nutritivo producen plantas completas. Este es el procedimiento más ampliamente utilizado para producir millones de clones (copias exactas) de plantas como el banano, la fresa, la patata y muchas plantas ornamentales.

■ **El rescate de embriones.** Consiste en separar y cultivar un embrión vegetal diminuto, que normalmente no sobreviviría al desarrollo normal de la semilla, para obtener una planta completa. Este método se utiliza mucho en la propagación de muchas orquídeas cuyas semillas carecen de nutrientes suficientes para ayudar a que el embrión crezca hasta convertirse en una planta adulta.

■ **La regeneración de plantas.** También es posible obtener muchas plantas a partir del cultivo de células (elemento básico de los tejidos). Estas células se cultivan hasta formar un cúmulo (callo) o se hacen crecer como cultivos de suspensión de células. De estas células pueden obtenerse plantas cambiando el medio nutritivo.

En algunos casos, también es posible regenerar plantas a partir de protoplastos (células vegetales sin envoltura cuyas membranas celulares fueron eliminadas). Los protoplastos procedentes de diferentes especies vegetales (por ejemplo, la patata y el tomate) se pueden fusionar con el fin de formar híbridos somáticos, lo que sería imposible por hibridación sexual. Esos híbridos se irradian después para eliminar la información genética de los progenitores no deseada.



En el sentido de las manecillas del reloj, desde la parte superior izquierda: Las semillas del maíz moderno (izquierda en la foto supra, al lado de la variedad natural no domesticada) producen cultivos con superior rendimiento. Mediante las técnicas de radiación pueden obtenerse propiedades deseables en cuanto al color y la forma de las flores. Las técnicas *in vitro* o de "tubo de ensayo", aceleran mucho el proceso de fitotecnia. Las células vegetales pueden multiplicarse en forma de callo, o cúmulos de células. (Cortesía: Abloowalia/OIEA)

Se ha empleado, además, la técnica de la inactivación de los núcleos celulares o protoplastos con altas dosis de radiación para producir híbridos (híbridos somáticos en los que el citoplasma de una célula se fusiona con el núcleo de otra) a fin de obtener nuevas y originales combinaciones de genes, como por ejemplo, transferir la tolerancia al frío del rábano a la semilla de colza.

■ **El cultivo de anteras y microesporas.** Con mucho, esta técnica ha pasado a ser el método de cultivo *in vitro* más importante que se utiliza junto con las mutaciones radioinducidas para mejorar los cultivos de propagación por semillas. A diferencia de las células somáticas que poseen dos juegos de información genética, los granos de polen que se forman en las anteras sólo tienen un juego del modelo genético (un juego de cromosomas), y son haploides.

Al irradiar las células y tejidos haploides mediante el cultivo de anteras o de óvulos, se obtienen plantas en las que se detecta de manera inmediata los genes mutados. Ello obedece a que el segundo juego del modelo genético que puede ocultar esas mutaciones, no existe en las haploides. Después, se puede hacer que las plantas haploides seleccionadas produzcan diploides con el mismo número de cromosomas de las plantas diploides normales.

La producción de mutantes haploides y la posterior producción de diploides con genes mutados constituye un método ágil y rápido para obtener variedades mejoradas de cultivos de propagación por semillas, como la cebada, el arroz, la semilla de colza, el maíz y el trigo. Es por eso que para utilizar la fitotecnia por mutaciones es indispensable que los países en desarrollo

dispongan de métodos económicos y eficaces para producir haploides a partir de cultivares de cereales y leguminosas locales.

■ **Los embriones somáticos.**

Existe, además, otro método *in vitro* con el que se puede producir embriones sin recurrir al cruce sexuado de las plantas. Los embriones, denominados embriones somáticos, pueden obtenerse a partir de callos y de cultivos de suspensión de células y en ocasiones directamente en la superficie de las hojas. Estos embriones somáticos pueden producirse sistemáticamente en muchas plantas como las de la zanahoria, la coliflor, los cítricos, la palma datilera, la patata y la batata. En muchos casos, los embriones se obtienen a partir de una sola célula o de unas cuantas células solamente. Al irradiar esas células se obtienen plantas que producen mutantes estables y sólidos, y por ello no es necesario repetir el cultivo de tejidos para separar los sectores de las células mutadas de las no mutadas.

APLICACIONES MÚLTIPLES

El mejoramiento de muchos árboles —entre ellos muchos árboles frutales importantes como la palma datilera, el manzano, el ciruelo, el cerezo, el naranjo y los cítricos— mediante la reproducción convencional y su propagación es un proceso largo y lento. La mutagénesis inducida combinada con la micropropagación puede utilizarse para producir tipos de plantas de poca altura y de rápido crecimiento. Ello reviste incluso más importancia para la silvicultura de rotación rápida destinada a la producción de biomasa para obtener leña y pulpa de papel.

Las técnicas de cultivo de tejidos y células vegetales permiten la mutagénesis de grandes poblaciones de células y de plantas en miniatura en un pequeño

espacio. De este modo, es posible hacer crecer millones de células en platillos de cultivo o en frascos, e irradiarlas y multiplicarlas en medios definidos a fin de regenerar plantas.

Un componente importante de todo programa de fitotecnia es la selección de los genotipos deseados. Es indispensable la disponibilidad de métodos eficaces y rápidos para seleccionar grandes poblaciones de plantas. Cada vez hay más pruebas de que en el caso de algunas características, se pueden someter a selección las células cultivadas *in vitro*, los embriones somáticos y las plantas miniaturas para lograr la resistencia a enfermedades, la tolerancia a la salinidad, al calor, al frío y a la congelación. Después, el comportamiento de las plantas seleccionadas *in vitro* puede comprobarse en el terreno. De esta forma, la mutagénesis y la propagación *in vitro* pueden integrarse en la selección convencional con miras a acelerar la reproducción de plantas por propagación vegetativa. El cultivo *in vitro* es igualmente importante para conservar los clones locales, bien adaptados, que se mejoran mediante la inducción de mutaciones.

Además, resulta una técnica útil, seguida de la irradiación y la micropropagación, para obtener embriones de híbridos cuando los conjuntos de semillas sean muy escasos. En general, las aplicaciones *in vitro* amplían la variabilidad genética y promueven los intercambios de material genético en los híbridos de progenitores lejanos, recombinando fragmentos de los cromosomas parentales.

El cultivo de tejidos suele ser mutagénico por sí mismo; en ocasiones, las plantas obtenidas por cultivo de células y tejidos no se asemejan a la planta donante. Asimismo, esa variación inducida por cultivo de tejidos, denominada variación somaclonal, puede combinarse con la inducción de

mutaciones como fuente adicional para ampliar el banco de genes.

Mediante la micropropagación, los mutantes seleccionados pueden multiplicarse en grandes cantidades y de forma rápida en plantas libres de enfermedades. La tecnología de la micropropagación ha avanzado tanto que en estos momentos existen más de 200 compañías comerciales en América del Norte y más de 100 en Europa dedicadas a la producción de millones de plantas mediante el cultivo tisular. Además, las plantas cultivadas *in vitro* pueden transportarse, luego de irradiadas, a países que no cuenten con instalaciones de irradiación propias.

La tecnología del cultivo de tejidos vegetales se ha desarrollado a gran velocidad, y en estos momentos se está utilizando para multiplicar el material de siembra de alta calidad a escala comercial en muchos países de Europa y América del Norte, pero en sólo unos cuantos de Asia y África.

En muchos países en desarrollo, esta tecnología no existe o se encuentra en sus primeras etapas. Habida cuenta de que la mano de obra es un elemento importante del costo de la micropropagación vegetativa, los países en desarrollo pueden utilizar de manera ventajosa esas técnicas, y al mismo tiempo, crear empleos adicionales estableciendo una industria de bajo costo, pero de tecnología avanzada, para la multiplicación de plantas y cultivos. En algunos países africanos, los únicos laboratorios existentes que se dedican al cultivo de tejidos vegetales relacionados con las técnicas de mutación se han creado con la ayuda del OIEA. Esos laboratorios pudieran ampliarse y utilizarse para ofrecer capacitación y aumentar la capacidad de estos países en materia de micropropagación y producción de plantas libres de enfermedades. □