

Acciones de conservación complementaria

La adopción de una estrategia de conservación complementaria conlleva la utilización de diferentes métodos, cada uno apropiado para un componente específico del programa global de conservación. En conjunto, estos métodos se complementan entre sí y logran una conservación eficiente y segura en el largo plazo (Sharrock y Engels 1996).

Objetivo de este capítulo

Como lo hemos venido afirmando en este libro, la conservación *in situ* es el método preferido para los PSC, puesto que mantiene las especies objetivo permanentemente expuestas a cambios en el ambiente natural, permitiendo que se genere nueva diversidad. Pero como esta exposición también puede amenazar dramáticamente la existencia misma de estas especies, en aras de la seguridad hay que apoyar los enfoques de conservación *in situ* con enfoques complementarios de conservación. Una ventaja de estos enfoques complementarios de conservación es que mantienen los materiales genéticos importantes para el mejoramiento de los cultivos disponibles para los fitomejoradores. Para la conservación óptima de los PSC, habrá que practicar algún método complementario. Hacer un examen profundo de los diferentes enfoques complementarios de conservación disponibles para los PSC está por fuera del alcance de este manual. El objetivo de este capítulo es ofrecer al lector una visión general de los enfoques y técnicas disponibles e indicar cómo se podrían usar para complementar la conservación *in situ*, como la creación, por ejemplo, de una red de seguridad para la diversidad genética difícil de conservar *in situ* o amenazada en la naturaleza. También se enfatiza el posible papel de las colecciones *ex situ* para facilitar la recuperación y reintroducción *in situ* de poblaciones de PSC.

Introducción

La conservación *in situ* de los PSC no es suficiente por sí sola. Mientras que la conservación *in situ* es esencial para mantener la evolución de las

especies y permitir que se genere nueva diversidad mediante los procesos de selección natural, tiene muchas desventajas para la conservación y tiene limitaciones importantes en cuanto a la posibilidad de usar los PSC en el fitomejoramiento (ver Recuadro 12.1) (ver resúmenes en Maxted *et al.* 1997 y Engels *et al.* 2008). Aunque la conservación *in situ* es una herramienta muy efectiva, conservar los PSC requiere utilizar otros enfoques para que los PSC sean asequibles para el fitomejoramiento y otros usos humanos, y garantizar que se conserve la máxima diversidad genética de las especies objetivo. Dependiendo de la biología de las especies que se vayan a conservar, es importante respaldar cualquier intervención *in situ* con conservación complementaria *ex situ* en bancos de germoplasma como semilla, polen, plantas vivas (en colecciones de campo o en jardines botánicos), cultivo de tejidos o crioconservación.

Como se indicó en el Capítulo 1, cuando los PSC están al alcance de los fitomejoradores, pueden proporcionar nuevos genes para el fitomejoramiento (Hajjar y Hodgkin 2007); en efecto, se los ha usado ampliamente en estos casos como fuente de caracteres genéticos útiles para conferir a los cultivos resistencia a enfermedades y a estreses abióticos (temperatura y sequía), mayor rendimiento y mejor calidad. Con el impacto que se anticipa tendrá el cambio climático en la producción agrícola, los fitomejoradores demandarán más caracteres de adaptación al clima, que muy probablemente se encuentren en los PSC. Por tanto, se le está dando prioridad a tener muestras de respaldo de PSC en colecciones *ex situ* para hacerlos más asequibles y usarlos en los programas de fitomejoramiento. Sin embargo, los parientes silvestres de algunos cultivos aún están mal representados en las colecciones *ex situ*, a pesar de que durante la última década su colecta se ha incrementado en un 3%, como lo muestra la actualización reciente del *Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos en el Mundo* (FAO 2010).

La conservación *ex situ* de algunos PSC presenta retos importantes para los administradores de los bancos de germoplasma en cuanto a aspectos técnicos y administrativos. Las condiciones de almacenamiento han sido establecidas principalmente para los cultivos más importantes y no se adaptan bien a algunos de sus parientes silvestres, de los cuales se ha hecho poca investigación para refinar su conservación *ex situ*. Algunos pueden tener problemas de latencia o simplemente tienen una germinación difícil, mientras que otras especies pueden tener semillas recalcitrantes. De hecho, el comportamiento de las semillas en almacenamiento puede variar entre especies e incluso dentro de la misma especie y es posible que diferentes procedencias no se adapten a las condiciones ambientales, en el caso de las colecciones de campo. Por ejemplo, entre las especies de *Coffea* se pueden encontrar semillas con comportamientos de almacenamiento que van desde lo ortodoxo hasta lo recalcitrante. Los protocolos para la conservación *in vitro* o la crioconservación de algunos PSC probablemente no existan.

Recuadro 12.1 Ventajas y desventajas de la conservación *in situ* y *ex situ* de los PSC

Ventajas	Desventajas
Conservación <i>in situ</i> <ul style="list-style-type: none">• Evita problemas de almacenamiento asociados con las colecciones de campo de los bancos de germoplasma y las semillas recalcitrantes• Permite que la evolución continúe al estar las especies expuestas a plagas y enfermedades, y otros factores ambientales• Beneficios indirectos, incluyendo servicios ambientales• Permite que las comunidades locales los usen de manera sostenible	<ul style="list-style-type: none">• Hay que hacerla en áreas extensas para que resulte efectiva• Expone las poblaciones naturales a un amplio rango de eventos naturales catastróficos (tormentas, huracanes, ciclones) y otras amenazas• Los materiales no se pueden usar fácilmente y son de difícil acceso• Los materiales están sujetos al manejo que le dan los terratenientes (puede que no consideren los PSC como de alta prioridad)• El mantenimiento es costoso
Conservación <i>ex situ</i> <ul style="list-style-type: none">• Permite rescatar germoplasma amenazado• Requiere poco espacio para conservar grandes cantidades de accesiones• Conserva una muestra representativa adecuada de las poblaciones de los PSC• El germoplasma está fácilmente disponible, y se puede intercambiar y promover su uso• Es fácil de evaluar• Es fácil de documentar• El material no está expuesto a plagas, enfermedades u otras amenazas (excepto las colecciones de campo y los jardines botánicos)• El germoplasma se puede mantener durante tiempo indefinido• Es un enfoque más efectivo en términos de costos que la conservación <i>in situ</i>	<ul style="list-style-type: none">• Congela el proceso evolutivo• Dificulta el muestreo adecuado (variabilidad intra específica)• No se puede garantizar la integridad genética total debido a errores humanos y a la presión de selección durante la regeneración• Sólo una cantidad limitada de accesiones se puede conservar en las colecciones de campo de los bancos de germoplasma• Catástrofes naturales pueden afectar las colecciones de campo de los bancos de germoplasma• En el material conservado <i>in vitro</i> se puede presentar variación somaclonal

Algunos PSC pueden ser más fáciles de almacenar *ex situ* que las especies cultivadas, como las especies de *Musa* que producen semillas. También se pueden presentar restricciones en la obtención de germoplasma de los bancos debido a políticas gubernamentales relacionadas con el intercambio de germoplasma, derechos de propiedad, normas de acceso y distribución de beneficios, y normas fitosanitarias. Además, hay que tener en cuenta el costo de mantener un banco de germoplasma pues puede ser prohibitivo en muchos países y la falta permanente de financiación puede amenazar las colecciones en muchos casos.

¿Qué es una estrategia de conservación complementaria de los PSC?

El concepto de estrategia de conservación complementaria para los PSC incluye una combinación de diferentes acciones de conservación, que en conjunto conducen al uso sostenible óptimo de la diversidad genética existente en un acervo de genes objetivo, actualmente y en el futuro (Dulloo *et al.* 2005). Las estrategias de conservación complementaria también se conocen como integrales u holísticas. El principio es que deben considerar el amplio rango de opciones de conservación disponibles y aplicar la combinación apropiada a situaciones específicas (Falk y Holsinger 1991; Given 1994). Los dos principales enfoques de conservación (*ex situ* e *in situ*) son importantes en la conservación y el uso de la diversidad genética. También puede resultar apropiado intentar otras técnicas como la conservación *inter situs* (ver abajo) y la migración o colonización asistida (ver Capítulo 14).

El fin último de la conservación es la utilización del germoplasma y, en consecuencia, cualquier estrategia de conservación debe incluir mecanismos que garanticen que los actores relevantes puedan obtener el germoplasma. Otros puntos importantes que se deben atender en una estrategia de conservación incluyen temas relacionados con los marcos legales y políticos, la documentación, los aspectos socioeconómicos, la infraestructura y las redes. Puesto que las necesidades de los usuarios y las tecnologías de conservación pueden cambiar con el tiempo, una estrategia de conservación complementaria debe ser lo suficientemente flexible para permitir tener en cuenta estos cambios. Dulloo *et al.* (2005) propusieron un marco de trabajo para desarrollar una estrategia de conservación complementaria utilizando el coco como ejemplo. El primer paso del proceso es definir las opciones de conservación de las especies objetivo, teniendo en cuenta las posibilidades de conservarlas *in situ*, el comportamiento de la semilla en almacenamiento, el hecho de que la especie se puede conservar como semilla, si se desarrollan o no los protocolos para la conservación *in vitro* o la crioconservación o si

se pueden simplemente conservar como plantas vivas en colecciones de campo de bancos de germoplasma o en jardines botánicos y, finalmente, si se necesitan opciones como la traslocación o enfoques *inter situs*.

La elección de las acciones complementarias de conservación también debe tener en cuenta el uso destinado al germoplasma conservado; la disponibilidad de espacio, infraestructura y recursos humanos; la facilidad para obtener el germoplasma; etc. No obstante, en el caso de los PSC hay que tener en cuenta que la conservación no siempre se basa en hacerlos disponibles para uso inmediato. Con base en estos elementos, el estado del conocimiento y las opciones disponibles actualmente, se puede desarrollar un marco de trabajo para una estrategia de conservación complementaria. Por tanto, una estrategia de conservación complementaria se puede considerar como un proceso lógico y no simplemente una selección de métodos de conservación apropiados. El marco de trabajo se puede ver como una serie de pasos (ver Figura 12.1); en cada paso se recoge información, se realizan determinadas acciones y se toman decisiones. Es importante consultar con todas las partes interesadas al desarrollar la estrategia de conservación complementaria (ver Capítulos 4 y 5 donde se discute en profundidad cómo involucrar a las diversas partes). Esto se puede hacer estableciendo una red de partes interesadas, facilitada por una agencia que lidere el proceso. El papel de esta red o comité sería entonces definir los objetivos principales y secundarios de la estrategia de conservación complementaria. Por ejemplo éstos podrían incluir la necesidad de crear un respaldo de la población *in situ*, para implementar un programa de reintroducción o recuperación, realizar investigación, usarla en programas de evaluación o fitomejoramiento, o aumentar la conciencia del público sobre la importancia de los PSC (ver Capítulo 16) o para capacitación y educación (ver Capítulo 15). Las opciones disponibles para la estrategia de conservación complementaria se deben analizar para cada objetivo en términos de su factibilidad y requisitos de infraestructura, recursos humanos, tierra, costos, disponibilidad y riesgos involucrados. Las ventajas y desventajas de cada opción se deben sopesar y se deben tomar decisiones sobre las opciones de la estrategia que se va a seguir para determinados objetivos.

El siguiente paso importante en el proceso sería garantizar que haya un marco político y regulatorio que permita implementar las opciones de la estrategia de conservación complementaria. Esto involucraría un análisis, y posibles revisiones, de las políticas en términos de legislación, intercambio de germoplasma y distribución de beneficios. También se deben tener en cuenta posibles fuentes de financiación. Una vez se han atendido estos asuntos, se puede desarrollar e implementar un plan de acción estratégico (pasos 6 y 7 de la Figura 12.1). En cada paso se debe consultar la red de actores antes de tomar decisiones importantes y se deben asignar responsabilidades a los diferentes participantes.

Opciones para la conservación *ex situ*

Esta sección ofrece directrices técnicas para establecer una colección *ex situ* y una breve descripción de las diferentes opciones de conservación *ex situ*. Guerrant *et al.* (2004), Thormann *et al.* (2006) y Engels *et al.* (2008) hacen una revisión general de los métodos de conservación *ex situ* complementarios.

Directrices para la colecta de semillas

La colecta de semillas u otros propágulos es la primera actividad para establecer una colección *ex situ*. El proceso se debe planear y preparar bien para maximizar la diversidad genética de la población. La intención de este manual no es describir detalladamente el proceso de colecta de semilla. Existen excelentes directrices técnicas acerca de cómo planear y preparar una colecta para conservación *ex situ* (Guarino *et al.* 1995; Schmidt 2000; Smith *et al.* 2003; Guerrant *et al.* 2004; ENSCONET 2009). Puesto que la semilla es el material más sencillo y el que generalmente se colecta y conserva, la mayoría de estas directrices se enfocan en la semilla. No obstante, Guarino *et al.* (1995) también incluyen directrices para coleccionar germoplasma de propagación vegetativa (ver sus capítulos 21 y 22). Igualmente dan directrices para coleccionar material *in vitro* y polen (ver sus capítulos 24 y 25). También hay mucha información disponible para descargar de internet. Por ejemplo, en el sitio de internet del Banco de Semillas del Milenio (MSB, de su nombre en inglés), hay buenos resúmenes y manuales de campo sobre colecta de semillas que se pueden descargar¹. En la dirección <http://www.seedhunter.com/> se puede ver un documental sobre colecta de semilla de garbanzo silvestre, realizado por Ken Street, en el que hacen una excelente demostración de las prácticas involucradas en la colecta para obtener diversidad.

Vale la pena seleccionar sitios de colecta que contengan la mayor cantidad de especies y diversidad genética. El uso de herramientas de predicción –como FloraMap, DIVA_GIS (Hijmans *et al.* 2001)– fundamentadas en los SIG pueden ayudar a identificar los sitios de colecta con mayor probabilidad de éxito (ver Capítulo 8). Guarino *et al.* (2001) discuten la aplicación de modelos de distribución de especies en la conservación y el uso de los recursos genéticos vegetales. Muchos de los métodos basados en SIG usan las variables climáticas como los principales motores de la distribución geográfica y se pueden usar para predecir los sitios donde hay una alta diversidad de especies. Por ejemplo, Hijmans y Spooner (2001) usaron DIVA-GIS para describir la distribución geográfica de los parientes silvestres de la papa e identificaron Perú como el lugar donde se encontrarían grandes cantidades de especies de papa silvestre, incluyendo especies silvestres raras. Su estudio también permitió identificar áreas de alta riqueza de especies, lo que facilitó diseñar reservas de conservación *in situ* para protegerlas. Otro buen ejemplo es el estudio de Jarvis *et al.* (2005), en el que

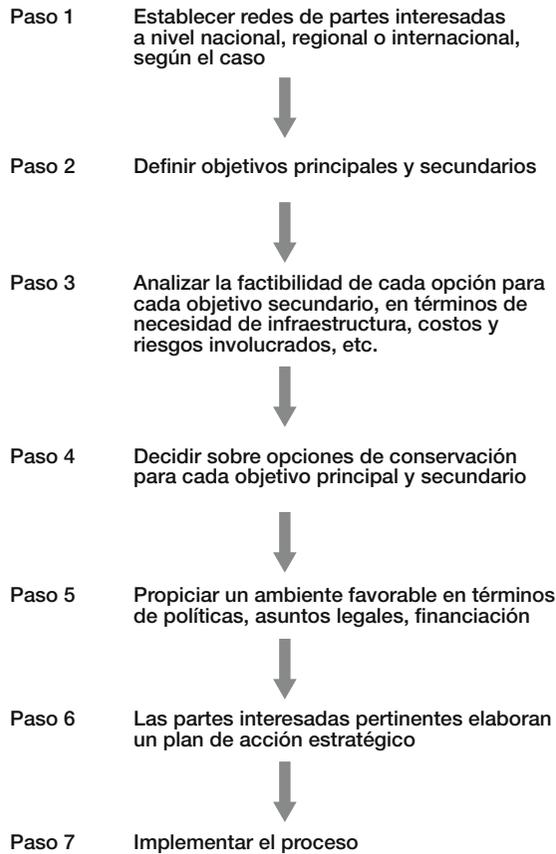


Figura 12.1 Marco de trabajo para desarrollar una estrategia de conservación complementaria

se usaron los SIG para optimizar una misión de colecta de especies silvestres raras de ají (*Capsicum flexuosum* Sendtn.) en Paraguay. La especie se encontró en cinco de los siete lugares indicados como posible hábitat de la especie y no se encontró en cuatro de los cinco lugares donde las herramientas SIG indicaron que la especie no estaba presente. Estos enfoques permiten coleccionar germoplasma de manera más sistemática y eficiente.

El sitio de GapAnalysis en internet, <http://gisweb.ciat.cgiar.org/GapAnalysis/>, desarrollado por Bioversity International, el IRRI y el CIAT, es una herramienta útil que le permite a los colectores de plantas determinar las áreas donde se podrían encontrar caracteres y taxones poco representados en las colecciones *ex situ*. En la siguiente dirección se detalla la metodología de un análisis de vacío para PSC: <http://gisweb.ciat.cgiar.org/GapAnalysis/?p=139>.

Maxted *et al.* (2008) también usan la metodología de análisis de vacío para identificar áreas apropiadas para la conservación, teniendo en cuenta las características ecogeográficas del taxón objetivo, así como los elementos de la diversidad efectivamente representados en las acciones de conservación *in situ* y *ex situ* existentes. La metodología se ilustra aplicándola a especies africanas de *Vigna*.

En el contexto de este manual, se mencionan a continuación algunas actividades clave que se deben implementar en la colecta de muestras:

- Recopilar información sobre la especie que se va a colectar para poder desarrollar la estrategia de conservación *ex situ*. Se debe incluir información sobre el comportamiento de la semilla en almacenamiento, serología de la planta (tiempo a la floración y fructificación) y biología reproductiva, así como información ecogeográfica incluyendo nomenclatura botánica, sinónimos, datos de ubicación histórica y la mayor cantidad de datos posible obtenidos de herbarios locales y regionales. Esto se discutió en detalle en el Capítulo 8
- Establecer vínculos con las partes interesadas relevantes y organizar una red de partes interesadas
- Realizar un análisis de vacío para identificar las poblaciones prioritarias para colectar por encontrarse amenazadas, pero también identificar áreas ricas en diversidad
- Obtener la autorización necesaria para la colecta. La colecta se debe hacer siguiendo las leyes y normas nacionales e internacionales
- Diseñar una estrategia de muestreo para la colecta que optimice el nivel de diversidad genética, incluyendo la cantidad de plantas que se van a muestrear. La Red Europea de la Conservación de las Semillas Nativas (ENSCONET, de su nombre en inglés, 2009) recomienda colectar cinco poblaciones en todo el rango de distribución de la especie y tratar de colectar por lo menos 50 plantas (preferiblemente 200 plantas) de cada población; pero ésto se debe usar sólo como guía. La cantidad real que se colecte dependerá de las circunstancias locales y el colector debe usar su criterio para captar la máxima diversidad genética sin poner en peligro la población. Otra consideración es la intención con que se colecta el material, por ejemplo, respaldo de seguridad a largo plazo o reintroducción. Consultar también las directrices de la UICN sobre colecta de plantas medicinales (*Guidelines on the Conservation of Medicinal Plants*, 1986), publicadas conjuntamente por WHO, UICN y WWF, disponibles en <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s7150e/s7150e.pdf>
- Colectar semillas y otros materiales en el campo, incluyendo especímenes de herbario para verificar la identidad taxonómica. Esto es importante puesto que frecuentemente se colectan semillas de especies desconocidas que permanecen así en las colecciones durante

mucho tiempo. Estas colecciones tienen entonces muy poco valor y uso (consultar a Miller y Nyberg 1995)

- Directrices para el manejo adecuado de semillas en el campo:
 - En lo posible se deben extraer las semillas de los frutos y limpiarlas
 - Las semillas se deben poner en bolsas de papel, sobres o bolsas de tela para transportarlas de forma segura
 - Si se estima que el transporte al banco de germoplasma va a tomar mucho tiempo, es mejor secar las semillas en recipientes plásticos sobre gel de sílice u otro secante apropiado
 - Evite exponer la semilla a los rayos del sol y a humedades altas (especialmente durante la noche).

Para mayores detalles consultar a Smith 1995; Schmidt 2000 (ver secciones 3 a 5); Smith *et al.* 2003 (ver sección 1); y ENSCONET 2009.

Métodos de conservación *ex situ*

El Recuadro 12.2 resume los diferentes métodos disponibles para la conservación *ex situ*.

Recuadro 12.2 Métodos de conservación *ex situ*

Bancos de semillas: requieren secar las semillas a un bajo contenido de humedad (generalmente entre 3 y 7%) y almacenarlas en recipientes impermeables a temperaturas bajas (4°C para conservación a corto plazo y -20°C para conservación a largo plazo; FAO e IPGRI 1994). En los bancos de germoplasma de semillas se pueden conservar sólo los taxones de semilla ortodoxa que puedan soportar el secado a un bajo contenido de humedad y sean resistentes al frío.

Colecciones de campo: las plantas vivas se cultivan en el campo, o frecuentemente en macetas, en casas de malla o invernaderos. Las colecciones de campo permiten tener acceso fácil al material para caracterizarlo, evaluarlo y utilizarlo, pero generalmente son difíciles y costosas de mantener. Hay que dedicarles mucho tiempo y son laboriosas y vulnerables a condiciones climáticas deficientes. Debido a las limitaciones de espacio, los materiales se pueden mezclar con plantas vecinas, hibridizarse y camuflarse entre otras plantas. Además, sólo permiten conservar algunos materiales genéticos.

Jardines botánicos: por lo general mantienen pequeñas cantidades de plantas vivas en colecciones de jardín y de campo. Las muestras grandes se cultivan en parcelas en el campo o en invernaderos como colecciones

de conservación o como colecciones temporales para experimentos de reintroducción. Muchos jardines botánicos se enfocan principalmente en mantener materiales de origen silvestre, incluyendo los PSC. También desempeñan un papel importante en la sensibilización del público y en la educación.

Cultivo de tejidos: Incluye el mantenimiento de explantas en un ambiente estéril y libre de patógenos con un medio nutritivo sintético. Existen diferentes métodos de conservación *in vitro*: conservación de crecimiento lento limitando las condiciones ambientales o el medio de cultivo; (2) técnica de semilla sintética, cuyo objetivo es usar embriones somáticos como semilla verdadera, encapsulando los embriones en un gel de alginato. La semilla sintética se puede almacenar después de haberla deshidratado parcialmente y luego sembrar directamente.

Crioconservación: Requiere el almacenamiento de diferentes tejidos vivos, incluyendo suspensión de células, callos, ápices, embriones e incluso semillas enteras, a temperaturas extremadamente bajas, generalmente a -196°C en nitrógeno líquido, temperatura a la cual se suspende efectivamente el metabolismo celular. El material debe sobrevivir el proceso de congelación antes del almacenamiento y la descongelación después del almacenamiento. Algunas técnicas de crioconservación incluyen el congelamiento programado o controlado, la vitrificación, la encapsulación-deshidratación, la encapsulación-vitrificación, la conservación de yemas dormantes vegetativas, el precrecimiento-desección y la técnica de la microgota.

Almacenamiento de polen: el polen se puede almacenar de la misma manera descrita para las semillas y se usa como un método de conservación de recursos genéticos, especialmente para especies perennes de frutas y árboles forestales. Tiene una viabilidad relativamente corta cuando se conserva en condiciones clásicas de almacenamiento (desección parcial seguida de almacenamiento a temperaturas bajo cero) y por tanto se ha usado de manera limitada en la conservación de germoplasma.

Bancos de germoplasma de semillas

Muy pocos bancos de germoplasma de semillas se dedican a las especies silvestres, como los PSC (Heywood 2009). El primer banco de semillas, Banco de Germoplasma Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid (BGV-UPM, antes conocido como ETSIA-UPM), fue establecido en 1966 por el profesor César Gómez Campo (fallecido), para la conservación de especies nativas de España. Actualmente contiene muestras de 350 especies

y subespecies españolas amenazadas, que representan casi una cuarta parte de la flora amenazada de España. Una excepción aún más notable es el MSB ubicado en Wakehurst, Jardines Botánicos Reales de Kew, Reino Unido, cuya meta para el 2010 fue haber conservado el 10% de la flora productora de semillas del mundo, especialmente la de las zonas áridas. Recientemente, el MSB celebró el logro de esta meta con la inclusión de un PSC de banano de China, *Musa itinerans*, que puede proporcionar material genético valioso para el mejoramiento de nuevas variedades de banano con resistencia a enfermedades. El Centro Nacional para la Conservación de Recursos Genéticos (NCGRP, de su nombre en inglés) del USDA, con sede en Fort Collins, Colorado, también busca conservar sistemáticamente una colección nacional de recursos genéticos incluyendo muchos PSC. El segundo *Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos en el Mundo* (FAO 2010) reporta que el 10% del germoplasma conservado en el mundo corresponde a especies silvestres. De éstas, los forrajes y los cultivos industriales dan cuenta de una proporción relativamente alta de PSC. Pero, Maxted y Kell (2009) señalan que sólo entre 2 y 6% de las colecciones *ex situ* en bancos de germoplasma en el mundo son PSC, y de la cantidad total de especies de PSC, sólo aproximadamente el 6% tiene alguna accesión conservada *ex situ*. La discrepancia entre estas cifras puede también ser consecuencia de diferencias en la manera en que se definen los PSC.

Casi 200 jardines botánicos alrededor del mundo también tienen bancos de semillas (Laliberté 1997; BGCI 1998), que van desde pequeñas cantidades de accesiones almacenadas en congeladores domésticos o comerciales hasta instalaciones en gran escala diseñadas específicamente para este fin, como el Banco de Germoplasma Vegetal Andaluz de la Consejería de Medio Ambiente de Andalucía en el Jardín Botánico de Córdoba, donde se almacenan más de 7000 accesiones o propágulos, principalmente semillas, de más de 1500 diferentes especies de plantas de Andalucía y aproximadamente 500 otras especies ibéricas endémicas. El Centro de Educación Fletcher Jones para la Conservación de la Biodiversidad (*Fletcher Jones Education Centre for the Preservation of Biodiversity*) en el Rancho Santa Ana, California, EE.UU., tiene almacenamiento en frío de semillas, cámaras de crecimiento con condiciones climáticas controladas que facilitan los estudios de germinación y la investigación de los programas de posgrado, equipo para el procesamiento de semillas y amplios laboratorios.

Hay mucha literatura sobre el estado del conocimiento de la conservación *ex situ* de semilla. Entre éstos, fuentes de información clave incluyen Engels y Wood (1999); Hawkes *et al.* (2000); Engels y Visser (2003); Smith *et al.* (2003); Rao *et al.* (2006); Thormann *et al.* (2006); Engels *et al.* (2008). Bioversity International preparó un módulo interactivo de auto aprendizaje sobre manejo de semilla en los bancos de germoplasma para ayudar a los técnicos de los bancos de germoplasma a procesar y preparar

semilla para la conservación (<http://www2.biodiversityinternational.org/publications/1258/>). Adicionalmente, los formularios de información técnica del MSB (http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/info_sheets.htm) contienen información relevante sobre la conservación *ex situ* de los PSC.

Colecciones de campo de los bancos de germoplasma

Las colecciones de campo de los bancos de germoplasma son la mejor manera de conservar muchas especies que no producen semillas (de propagación clonal) o que tienen semillas sensibles a la desecación y el frío, como el cacao, el caucho, la palma de aceite, el café, el banano y el coco. En Madagascar, por ejemplo, los parientes silvestres del café se conservan en una colección de campo importante ubicada en Kianjavato, inicialmente establecida a principios de la década de 1960; la colección tiene actualmente 171 accesiones (Dulloo *et al.* 2009). Una de las ventajas de las colecciones de campo de los bancos de germoplasma es que los materiales se pueden caracterizar y evaluar con facilidad. Por ejemplo, un proyecto sobre árboles frutales tropicales en Filipinas resultó en el establecimiento de colecciones de campo de parientes silvestres de cuatro árboles frutales tropicales: durión (*Durio zibethinus* Murray), mangostino (*Garcinia mangostana* L.), árbol del pan o panapén (*Artocarpus heterophyllus* L.) y nuez pili (*Canarium ovatum* Engl.). El germoplasma colectado se caracterizó y evaluó y, como resultado, se aprobaron y registraron ante el Consejo Nacional de la Industria de Semillas (*National Seed Industry Council*, NSIC) de Filipinas dos nuevas variedades –una de árbol del pan, oficialmente denominada ‘Baybay Sweet’, y una accesión de mangostino denominada ‘UPLB Sweet’, que se están comercializando.

Entre las referencias clave para el manejo de colecciones de campo se puede mencionar a Engelmann 1999; Hawkes *et al.* 2000; Reed *et al.* 2004; Thormann *et al.* 2006.

Conservación de colecciones vivas en jardines botánicos

Históricamente, los jardines botánicos han desempeñado un papel clave en la colecta y el intercambio entre jardines de semilla y otros propágulos (Heywood 2009). Se ha dado amplio reconocimiento (Heywood 1991) a los roles desempeñados por jardines botánicos como Bogor, Howrah (Calcuta), Pamplemousses (Mauricio) y Singapur en la introducción y el desarrollo de cultivos de plantación como el té, la palma de aceite, el caucho, el café y varias otras especies. Actualmente, los jardines botánicos están mucho más involucrados en la conservación de recursos fitogenéticos, especialmente de especies medicinales, silvestres y no cultivadas, con énfasis en especies raras y amenazadas (Du Puy y Wyse Jackson 1995; Maunder *et al.* 2004). Por

ejemplo, el Real Jardín Botánico de Edimburgo, Reino Unido, desarrolló en 1991 un programa internacional de conservación de coníferas. El Jardín ha estado involucrado en actividades para evaluar el estado de conservación de las coníferas amenazadas y ha desarrollado un plan de acción de coníferas para la UICN. Este jardín botánico también ha estado activo realizando investigación aplicada sobre coníferas y estableciendo una red de sitios *in situ* y *ex situ* para proteger las especies amenazadas.

El papel de los jardines botánicos en la conservación ha sido debatido frecuentemente. Puesto que los jardines botánicos tienen limitaciones de espacio, es poca la cantidad de accesiones de una especie que conservan y, por tanto, se cuestiona su valor en la conservación de la diversidad genética. Sin embargo, se ha demostrado que para las especies raras, las colecciones de los jardines botánicos pueden ayudar a conservar una mayor diversidad genética que las poblaciones silvestres y se pueden usar para aumentar la diversidad genética de las poblaciones silvestres. Un ejemplo son las poblaciones silvestres de *Brighamia insignis* A. Gray, una especie endémica de Hawái representada por sólo 20 individuos en la naturaleza pero ampliamente cultivada en jardines botánicos. Utilizando isoenzimas, Gemmill *et al.* (1998), lograron demostrar que las colecciones mantenidas en el NTBG en Hawái eran una buena representación de la diversidad encontrada en la naturaleza y por tanto servirían como población en existencia apropiada para aumentar las poblaciones naturales. Los jardines botánicos también tienen bastante conocimiento en horticultura que puede ayudar con la propagación de especies raras y posteriormente con su reintroducción en la naturaleza. Un ejemplo del uso de jardines botánicos para la conservación *ex situ* en Sri Lanka se presenta en el Recuadro 12.3.

Cultivo de tejidos

Los problemas asociados con las colecciones de campo de los bancos de germoplasma, como se describieron anteriormente, han generado mucha investigación con el fin de desarrollar técnicas alternativas, particularmente de cultivo *in vitro* o cultivo de tejidos para semillas recalcitrantes y especies de propagación vegetativa (ver Recuadro 12.2). Las principales condiciones para la conservación mediante cultivo de tejidos son la disponibilidad de personal calificado y un laboratorio bien equipado (consultar a Reed *et al.* 2004 en relación con los requerimientos físicos de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales). Un ejemplo de PSC conservados *in vitro* es la Colección Mundial de Germoplasma de *Musa* manejada por la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano (INIBAP, de su nombre en inglés) y Bioersivity International, con sede en la Universidad Católica de Leuven (*Katholieke Universiteit Leuven*, KULeuven). La colección contiene aproximadamente 1200 accesiones y es la única centralizada con una proporción grande del acervo de genes

conocido. Casi el 15% de la colección incluye especies silvestres de *Musa* (INIBAP 2006). Otros ejemplos de colecciones de cultivo de tejidos que contienen PSC incluyen la colección de yuca del CIAT en Colombia, la de papa del CIP en Perú, y la de manzana silvestre del Centro Nacional para la Preservación de Recursos Genéticos (*National Centre for Genetic Resources Preservation, NCGRP*) del USDA.

Recuadro 12.3 Iniciativas de conservación *ex situ* en jardines botánicos de Sri Lanka

Los Jardines Botánicos Reales (*Royal Botanic Gardens, RBG*) de Peradeniya, Hakgala, Gampaha (Henerathgoda), Sitawake (Awissawella) y Mirijawila (Hambantota District) hacen parte de los Jardines Botánicos Nacionales (*National Botanic Gardens, NBG*) y cubren las principales zonas climáticas. Los jardines de plantas medicinales en Ganewatte ocupan 23 ha en la provincia noroccidental; un complejo de biodiversidad en Gampola también funciona bajo la dirección de los NBG. Los RBG, ubicados en Peradeniya, con una superficie de 59 ha, tienen más de 4000 especies cultivadas. Están diseñados para la conservación *ex situ* y han incursionado en la floricultura de Sri Lanka. No obstante, sólo una parte de las especies conservadas en los jardines botánicos actualmente es endémica de Sri Lanka, y, por razones históricas, el papel de estas instituciones como reservorios de biodiversidad indígena no está bien establecido. Recientemente se ha revertido un poco esta tendencia y los RBG tienen actualmente 1471 especímenes de especies locales, mientras que el herbario desarrollado hace poco en los Jardines Botánicos de Hakgala tiene aproximadamente 2000 especímenes de las especies locales. Uno de los principales objetivos de los NBG es el desarrollo de tecnologías relacionadas con la explotación de plantas menos conocidas y subutilizadas, y el desarrollo de la horticultura ornamental y como pasatiempo. Hay varios jardines de plantas medicinales ubicados en la zona húmeda de Sri Lanka (por ejemplo en Navinna y Meegoda). El Jardín Ayurvédico en Navinna alberga unas 200 especies de plantas medicinales y más de 1500 plantas diferentes.

Fuente: Fourth Country Report from Sri Lanka to the United Nations Convention on Biological Diversity 2009

Crioconservación

La crioconservación es uno de los métodos más prometedores para la conservación a largo plazo. Una de sus principales ventajas es que requiere muy poco espacio, si se la compara con las colecciones *in vitro* o de campo

de los bancos de germoplasma. Además es un método eficiente en términos de costos para la conservación a largo plazo y que requiere muy poco mantenimiento (Dulloo *et al.* 2009). Para el mantenimiento de la colección sólo se necesita llenar o completar el nivel de nitrógeno líquido en el tanque para mantener la temperatura; no es necesario volver a cultivar el material como en las colecciones *in vitro*. Sin embargo, requiere desarrollar protocolos para cada especie, como sucede con las técnicas de cultivo *in vitro*, lo que limita su aplicación para una gran diversidad de PSC. Actualmente existen muy pocas colecciones de PSC criopreservados, si es que existe alguna. Los Jardines Botánicos Reales de Kew han desarrollado protocolos para la criopreservación de plantas silvestres, principalmente helechos, musgos, orquídeas, arbustos y hierbas (<http://www.kew.org/science-research-data/kew-in-depth/msbp/publications-data-resources/technical-resources/index.htm>).

La investigación en criopreservación ha progresado mucho y se tienen ahora protocolos para la conservación de más de 200 especies de plantas (Engelmann y Takagi 2000; Engelmann 2004). El trabajo de investigación incluyendo PSC realizado en Australia ha llevado al desarrollo de protocolos de criopreservación de *Carica papaya* y de un pariente silvestre *Vasconcellea pubescens* (Ashmore *et al.* 2007) y de ciertas especies de *Citrus* (Hamilton *et al.* 2005 2008). Para una revisión de las técnicas de criopreservación, se pueden consultar los siguientes autores: Engelmann (2000), Thormann *et al.* (2006), y Reed (2008). Entre ellos, Reed (2008) presenta una guía práctica para la criopreservación de plantas e instrucciones paso a paso para la transferencia de la tecnología de criopreservación a la conservación de materiales vegetales importantes.

Almacenamiento de polen

El polen es otro de los materiales de la planta que se puede almacenar y usar como método de conservación de recursos genéticos, especialmente para especies perennes de árboles frutales y forestales, y puede ser muy interesante en el caso de los PSC. Su uso es común entre los fitomejoradores, especialmente para la producción de haploides en programas de fitomejoramiento, para reducir el tiempo entre la floración masculina y la femenina, y para mejorar la formación de frutos en los huertos (Towill 1985; Alexander y Ganeshan 1993). Por ejemplo, el principal uso del polen de café es para el fitomejoramiento, pues puede requerir cruzamientos entre arbustos que no florecen simultáneamente o que crecen distantes el uno del otro (Walyaro y van der Vossen 1977). La colecta y el almacenamiento de polen podrían ser una manera de obtener una muestra más representativa de la diversidad genética de las poblaciones silvestres (Panella *et al.* 2009). Tan sólo por esta razón, el polen puede ser una manera efectiva de conservar, así como de usar, los PSC en actividades de fitomejoramiento.

El polen también se usa para distribuir e intercambiar germoplasma entre lugares diferentes puesto que es poco común que el polen sea portador de plagas y enfermedades (excepto algunas enfermedades virales) y se lo somete a menos restricciones cuarentenarias estrictas. Otros usos incluyen la preservación de genes nucleares del germoplasma, estudios de fisiología básica, bioquímica y fertilidad, y estudios de biotecnología relacionados con expresión genética, transformación y fertilización *in vitro* (Towill y Walters 2000).

El almacenamiento de polen también tiene varias desventajas. Muchas especies producen pequeñas cantidades de polen, que no son suficientes para la colecta y el procesamiento. Debido a su baja viabilidad, es necesario volver a surtir el polen periódicamente. En este contexto, es evidente por qué la conservación de polen es una medida complementaria puesto que también se deben conservar la semilla o el clon para poder producir polen. Después de múltiples generaciones se corre el riesgo de tener problemas de genética poblacional, como pérdida de alelos por deriva al azar o ruptura de complejos adaptativos. Solamente se conserva y regenera el material progenitor; para poder utilizar el germoplasma se necesita tener siempre disponible una planta receptora femenina para la fertilización.

Uso de colecciones *ex situ* en la recuperación y reintroducción de poblaciones de PSC

Las poblaciones silvestres de PSC están por lo general genéticamente empobrecidas hasta el punto de estar casi extintas como resultado de la degradación de sus hábitats y otras amenazas. La conservación *in situ* de estas poblaciones requeriría el desarrollo de un plan de recuperación e intervenciones activas para reconstituirlas. Es importante garantizar una base genética amplia de la población silvestre para asegurar su supervivencia en el largo plazo, especialmente ante el cambio acelerado de las condiciones ambientales, incluyendo el cambio climático.

Las colecciones *ex situ* se pueden usar en los programas de recuperación de dos maneras:

1. Para reintroducir una especie que ha desaparecido de su hábitat natural. Mientras que la especie puede estar extinta en una de sus localidades, si se han colectado accesiones de esa misma localidad anteriormente y se han conservado en bancos de germoplasma o en jardines botánicos, pueden servir para la restauración. Sin embargo, la reintroducción de materiales *ex situ* en la naturaleza puede ser

una actividad compleja y se la debe emprender cuidadosamente. Se debe verificar que el inventario o las accesiones introducidas sean realmente nativas de ese sitio, que las plantas estén libres de enfermedades y que tengan la diversidad genética adecuada para garantizar su supervivencia, etc. Para ayudar a los conservacionistas a pensar y tener en cuenta todos estos factores, el Grupo de Especialistas en Reintroducción de la UICN/CSE desarrolló un manual de políticas para la reintroducción (IUCN/SSN 1995). Esas directrices se aplican para flora y fauna, y por tanto son bastante generales. Las directrices técnicas de la UICN sobre el manejo de poblaciones *ex situ* para la conservación (IUCN 2002) también discuten el valor cada vez mayor de la conservación *ex situ* en la conservación de ecosistemas y hábitats *in situ*. El manual para jardines botánicos sobre reintroducción de plantas en la naturaleza (Akeroyd y Wyse Jackson 1995) publicado por BGCI contiene directrices específicas para cada especie y sirve de guía para los administradores de los jardines botánicos en la reintroducción en la naturaleza de materiales vegetales provenientes de los jardines botánicos; también discute temas y retos del proceso de reintroducción.

2. Las colecciones *ex situ* se pueden usar en la siembra de enriquecimiento, o refuerzo o complementación cuando la población esté amenazada y no se esté regenerando en la naturaleza. Se pueden obtener nuevos materiales vegetales de las colecciones *ex situ* y sembrar para reforzar la población en determinada localidad. Nuevamente, es importante ser cuidadoso en estas prácticas para no perturbar y amenazar la integridad genética de la población natural. En los programas de recuperación es importante considerar la procedencia del material, el uso de inventarios de reintroducción de variabilidad genética, así como la posible pérdida de diversidad genética (IUCN/SSC 1995; IUCN 2002; Guerrant *et al.* 2004; Kell *et al.* 2008).

En ambos casos, es importante garantizar que en lo posible los materiales introducidos provengan del mismo sitio o de un sitio cercano para garantizar la integridad genética de la población. Es muy probable también que el material del sitio se adapte a las condiciones locales, lo cual aumenta las probabilidades de éxito en la reintroducción. Sin embargo, es frecuente que estos materiales no estén disponibles. En estos casos, se recomienda que los materiales vegetales vengan de ambientes con características ecogeográficas similares.

En términos prácticos, cuando hay que usar colecciones *ex situ* para intervenciones *in situ*, se recomienda seguir los siguientes pasos que se deben incluir en el plan de recuperación:

1. **Evaluación del sitio** – se debe examinar a fondo la localidad, documentando no sólo el estado de la población objetivo (tamaño poblacional de la especie objetivo, patrones de distribución en el sitio, plantas competidoras, plantas asociadas, polinizadores, diseminadores), sino también cualquier amenaza que afecte la población. Las amenazas se deben resolver antes de hacer cualquier reintroducción de la especie. La evaluación del sitio determina la estrategia que se debe adoptar para volver a sembrar, en cuanto a densidad de siembra, patrón de siembra, métodos requeridos para restituir la vegetación (ver a continuación), etc.
2. **Método de restauración de la vegetación** – existen diferentes métodos para restaurar la vegetación, que se pueden usar para reintroducir la especie en la naturaleza. Estos métodos incluyen la siembra directa, la siembra de plántulas a raíz desnuda, la siembra de plántulas en macetas o bajo cultivos protectores.
3. **Identificación de material fuente** – hay que seleccionar cuidadosamente la fuente de material de colección *ex situ*. Las accesiones seleccionadas deben provenir del mismo sitio, o de un sitio cercano.
4. **Muestreo para garantizar la diversidad genética** – se deben tomar muestras de las accesiones del banco de germoplasma que representen la máxima diversidad genética presente en las accesiones. Se recomienda muestrear las semillas de cuantas accesiones sea posible.
5. **Propagación de los materiales** – los materiales de siembra (semillas o estacas) se deben multiplicar en un vivero, teniendo en cuenta las dificultades de dormancia y germinación, y se debe criar una cantidad igual de plantas de cada accesión a la que se necesitará para la resiembra. Es importante etiquetar claramente todas las plantas con sus nombres científicos, nombres comunes y número de accesión para poderlas monitorear en el largo plazo.
6. **Preparación del sitio y resiembra** – el éxito de la reintroducción dependerá de la buena preparación del sitio. Como se mencionó anteriormente, si hay factores de competencia (plantas exóticas competidoras, predadores) que pudieren afectar la regeneración de las plantas, se deben controlar antes de la siembra. Dependiendo de la naturaleza del problema, los métodos que se utilicen podrían ser tan sencillos como eliminar plantas competidoras o tan elaborados como tratamientos que utilicen agentes químicos o biológicos.
7. **Tratamiento después de la siembra** – una vez sembradas las plántulas, se deben monitorear y tomar medidas para garantizar su supervivencia.

Ésto puede incluir cubrir con mantillo y controlar malezas, bien sea manualmente o usando herbicidas. Si las plántulas se mueren, se deben reemplazar con las del inventario del vivero. Es importante seguir manteniendo en el vivero un inventario de las accesiones *ex situ* para tener estos materiales disponibles para subsanar faltantes después de sembrar las plántulas en la naturaleza.

Inter situs y otros enfoques de conservación

Además de las estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*, recientemente se han desarrollado otros enfoques, algunos de los cuales eliminan las diferencias entre *ex situ* e *in situ*. Para las especies de árboles, por ejemplo, se ha introducido el concepto de ‘bancos de germoplasma forestales’ (Shaanker *et al.* 2002): éstos son sitios *in situ* utilizados como repositorios de genes de cuantas poblaciones diversas sea posible, para maximizar la representación de los genes capturados. Otras estrategias incluyen el mantenimiento de poblaciones *ex situ* en simulaciones artificialmente creadas de los ecosistemas en los cuales ocurren en la naturaleza.

El término conservación *inter situs*² se ha aplicado a la reintroducción de especies en localidades por fuera de su actual rango pero dentro del rango histórico reciente conocido de la especie³ (Burney y Burney 2009). Es diferente de la ‘migración asistida’ discutida en el Capítulo 14 y se ha practicado con relativo éxito para proteger plantas hawaianas raras. Es un procedimiento que incluye bastantes riesgos y que no se debe practicar excepto en casos muy urgentes.

Otras fuentes de información

Akeroyd, J. y Wyse Jackson, P. (1995) *A Handbook for Botanic Gardens on Reintroduction of Plants to the Wild*, Botanic Gardens Conservation International (BGCI), p31

ENSCONET (2009) *ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species*. ISBN: 97884-692-3926-1.

Engels, J.M.M., Maggioni L., Maxted N. y Dulloo, M.E. (2008) ‘Complementing *in situ* conservation with *ex situ* measures’, en J. Iriondo, N. Maxted y M.E. Dulloo (eds) *Conserving Plant Genetic Diversity in Protected Areas*, Capítulo 6, pp169–181, CAB International, Wallingford, Reino Unido

Guarino, L., Ramanatha Rao, V. y Reid, R. (1995) *Collecting plant genetic diversity technical guidelines*, CAB International, Wallingford, Reino Unido

Notas

- 1 <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/03-Collecting%20techniques.pdf>; <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/fieldmanual.pdf>
- 2 Generalmente se hace referencia a este concepto como *inter situ*, pero es equivocado incluso desde el punto de vista gramatical
- 3 Este uso difiere del de Blixt (1994) quien lo aplica al mantenimiento de materiales domesticados en los campos de los agricultores, a lo que generalmente se conoce como conservación en fincas.

Referencias

- Akeroyd, J. y Wyse Jackson, P. (1995) *A Handbook for Botanic Gardens on Reintroduction of Plants to the Wild*, Botanic Gardens Conservation International (BGCI), Richmond, Reino Unido
- Alexander, M.P. y Ganeshan, S. (1993) 'Pollen storage', en K.L. Chadha y J.E. Adams (eds) *Advances in Horticulture, vol 1, Fruit Crops: Part I*, Malhotra Publishing House, Nueva Delhi, India
- Ashmore S.E., Drew, R.A. y Azimi-Tabrizi, M. (2007) 'Vitrification-based shoot tip cryopreservation of *Carica papaya* and a wild relative *Vasconcellea pubescens*', *Australian Journal of Botany*, vol 55, pp541–547
- BGCI (1998) *Seed Banks*, Botanic Gardens Conservation International (BGCI), <http://www.bgci.org/resources/Seedbanks/>
- Blixt, S. (1994) 'Conservation methods and potential utilization of plant genetic resources in nature conservation', en F. Begemann y K. Hammer (eds) *Integration of Conservation Strategies of Plant Genetic Resources in Europe*, IPK y ADI, Gatersleben
- Burney, D.A. y Burney, L.P. (2009) 'Inter situ conservation: Opening a 'third front' in the battle to save rare Hawaiian plants', *BGJournal*, vol 6, pp17–19
- Dulloo, M.E., Ramanatha Rao V., Engelmann F. y Engels J. (2005) 'Complementary conservation of coconuts', en P. Batugal, V.R. Rao y J. Oliver (eds) *Coconut Genetic Resources*, pp75–90, IPGRI-APO, Serdang, Malasia
- Dulloo, M.E., Ebert, A.W., Dussert, S., Gotor, E., Astorg, C., Vásquez, N., Rakotomalala, J.J., Rabemiafar, A., Eira, M., Bellachew, B., Omondi, C., Engelmann, F., Anthony, F., Watts, J., Qamar, Z. y Snook, L. (2009) 'Cost efficiency of cryopreservation as a long-term conservation method for coffee genetic resources', *Crop Science*, vol 49, pp2123–2138, doi:10.2135/cropsci2008.12.0736
- Du Puy B. y Wyse Jackson P. (1995) 'Botanic gardens offer key component to biodiversity conservation in the Mediterranean', *Diversity*, vol 11, no 1 y 2, pp47–50
- Engelmann, F. (ed) (1999) *Management of Field and In Vitro Germplasm Collection*, Memorias de una reunión de asesoría, 15 a 20 de enero de 1996, CIAT, Cali, Colombia, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Roma, Italia

- Engelmann, F. (2000) 'Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources', en F. Engelmann y H. Tagaki (eds) *Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm: Current Research Progress and Application*, Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan/International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Italia
- Engelmann, F. (2004) 'Plant cryopreservation: Progress and prospects', *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, vol 40, pp427–433
- Engelmann, F. y Takagi, H. (eds) (2000) *Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm: Current Research Progress and Applications*, Japan International Research Centre for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan/IPGRI, Roma, Italia
- Engels, J.M.M. y Visser, L. (eds) (2003) *A Guide to Effective Management of Germplasm Collections*, International Plant Genetic Resources Institute Handbooks for Genebanks 6, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Roma, Italia
- Engels, J.M.M. y Wood, D. (1999) 'Conservation of agrobiodiversity', en D. Wood y J.M. Lenné (eds) *Agrobiodiversity: Characterization, Utilization and Management*, pp355–385, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Engels, J.M.M., Maggioni, L., Maxted, N. y Dulloo, M.E. (2008) 'Complementing *in situ* conservation with *ex situ* measures', en J. Iriondo, N. Maxted y M.E. Dulloo (eds) *Conserving Plant Genetic Diversity in Protected Areas*, Capítulo 6, pp169–181, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- ENSCONET (2009) *ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species*, European Native Seed Conservation Network (ENSCONET), ISBN: 978-84-692-3926-1
- Falk, D.A. y Holsinger, K.E. (eds) (1991) *Genetics and Conservation of Rare Plants*, Oxford University Press, Nueva York y Oxford
- FAO (2010) *Second Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, Italia
- FAO y IPGRI (1994) *Genebank Standards*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Roma, Italia
- Gemmill, C.E.C., Ranker, T.A., Ragone, D., Pearlman, S.P. y Wood, K.R. (1998) 'Conservation genetics of the endangered endemic Hawaiian genus *Brighamia* (Campanulaceae)', *American Journal of Botany*, vol 85, no 4, pp528–539
- Given, D.R. (1994) *Principles and Practice of Plant Conservation*, Timber Press, Portland, Oregon, EE.UU.
- Guarino, L., Ramanatha Rao, V. y Reid, R. (1995) *Collecting Plant Genetic Diversity Technical Guidelines*, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Guarino L., Jarvis A., Hijmans R.J. y Maxted N. (2001) 'Geographic information systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resources', en J. Engels, V. Ramanatha Rao, A.H.D. Brown y M.T. Jackson (eds) *Managing Plant Genetic Diversity*, pp387–404, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Guerrant Jr., E.O., Havens, K. y Maunder, M. (eds) (2004) *Ex Situ Plant Conservation. Supporting Species Survival in the Wild*, Island Press, Washington, DC

- Hajjar, R. y Hodgkin, T. (2007) 'The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years', *Euphytica*, vol 156, pp1–13
- Hamilton, K.N., Ashmore, S.E. y Drew, R.A. (2005) 'Investigations on desiccation and freezing tolerance of *Citrus australasica* seed for *ex situ* conservation', en S.W. Adkins, P.J. Ainsley, S.M. Bellairs, D.J. Coates y L.C. Bell (eds) *Proceedings of the Fifth Australian Workshop on Native Seed Biology*, pp157–161, Australian Centre for Minerals Extension and Research (ACMER), Brisbane, Queensland, Australia
- Hamilton, K.N. (2008) 'Protocol 19.7.2 – Cryopreservation of wild Australian citrus seed', en H.W. Pritchard y J. Nadarajan 'Cryopreservation of orthodox (desiccation tolerant) seeds', en B.M. Reed (ed) *Plant Cryopreservation: A Practical Guide*, Springer, Berlín, Alemania
- Hawkes J.G., Maxted N. y Ford-Lloyd, B.V. (2000) *The Ex Situ Conservation of Plant Genetic Resources*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Países Bajos
- Heywood V.H. (1991) 'Developing a strategy for germplasm conservation in botanic gardens', en V.H. Heywood y P.S. Wyse Jackson (eds) *Tropical Botanic Gardens – Their Role In Conservation and Development*, pp11–23, Academic Press, Londres, Reino Unido
- Heywood, V.H. (2009) 'Botanic gardens and genetic conservation', *Sibbaldia* guest essay, *Sibbaldia, The Journal of Botanic Garden Horticulture*, no 7, pp5–17
- Hijmans, R.J. y Spooner, D.M. (2001) 'Geographic distribution of wild potatoes species', *American Journal of Botany*, vol 88, no 11, pp2101–2112
- Hijmans, R.J., Guarino, L., Cruz, M. y Rojas, E. (2001) 'Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1 DIVA-GIS', *Plant Genetic Resources Newsletter*, vol 127, pp15–19
- INIBAP (2006) *Global Conservation Strategy for Musa (Banana and Plantain)*, International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), <http://bananas.biodiversityinternational.org/es/publications-mainmenu-36/strategy-papers-mainmenu-51.html>
- IUCN (2002) *IUCN Technical Guidelines on the Management of Ex-Situ Populations for Conservation*, aprobado en la 14ª Reunión de Comité del Programa, del Consejo de la UICN, Gland, Suiza, 10 de diciembre de 2002, International Union for Conservation of Nature (IUCN), http://www.iucn.org/about/work/programmes/species/publications___technical_documents/publications/iucn_guidelines_and___policy___statements_/#spanish
- IUCN/SSC (1995) *IUCN/SSC Guidelines for Re-introductions*, SSC Grupo Especialista en Reintroducción aprobado por la 41a. Reunión del Consejo de la UICN, Gland, Suiza, mayo de 1995. International Union for Conservation of Nature (IUCN), Gland, Suiza, http://www.iucn.org/about/work/programmes/species/publications___technical_documents/publications/iucn_guidelines_and___policy___statements_/#spanish
- Jarvis A, Williams, K., Williams, D., Guarino, L., Caballero, P.J. y Mottram, G. (2005) 'Use of GIS in optimizing a collecting mission for a rare wild pepper (*Capsicum flexuosum* Sendtn.) en Paraguay', *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol 52, no 6, pp671–682
- Kell, S.P., Laguna, L., Iriondo, J. y Dulloo, M.E. (2008) 'Population and habitat recovery techniques for the *in situ* conservation of genetic diversity', en J. Iriondo, N. Maxted y M.E. Dulloo (eds), *Conserving Plant Genetic Diversity in Protected Areas*, Capítulo 5, pp124–168, CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido

- Laliberté, B. (1997) 'Botanic garden seed banks/genebanks worldwide, their facilities, collections and network', *Botanic Gardens Conservation News*, vol 2, pp18–23
- Maunder, M., Guerrant Jr., E.O., Havens, K. y Dixon, K.W. (2004) 'Realizing the full potential of *ex situ* contributions to global plant conservation', en E.O. Guerrant Jr., K. Havens y M. Maunder (eds) *Ex Situ Plant Conservation. Supporting Species Survival in the Wild*, pp389–417, Island Press, Washington, DC
- Maxted, N. y Kell, S.P. (2009) *Establishment of a Global Network for the In Situ Conservation of Crop Wild Relatives: Status and Needs*, FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Roma, Italia
- Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V. y Hawkes, J.G. (1997) 'Complementary conservation strategies', en N. Maxted, B.V. Ford-Lloyd y J.G. Hawkes (eds) *Plant Genetic Conservation: The In Situ Approach*, Chapman and Hall, Londres, Reino Unido
- Maxted, N., Dulloo, M.E., Ford-Lloyd, B.V., Iriondo, J. y Jarvis, A. (2008) 'Gap analysis: A tool for complementary genetic conservation assessment', *Diversity and Distributions*, vol 14, no 6, pp1018–1030
- Miller, A.G. y Nyberg, J.A. (1995) 'Collecting herbarium vouchers', en L. Guarino, V. Ramanatha Rao y R. Reid (eds) *Collecting Plant Genetic Diversity Technical Guidelines*, Capítulo 27, pp561–573, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Panella L., Wheeler, L. y McClintock, M.E. (2009) 'Long-term survival of cryopreserved sugarbeet pollen', *Journal of Sugar Beet Research*, vol 46, pp1–9
- Rao N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. y Larinde, M. (2006) *Manual of Seed Handling in Genebanks*, Handbooks for Genebanks No 8, Bioversity International, Roma, Italia
- Reed, B. (ed) (2008) *Plant Cryopreservation: A Practical Guide*, Springer, Nueva York, EE.UU.
- Reed, B., Engelmann F., Dulloo M.E. y Engels J.M.M. (2004) *Technical Guidelines on Management of Field and In Vitro Germplasm Collections*, Handbook for Genebanks No 7, IPGRI, Roma, Italia
- Schmidt, L. (2000) *Guide to Handling Tropical and Subtropical Forest Seed*, Danida Forest Seed Centre, <http://curis.ku.dk/portal-life/en/publications/guide-to-handling-of-tropical-and-subtropical-forest-seed%2804448600-8813-11df-928f-000ea68e967b%29.html>
- Shaanker, Uma R., Ganeshiah, K.N., Nageswara Rao, M. y Ravikanth, G. (2002) 'Forest gene banks – a new integrated approach for the conservation of forest tree genetic resources', en J.M.M. Engels, A.H.D. Brown y M.T. Jackson, (eds) *Managing Plant Genetic Diversity*, pp229–235, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Sharrock, S. y Engels, J. (1996) 'Complementary Conservation', INIBAP Annual Report 1996, pp 8–9, INIBAP, Montpellier
- Smith, R.D. (1995) 'Collecting and handling seeds in the field', en L. Guarino, V. Ramanatha Rao y R. Reid (eds) *Collecting Plant Genetic Diversity Technical Guidelines*, Capítulo 20, pp419–456, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Smith R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W y Probert, R.J. (2003) *Seed Conservation: Turning Science into Practice*, Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, Reino Unido

Thormann, I., Dulloo, M.E. y Engels, J. (2006) 'Techniques for *ex situ* plant conservation', en R.J. Henry(ed), *Plant Conservation Genetics*, pp7–36, Haworth Press, Australia

Towill, L.E. (1985) 'Low temperature and freeze-/vacuum-drying preservation of pollen', en K.K. Harthaa (ed) *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*, pp171–198, CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU.

Towill, L.E. y Walters, C. (2000) 'Cryopreservation of pollen', en F. Engelmann y H. Takagi (eds) *Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm – Current Research Progress and Applications*, pp115–129, Japan International Centre for Agricultural Sciences, Tsukuba/International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Italia

Walyaro, D.J. y van der Vossen, H.A.M. (1977) 'Pollen longevity and artificial crosspollination in *Coffea arabica* L', *Euphytica*, vol 26, pp225–231