

Montserrat Estopà Bagot

montse@cultiusroig.com

Doctora en Biología

Jefe del Departamento I+D
Cultius Roig

■ Situación actual

El cultivo *in vitro* en la reproducción vegetativa en plantas de vivero

El cultivo in vitro de tejidos vegetales es una definición genérica que incluye el cultivo de protoplastos, de células, de tejidos, de órganos y de plantas

Las nuevas tecnologías han aumentado los métodos a través de los cuales las plantas se pueden propagar de manera vegetativa. El cultivador debe decidir qué método utilizar. Su elección dependerá de la velocidad con la que las nuevas plantas se precisen, el coste de la producción de éstas, y la calidad del producto final. Una de las alternativas es la utilización de las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es una definición genérica que incluye el cultivo de protoplastos, de células, de teji-

dos, de órganos y de plantas. Estos diferentes tipos de cultivo tienen como factor común, el crecimiento en condiciones estériles, en un medio nutritivo, generalmente gelificado, y en condiciones ambientales controladas (temperatura y luz), y por tanto óptimas. Así, se cultiva una determinada parte de la planta original, se induce la formación de brotes, se multiplican y las plantas o brotes obtenidos deben someterse a un proceso de aclimatación para adaptarlas de nuevo a las condiciones *in vivo*, dónde se cultivan hasta diferentes estadios según la



El cultivo *in vitro*, en todas sus formas, tiene como factor común el crecimiento en condiciones estériles en un medio nutritivo, generalmente gelificado y en condiciones ambientales controladas. En la foto gradeta de geranio dentro de flujo laminar.

El nombre de cultivo *in vitro* proviene del hecho de que todo el cultivo se realiza habitualmente en recipientes de vidrio aunque actualmente también se utilizan otros materiales como el polipropileno. En las imágenes cámara de cultivo y túnel de aclimatación.



finalidad. El nombre de cultivo *in vitro* proviene del hecho de que todo el cultivo se realiza habitualmente en recipientes de vidrio aunque actualmente también se utilizan otros materiales como el polipropileno. I el término más ampliamente utilizado para designar la técnica de cultivo de tejidos utilizada para propagar vegetativamente una planta es el de micropropagación.

Se ha escrito mucho sobre las aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales en los viveros. El cultivo de tejidos normalmente se piensa en que es práctico sólo para la propagación de aquellos cultivos que son difíciles de propagar por los métodos convencionales. Y no es sólo esto. La micropropagación es beneficiosa para este tipo de cultivos y además para aquéllos que son fáciles de propagar por métodos convencionales pero que con el cultivo *in vitro* adquieren alguna característica que los hace ventajosos.

Las especie o cultivos se seleccionan para ser introducidos *in vitro* según el siguiente criterio: especies que tienen problemas de regeneración *in vivo*, es decir, un bajo porcentaje de germinación (*Pelargonium peltatum*); especies en que las plantas de uno de los sexos tiene valor comercial (*Ilex*

aquifolium); especies difíciles de propagar (*Acacia dealbata*); especies a las que se les quiere aplicar la técnica de la ingeniería genética (*Dianthus caryophyllus*) y especies en las que al micropropagarlas adquieren alguna característica que les hace incrementar su valor comercial (*Lavandula angustifolia*).

Para un viverista o cultivador, el cultivo de tejidos vegetales *in vitro* se utiliza, además de la micropropagación, para conseguir los siguientes objetivos: multiplicación, saneamiento y conservación de nuevas variedades (seedlings) y saneamiento de variedades susceptibles a determinadas patologías.

Me gustaría resaltar el uso del cultivo *in vitro* para esta última finalidad: obtención, mantenimiento y micropropagación de plantas libres de determinados patógenos. Las plantas con estas características adquieren un alto va-

lor en el mercado y son requeridas por aquellos viveristas, a pesar de su coste, cuyo producto final es la venta de esquejes con o sin raíz que se obtiene del cultivo de plantas madres libres de virus y bacterias para la cual ese cultivo es susceptible. Éste sería, por ejemplo, el caso del geranio o de la petunia.

La micropropagación

La aceptación por parte del cliente de material procedente de micropropagación era restrictiva en los inicios pero, sobretodo debido a la calidad de las plantas procedentes de *in vitro* que llegaba a los viveros, se ha ido requiriendo de esta técnica.

Una de las principales ventajas desde un punto de vista comercial es que la micropropagación es una técnica de clonaje con la cual:

- Se puede llevar a cabo de una manera rápida la multiplicación de un determinado clon.
- Se necesita poco espacio.
- Se puede obtener planta durante todo el año.
- Proporciona a la planta características que son ventajosas y que hacen que aumente el coste de la planta obtenida.

Desde el punto de vista fisiológico, las plantas adquieren cam-

■ Las nuevas tecnologías han aumentado los métodos a través de los cuales las plantas se pueden propagar de manera vegetativa. El cultivador debe decidir qué método utilizar

TERRACOTTEM®

Más eficacia | Más calidad | Más beneficios

INCREMENTO DE BIOMASA POR PLANTA

TRATAMIENTOS	Incremento de Biomasa por Planta
TerraCottem	1,41
Control	1,10

TERRAVIDA

Río Darro, s/n, local 25-6 | 29650 MIJAS-COSTA | MÁLAGA
 Tel.: 95 258 25 99 | Fax: 95 246 77 70 | www.terravida.com | info@terravida.com



Hay especies, como la *Lavandula angustifolia*, que con la micropropagación adquieren alguna característica que les hace incrementar su valor comercial.



bios o obtienen características que afectan al crecimiento y fisiología de éstas. La mayoría de ellos añaden valor a la planta micropropagada *in vitro*. Estamos de acuerdo en que estas características adquiridas son consecuencia de que el material vegetal sufre un "aparente rejuvenecimiento". Las plantas procedentes de *in vitro* adquieren una o más de las características propias de la planta en fase de crecimiento juvenil. Éstas son o pueden ser:

- Aumento en la producción de brotes laterales y de la tasa de multiplicación.
- Hojas pequeñas, entrenudos más cortos y tallos más finos.
- Capacidad de enraizar alta y habilidad de formar raíces adventicias.
- Recuperación del vigor en el crecimiento.

Desde el punto de vista genético puede ocurrir que debido al

VIVERO DE OLIVOS ARBEQUINOS

Sanidad Vegetal Garantizada
Arbequino Estándar y Clon IRTA-i.18®

plantAl-lus
PLANTA TRADICIONAL MEDITERRÁNEA

Camino de Vallcaient nuevo, km 6 - 25193 Lleida
 Teléfonos 655 96 90 35 - 655 96 90 55
 E-mail info@plantal-lus.com

■ La elección del método de propagación dependerá de la velocidad con la que las nuevas plantas se precisen, el coste de la producción y la calidad del producto final. Una de las alternativas es la utilización de las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales

VIVEROS

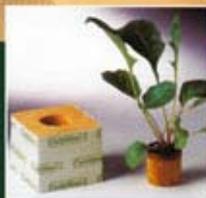
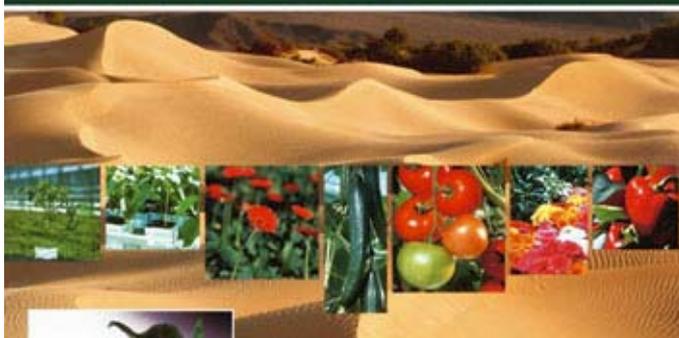


proceso de cultivo *in vitro* salgan a la luz diferencias entre las células, tejidos y órganos. La posibilidad de este riesgo hace que algunos métodos de cultivo de tejidos no se utilicen para la micropropagación rutinaria en un laboratorio comercial. Por eso, la técnica mayoritariamente extendida en la micropropagación es a partir de tejido organizado, principalmente a partir de brotes y de entrenudos. Manteniendo la organización celular que caracteriza a un órgano, mantenemos su integridad y función en el cultivo *in vitro* evitando posibles mutaciones (variación somaclonal), de la misma manera que cuando en un vivero se propagan las plantas vegetativamente. Por tanto no debemos esperar

Las plantas o brotes obtenidos se someten a un proceso de aclimatación para adaptarlas de nuevo a las condiciones *in vivo*, dónde se cultivan hasta diferentes estadios según su finalidad.



**Un Buen Inicio,
Una Mejor Producción**



SAINT-GOBAIN
CULTILENE



Cultilène

*Bloques para Semilleros
Tablas para cultivos*

PROCUSTIC

Procustic, S.A.
Polígono Industrial AIDA. Autovía de Aragón, km. 43,800
19200 Azuqueca de Henares (Guadalajara)

Dpto. Comercial: Manuel Pérez Escobar
Responsable técnico-comercial
Telf.: 639 33 10 21 - Fax. 950 20 83 25
e-correo: manuel.pescobar@saint-gobain.com

Fábrica: Tfnos: 949 268 390 / 949 268 402 - Fax: 949 264 801
e-correo: procustic@saint-gobain.com

que por este método se obtengan más mutaciones al azar que las que aparecen por métodos de propagación vegetativa convencional.

Indistintamente del método utilizado para micropropagar y del tejido del que hemos partido para su introducción *in vitro*, el laboratorio puede producir brotes con o sin raíz que provienen directamente de condiciones *in vitro* (por tanto sin aclimatar). En este caso, este material solamente puede suministrarse a cultivadores que dispongan de túneles de aclimatación. El laboratorio también puede producir brotes ya aclimatados, enraizándolos *in vitro* o *ex vitro*, lo cual dependerá de los costes de producción.

Los laboratorios comerciales existentes actualmente se pueden clasificar en:

- Laboratorios que sólo venden el producto directamente del laboratorio, y los cultivos se venden en los frascos en diferentes estadios.

- Laboratorios unidos a invernadero, que venden los mismos productos que el anterior más material aclimatado.

- Laboratorios construidos dentro del vivero ya existente, y por tanto el material va destinado al consumo del vivero excepto en algunos casos que se puede vender algo al exterior.

- Laboratorios al servicio de empresas obtentoras que reproducen las variedades obtenidas por micropropagación (o como banco de germoplasma) o bien utilizan estas técnicas dentro del proceso de obtención de nuevas variedades a través de ingeniería genética.

La rentabilidad que para un vivero puede tener el disponer de un laboratorio de cultivo *in vitro* vendrá determinada como es lógico, por factores económicos. Para ello deben responderse alguna de las siguientes preguntas:

¿El proceso de micropropagación es eficiente? ¿Son los costes de producción de estas plantas rentables? ¿Pueden las plantas micropropagadas *in vitro* ser producidas en cantidades suficientes en que su coste pueda ser comparado



con el de la propagación convencional? ¿Salimos con ventaja trabajando con material de este tipo? ¿Las plantas obtenidas *in vitro* encajaran en alguna de las fases de la secuencia de producción del vivero? ¿Si las plantas producidas *in vitro* no se van a consumir en el vivero, disponemos de agilidad en la venta de éstas?, es decir, ¿existen alrededor del laboratorio canales de distribución abiertos y eficaces?. En el área donde trabajamos, ¿hay gran oferta de los productos que se producen *in vitro*?

Eficiencia del proceso de micropropagación

Los costes de la micropropagación están influenciados por un gran número de factores, tales como el coste de las instalaciones del laboratorio (edificio y equipamiento), el coste del material fungible (medios de cultivo, recipientes, pequeños aparatos), la mano de obra y el genotipo de la especie que se quiera micropropagar, ya que condicionará que los diferentes pasos del proceso de culti-

La plantas procedentes de cultivo *in vitro* adquieren una o más de las características propias de la planta en fase de crecimiento juvenil.

vo *in vitro* y transferencia del material vegetal *in vivo* sean más o menos eficientes. Así, según la planta que se desee micropropagar, nos podemos encontrar con una mayor o menor:

- Dificultad de establecer el cultivo.

- Rapidez o efectividad para multiplicarse y de obtener una tasa de multiplicación aceptable.

- Aptitud para el enraizamiento de los brotes *in vitro* o *ex vitro*.

- Pérdida de plantas durante las diferentes fases del proceso de micropropagación (i.e. pérdida de plantas por contaminación, brotes afectados por vitrificación, plantas que no superan el proceso de aclimatación...).

- Viabilidad en la obtención del número de plantas finales requeridos (si forma parte de un requerimiento puntual o si forma parte de un proceso continuo por requerimiento del vivero o bien del mercado).

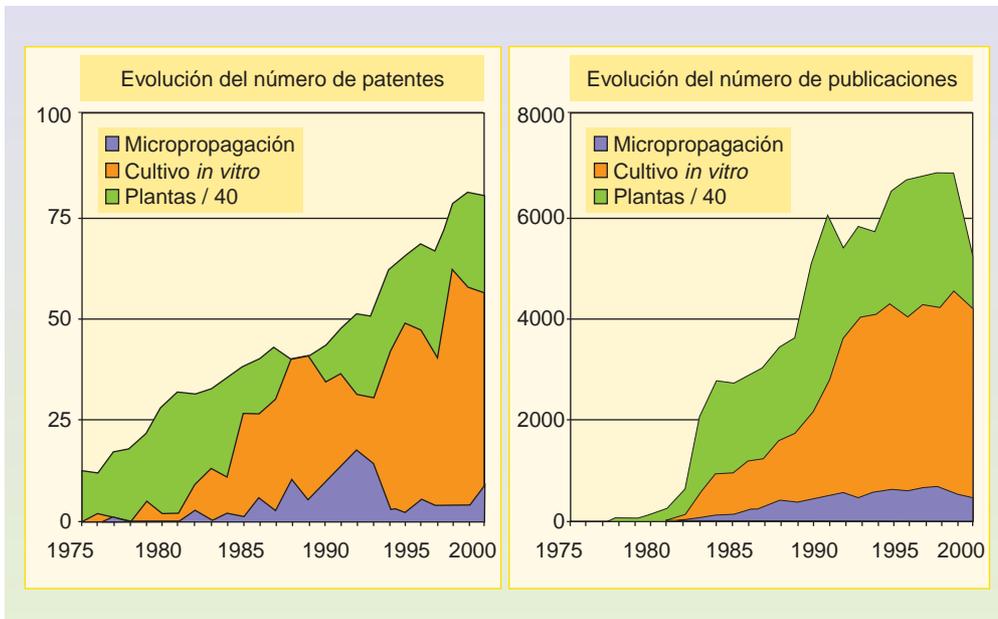
Los puntos críticos del cultivo *in vitro* son, principalmente, el establecimiento del cultivo estéril, la vitrificación durante la fase de multiplicación y las pérdidas durante la fase de aclimatación *in vivo* de las plantas. La bibliografía sobre estas cuestiones es bastante escasa en comparación con otros campos. Este hecho puede observarse en la gráfica 1 "Evolución del número de publicaciones en las que se trabaja con plantas", que avanza en paralelo con la gráfica "Evolución del número de patentes relacionadas con plantas". En lo que hace referencia a publicaciones en el área de la micropropagación ésta se ha estabilizado en los últimos años después de un incremento en los años iniciales del cultivo *in vitro*, al igual que las patentes. Por otra parte, muy frecuentemente la investigación que se publica sobre micropropagación no es aplicable directamente en los procesos de un laboratorio comercial. Ésto puede ser debido a toda una serie de factores inherentes a cada laboratorio (tipo de frasco utilizado en los experimentos, tipo de sellado de éstos, volumen de medio en los

Los puntos críticos del cultivo *in vitro* son, principalmente, el establecimiento del cultivo estéril, la vitrificación durante la fase de multiplicación y las pérdidas durante la fase de aclimatación *in vivo* de las plantas



Gráfica 1:

Evolución del número de patentes y publicaciones relacionadas con plantas en general, con cultivo *in vitro* de plantas y con micropropagación de plantas.



frascos, etc), que hará que no resulte rentable su utilización en un laboratorio de micropropagación, aún sabiendo que son factores altamente influyentes en el cultivo de las especies *in vitro*. En consecuencia los laboratorios deben hacer investigación por ellos mismos y tratar que el proceso sea lo más rentable posible.

Uno de los factores críticos es, como hemos dicho, el alto coste de la mano de obra. Este hecho ha desencadenado que un gran número de laboratorios de micropropagación se hayan trasladado a países donde la mano de obra es más barata, o bien a llevarlo a automatizar alguna de las operaciones que se llevan a cabo durante el proceso de micropropagación. Así entre ellas está: la automatización en la preparación y distribución del medio de cultivo, la separación o división de los brotes obtenidos (como cada especie es diferente este proceso es



INVERNADEROS IMA
INDUSTRIAS METÁLICAS AGRÍCOLAS, S.A.
 Pol. Industrial Comarca 2 Tel: 948 184 117 • Fax: 948 184 668
 Calle F, nº 12 e-mail: ima@invernaderosima.com
 31191 BARBATAIN (Navarra) http://www.invernaderosima.com

Cuadro 1:

Evolución del número de laboratorios de cultivo *in vitro* en Europa, España y Catalunya según datos recogidos en los proyectos COST 87, COST 882 y COST 843

	1981	1988	1990	1993	1996	2002
Catalunya oficiales	1	2	4	5	5	5
Catalunya comerciales	1	7	8	6	8	7
España oficiales	3	8	13	17	21	28
España comerciales	2	11	12	11	14	17
Europa oficiales		154	247	329	307	256
Europa comerciales		137	170	172	193	129



Después de unos años del boom inicial, los laboratorios comerciales actualmente existentes dedicados exclusivamente a la micropropagación han adaptado su producción a la demanda y tienen una buena canalización del producto. Foto: Compo Agricultura.

más difícil de automatizar pero ya existen robots que realizan este proceso). Otra opción es reducir alguna de las etapas del proceso de micropropagación como puede ser la utilización del medio de dos fases (sólida más líquida), o enraizamiento *ex vitro*.

Posibilidad o agilidad en la venta del producto

En España la micropropagación y venta de plantas micropropagadas *in vitro* ha tenido un desarrollo limitado al contrario de lo que ha pasado en países europeos con redes de distribución muy consolidadas y con el establecimiento de laboratorios en países con mano de obra muy barata como son los del Este de Europa y Países Asiáticos. La mayoría de estos laboratorios comerciales han participado en la micropropagación de plantas ornamentales y especies cultivadas para obtener flor cortada. Pero la fuerte competencia entre los dife-

rentes laboratorios hace que no se puedan aumentar los precios. Así el margen de beneficio para este tipo de productos es muy bajo y consecuentemente algunos laboratorios han salido del negocio.

Es difícil obtener información acerca de los laboratorios comerciales referente al número de personas trabajando, número de plantas producidas por año, especies micropropagadas. Así, algunos laboratorios rehusan contestar, otros muestran una imagen muy optimista, dando a entender que son más eficientes y productivos de lo que realmente son o dando datos de la planta producida más que de la vendida en el mercado.

De todas maneras, existe un estudio del año 2002 realizado en 24 países de Europa. De un total de 442 laboratorios dedicados a la micropropagación, 153 eran comerciales y el resto oficiales. El número de estos últimos dedicados a la micropropagación ha dis-

minuido en los últimos años debido a que éstos laboratorios están utilizando las técnicas de cultivo de tejidos vegetales como una herramienta junto con las técnicas de ingeniería genética para aplicarlas a la biotecnología vegetal.

El número total de plantas producidas por todos ellos fue de 179 millones. En esta industria trabajan 3337 personas. Y la especie micropropagada en la que trabajan más laboratorios es *Prunus*, en el caso de planta leñosa, *Ficus* como planta de interior y *Lilium* como flor cortada. En el cuadro 1 se puede observar cómo ha ido variando el número de laboratorios dedicados al cultivo de tejidos vegetales, según los datos obtenidos a partir de los proyectos COST 87, COST 822 y COST 843 (Cuadro 1).

Actualmente en España existen 17 laboratorios comerciales de cultivo de tejidos vegetales, según el listado que aparece en la web de la Sociedad Española de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales (SECIVTV) (<http://www.ivia.es/SECIVTV/empresas.htm>).

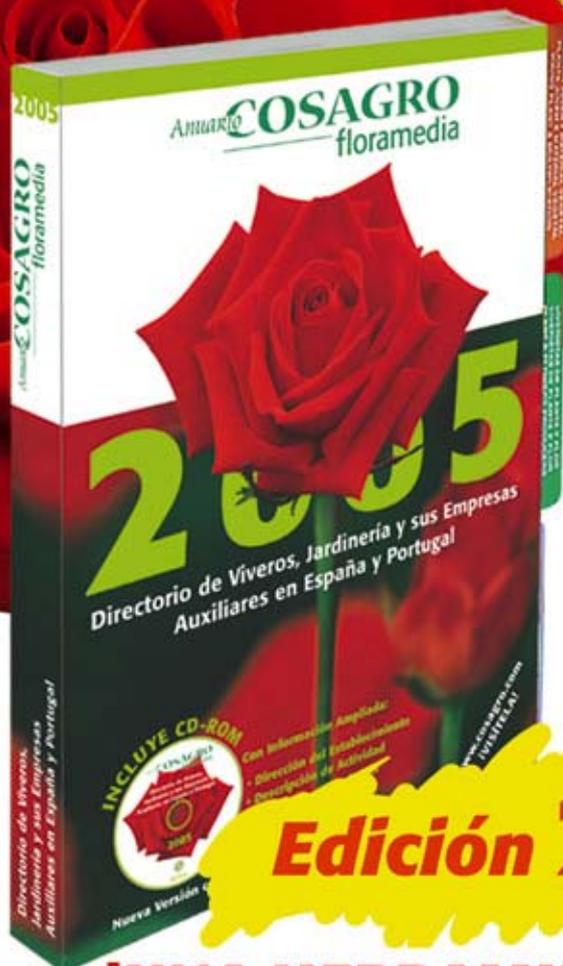
Después de unos años del boom inicial, los laboratorios comerciales actualmente existentes dedicados exclusivamente a la micropropagación han adaptado su producción a la demanda y tienen una buena canalización del producto, ya sea porque producen plantas para el consumo propio o bien porque tienen el valor añadido de la calidad, que es lo que da confianza al comprador. Y los laboratorios oficiales han dejado en un segundo término la investigación en lo que hace referencia a micropropagación pura y dura de diferentes especies, dedicándose básicamente a la investigación de los mecanismos bioquímicos involucrados en la micropropagación y en nuevas técnicas para mejorar los puntos críticos del cultivo *in vitro* como son la vitrificación y la aclimatación. Y mientras tanto cada día son más las especies, incluidas especies leñosas, que son propagadas gracias al cultivo *in vitro* de tejidos.

Anuario **COSAGRO** floramedia

Directorio de Viveros, Jardinería
y sus Empresas Auxiliares
en España y Portugal

**Más de 5.000 Empresas
clasificadas en:**

- Planta Joven y Material Vegetal
 - Viveristas de Planta y Flor
- Mayoristas y Distribuidores de Planta y Flor
 - Puntos de Venta y Servicios de Jardinería
 - Elementos Auxiliares
- Otros Datos de Interés: Asociaciones, Ferias, Medios, Formación...
- Directorio Empresas Portugal



Edición 2005

P.V.P EN ESPAÑA
48 EUROS

Envío postal
incluido

Resto de Europa: 60 EUROS

¡UNA HERRAMIENTA INDISPENSABLE!

400 Páginas con la más completa información del Sector

Códigos de color



**Datos completos
de cada Empresa**

NOMBRE EMPRESA

Dirección postal
00000 Provincia
Teléf.: +34 000 000 000
Fax: +34 000 000 000
sucursal@sudominio.com
http://www.sudominio.com
Breve reseña de la actividad
de la empresa
Indicación de página de publicidad

**Prácticos Separadores
Exteriores**

**Incluye CD-ROM
CON INFORMACIÓN
AMPLIADA**

- Dirección del Establecimiento
- Descripción de actividad
- Búsqueda por múltiples criterios

**Más información en:
www.cosagro.com**

PEDIDOS A:
Floramedia España, S.A.
Pl. Alquería Nova, 8 Bajo - 46014 Valencia - España
Tel. +34 963 503 288 • Fax: +34 963 503 092
www.floramedia.es • info@floramedia.es

cosagro@cosagro.com