

SEMILLAS SINTÉTICAS EN LA SILVICULTURA NACIONAL

L. Pedro Barrueto Cid¹

La incorporación de biotecnología en el sector forestal chileno puede presentar nuevos niveles de productividad y sustentabilidad ambiental, por tanto, contribuir eficazmente en el distanciamiento tecnológico respecto a sus competidores, siempre y cuando este sector presente mayor valor agregado en sus productos. Sin embargo, vemos con preocupación que este sector, a pesar de que las técnicas biotecnológicas tienen ya décadas de existencia, no tiene protocolos que lo capaciten para producir material clonal en escala comercial.

El cultivo *in vitro* junto con las técnicas moleculares del DNA constituyen la base de la ingeniería genética y a la par con el área de la fermentación, son el corazón pulsante de lo que hoy es la moderna biotecnología.

El cultivo de tejidos de planta, como herramienta biotecnológica, ofrece una serie de modalidades técnicas capaz de dar **input** a la competitividad de la agricultura y silvicultura nacional.

Por eso, es necesario salir del nivel de poca envergadura en que se encuentran las investigaciones biotecnológicas del ámbito silvicultural, pues hay expectativas de que este sector realice un aporte diferencial en términos de productividad y de costos, especialmente, en lo concerniente a forestas clonales.

¿Qué son las semillas sintéticas?

Cuando clones son producidos, la propia dinámica del sistema obliga a tener que transportar material o intercambiar germoplasmas, es entonces, que surge la necesidad de un procedimiento expedito para viabilizar soluciones técnicas en función de tales intercambios.

A este respecto, la cultura de tejidos de plantas, ofrece la alternativa de "semillas sintéticas".

Este concepto fue importado del inglés, *synthetic seed*, y envuelve la idea de encapsular propágulos, ejemplo, gemas axilares. Tales gemas axilares son obtenidas a partir material clonal producido *in vitro*. Foto 1.

Las yemas cultivadas *in vitro*, mismo encapsuladas, bajo

condiciones adecuadas, con la presencia de sales minerales, vitaminas, sacarosa, luz, temperatura, etc. comenzarán a germinar o convertirse en plántulas o clones.

El concepto biológico que subyace para que esto sea posible es el de totipotencialidad, esto es, la premisa de que una parte separada de la planta (órganos, tejidos o células) cuando es manipulada correctamente puede generar una planta completa, en virtud de que en sus núcleos está la información genética necesaria para que esto acontezca, entonces le corresponderá al ambiente, medios nutritivos y condiciones *in vitro*, el impacto positivo de producir un nuevo individuo o clone.

Ventajas del sistema

Las semillas sintéticas además de facilitar el intercambio de germoplasmas, puede evitar la constante transferencia o repicaje *in vitro* del material, bien como, almacenar germoplasma y gerenciar mejor la producción de mudas a lo largo del año.

La transferencia de germoplasma de un país a otro, o de una región a otra, dentro las fronteras de un país, representa problemas del transporte del material, sobre todo por los costos aéreos y embalajes. En el caso de dominarse esta técnica y poseer protocolos eficientes, en pequeños recipientes pueden ser transportados cientos de material clonal a bajo costo, que, cuando son recibidos por el laboratorio receptor podrá convertir ese material encapsulado en plantas para uso experimental o de pruebas de campo.

Respecto a la propagación y manipulación de material *in vitro* de origen clonal, este es un desafío de cualquier laboratorio, especialmente cuando estamos hablando de miles de plantas con fines comerciales como por ejemplo: *Acacia mearnsii* (productora de taninos) o *Persea lingue* (madera para mueblería).

En este caso, podría el material guardarse temporalmente, yemas o embriones somáticos, por algunos meses y luego

¹ Biólogo (Ph.D.), e-mail: lpbcid@gmail.com. Fotos del autor

reactivar el mismo, conforme a las necesidades o demandas externas del laboratorio, en lugar de estar repicándolo periódicamente, con gasto de material y de mano de obra, siendo esto último, uno de los aspectos más onerosos del funcionamiento de un laboratorio de cultivo de tejidos.

El almacenaje de germoplasma es otro caso en que las semillas sintéticas podrían ser utilizadas, una vez encapsulado el material. Éste podría guardarse por más tiempo, 12 ó 24 meses, en una incubadora con baja temperatura, 5° C-10° C, por tanto, sin llegar a la crioscopia o uso de nitrógeno líquido, el cual, es un método más dispendioso y exige más habilidades tecnológicas para operar.

Conviene recalcar que con el desarrollo de esta tecnología los costos de mantención de germoplasmas se reducirían considerablemente, porque en lugar de mantener ese material en el campo, con los consecuentes cuidados de fertilización, fitosanidad y desmalezamiento, entre otros. Sencillamente, un par de metros cuadrados de laboratorio permitirán contener toda una gama de material genético diferente.

La propagación vegetativa o micropropagación como en el presente caso, semillas sintéticas, además de preservar el material en excelente estado fitosanitario, ofrece la posibilidad de obtener un material sin alteraciones fenotípicas, variación somaclonal, porque este es derivado ya de un órgano preformado como en caso de una yema o embrión somático.

¿Cómo realizar el encapsulamiento?

A continuación se describirá brevemente el protocolo de encapsulamiento del proceso

1. Como cualquier modalidad de la micropropagación primero es necesario disponer de una cámara de flujo laminar, pues ella nos preservará de cualquier posible contaminación, considerando la manipulación a la que se someterá durante el encapsulamiento.

2. Vamos a suponer que ya en laboratorio disponemos plantas in vitro de una especie forestal cualquiera, que las plantas tienen alrededor de 6 cm de largo. Estas son extraídas de los respectivos tubos de ensayo, colocadas en una placa Petri y cortada en pequeños segmentos, 0,6cm, de modo que, cada uno de ellos posea una yema axilar o dos, dependiendo de la especie.



Foto 1. Segmentos de tallo de una planta in vitro, con yemas axilares, las cuales serán sometidas primero a alginato de Na y después a Cloruro de Ca.

3. A continuación son colocados, en una mezcla de alginato de Na (3%) y sacarosa (2%), la cual fue, previamente autoclavada a 100° C por 15 minutos. Esta mezcla puede ser enriquecida, eventualmente, con hormonas o medio nutritivo conforme el protocolo experimental que se esté siguiendo.

4. Una vez colocado todo el material en esta mezcla, se procede a retirarlo uno a uno con una pipeta Pasteur adecuada para esto, y transferir el material para una solución de cloruro de Ca, 80 ml a 1%, también previamente autoclavada. En este caso, la solución se encuentra en circulación con un agitador magnético, de modo que, los fragmentos con sus respectivas yemas no se vayan al fondo del recipiente. Todo esto dentro de la cámara de flujo laminar.

5. Conforme el tiempo va pasando, se van formando esferas o cápsulas de alginato de Ca, conteniendo en su interior los pequeños segmentos con sus respectivas yemas, "beads".

6. Cuando ya se han acumulado suficiente "semillas sintéticas", éstas son retiradas de la solución de alginato, lavadas con agua esterilizada y depositadas en una placa Petri.

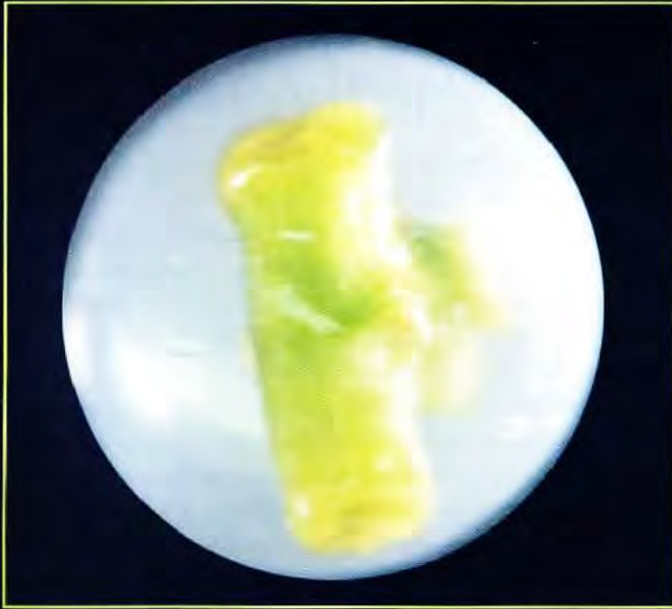


Foto 2. Micro estaca de una planta in vitro, con presencia de una yema axilar (lado derecho). Así, yemas axilares de una especie forestal, pueden encapsularse y almacenarse a una dada temperatura. En estas condiciones las yemas, pueden también cruzar fronteras entre países en función de un intercambio activo de germoplasmas. Escala aproximada: 7 mm de diámetro.

7. Ahora, el material puede ser inoculado en un medio nutritivo, tubo de ensayo o placa Petri, y dejarlo en una incubadora con temperatura controlada, 5°C, 10°C, 15°C por el tiempo necesario conforme protocolo experimental.

8.- Transcurrido este tiempo, la recolocación del material bajo condiciones estándar del laboratorio, foto período 16 h luz y 50 $\mu\text{mol-2 s}^{-1}$, más, temperatura de 25°C será suficiente para permitir la conversión de yemas en plantas.



Foto 3. Después de algún tiempo y bajo condiciones adecuadas de laboratorio, la yema encapsulada comienza a brotar.



Foto 4. La yema brotada comienza a transformarse en planta, bajo las condiciones bióticas y abióticas de las condiciones in vitro empleadas.

Comentario final

En la actualidad existen varias publicaciones científicas a este respecto, mostrando la preocupación e interés por dominar esta técnica. Sin duda que, en el ámbito de especies forestales ella será promisoría como plataforma biotecnológica de la silvicultura nacional. Siendo así, mientras más temprano comiencen estos trabajos, tanto a nivel de graduación o póst-grado, más favorecidos y apoyados se sentirán los emprendedores del sector y probablemente, mayor será el impacto del sector forestal en el PIB del país. Exactamente esa es la cuestión: cómo transformar conocimiento en riqueza, pero, sin olvidar de que por medio está la cuestión de la equidad. ■

Referencias

- Bapat, V.A. and Rao, P.S. 1988. Sandalwood plantlets from 'Synthetic seeds'. Plant Cell Reports v.7:434-436.
- Barrueto Cid, L.P., Cruz, A.R.R. & Carvalho, L.J.C. Encapsulation of Cassava nodal segments for germoplasm storage. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. EMBRAPA Genetic Resources and Biotechnology, C.P. 02372, CEP 70849-970, Brasília-DF, Brazil. (En prensa).
- Piccioni, E. and Standardi, A. . 1995. Encapsulation of micropropagated buds of six woody species. Plant Cell, Tissue Organ Culture, v. 42:221-226.