

Cuadernos *de* Biodiversidad



Cuadernos de biodiversidad número 15 • 2004 • Año VI



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Índice

PROYECTO <i>GENMEDOC</i> . GESTIÓN Y CONSERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD VEGETAL EN LUGARES DE INTERÉS COMUNITARIO DEL ENTORNO DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL <i>Enrique Díaz Reygosa y José Luis Casas Martínez</i>	3
AVANCES EN LA EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE ESPECIES FORESTALES MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMÁTICOS <i>L. Iglesias y J.L. Casas</i>	11
LA SEMILLA ARTIFICIAL. UNA SOLUCIÓN EN LA BIODIVERSIDAD MUNDIAL <i>Orlando S. González Paneque, Juan J. Silva y Ángel Espinosa Reyes</i>	17
INAUGURACIÓN DEL MUSEO DE LA BIODIVERSIDAD DE IBI (ALICANTE) <i>Segundo Ríos Ruiz</i>	23

EDITA:

Centro Iberoamericano de la Biodiversidad (CIBIO)

Universidad de Alicante

Eduardo Galante Patiño (DIRECTOR)

DIRECCIÓN Y COORDINACIÓN:

José Luis Casas Martínez

M^a Ángeles Marcos García

CONSEJO ASESOR CIENTÍFICO:

Gonzalo Halffter Salas

Sergio Guevara Sada

Ramón Martín Mateo

Juan Manuel Nieto Nafría

Javier Bellés Ros

Juan C. Alba Landa

Inmaculada Ramírez Santigosa

CORRESPONDENCIA:

Centro Iberoamericano de la Biodiversidad (CIBIO)

Universidad de Alicante

Apartado de Correos 99

03080 Alicante (Spain)

<http://carn.ua.es/cibio.htm> • Email: cibio@ua.es

ILUSTRACIÓN PORTADA: CIBIO

FOTOCOMPOSICIÓN E IMPRESIÓN:

Compobell, S.L.

C/ Palma de Mallorca, 4 - Bajo (Edificio Abeto)

E-30009-Murcia (Spain)

I.S.S.N.: 1575-5495

DEPÓSITO LEGAL: MU-1286-1999

Cuadernos de Biodiversidad no se identifica necesariamente con el contenido de los artículos ni con la opinión de los autores.

PROYECTO **GENMEDOC**. **GESTIÓN Y CONSERVACIÓN** DE LA **BIODIVERSIDAD** **VEGETAL EN LUGARES DE** **INTERÉS COMUNITARIO DEL** **ENTORNO DEL MEDITERRÁNEO** **OCCIDENTAL**

Enrique Díaz Reygosa

DIRECCIÓN GENERAL DEL MEDIO NATURAL
CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE Y ORDENACIÓN DEL TERRITORIO
COMUNIDAD AUTÓNOMA DE LA REGIÓN DE MURCIA

José Luis Casas Martínez

UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL. CIBIO

¿QUÉ ES GENMEDOC?

El acrónimo *GENMEDOC* responde a un ambicioso proyecto en el que la Región de Murcia está involucrada junto con siete socios europeos y uno más del norte de África, concedido dentro del programa INTERREG IIIB. En extenso, el proyecto se denomina *GENMEDOC: Creación de una red de centros de conservación de material genético de la flora de las regiones mediterráneas del espacio MEDOCC (Mediterráneo Occidental)*, y hasta 2006 propone el intercambio de informaciones técnicas así como la adopción de protocolos de trabajo comunes referentes a la conservación de los

recursos genéticos de taxones de flora mediterránea, y más especialmente de aquellos (prioritarios o no) que están establecidos en hábitat incluidos en la Directiva Hábitat (92/43/CEE, aprobada por el Consejo de Europa el 21 de mayo de 1992).

El proyecto cubre una gran parte del espacio mediterráneo, con España, Francia e Italia, en representación de la parte occidental, Grecia de la parte oriental y Túnez como socio invitado, lo que representa otro de los activos del proyecto: enriquecer la cooperación transnacional con un país de la ribera Sur y contribuir así con el Proceso de Barcelona de integración entre las regiones europeas y terceros países de la cuenca mediterránea. Túnez aportará cierta-

mente al proyecto su experiencia de trabajo con especies adaptadas a condiciones climáticas de sequía, condiciones que ha empezado a aparecer en ciertas regiones del espacio MEDOCC donde el fenómeno de la desertificación comienza a ser preocupante.

OBJETIVOS DEL PROYECTO

De manera sintética el proyecto persigue:

- a) La elaboración de modelos comunes de gestión de especies vegetales combinando técnicas *ex situ*, como la conservación de semillas y otros materiales genéticos en los bancos de germoplasma o la creación de plantaciones, con las técnicas *in situ*, que comprenden las medidas para la preservación, recuperación, reforzamiento y conectividad de poblaciones naturales.
- b) El intercambio de información entre regiones, a fin de poner en común los conocimientos sobre la conservación de material genético de especies de hábitat prioritarios en sus diferentes etapas: recolecta de material vegetal, tratamiento, conservación propiamente dicha y propagación.
- c) La investigación y recopilación bibliográfica, a fin de crear una biblioteca común.
- d) El intercambio de material vegetal como estrategia de duplicación de las colecciones, a fin de garantizar su conservación efectiva y

en particular de los taxones más raros y amenazados. El intercambio de material es indispensable en el caso de regiones participantes que no poseen actualmente las infraestructuras adecuadas para la conservación *ex situ*.

- e) El estudio de los criterios que permitan determinar la selección de los taxones que constituyen la base estructural de un hábitat. Este concepto será útil para la restauración de espacios degradados y facilitará el establecimiento de prioridades de almacenamiento de materiales genéticos destinados a la gestión de los hábitat mediterráneos en los bancos de semillas.
- f) La realización de un proyecto piloto dedicado a la obtención de protocolos de germinación de taxones seleccionados, particularmente para aquellos donde las semillas muestren resistencias importantes.
- g) La creación de un lugar web de la red GEN-MEDOC que sirva de soporte para la elaboración de modelos de gestión de espacios de la red ecológica europea NATURA 2000.
- h) La comunicación directa con el sector público.

PARTICIPANTES

Como se expuso anteriormente se trata de un proyecto transnacional en el que están involucrados los siguientes socios participantes:

SOCIO (REGIÓN)	CENTRO	PAÍS
Valencia	Centro de Investigación y Experiencias Forestales. Conselleria de Territori i Habitatge*	ESPAÑA
Cerdeña	Centro de Conservazione de la Biodiversità. Università degli studi di Cagliari.	ITALIA
Provenza-Alpes-Costa Azul	Conservatoire Botanique National Méditerranéen de Porquerolles	FRANCIA
Sicilia	Departamento de Botánica. Universidad de Catania	ITALIA
Valencia	Banco de germoplasma. Jardín Botánico. Universidad de Valencia	ESPAÑA
Islas Baleares	Banco de germoplasma. Fundación Jardín Botánico de Sóller	ESPAÑA
Creta	Mediterranean Agronomic Institute of Chania (MAICh)	GRECIA
Cataluña	Instituto Botánico de Barcelona. Jardín Botánico de Barcelona	ESPAÑA
Región de Murcia	Dirección General del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio	ESPAÑA
Norte de África	Institut des Régions Arides.	TÚNEZ

* Coordinador del Proyecto.

El equipo de trabajo que ha reunido la Región de Murcia para participar en este proyecto está compuesto por personal de la Dirección General del Medio Natural, incluidos los dos becarios recientemente incorporados en virtud del Convenio de Colaboración firmado con la Universidad de Alicante para el establecimiento de un banco de tejidos de plantas forestales de interés en la Región de Murcia y que actualmente están destinados en aquella Universidad, por personal de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro Iberoamericano de la Biodiversidad de la Universidad de Alicante, desde donde se ejercerá la coordinación técnica de nuestra participación y por personal de la división de Viveros de TRAGSA, S.A.

LA REGIÓN DE MURCIA EN EL PROYECTO GENMEDOC

La participación de la Región de Murcia en el proyecto GENMEDOC se ha orquestado a partir de la conjunción de las diferentes directivas, programas y normativas que se han promulgado y dictado hasta el momento en esta Comunidad Autónoma, en aras de dar cumplimiento a los grandes objetivos que en materia de conservación de la Biodiversidad se ha fijado la Administración Autónoma Regional de Murcia. A continuación se perfila el marco legislativo y normativo que subyace a la participación de esta región en el proyecto.

A) la estrategia regional para la conservación y uso sostenible de la diversidad biológica

Entre las prioridades de la gestión del medio natural en la Región de Murcia se encuentra la conservación y uso sostenible de la diversidad biológica como vía para conseguir un equilibrio entre el desarrollo y el mantenimiento de los recursos naturales.

Así, el Plan Estratégico de Desarrollo Regional (2000-2006) incluye, entre otros, el Plan de Acción denominado “Diseño y Elaboración de la Estrategia Regional para la Conservación y el Uso Sostenible de la Diversidad Biológica”, paso previo

para la planificación integral de una política a largo plazo en esta materia que sea lo más eficaz posible. Esta Estrategia fue finalmente publicada en 2003 y establece un marco de referencia en el que apoyar las sucesivas actuaciones en materia de conservación de la Biodiversidad que han de emanar de la Administración territorial de la Región de Murcia.

La finalidad de la Estrategia Regional consiste básicamente en trasladar al ámbito de la Región de Murcia las disposiciones del Convenio sobre Diversidad Biológica, es decir, promover y planificar, en un marco flexible, la integración de la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad en los planes, programas y políticas sectoriales e intersectoriales, estableciendo así una política a largo plazo. Como objetivos “básicos e ineludibles”, la Estrategia Regional se plantea, entre otros: “*Fomentar la investigación, el conocimiento y la formación en materia de la biodiversidad y de su conservación, procurando su integración en el sistema regional de investigación y en todos los niveles del sistema educativo y formativo regional*”, así como “*impulsar la cooperación interterritorial*”, aspectos ambos que se ven materializados en el proyecto GENMEDOC.

Entre las medidas que prevé la Estrategia Regional se encuentra la conservación *ex situ*. En el caso de los recursos fitogenéticos, la conservación *ex situ* abarca un amplio espectro taxonómico. Sirve para proteger desde especies silvestres y formas regresivas hasta especies cultivadas. En teoría, todas las especies se pueden conservar *ex situ*, siempre que podamos multiplicarlas.

Entre las recomendaciones generales para la conservación *ex situ* de la biodiversidad regional se proponen las siguientes medidas que afecta a los recursos fitogenéticos:

- a) Promover acuerdos de colaboración con los jardines botánicos, zoológicos, bancos de germoplasma y centros de recuperación del resto de España y Norte de África que incluyan recursos genéticos comunes con la Región.
- b) Reglamentación de la recolección del material genético para su conservación, reproduc-



ción y reintroducción en el medio natural. Además debe fomentarse el estudio de las técnicas tradicionales de cultivo de dichas variedades.

- c) Establecimiento y apoyo en la Región de bancos de germoplasma, huertos semilleros o jardines botánicos cuyo fin sea la conservación de los recursos genéticos regionales y la satisfacción de la creciente demanda de estos elementos para jardinería, reforestación, investigación, etc.
- d) Incluir los bancos de tejidos dentro de los esquemas de conservación *ex situ*.
- e) Caracterización del material almacenado en los bancos de germoplasma. Establecimiento de medidas encaminadas a evitar la erosión genética en los bancos de germoplasma.
- f) Respecto a los recursos agrícolas deberá incluirse en el inventario las variedades cultivadas, las especies silvestres afines y las silvestres de uso directo o con utilidad potencial.
- g) Puesta a punto de técnicas de cultivo y reproducción de especies de interés etnobiológico, con el objetivo de proveer a los usuarios o servir de soporte a posibles programas de restitución.
- h) Fomento de la jardinería con especies autóctonas a modo de conservación *ex situ* de los principales valores locales, comarcales o regionales.
- i) Puesta a punto de las técnicas de reproducción de las especies más amenazadas o en regresión a partir de ejemplares irrecuperables en colaboración con otras entidades.
- j) Iniciativas dirigidas a contar con particulares en la conservación de determinadas especies a través de huertos de cultivo privados.
- k) Poner en marcha la denominada “cadena de cultivo de semillas”, de forma que se pueda certificar el origen de las semillas u otro material genético (de índole cinética o de repoblación forestal) en los puntos de distribución.

Las actuaciones previstas en el desarrollo del proyecto GENMEDOC emanan, por tanto, del

desarrollo de la citada Estrategia Regional que se perfila como el marco normativo de referencia para el conjunto de las iniciativas aquí incluidas.

B) Estrategia forestal de la Región de Murcia

En la antesala de la aprobación de una Ley Forestal para la Región de Murcia y como culminación igualmente de la sensibilización de las autoridades regionales por la situación de los montes en el territorio de la Comunidad Autónoma, en 2003 tomó forma otro documento de síntesis denominado Estrategia Forestal de la Región de Murcia. La Estrategia Forestal, como instrumento de planificación sectorial que desarrolla y concreta las recomendaciones de la Estrategia Regional en relación con la gestión forestal y la conservación de la Naturaleza, asume los objetivos básicos de ésta, que pueden resumirse en:

- a) Fomentar la cooperación entre administraciones, sectores económicos y sociales y entidades ciudadanas.
- b) Integrar la biodiversidad en las políticas sectoriales e intersectoriales.
- c) Crear los mecanismos de gestión de los recursos naturales.
- d) Fomentar la investigación, el conocimiento y la formación en materia de biodiversidad.
- e) Fomentar la comunicación ciudadana, con el fin de aumentar la participación de la población.
- f) Articular instrumentos normativos y financieros.
- g) Impulsar la cooperación interterritorial.

En el desarrollo instrumental de la Estrategia Forestal se diseñan diversos programas de actuación, alguno de los cuales se ven directamente implementados en el proyecto GENMEDOC:

Programa de vida silvestre

Su objetivo fundamental es la conservación, o en su caso, la recuperación de las poblaciones y hábitat de aquellas especies sometidas a una mayor

presión derivada de la actividad humana, que presenten una mayor singularidad o un mayor grado de amenaza, eliminando o minimizando las causas que ponen en peligro su supervivencia. Entre las medidas que prevé el desarrollo de este programa se encuentran:

- a) La realización de un inventario previo a la elaboración del Registro Oficial de Flora Silvestre Regional.
- b) Ampliación y consolidación del Catálogo Regional de Especies de Flora Silvestre Amenazada.
- c) Elaboración de Planes de Conservación y otros planes de gestión de flora para las especies más amenazadas.
- d) Elaboración de Planes de Recuperación para las especies declaradas “en peligro de extinción”.
- e) Redacción de Planes de conservación para las especies catalogadas como “vulnerables”.
- f) Revisión y actualización del inventario de hábitats y especies de interés de flora y fauna silvestre de interés comunitario.

Programa de sanidad forestal y producción de planta

Entre sus objetivos se cuenta “fomentar la selección genética de las variedades y procedencias más adecuadas al medio murciano y más resistentes a los principales agentes bióticos de las especies forestales de la Región para su utilización en restauración forestal. Asimismo, entre las medidas previstas para su implementación se incluyen:

- a) Elaboración de normativa regional específica sobre el acceso a recursos genéticos.
- b) Creación de una Red Regional de Recursos Genéticos
- c) Creación y mantenimiento de un vivero forestal público de calidad

- d) Elaboración de Normativa Regional sobre Calidad de Procedencia de Material Vegetal de Reproducción y Áreas Selectas.

C) Hábitat naturales de interés comunitario en la Región de Murcia (Aplicación de la Directiva 92/43/CEE del Consejo, de 21 de mayo, relativa a la Conservación de los Hábitats Naturales y de la Fauna y Flora Silvestres)

La cartografía regional del inventario realizado por el Ministerio de Medio Ambiente para la preparación de la propuesta de Lugares de Importancia Comunitaria (LIC) constituye el primer esfuerzo sistemático y detallado para la evaluación ecológica de los hábitats naturales y seminaturales de toda la Región. Mediante este extenso trabajo se han identificado los tipos de hábitats del Anexo I de la Directiva dentro de unidades cartográficas de inventariación que cubren una extensión terrestre de unas 327.000 hectáreas, casi la tercera parte del territorio regional. Destaca así mismo la existencia en la Región de importantes superficies cuyo estado de conservación de los hábitats de interés comunitario ha sido valorado como “excelente”, aunque no han sido propuestas como LIC.

Las cifras generales de los hábitats de interés comunitario terrestres presentes a escala regional son también expresivas de una alta diversidad biológica (Tabla 1). Así, aparecen 46 tipos de hábitats –de los cuales 13 tipos son prioritarios–, estando constituidos por una cifra en torno a las 175 asociaciones o comunidades vegetales. Ello supone casi la quinta parte de todos los tipos de hábitats enumerados por el Anexo I de la Directiva para una superficie que apenas alcanza el 0,4% del territorio de los estados miembros de la Unión Europea (considerada esta superficie antes, lógicamente, de la ampliación a 25).

Tipos de hábitats de interés comunitario terrestres y asociaciones vegetales

CÓDIGO	TIPO DE HÁBITAT	ASOC.
1210	Vegetación anual sobre desechos marinos acumulados	3
1240	Acantilados de las costas mediterráneas con endemismos del género <i>Limonium</i>	1
1310	Vegetación anual pionera con <i>Salicornia</i> y otras especies anuales de zonas fangosas o arenosas	2
1410	Praderas juncas halófilas mediterráneas	5
1420	Matorrales halófilos mediterráneos y termo-atlánticos	5
1430	Matorrales halo-nitrófilos	5
1510	*Estepas salinas mediterráneas (<i>Limonieta</i>)	7
1520	*Estepas gipsícolas ibéricas	5
2110	Dunas móviles embrionarias	2
2120	Dunas móviles del litoral con <i>Ammophila arenaria</i>	1
2210	Dunas fijas litorales del <i>Crucianellion maritimae</i>	1
2230	Dunas con pastizales de <i>Malcolmietalia</i>	2
2250	*Dunas litorales con <i>Juniperus spp.</i>	1
2260	Dunas con vegetación esclerófila del <i>Cisto-Lavanduletalia</i>	1
3140	Aguas oligomesotróficas duras con vegetación béntica del género <i>Chara</i>	2
3150	Lagos eutróficos naturales con vegetación de <i>Magnopotamion</i> o <i>Hydrocharition</i>	3
3170	*Estanques temporales mediterráneos	2
3250	Ríos mediterráneos de caudal permanente con <i>Glaucium flavum</i>	1
3270	Riberas con lodos con vegetación de <i>Chenopodium rubri p.p.</i> y <i>Bidention p.p.</i>	1
3280	Ríos mediterráneos de caudal permanente con spp. de <i>Paspalo-Agrostidion</i> y orlas ribereñas de <i>Salix</i> y <i>P. alba</i>	3
3290	Ríos con estiaje y vegetación del <i>Paspalo-Agrostidion</i>	2
4090	Brezales oromediterráneos con aliagas	11
5210	Matorrales arborescentes de <i>Juniperus spp.</i>	4
5220	*Matorrales arborescentes con <i>Ziziphus</i>	4
5330	Matorrales termomediterráneos y predesérticos (Ç)	20
6110	*Prados calcícolas o basófilos del <i>Alyso-Sedion albi</i>	2
6170	Prados alpinos y subalpinos calcícolas	2
6220	*Zonas subestépicas de gramíneas y anuales del <i>Thero-Brachypodion</i>	13
6420	Prados húmedos mediterráneos de hierbas altas del <i>Molinio-Holoschoenion</i>	4
6430	Comunidades higrófilas de megaforbios en orlas de vegetación de llanuras y en los niveles montano y alpino	
7210	*Turberas calcícolas con <i>Cladium mariscus</i> y especies del <i>Caricion davallianae</i>	1
7220	*Manantiales precipitadotes de caliza con formación de tobas (<i>Cratoneurion</i>)	3
8130	Canchales térmicos mediterráneos occidentales	4
8210	Laderas rocosas carbonatadas con vegetación casmofítica	17
8220	Laderas rocosas silicatadas con vegetación casmofítica	1
8310	Cuevas no explotadas por el turismo	#
9240	Bosques ibéricos de <i>Quercus faginea</i> y <i>Quercus canariensis</i>	4
92A0	Bosques de galería con <i>Salix alba</i> y <i>Populus alba</i>	7
92D0	Galerías y matorrales riparios meridionales	5
9340	Bosques de <i>Quercus ilex</i> y <i>Quercus rotundifolia</i>	7
9370	*Agrupaciones de palmeras del género <i>Phoenix</i>	1
9530	*Pinares submediterráneos con pinos negros endémicos	3
9540	Pinares mediterráneos con pinos mesógenos endémicos	5
9560	*Bosques endémicos con <i>Juniperus spp.</i>	1
9570	*Bosques de <i>Tetraclinis articulata</i>	1

Fuente: Adaptado de Alcaraz et al. (2000).

El símbolo “*” indica los tipos de hábitats prioritarios.

Los tipos 3270, 3290, 9370 y 9540 no se incluyeron en el inventario realizado por el Ministerio de Medio Ambiente para la preparación de las propuestas de Lugares de Importancia Comunitaria (LIC). Algunas asociaciones fitosociológicas están incluidas simultáneamente en más de un tipo de hábitat de interés comunitario. No se incluyen las citas en el rango de alianza. El nº de asociaciones o comunidades para cada tipo de hábitat no siempre coincide con los establecidos por los mismos autores en Baraza et al. (1999), ya sea por actualización posterior o por la exclusión de las alianzas. (+) Para el tipo 2260 el nº de asociaciones/comunidades ha sido tomado directamente de Baraza et al. (1999) por no figurar este hábitat en la tabla original de Alcaraz et al. (2000). (Ç) El tipo 5330 se desagra en categorías equivalentes como tres subtipos bajo los códigos 5333, 5334 y 5335. (#) En el tipo 8310 no se presenta ninguna comunidad vegetal vascular.

D) Catálogo regional de flora silvestre protegida de la Región de Murcia

El 10 de junio de 2003 se crea el Catálogo Regional de Flora Silvestre Protegida de la Región de Murcia (Decreto nº 50/2003, de 30 de mayo, BORM de 10 de junio, http://www.carm.es/medioambiente/medioAmbiente/noticias/Documentos/217_flora.pdf) como un registro público de carácter administrativo y ámbito regional dependiente de la Consejería competente en medio ambiente, en el que se incluirán, de acuerdo con el procedimiento y categorías establecidas en el mismo, las especies, subespecies o poblaciones de flora silvestre murciana que requieran medidas específicas de protección y conservación. Este Catálogo Regional se sirvió para su construcción fundamentalmente del *Libro Rojo de la Flora Silvestre Protegida de la Región de Murcia*, que fue publicado en 2002 (Sánchez Gómez et al., 2002).

De acuerdo con lo dispuesto en los artículos 29 y 32 de la Ley 4/1989 de 27 de marzo, de conservación de los espacios naturales y de la flora y fauna silvestres, el Catálogo se organiza en cuatro categorías:

- a) Especies «en peligro de extinción», reservada para aquellas cuya supervivencia es poco probable si los factores causales de su actual situación siguen actuando.
- b) Especies «sensibles a la alteración de su hábitat», para aquellas cuyo hábitat característico está particularmente amenazado, en grave regresión, fraccionado o muy limitado.
- c) Especies «vulnerables», destinada a aquellas que corren el riesgo de pasar a la categoría anterior en un futuro inmediato si los factores adversos que actúan sobre ellas no son corregidos.
- d) Especies de «interés especial», en las que se podrán incluir las que sin estar contempladas en ninguna de las precedentes sean merecedoras de una atención particular por su rareza, su valor científico, ecológico, cultural o por su singularidad.
- e) Especies «extinguidas en sus poblaciones naturales», en las que se incluirán aquellas

que siendo autóctonas se han extinguido en la Región de Murcia pudiendo ser susceptibles de reintroducción.

HÁBITAT Y TAXONES FIJADOS COMO OBJETIVOS PRIORITARIOS PARA EL PROYECTO GENMEDOC POR LA REGIÓN DE MURCIA

Teniendo en cuenta el horizonte normativo anterior y los objetivos del proyecto *GENMEDOC*, nuestra iniciativa de protección de especies se ha sustentado en los dos siguientes criterios por orden de jerarquía:

- 1º. Que las especies estén incluidas en el Catálogo Regional de Flora Silvestre Protegida de la Región de Murcia, preferentemente en las categorías de “en peligro de extinción” y “vulnerables”.
- 2º. Que se encuentren dentro de alguno de los hábitat de interés comunitario.

Así, la selección de los hábitat y taxones que serán objeto de trabajo dentro del proyecto GENMEDOC.

REFERENCIAS CITADAS

- ALCARAZ ARIZA, F.J. et al. (2000). *Aproximación a la diversidad de la flora vascular de la Región de Murcia*. En: Biodiversidad. Contribución a su conocimiento y conservación en la Región de Murcia. Calvo, J.F., Esteve, M.A. y López-Bermúdez, F. (coord.). Universidad de Murcia, págs.: 27-37.
- BARAZA, F. et al. (1999). *Los Hábitats Comunitarios en la Región de Murcia*. Dirección General de Medio Ambiente. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente.
- SÁNCHEZ GÓMEZ, P. et al. (2002). *Libro rojo de la flora silvestre protegida de la Región de Murcia* (2 vols.). Dirección General del Medio Natural. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Región de Murcia.

DENOMINACIÓN GENÉRICA DEL HÁBITAT	HÁBITAT PRIORITARIO	CÓDIGO HÁBITAT	TAXONES REPRESENTATIVOS	L.I.C.'S INCLUIDOS EN EL HÁBITAT	CÓDIGO LIC	TÁXON DE ESPECIAL INTERÉS
Formaciones dominadas por Gimnospermas	Bosques de <i>Tetraclinis articulata</i>	9570	<i>Periploca angustifolia</i> ¹ <i>Chamaerops humilis</i> ⁴ <i>Maytenus senegalensis</i> ¹	Calblanque, Monte de las Cenizas y Peña del Águila	ES6200001	<i>Tetraclinis articulata</i> ^{1,2}
	Bosques endémicos con <i>Juniperus</i> spp.	9560	<i>Juniperus phoenicea</i> ⁴ <i>Osiris lanceolata</i> ³	Sierras y Vega Alta del Segura y río Benamor	ES6200004	<i>Juniperus thurifera</i> ¹
	Pinares submediterráneos con pinos negros endémicos	9530	<i>Pinus nigra</i> subsp. <i>clausiana</i> ⁴ <i>Juniperus communis</i> ³ <i>Centaurea alpina</i> ¹	Sierra de la Muela	ES6200018	<i>Genista longipes</i> ¹
Sistemas dunares	Dunas litorales con <i>Juniperus</i> spp.	2250	<i>Helianthemum marminorense</i> ¹ <i>Juniperus thurbinata</i> ³	Salinas y Arenales de San Pedro del Pinatar	ES0000175	<i>Tamarix boveana</i> ⁴
	Estepas salinas mediterráneas (<i>Limonieta</i>)	1510	<i>Limonium cossonianum</i> ⁴ <i>Frankenia timifolia</i> ⁴	Espacios abiertos e islas del Mar Menor	ES6200006	<i>Limonium insignis</i> ⁴
Formaciones gipsícolas	Vegetación gipsícola ibérica	1520	<i>Teucrium balthazaris</i> ^{1,2} <i>Teucrium libanitis</i> ¹ <i>Ferula loscosii</i> ¹	Sierras y Vega Alta del Segura y río Benamor	ES6200004	<i>Senecio auricola</i> ¹

¹ Táxon vulnerable

² Táxon estructural

³ Táxon en peligro de extinción

⁴ Táxon de interés especial

Para el caso de los taxones recogidos en la tercera columna bajo el epígrafe de taxones representativos, en el proyecto se prevé realizar campañas de recolección de semillas con vistas a la constitución de un banco de germoplasma para su conservación a largo plazo, así como, en nuestro caso particular, de muestras de tejidos para conformar un banco de tejidos. Los taxones que aparecen en la última columna como táxon de interés especial se han escogidos para realizar con ellos la optimización de protocolos de germinación y conservación.

AVANCES EN LA EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE ESPECIES FORESTALES MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMÁTICOS

L. Iglesias¹ y J.L. Casas²

1 INSTITUTO DE GENÉTICA FORESTAL. UNIVERSIDAD VERACRUZANA (MÉXICO)
LGEORG01@HOTMAIL.COM

2 UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL. CIBIO.
JL.CASAS@UA.ES

La aplicación de las técnicas electroforéticas en el campo forestal datan de la década de los años sesenta. A partir de entonces se han desarrollado numerosos estudios encaminados a evaluar el polimorfismo proteico en diversas especies forestales, que en el caso de las coníferas asciende a alrededor de 300 especies (Hamrick y Godt, 1996). Gran parte del progreso alcanzado dentro del campo de la genética poblacional experimental en las especies forestales ha sido posible mediante el empleo de los análisis isoenzimáticos multilocus (Gillet, 1999).

La amplia utilización de los marcadores isoenzimáticos en la estimación de la variación genética de las poblaciones forestales se debe en gran medida a las ventajas que las mismas ofrecen comparada con otras clases de marcadores genéticos. Los análisis isoenzimáticos permiten revelar un gran número de *loci* de una forma rápida, sencilla y poco costosa (Bermejo-Velázquez, 1993; Gillet, 1999). Las variantes isoenzimáticas poseen además la ventaja de que pueden ser resueltas usando las mismas téc-

nicas básicas para la mayoría de las especies con independencia de su hábitat, tamaño o longevidad (Hamrick, 1990) de forma que permite evaluar numerosos individuos para diversos sistemas enzimáticos en un período relativamente corto de tiempo (Bermejo-Velázquez, 1993).

Una de las mayores ventajas de estos marcadores radica en que generalmente los *loci* enzimáticos de las especies forestales se expresan de forma *codominante*. Esta situación permite la identificación clara de los genotipos heterocigotos en organismos diploides facilitando con ello la obtención de estimados de frecuencias alélicas en estudios de genética poblacional (Bermejo-Velázquez, 1993). Se ha constatado además que los *loci* enzimáticos se segregan en una proporción mendeliana, aunque en algunos casos también se ha detectado la presencia de alelos nulos y zonas sobrelapadas de actividad codificada por diferentes *loci* como resultado de efectos de dominancia así como casos poco frecuentes de distorsión en la segregación (Rudin y

Ekberg, 1978; Adams y Joli, 1980; Bermejo-Velázquez, 1993; Prus-Gowacki y Stephan, 1998). También se ha reportado (Bahrman y Damerval, 1989) un efecto de pleiotropía en la cantidad de proteínas de *Pinus pinaster* Ait.

Las variantes isoenzimáticas poseen además la ventaja de que pueden detectarse en una amplia variedad de tejidos. En particular cabe destacar que se han detectado polimorfismo isoenzimático en una gran variedad de tejidos de coníferas, que incluyen entre otras hojas adultas y juveniles, yemas, polen, embriones y megagametofitos (Bingham *et al.*, 1964; Rudin, 1977; Mitton *et al.*, 1979; Adams, 1983; Müller-Starck *et al.*, 1996). Al respecto, cabe indicar los resultados obtenidos por Iglesias *et al.*, (2002) al realizar un análisis de la variación en la composición de isoformas esterases y fosfatasas ácidas en diversos tejidos (hoja cotiledonal (Hc), megagametofito (M) y embrión (E)) de *Pinus hartwegii* Lindl., que constataron la existen-

cia de un marcado polimorfismo tisular dada la presencia de perfiles de bandas distintivos mostrados por los diversos tejidos examinados (Figura 1).

Sin embargo, la mayor parte de los estudios aloenzimáticos realizados en coníferas han sido efectuados en semillas, dado que estas contienen un megagametofito haploide (Adams, 1983; Bermejo-Velázquez, 1993). De esta manera, el análisis de los patrones de segregación de los megagametofitos de árboles parentales individuales permite determinar el control genético y las relaciones de ligamiento sin necesidad de efectuar cruces y estudiar las progenies en fase de plántula (Rudin y Ekberg, 1978; Neale y Adams, 1981; El Kassaby *et al.*, 1987). De igual forma la segregación de aloenzimas en megagametofitos de árboles individuales puede ser utilizada para la determinación del genotipo de los árboles parentales (Conkle y Adams, 1977).

Por otro lado, el análisis tanto del megagametofito como del embrión en semillas de especies de

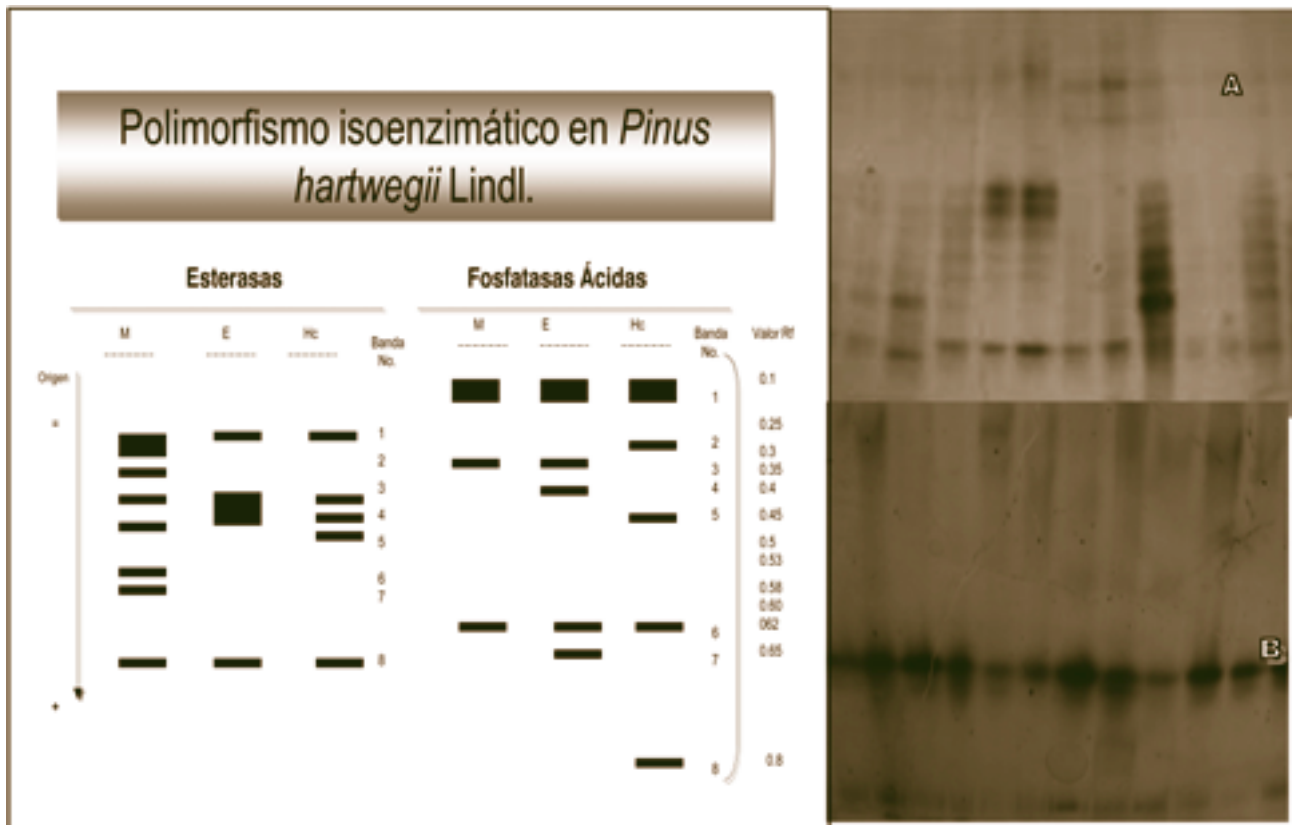


Figura 1. Polimorfismo isoenzimático en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. de Cofre de Perote, Veracruz (México). A: Isoformas de esterases; B: Isoformas de fosfatasas ácidas.

coníferas permite inferir la composición genética de los gametos masculinos y femeninos que contribuyen directamente a la formación de cada embrión lo cual resulta muy útil para abordar estudios relacionados con la biología reproductiva de las poblaciones (Bermejo-Velázquez, 1993).

Por todas estas ventajas es por lo que a pesar de las limitaciones que éstas poseen y dado que sólo revela una porción limitada de la variación genética existente (Iglesias y Rojas, 1992), los marcadores aloenzimáticos se siguen empleando hoy en día sobre todo en el ámbito forestal (Cruzan, 1998; Gillet, 1999). Dentro de este contexto la mayor parte de los estudios que se han desarrollado en el campo forestal han puesto de manifiesto el valor que estos revisten sobre todo para el estudio de la diversidad genética, que como se sabe resulta fundamental para el desarrollo de programas apropiados de conservación genética (Szmidt, 1995). Así se cuenta hoy en día con una voluminosa información sobre el empleo de estos marcadores para, entre otros, conocer los niveles y patrones de distribución de la variación genética dentro y entre diversas poblaciones así como evaluar y comparar la estructura poblacional de diversas especies forestales.

Caben citar entre los estudios aloenzimáticos que se han efectuado con este fin en forestales los realizados en: *Abies alba* (Hussendörfer, 1999), *Abies balsamea* (Shea y Furnier, 2002), *Cupressus sempervirens* (Schiller y Korol, 1997), *Dryobalanops aromatica* (Lee *et al.*, 2000), *Picea abies* (Geburek, 1999), *Picea glauca* (Feret, 1971), *Picea sitchensis* (Yeh y El Kassaby, 1980), *Pinus albicaulis* (Rogers *et al.*, 1999), *Pinus brutia* (Conkle *et al.*, 1988; Kara *et al.*, 1997), *Pinus contorta* (Danick y Yeh, 1983; Wheeler y Guries, 1982), *Pinus engelmannii* (Bermejo-Velázquez, 1993), *Pinus leucodermis* (Bucci *et al.*, 1997), *Pinus greggii* (Ramírez *et al.*, 1997), *Pinus palustris* (Schmidting y Hipkins, 1998), *Pinus pinaster* (Salvador, 1997; Salvador *et al.*, 2000), *Pinus pungens* (Feret, 1973), *Pinus sylvestris* (Ramuson y Rudin, 1971; Forrest *et al.*, 2000), *Pseudotsuga menziessi* (Hoffmann y Geburek, 1995), *Tectona grandis* (Kjær y Siegismund, 1996), *Thuja dolabrata* (Sakai *et al.*, 1971), *Toona ciliata* (McDonald, 2002).

De estos estudios se ha podido conocer que las especies forestales exhiben los niveles más elevados de variación aloenzimática en comparación con otros grupos de organismos (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick *et al.*, 1981). El nivel de polimorfismo detectado en las plantas leñosas resulta ser incluso superior a lo detectado en especies herbáceas debido entre otros a que las especies forestales se caracterizan por poseer una amplia dispersión, alta longevidad además de que se reproducen por polinización cruzada y presentan una alta fecundidad (Hamrick y Godt, 1989; Ledig, 1998). Este alto nivel de variación genética es necesario para garantizar la adaptabilidad actual y futura de las especies y su evolución continuada así como para satisfacer las cambiantes necesidades de uso final y adaptarse a las condiciones ambientales que evolucionan dinámicamente (Ramanatha Rao y Hodgkin, 2002).

Los niveles de diversidad genética detectados mediante el empleo de marcadores bioquímicos varían grandemente entre especies forestales. Al respecto se han detectado rangos de variación que oscilan entre cero, como el caso descrito por Ledig y Conkle, (1983) en *Pinus torrellana*, a un 30-36% como lo observado entre otros por Hiebert y Hamrick (1983) en *Pinus engelmannii* y por Ramírez *et al.*, (1997), en *Pinus greggii*.

Hoy en día se conoce que la variación genética en las poblaciones forestales se encuentra estructurada en espacio y tiempo (Loveless y Hamrick, 1984). Es por ello que muchos estudios aloenzimáticos han estado dirigido a conocer la distribución espacial de la diversidad, ya que los patrones de variabilidad aloenzimática, tanto entre como dentro de poblaciones, resultan de gran utilidad para formular estrategias más eficientes de conservación (Ramanatha Rao y Hodgkin, 2002). Al respecto, diversos autores (Brown y Moran, 1981; Adams, 1981; Davidson y El Kassaby, 1997; Chamberlain, 1998) han brindado buenos ejemplos de como los datos aloenzimáticos pueden ser utilizados en la selección del número y distribución de las reservas *in situ* o colecciones de semillas.

De todo ello se desprende la importancia de lograr una adecuada comprensión de la diversidad genética en sus tres niveles: a nivel de especie, de



género y de ecosistemas, así como las diversas causas que afectan la diversidad alélica y las diferencias en las frecuencias alélicas dentro y entre poblaciones. Hasta la fecha los estudios realizados para conocer la estructura genética de diversas poblaciones forestales han puesto de manifiesto el hecho de que por lo regular las especies arbóreas se caracterizan por poseer elevados niveles de variación genética dentro de poblaciones y bajo entre poblaciones (Ledig *et al.*, 2000). Al respecto numerosos trabajos desarrollados en el campo forestal han confirmado la existencia de relativamente bajos niveles de variabilidad genética entre poblaciones (Hamrick *et al.*, 1981; Wheeler y Guries, 1982; Guries, 1984; Fournier y Adams, 1986; Merkle y Adams, 1987; Bermejo-Velázquez, 1993; Barreneche *et al.*, 1996; Bucci *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2000). De esta manera una gran parte de los estudios efectuados indican que las especies forestales parecen ser genéticamente poco diferenciadas, ya que en muchos casos las poblaciones de una especie comparten los mismos alelos, con frecuencias más o menos similares (Bermejo-Velázquez, 1993).

Un aspecto que también se ha puesto en evidencia de los diversos estudios que al respecto se han realizado es que el rango geográfico o la amplitud ecológica de una especie puede no ser siempre un indicador preciso de su variación genética. De esta manera, algunos estudios indican que aquellas especies que presentan distribuciones naturales grandes y continuas tales como *Q. petraea* o *Q. rubra* exhiben niveles elevados de diversidad genética (Kremer y Petit, 1993). Sin embargo, los estudios realizados por Merkle y Adams (1987) para conocer la variación genética en *Pseudotsuga menziesii* de Oregón, Estados Unidos, mostraron que menos del 1% de la variación isoenzimática se debía a diferencias entre poblaciones y que esta poca diferenciación no estaba correlacionada con variables ambientales ni con la distancia entre poblaciones. Similares resultados han sido entre otros obtenidos por Bermejo-Velázquez (1993) quien también encontró bajos valores (13%) de diferenciación entre las poblaciones de *Pinus engelmannii* de México, por lo que concluyó que las poblaciones de esta especie no están fuertemente diferenciadas geográficamente en términos de variación aloen-

mática. Sobre el particular Maki (2003) indicó que no siempre aquellas poblaciones grandes o ampliamente distribuidas cuentan con una gran diversidad genética. Al respecto González-Astorga y Núñez-Farfán (1999) apuntaban que aquellas especies con rango geográfico restringido como *B. vazquezii*, no necesariamente se caracterizaban por poseer una baja diversidad genética. De acuerdo con Ramanatha Rao y Hodgkin (2002), la variación geográfica es casi imposible separarla de la variación determinada por factores ecológicos, por lo que a menudo se engloba su efecto dentro de los factores ecogeográficos que actúan sobre las poblaciones ubicadas en diferentes regiones geográficas.

Otros estudios han detectado, por otra parte, niveles sustanciales de diferenciación entre poblaciones de diversas especies forestales. Al respecto caben mencionar los resultados obtenidos por Jørgensen *et al.* (2002) quienes detectaron una elevada diversidad genética entre las poblaciones de *Pinus flexilis* estudiadas. De igual forma Fady *et al.* (1999) constataron la existencia de una variación sustancial en las poblaciones de *Abies alba* de la zona mediterránea de Francia; no obstante apuntaban que desde el punto de vista genético éstas no parecían ser diferentes, lo que sugería un origen genético común.

En coníferas algunos autores (Delgado *et al.*, 1999; Ledig *et al.*, 2000; Aguirre-Planter *et al.*, 2000) han puesto de manifiesto que las poblaciones en México y América Central muestran niveles más elevados de diferenciación en relación con lo encontrado para poblaciones de latitudes más al norte. Según Ledig *et al.* (2000) esto puede deberse a que estas poblaciones se encuentran más fragmentadas lo que pudo haber ocasionado una reducción de los niveles de flujo genético y por ende haberse favorecido ya sea la deriva genética en las poblaciones aisladas de menor tamaño o la diferenciación por selección. No obstante al parecer la deriva genética constituye la explicación más probable ya que se ha detectado (Ledig, 2000) en las poblaciones californianas de *Pinus coulteri* D. Don, poco distanciadas geográficamente, un valor similar de diferenciación (F_{st}) a lo observado en las poblaciones de pinos de México y América Central.

Por otra parte numerosos autores han resaltado la existencia de una marcada estructura espacial del polimorfismo aloenzimático dentro de poblaciones de especies forestales (Furnier y Adams, 1986; Hamrick y Godt, 1989; Ramírez *et al.*, 1997; Stoehr y El-Kassaby, 1997; Parker *et al.*, 1997; Epperson y Gi Chung, 2001). Se ha sugerido al respecto que la alta variabilidad intrapoblacional en los árboles forestales puede constituir una respuesta adaptativa a la heterogeneidad espacial y temporal encontrada en las poblaciones (Adams, 1981). Como se sabe la mayoría de la variación en los caracteres adaptativos de especies forestales es clinal y esta relacionado a menudo con gradientes ambientales (temperatura o humedad); esto enfatiza el papel de los factores ecológicos en la determinación de la extensión y distribución de la diversidad genética. No obstante esto no se cumple en su totalidad pues se han encontrado casos donde la plasticidad ha resultado ser lo suficientemente grande para permitir que poblaciones genéticamente similares ocurran en una amplia gama de ambientes (McNeilly, 1997).

La cantidad y distribución de la diversidad genética dentro de las especies forestales resulta influida por factores tales como el tamaño del árbol, longevidad, fecundidad, sistema de apareamiento y distribución geográfica (Hamrick y Godt, 1989). Dentro de estos factores se le ha prestado un énfasis particular en el estudio de la diversidad genética en poblaciones forestales al papel que juega el sistema de reproducción sobre el modo en que se encuentra distribuida la variación genética dentro y entre poblaciones (Ramanatha Rao y Hodgkin, 2002). Dentro de este contexto se ha indicado que es muy común encontrar en especies de coníferas manifestaciones del fenómeno de la depresión consanguínea (Williams y Savolainen, 1996). De acuerdo con Remington y O'Malley (2000) y Husband y Schemske (1996) la depresión consanguínea, que por lo regular se manifiesta en etapas tempranas en coníferas, se debe más bien a mutaciones letales que a mutaciones deletéreas. La letalidad embrionaria generalmente produce semillas vacías y las coníferas portan en promedio de 8-10 letales embrionarios (Griffin y Lindgren, 1985). Al respecto Keller y Waller (2002) apuntaba la presencia de efectos de

consanguinidad importantes sobre la producción de semilla, germinación, supervivencia y resistencia a estrés en poblaciones fragmentadas con una reducida diversidad genética.

De este modo se ha constatado la presencia de este fenómeno en diversas poblaciones de especies de pinos, como la especie *Pinus hartwegii* (Iglesias *et al.*, 1999; Solís, 2002) que como consecuencia de la fragmentación que éstas han sufrido son más susceptibles por su tamaño a los disturbios ambientales o antropogénicos y por ello corren el riesgo de sufrir fenómenos genéticos (deriva génica, cuellos de botella, etc.) que las lleven a la pérdida de variabilidad genética y por estocasticidad ambiental, a la extinción. Es por ello que desde hace algunos años el Instituto de Genética Forestal de la Universidad Veracruzana en México ha estado desarrollando diversos estudios encaminados a evaluar los niveles y patrones de distribución de la diversidad genética en las dos poblaciones de esta especie (Figura 2) con que cuenta el estado de Veracruz, empleando diversos marcadores (cuantitativos y aloenzimáticos). Los resultados obtenidos hasta la fecha han indicado la existencia de una fuerte diferenciación en las dos poblaciones examinadas (Iglesias *et al.*, 2001) así como una variación intrapoblacional sustancial tanto desde el punto de vista morfométrico como isoenzimático (Solís, 2002; Iglesias, datos no publicados).

El empleo de diferentes tipos de caracteres para evaluar la diversidad genética en las poblaciones obedece a lo apuntado entre otros por Kjær y Graudal (2000) quien señalara que no todas las características que se emplean para evaluar la diversidad genética exhiben patrones de diferenciación genética similares. Esto se ha observado en *Pinus contorta* (Yang *et al.*, 1996) y en *Pinus sylvestris* (Karhu *et al.*, 1996). Según Karhu *et al.* (1996) esto obedece en gran medida a la interacción entre las fuerzas evolutivas: deriva genética, migración y en particular de la acción de la selección natural. Como se sabe la variación genética cuantitativa de una especie vegetal está íntimamente ligada a las condiciones medioambientales que prevalecen en el ciclo de vida de la misma, de modo que la estrecha relación planta-medio ambiente marca la importante propiedad para la especie vegetal de poseer la suficiente flexibi-

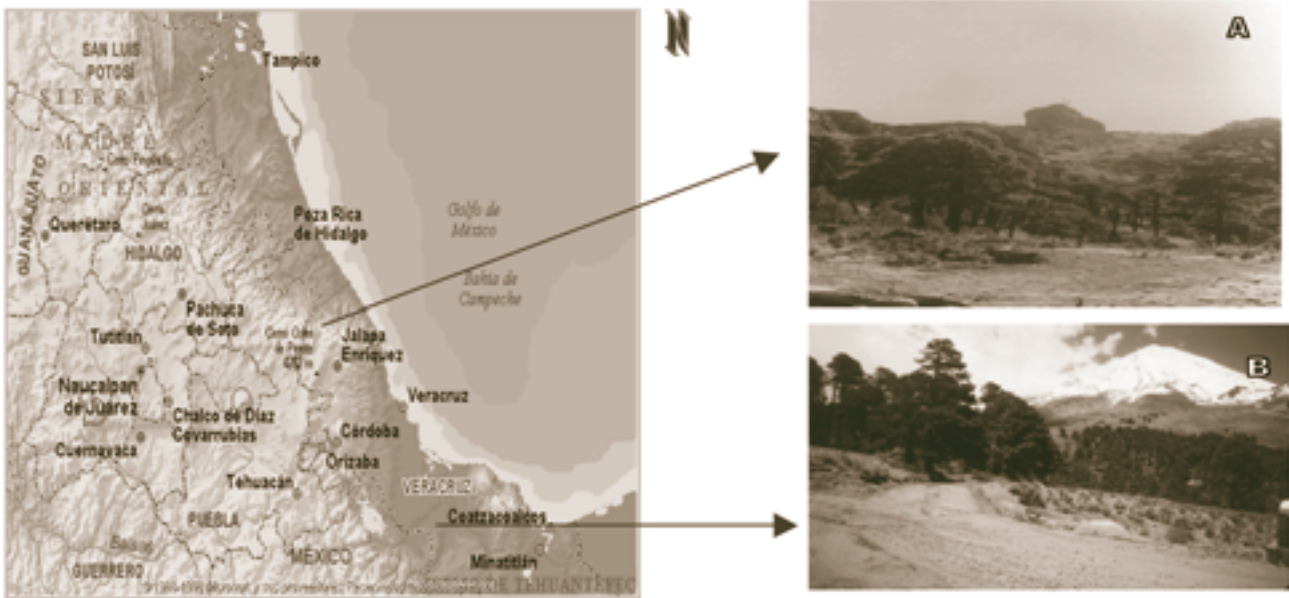


Figura 2. Ubicación geográfica de las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. en el estado de Veracruz, México. A. Población del Cofre de Perote. B. Población del Pico de Orizaba.

lidad de desarrollo o normas de reacción amplias para existir en las condiciones donde se ubican (Stebbins, 1950, citado por Pérez, 1984). Por otro lado, la variación genética evaluada a través de marcadores isoenzimáticos al ser menos influidos por el ambiente, proporcionan información precisa de patrones reproductivos tales como niveles de consanguinidad y reducción de la variabilidad debida a diversos factores (Bermejo-Velázquez, 1993).

No obstante la utilidad que por todo lo antes referido poseen los marcadores isoenzimáticos no debe descartarse la utilidad que brindan los marcadores moleculares dentro de este contexto. Al respecto se ha resaltado en los últimos años la utilidad del empleo de marcadores moleculares, como los microsatélites, para revelar diferencias en los estimados de diversidad genética en poblaciones fores-

tales como *Pinus radiata* (Karhu, 2001). Es por ello que se encuentra en desarrollo algunos trabajos en *Pinus hartwegii* para la detección de marcadores RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNAs) (Iglesias *et al.*, 2003) que permitan conocer de un modo integral los niveles y distribución de la diversidad genética existente en este valioso recurso forestal.

NOTA DE LA REDACCIÓN

Por limitaciones de espacio no se ha podido incluir la lista completa de referencias bibliográficas que acompaña a este artículo. Los interesados en obtenerla en formato electrónico pueden solicitarla directamente a la dirección de correo electrónico de Cuadernos de Biodiversidad.

LA SEMILLA ARTIFICIAL. UNA SOLUCIÓN EN LA BIODIVERSIDAD MUNDIAL

*Orlando S. González Paneque, Juan J. Silva
y Ángel Espinosa Reyes*

CENTRO DE ESTUDIOS DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL. FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS.
UNIVERSIDAD DE GRANMA.
APDO. 21. BAYAMO. GRANMA. C.P. 85100. CUBA.
E-MAIL: OGPANEQUE@UDG.CO.CU

INTRODUCCIÓN

La propagación de plantas es una ocupación básica de la humanidad y está dada en gran parte sobre la habilidad del hombre para propagar y cultivar clases específicas de plantas que puedan ser usadas como alimento, proporcionarle protección, vestido, recreo y satisfacciones estéticas (Hartmann y Kester, 1975). Se puede decir que se trata de un tipo de reproducción de plantas controlada por el hombre para perpetuar individuos escogidos o grupos de plantas que tienen para él un valor específico.

Las semillas sostienen y protegen la vida, proporcionan alimento a la humanidad, animales y otros seres vivos, son la materia prima para la gran cantidad de productos empleados por el hombre, son riqueza y el futuro germen de una nueva generación.

La propagación “*in vitro*” como proceso comercial que se viene utilizando en diversas especies vegetales desde la segunda mitad del presente siglo, no ha podido emplearse con éxito en la obtención de *semillas sintéticas* hasta bien entrada la década de los años 80 y ha sido precisamente a lo largo de los

últimos cinco años cuando se ha visto que las *semillas sintéticas* albergan el potencial necesario para reducir el costo de la propagación vegetal. El desarrollo de esta idea y el advenimiento de la *biotecnología* como nueva ciencia han abierto las puertas al desarrollo de las *semillas sintéticas* y ha permitido que diversas empresas y centros de investigación de todo el mundo se interesen por el tema.

Son ilimitados los campos en que se puede utilizar la *biotecnología*, la cual tendrá un papel tan importante como la electrónica, o tan importante como la propagación asexual, haciéndose necesario el empleo de las *semillas sintéticas* por las ventajas que estas ofrecen (Cantliffe *et al.*, 1991).

Con el presente trabajo perseguimos como *objetivo* dar a conocer el concepto de *semilla sintética* o *artificial* y analizar las etapas principales que conducen a su obtención.

DESARROLLO

Según Boswell (1968) las *semillas* son una fuente de supervivencia de sus especies. Una semilla (Mckay, 1968) es un óvulo madurado que contiene un embrión. Carvalho y Nakagawa (1980) plantean



que la *semilla* es un órgano de perpetuar y diseminar las especies vegetales, con capacidad de distribución y germinación en el tiempo. Las *semillas* generalmente están bien protegidas durante todo su desarrollo. Esta protección difiere grandemente entre las diferentes clases, tanto en grado como en la forma en que se proporciona (Boswell, 1968). Las *semillas* de algunas especies se desarrollan en las plantas madres con una rapidez asombrosa, otras, al contrario lo hacen sumamente despacio; ejemplo es la planta llamada pamplina que se arranca del jardín y se arroja al lado, en el momento en que sus primeras flores se abren pueden formar algunas semillas antes de que se marchiten y mueran. Las plantas más comunes forman sus semillas en un período de varios días o varias semanas después de la polinización.

Las *semillas* selectas son hoy uno de los más eficaces elementos para el proceso de selección en la agricultura, donde se encuentra implícito un buen grano y una buena variedad. Buen grano quiere decir *semilla* limpia, sana, buen tamaño, buena apariencia y germinación. Buena variedad significa *perteneciente a una variedad de características probadas de producción y calidad* (Besnier, 1965).

La mayoría de las *semillas sexuales* se desarrollan después de la unión de las células reproductoras masculinas y femeninas; perpetuando los caracteres hereditarios constituidos por ambas células. Las plantas procedentes de *semillas asexuales* portan las características fenotípicas y genotípicas de la planta madre o portadora. Las plantas que reproducen fielmente su tipo por *semillas* de origen sexual pueden propagarse también asexualmente por medio de trozos de tallos o de otras partes apropiadas de la planta, bajo condiciones favorables, aunque estas condiciones raramente son favorables o practicables para su propagación vegetativa.

Las clases y variedades de plantas que no tienen la propiedad de producir *semillas* viables, es decir, que no pueden germinar y desarrollarse, deben perpetuarse por medios asexuales o como semillas artificiales.

La enorme cantidad de *semillas* que una sola planta de algunas especies produce, hace factible el aumento de la cantidad de *semillas* a una velocidad

grande. Algunas otras producen pocas y el porcentaje de aumento es lento, ejemplo, una planta de tabaco puede producir hasta un millón, mientras que el chícharo de huerta, produce unas cuantas docenas a lo sumo. Muchas especies de plantas en estado de *semillas* conservan su poder vital por mucho tiempo, desde el momento de su formación en una estación a la siguiente, si las condiciones no le son favorables para desarrollarse; algunas lo conservan solamente un año o dos, otras por veinte años o más.

Las *semillas* han servido para llevar a cabo programas de mejoramiento en las plantas y obtener mayores fuentes de alimentos.

HABLEMOS DE LAS SEMILLAS SINTÉTICAS

Las *semillas sintéticas*, también denominadas *semillas artificiales* o *semillas clonales*, son estructuras vegetales de origen normalmente asexual, capaces de producir un vástago (brotes y ramificaciones aéreas) y una raíz. Además, poseen la capacidad necesaria para regenerar una planta completamente idéntica a su progenitor (Retamal y Durán, 1989). Las estructuras vegetales a que nos referimos son los embriones somáticos y pueden obtenerse a través de las técnicas convencionales de cultivo *in vitro*.

Las *semillas sintéticas* están formadas por: embrión somático, gel y polímero.

Actualmente el proceso de fabricación de *semillas sintéticas* pasa por las siguientes etapas:

1. Inducción de la embriogénesis somática.
2. Obtención y selección de los embriones somáticos (ES) maduros.
3. Sincronización del crecimiento de los embriones somáticos.
4. Proliferación de ES en un biorreactor.
5. Encapsulación y recubrimiento mecánico de los ES.

Semilla sintética es un término genérico de los embriones somáticos usados en la propagación clonal de plantas (Janick et al., 1993). La tecnología de la *semilla artificial* incluye dos partes: un sistema de micropropagación masiva a través del cultivo

de tejido mediante embriones somáticos y otras por yemas (Redenbaugh, 1993).

Las *semillas artificiales* consisten en un embrión somático encapsulado con una cápsula de protección, que tiene el propósito de la nutrición y protección del embrión, además manifiesta un bajo costo y un alto volumen como sistema de propagación (Redenbaugh, 1990). Los avances inherentes de la semilla artificial son la producción de muchos embriones y el uso convencional de las semillas por la técnica de embriones.

EL TIEMPO EN LAS SEMILLAS SINTÉTICAS

Podemos afirmar que las *semillas sintéticas* apenas tienen pasado. Los antecedentes más lejanos se remontan a la década de los años 70 cuando el profesor Murashige se dirigía a sus alumnos de la universidad de California para señalarles que “... algún día los embriones somáticos podrán ser encapsulados, convirtiéndose así en semillas artificiales”. Lo anterior está muy relacionado con el avance de la *biotecnología* en la esfera de la embriogénesis somática.

Desde el punto de vista científico nadie puede dudar que la primitiva idea de Murashige es hoy en día una realidad en diversos cultivos. Los países a nivel mundial que más desarrollo tienen en esta técnica resulta lógico que se encuentran entre los más desarrollados y empresas privadas que dedican gran cantidad de recursos a la obtención de *semillas sintéticas*. Ejemplos de estos tenemos: Japón, China, Estados Unidos, Francia, España, Canadá, entre otros. Además se trabaja en algunos países en vías de desarrollo.

Entre los cultivos en los que se ha trabajado a nivel mundial en la obtención de *semillas artificiales* tenemos: alfalfa, zanahoria, apio, especies forestales, cítricos, entre otros. Significativos avances se han obtenido durante los últimos diez años en la embriogénesis somática con considerable atención en la aplicación de la tecnología de la *semilla artificial* (Fujii et al., 1992).

Embriones somáticos de alfalfa pueden ahora ser producidos y tienen las reservas necesarias almacenadas y el vigor necesario para su conversión en el campo. Las *semillas sintéticas* son una revolución

en el sistema de propagación en la agricultura (Fujii, et al., 1987).

El origen de la idea de una *semilla artificial* es difícil de determinar (Redenbaugh et al., 1990); es en los años 70 cuando comienza a emplearse el concepto como un sistema de propagación potencial para los cultivos.

La tecnología de la *semilla sintética* ha alcanzado avances en los últimos años, desde la primera descripción de este sistema. Puede ser usado clonalmente para la propagación de plantas empleando embriones somáticos (McKersey et al., 1989); la aplicación de esta tecnología es diversa y el desarrollo de la *semilla artificial* promete una seria revolución en los aspectos de micropropagación, almacenamiento de germoplasma y otros métodos de plantas de semilleros en especies importantes de cultivo.

LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

La *embriogénesis somática* es la posibilidad de inducir la transformación de una célula no sexual y poco diferenciada en un grupo de células que sean capaces de originar un vástago y una raíz, constituye hoy en día, el factor limitante más importante a la hora de ampliar el número de especies en las que se pueden obtener *semillas sintéticas*. No obstante, la embriogénesis somática ya es una realidad y se ha obtenido en muchas especies, habiendo utilizado para ello diversas técnicas (Retamal y Durán, 1989).

Tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico o bioquímico las *semillas sintéticas* son muy similares a los verdaderos embriones de las semillas naturales; cuanto más se estudian éstos embriones somáticos más se parecen a los cigóticos, excepto lógicamente en la forma de lograr su mantenimiento y protección (Retamal y Durán, 1989).

Dada la delicada estructura que presentan los *embriones somáticos*, es evidente que no puedan encontrarse al descubierto; por el contrario, deben ir protegidos por un material blando y altamente hidratado que se adapte perfectamente a su estructura. Los geles son las sustancias que normalmente satisfacen todas estas necesidades, por lo tanto, las más empleadas en el recubrimiento



en la actualidad. Un criterio importante relacionado con la *semilla artificial* es que pueden producirse semillas de plantas recalcitrantes en algunos cultivos tropicales, facilitándose su almacenamiento y traslado.

Los primeros requerimientos para una *semilla artificial* son, la obtención de *embriones somáticos* con resultados normales en su desarrollo. La necesidad de una alta calidad en los embriones es actualmente limitante para la comercialización de las semillas y debe de ser discutido en detalle (Redenbaugh, 1990). La envoltura que recubre el embrión debe protegerlo, facilitarle la germinación y permitir su manipulación durante su almacenamiento, transporte y plantación; debe contener nutrientes, agentes reguladores del crecimiento y otros componentes necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas; por esto se hace necesario la producción del embrión para la obtención de la semilla sintética, finalmente debe considerarse que la plantación sea mecanizada.

La *embriogénesis somática* ofrece varios beneficios potenciales para la industria de plantas, incluyendo la proliferación en masa y la producción de metabolitos, a través del empleo de sistemas mecanizados que ofrecen posibilidades de su desarrollo (Rodríguez *et al.*, 1990). En el caso de la zanahoria se ha empleado un método para superar el asincronismo en el desarrollo de los embriones somáticos basado en la purificación de los embriones en fase de torpedo en suspensiones de embriones heterogéneos.

La propagación del café es generalmente a través de semillas con cultivos de semilleros antes de la plantación en el campo. En el cultivo del café la propagación vegetativa fue empleada por primera vez en 1887 y estos métodos son utilizados en nuestros días (Redenbaugh, 1990).

Las *semillas* son normalmente producidas por plantas cultivadas como consecuencia directa de un proceso sexual (Janick *et al.*, 1989); las semillas normales consisten en un embrión maduro con resistencia al almacenaje que presentan varios tejidos nutritivos y una envoltura necesaria para el almacenamiento de nutrientes, transporte y protección de las semillas; algo similar se persigue con la *semilla artificial*.

ENCAPSULADO DE YEMAS

El encapsulado puede llevarse a cabo en embriones y formar la *semilla artificial*, pero además pueden encapsularse yemas, lo cual tiene las ventajas siguientes: se elimina la fase de enraizamiento, aumenta el número de material de siembra, principalmente en aquellos cultivos donde la disponibilidad de semillas es limitada y especies en las que la producción de semillas botánicas es difícil, se mecaniza la fase de siembra, permite la incorporación de hormonas a la cápsula, productos fitosanitarios y microorganismos estimuladores del crecimiento, permite el almacenamiento, la conservación, la manipulación y transporte del material, favorece el intercambio de germoplasma, entre otras.

Las yemas axilares pueden ser establecidas en medios de cultivo, aisladas con una porción del tallo y mezcladas con solución de alginato de sodio. Esto se puede lograr en condiciones no estériles (semicontroladas de laboratorio), adicionándoles fungicidas para evitar la contaminación (Bapat, 1993). Las yemas encapsuladas se llevan al suelo para lograr su brotación.

EMPLEO DE FERMENTADORES Y LA EXISTENCIA DE LA VARIACIÓN SOMACLONAL

El análisis de la *embriogénesis somática* basado en el empleo de los *fermentadores o biorreactores* requiere de la cuantificación del desarrollo biológico, acorde con el número y la distribución por tamaño y de estructuras celulares (Harrell y Cantliffe, 1994).

Los *biorreactores* proporcionan muchas ventajas para el crecimiento de cultivo de plantas. La primera ventaja es el incremento en el volumen de trabajo y la segunda es que muchos *biorreactores* están equipados con un mecanismo que mantiene homogéneo el cultivo. Se pueden controlar el medio de cultivo y los parámetros físicos para lograr un crecimiento óptimo (Tautorus *et al.*, 1992).

La producción de *embriones somáticos* en *biorreactores* es utilizada para la propagación masiva de plantas por cultivo de tejidos o de células. En el cultivo de células en *biorreactores* se producen

metabolitos secundarios, los cuales juegan un papel importante en el empleo de las técnicas modernas (Nishimura et al., 1993). Se pueden lograr los clusters celulares aumentándose así el número de células embriogénicas aptas para la formación de embriones. La *variación somaclonal* puede ser detectada en los cultivos mediante variaciones genéticas, estudios fisiológicos y bioquímicos, donde estos pueden ser minimizados con el empleo de la *semilla sintética* (Redenbaugh, 1993b).

EL COSTO DE LAS SEMILLAS SINTÉTICAS

Según Redenbaugh (1989), citado por Retamal y Durán (1989), la posibilidad de encapsular *embriones somáticos* para diferentes cultivos depende fundamentalmente del costo de la estructura protectora utilizada en la encapsulación. De ahí los grandes esfuerzos que a nivel mundial los países más desarrollados están llevando a cabo para encontrar nuevos materiales, que sean más eficientes en el proceso de encapsulación o que permitan incorporar otros agentes tales como nutrientes minerales y orgánicos, reguladores del crecimiento, productos fitosanitarios e incluso microorganismos beneficiosos.

El creciente interés por la siembra directa, frente a las costosas operaciones de transplante, así como por la siembra de precisión, tanto en cultivos extensivos como en la mayor parte de los cultivos considerados tradicionalmente como hortícolas exigen cada vez más, el empleo de semillas de mayor calidad (Durán, 1989).

Según Redenbaugh (1993b), estimando el costo de la producción de la *semilla sintética* en el caso del cultivo de alfalfa, puede estar en los 0.068 USD por unidad y en el campo plantadas, 0.563 USD cada una; mientras que la micropropagación de las plantas ornamentales enraizadas puede estar entre 0.40 USD hasta 0.50 USD por unidad.

POSIBILIDADES DEL EMPLEO DE LAS SEMILLAS SINTÉTICAS

El gel que rodea el embrión no sólo le confiere protección sino que también lo nutre y puede controlar su crecimiento. Se pueden incorporar nutrientes minerales (nitratos, sulfatos, fosfatos,

etc.), orgánicos (aminoácidos fundamentalmente), micronutrientes (boro, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, etc.) y vitaminas, estos compuestos contribuye de forma decisiva a la nutrición de la plántula joven.

La encapsulación de *embriones somáticos* también permite colocar junto al embrión insecticidas, fungicidas, nematocidas u otros productos fitosanitarios; de este modo el embrión tendrá desde el primer momento una eficaz protección contra aquellas plagas, enfermedades u otros enemigos naturales de los cultivos que más puedan perjudicarlo. La eficacia de este tipo de protección es mucho mayor que la utilizada de forma tradicional, ya que las cubiertas seminales pueden llegar a ser un obstáculo importante a la hora de efectuar un tratamiento fitosanitario (Retamal y Durán, 1989).

Los *embriones somáticos* presentan uniformidad en su crecimiento e identidad genética, por ser tejidos vegetales de la misma edad y que han sido obtenidos a partir del mismo parental y bajo las mismas condiciones de cultivo, presentando el mismo estado de desarrollo, por ende su crecimiento es totalmente sincronizado, obteniéndose finalmente en el campo cultivos más uniformes.

Aunque todavía se encuentra en fase de estudios, varias empresas de productos fitosanitarios se han interesado por la incorporación de herbicidas al gel que rodea al embrión y este aspecto ha abierto un nuevo concepto en el campo de los herbicidas. El hecho de que el gel que protege y mantiene al embrión sea una sustancia rica en agua, permite la incorporación de microorganismos, algunos de los cuales pueden favorecer el crecimiento.

Algunas plantas, como las leguminosas, permiten la incorporación de microorganismos que pueden facilitar la fijación del nitrógeno atmosférico, por ejemplo tenemos el género *Rhizobium*. Para controlar el crecimiento del embrión también pueden incorporarse diversos compuestos de carácter hormonal, tales como: auxinas, giberelinas y citoquininas, siendo sustancias capaces de estimular el crecimiento, o inhibidores como el ácido abscísico. De este modo es posible mantener viables los embriones durante varios días a partir de su encap-



sulación y al mismo tiempo, estimular su capacidad de crecimiento en el momento que sean colocados en condiciones favorables de humedad, temperatura y aereación.

Las *semillas sintéticas* brindan la posibilidad de incorporar rápidamente cualquier logro que pueda obtenerse a partir de la manipulación genética vegetal. Según Redenbaugh (1993a), son de fácil almacenamiento, permiten obtener plantas vigorosas y uniformes en el campo, son relativamente poco costosas, contienen reservas alimenticias, fungicidas, etc., en el endospermo sintético y facilitan la siembra mecanizada.

Esta tecnología facilita el almacenamiento e intercambio de germoplasma que constituyen dos actividades de gran importancia para la agricultura (Redenbaugh, 1993b). Las *semillas artificiales* se obtienen a partir de *embriones somáticos* encapsulados, permitiéndose la propagación masal de plantas élites en invernaderos o directamente en el campo (Fujii et al., 1987).

COMPORTAMIENTO EN EL CAMPO DE LAS SEMILLAS ARTIFICIALES

Los *embriones somáticos* encapsulados, ofrecen un método para facilitar que el material vegetal obtenido mediante el cultivo de tejidos pueda ser sembrado directamente en invernaderos o en el campo. La propagación por *semilla artificial* posibilita la masividad de cultivos heterocigóticos y proporciona una alta calidad en la producción de semillas en comparación con los métodos convencionales de semilleros (Fujii et al., 1992).

Para lograr la germinación de las *semillas artificiales* en el suelo debe controlarse el medio ambiente, el cual es como un incubador, requerimiento este para la conversión de los *embriones somáticos* en raíz, vástagos y formación de hojas. Las más altas conversiones se han obtenido en alfalfa con un 20% en suelo. Por el contrario, en embriones de zanahoria con el empleo del fluido trillado en suelo de invernaderos sobreviven por espacio de 7 días pero no ocurre la conversión (Fujii et al., 1987).

CONCLUSIONES

- 1.— La posibilidad de obtener *semillas sintéticas* ha dejado de ser una ilusión científica para convertirse en una realidad e incluso en un desafío tecnológico a la hora de obtener nuevos cultivares mejor adaptados a determinados factores adversos.
- 2.— La automatización del proceso de obtención de *semillas artificiales* se impone como una necesidad para el escalado a producción.
- 3.— Es de vital importancia tener presente los costos para la producción de las *semillas sintéticas*, teniendo en cuenta que sean inferiores al de la producción de las *semillas verdaderas*.

NOTA DE LA REDACCIÓN

Por limitaciones de espacio no se ha podido incluir la lista completa de referencias bibliográficas que acompaña a este artículo. Los interesados en obtenerla en formato electrónico pueden solicitarla directamente a la dirección de correo electrónico de Cuadernos de Biodiversidad.

INAUGURACIÓN DEL MUSEO DE LA BIODIVERSIDAD DE IBI (ALICANTE)

Segundo Ríos Ruiz

CIBIO

El día 30 de septiembre de 2004 se inauguró el Museo de la Biodiversidad en el municipio alicantino de Ibi. El Museo muestra una exposición permanente sobre la Biodiversidad Mediterránea diseñada y realizada por el CIBIO y que ha contado con el patrocinio de la Fundación Biodiversidad del Ministerio de Medio Ambiente, así como con el decisivo apoyo del Ayuntamiento de Ibi, cuya firme voluntad y disposición han sido determinantes para hacer realidad una de las aspiraciones del CIBIO, que tras haber realizado diversas exposiciones temporales por Alicante y otras provincias españolas (Murcia, Granada actualmente, Logroño en los próximos meses), deseaba crear un espacio expositivo permanente sobre biodiversidad en el que se pusiera a disposición del público una parte de nuestras importantes colecciones de fauna y flora.

La temática del Museo se va a centrar en los *ecosistemas mediterráneos* y los medios agrícolas y antrópicos ligados a ellos como resultado de una antigua y profunda transformación en equilibrio entre la explotación de los recursos y la conservación a largo plazo de los mismos, eso que en la actualidad denominamos *desarrollo sostenible*.

El Museo de la Biodiversidad tiene como fin último concienciar a la sociedad en general de los valores de la conservación de los ecosistemas mediterráneos y de los problemas que actualmente constituyen una amenaza para las especies animales y vegetales que los habitan y por este fin velará la dirección científica del Museo que llevará a cabo el CIBIO en estrecha coordinación con la Conce-

jalía de Medio Ambiente del Excmo. Ayuntamiento de Ibi.

El Museo de la Biodiversidad de Ibi, pondrá a disposición del visitante colecciones de plantas, animales perfectamente identificados, e integrados en los hábitat donde viven (suelo, rocas, etc.), en el interior de vitrinas con sistema de iluminación incorporado. Las vitrinas representan a escala nuestros principales hábitat mediterráneos, así como algunos de los usos principales del bosque mediterráneo y de los cultivos adyacentes. Junto a las vitrinas se disponen carteles informativos en diversos formatos, que explican el contenido de las vitrinas, las cuales se completan con juegos interactivos y proyecciones de corta duración.

Aunque el Museo contará con un monitor para guiar las visitas, se ha elaborado abundante material gráfico como trípticos, manuales para profesores y alumnos, etc., que permiten al visitante entender y obtener la información disponible en el Museo de la Biodiversidad de forma autónoma. El CIBIO asume la dirección científica de la exposición y aporta la mayor parte de las colecciones expuestas, aunque también ha habido aportaciones de particulares y de los fondos propios del Ayuntamiento de Ibi.

Esta iniciativa, junto con la creación de la Estación Biológica de Torretes-Font Roja y otras actividades como Jornadas Medioambientales, Campos Internacionales de Verano para voluntarios ambientales, etc., convierten a Ibi en uno de los municipios que lidera la defensa y estudio de la Biodiversidad en la Comunidad Valenciana.



 **Universitat d'Alacant**
Universidad de Alicante

 **REGIÓN DE MURCIA**
Consejería de Agricultura, Agua y
Medio Ambiente
Dirección General del Medio Natural