

PROPAGACIÓN DE VEGETALES IN VITRO POR CULTIVO DE TEJIDOS

Carlos López Encina

El cultivo de tejidos es una técnica muy usada en la actualidad en la propagación de vegetales, y permite cultivar células, tejidos u órganos en un medio de cultivo de composición conocida, asépticamente y en unas condiciones ambientales controladas.

Desde el año 1904, en que Haberlandt propuso que debían existir ciertas hormonas, desconocidas entonces, que regularan la división, elongación, diferenciación celular y otros fenómenos morfogénicos, hasta el momento actual, esta técnica ha alcanzado un gran desarrollo, al cual contribuyeron de manera muy significativa Kogl, Haagen-Smit y Erxleben al descubrir la primera auxina, el AIA, en 1934; Morel y Martin, al conseguir cultivar meristemas apicales en 1982; Skoog y Miller, en 1956-57 descubriendo las citoquininas y estableciendo que la relación auxina/citoquinina controlaba la morfogénesis vegetal; y Murashige y Skoog, que en 1962 establecen un medio de cultivo con una combinación de macroelementos y microelementos, que ha sido la "panacea" para la mayoría de los medios de cultivo utilizados hasta la fecha en múltiples especies.

Se pueden establecer cuatro etapas en el método:

- Acondicionamiento del material (Fase 0): Esta fase conlleva una serie de tratamientos fitosanitarios y culturales sobre las plantas originales a cultivar, con objeto de obtener un estado fisiológico y fitosanitario óptimo, antes de su establecimiento in vitro.

- Establecimiento de un cultivo aséptico (Fase I): Esta fase tiene como objetivo la obtención de un número aceptable de propágulos (explantos) libres de contaminación (bacterias, hongos,...). Los métodos más usuales son lavado con hipoclorito sódico, hipoclorito cálcico, alcohol, detergentes,... Para contaminaciones endógenas se indica la termoterapia, antibióticos, y si los resultados no son satisfactorios se recurre al saneamiento total de la planta por cultivo de meristemas.

- Multiplicación de los propágulos (Fase II): Se puede conseguir por tres métodos: Inducción de órganos axilares, inducción de órganos adventicios, e inducción de embriones somáticos.

La elección del método de multiplicación es fundamental, siendo necesario considerar el tipo de planta (herbácea, leñosa), la tasa de multiplicación requerida y la variabilidad genética admisible o deseable. Así el método de inducción de tallos axilares se caracteriza por una gran estabilidad genética del material obtenido y la menor tasa de multiplicación de los tres métodos, y los otros métodos presentan una alta tasa de multiplicación y un elevado índice de variabilidad genética.

- Enraizamiento y aclimatación (Fase III): El enraizamiento es factible in vitro o ex vitro dependiendo

de la especie. Es necesario diferenciar claramente las especies herbáceas (normalmente fáciles de enraizar), de las especies leñosas adultas (difíciles de enraizar) en las que es necesario utilizar a veces técnicas de rejuvenecimiento previas a la etapa de enraizamiento: microinjertos, podas severas a la planta madre, injertos en cascada, etiolación y subcultivos sucesivos.

El enraizamiento de los tallos procedentes de la multiplicación se induce por tratamiento con auxinas.

La aclimatación implica un cambio metabólico de las plantas de heterotrófico a auxotrófico, con el restablecimiento de la actividad fotosintética de las plántulas y la adecuación general a condiciones ambientales de mayor intensidad luminosa y menor humedad relativa. Esto se consigue de forma gradual, protegiendo el material transplantado en un sustrato adecuado en túneles de plástico, con niebla artificial y sombreados.

En cuanto a los requerimientos del cultivo de tejidos podemos diferenciar los físico-químicos del medio de cultivo y los medioambientales. Entre los primeros están incluidos el pH, consistencia del medio (líquido, sólido) y la propia composición del medio: sales minerales (macroelementos, microelementos), sustancias orgánicas (reguladores de crecimiento, hidratos de carbono, vitaminas, aminoácidos y los complejos naturales: leche de coco, zumos de frutas). Los requerimientos medioambientales son básicamente dos, la temperatura que debe ser constante y su óptimo se encuentra a unos 25 °C, y la luz, en la que se debe considerar la intensidad, fotoperíodo y calidad.

Completando esta introducción al cultivo de tejidos vegetales, es necesario enumerar otras aplicaciones de esta técnica aparte de la micropropagación vegetativa clonal, a saber:

- Obtención de plantas libres de patógenos mediante la técnica de cultivo de meristemas y microinjerto in vitro.

- Mejora genética mediante cultivo de anteras, óvulos y embriones, para solucionar problemas de incompatibilidades en la obtención de híbridos interespecíficos y también cultivos de células y protoplastos, en selección, mutagénesis e ingeniería genética.

- Obtención de metabolitos secundarios, de interés farmacológico e industrial.

Todas estas aplicaciones son objeto de intenso trabajo a nivel de investigación científica, y en mayor o menor grado de explotación industrial.

Carlos López Encina es Colaborador Científico de la E.E. La Mayora (CSIC).