

LANDAREEN GERMOPLASMA BANKUAK

LANDARE MEHATXATUEN
KONTSERBAZIORAKO LANABESAK



Joseba Garmendia

Aranzadi Zientzi Elkarte



Udako Euskal Unibertsitatea

2007ko uztailaren 19a

Zer da germoplasma?

Izaki bizidun bat birsortzeko gaitasuna duen material biologikoa

Landareen kasuan...

Polena, esporak, haziak, kimuak, adaxkak, tuberkuluak, erreaboilak, sustraietako kimuak, meristemoak, material genetikoa...

Historia piska bat...

Aitzindariak...

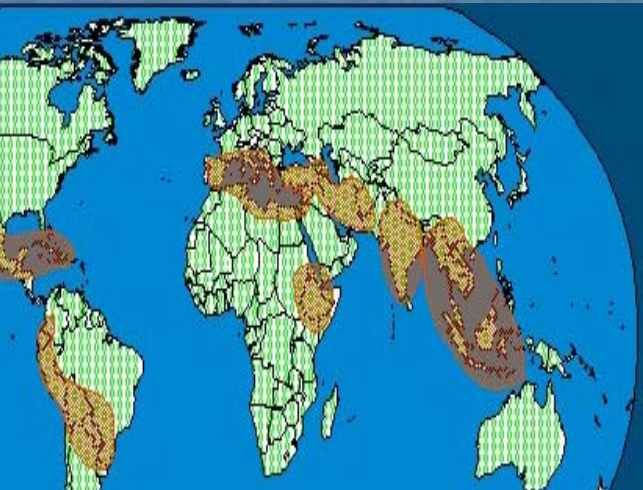


Historia piska bat...

1925 Leningradoko Landareen Industriadako Institutua (Vavilov Institutua), San Petersburgo

Nicolai I. Vavilov: Errekurtso Fitogenetikoaren Aita

- Nekazaritzaren jatorria
- Dibertsitate Guneak
- 100 espedizio baina gehiago





1943 IPK-Gatersleben (Alemania)

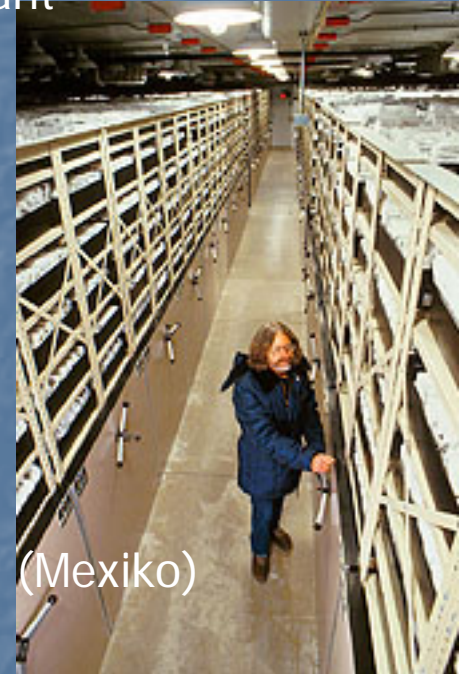
Leibniz Institute of plant Genetics and Crop Plant Research

1953 USDA-ARS, Fort Collins (Kolorado, AEB)

National Seed Storage Lab (NSSL)

1962 FAOren bultzada

Los Baños (Filipineta), Izmir (Turkia), CYMMIT (Mexiko)
eta Hiratsuka (Japonia)



1966 Universidad Politécnica de Madrid-eko Hazi-Bankua, Madril

Landare basatien kontserbaziorako lehen bankua

1969-1973 Bariko (Italia), Casterlarreko (Argentina) eta Braunchweig (Alemania)

1973 Wakehurst (Royal Botanic Gardens, Kew, Erresuma Batua)

Landare basatietarako bigarren bankua

1973 El Emprada (Brasil)

Egun sarea, Brasil osoan zehar

1973 IBPGR (egun IPGRI) sortzen da Erroman.

Mundu mailako errekurtsio fitogenetikoaren kontserbaziorako erakundea

Mundu mailan banku berriak (Etiopia, Bangladesh, Pakistan, Zambia, Zinbawe, Tailandia...)

1980 harmakadatik aurrera REDBAG, RIBES, GENMDOC, BASEMAC, ENSCONET

REDBAG



ENSCONET



REDBAGeko Germoplasma Bankuak

Bankua	Kokalekua	Sorrera	Helburu nagusiak	Akzesio zbk.	Teknikak	Beste ekimen batzuk
UPMko Hazi-Bankua	Madril	1966	Iberiar Penintsulako Brassicazeo endemikoak	9900	Gela-hotza Kriopreserbazioa <i>In vitro</i> kultiboa	Haziekin ikerketak Biologia molekularra
Kordoba ko L. B. (Andaluziako LGB)	Kordoba (Andaluzia)	1982	Andaluziako endemismoak Etnobotanikako bilduma	5200	Kamak <i>In vitro</i>	Haziekin ikerketak Biologia molekularra
Valentziako L. B. (Valentziako LGB)	Valentzia	1991	Valentziako endemismoak	1500	Gela-hotza	Haziekin ikerketak
RJB	Madril	1986	Estatu Espainiarreko flora	4211	Gela-hotza	Biologia molekularra
Viera y Clavijo L. B.	Kanariar Irlak	1983	Kanarietako flora	2200	Gela-hotza <i>In vitro</i>	Haziekin ikerketak Biologia molekularra
Juan Carlos I L. B.	Madrid	1997	Estatu Espainiarreko flora	2556	Gela-hotza <i>In vitro</i> Kriopreserbazioa	Biologia molekularra
La Concepción L. B.	Malaga (Andaluzia)	1994	Landare exotiko eta autoktonoa	6242	Gela-hotza	Biologia molekularra
Marimurtra L. B.	Blanes (Katalunia)	1990	Sendabelarrak	210	Gela-hotza	Biologia molekularra
Soller L. B. (Balearretako LGB)	Sóller (Mallorca)	1991	Balearretako flora autoktono eta endemikoa	460	Gela-hotza	Haziekin ikerketak
Lorategi Botaniko Atlantikoa (Asturiasko LGB)	Gijon (Asturias)	2006	Kantauriar isuriko flora	800	Kamarak	Haziekin ikerketak

Germoplasma bankuak landare mehatxatuen kontserbazioaren kontestuan

Kontserbazioa ex situ Vs. in situ

Zer diote nazioarteko erakundeek?

Dibertsitate Biologikoaren Konbentzioa (CBD), Rio de Janeiro (Brasil), 1992

Landareen Kontserbaziorako Estrategia Europarra (EPCS), Prüohnice (Txekia), 2001

Landareen Kontserbaziorako Estrategia Globala (GSPC), La Haya (Holanda), 2002



Nazioarteko hitzarmenen helburuak 2010 urterako...

Landare mehatxatuen % 60aren kontserbazioa bermatu *in situ*

Landare mehatxatuen % 60aren kontserbazioa bermatu *ex situ*

Landare mehatxatuen % 10a kudeaketa planetan sartua

COUNTDOWN TO 2010



LGB bat abian jartzerakoan kontuan izatekoa...

Helburu orokorrak

Landare komertzial edota basatiak, lan-eremua, bilduko den material biologikoa, elkarlanerako oinarriak....

Azpiegiturak

Beharrianak aldakorrak izango dira helburuen arabera

Bilketa- eta kontserbazio-protokoloak zehaztu

Bilduko den materialaren eta espezieen ezaugarrien arabekoak

Kontserbaziorako lehentasun zehatzak

Espezieen zerrenda osatu

Datu-basea

Kokapena, fenologia, habitata, kontserbazio egoera....

Erlazionaturiko lanak

Biologiaren azterketa, kartografia, landaketak *ex situ*, landaketa esperimentalak...



Landare Germoplasma Banku motak: Teknikaren Arabera

Ultra-lehorketa

Haziak, polena, esporak...

Hazkuntza motela

In vitro kultiboak

Kriopreserbazioa

Kimuak, meristemoak, polena...

Izozketa motela

Enkapsulazioa-deshidratazioa

Bitrifikazioa

DNA-Bankuak

Material genetikoa

Bilduma Biziak

Landare helduak

....



ULTRA-LEHORKETA

HAZI-BANKUAK

Harrington-en Legeak

	Murrizketa	Biziraupena
Tenperatura	5 °C	X 2
Hezetasuna	% 1	X 2

Honen arabera...

	Laborategia	Biltegia	Biziraupena
Tenperatura	20 °C	- 5 °C	X 2 ⁵
Hezetasuna	% 9	% 4	X 2 ⁵

$$X 2^{10} = X 1024$$

Hazi-motak

❖ Hazi ortodoxoak

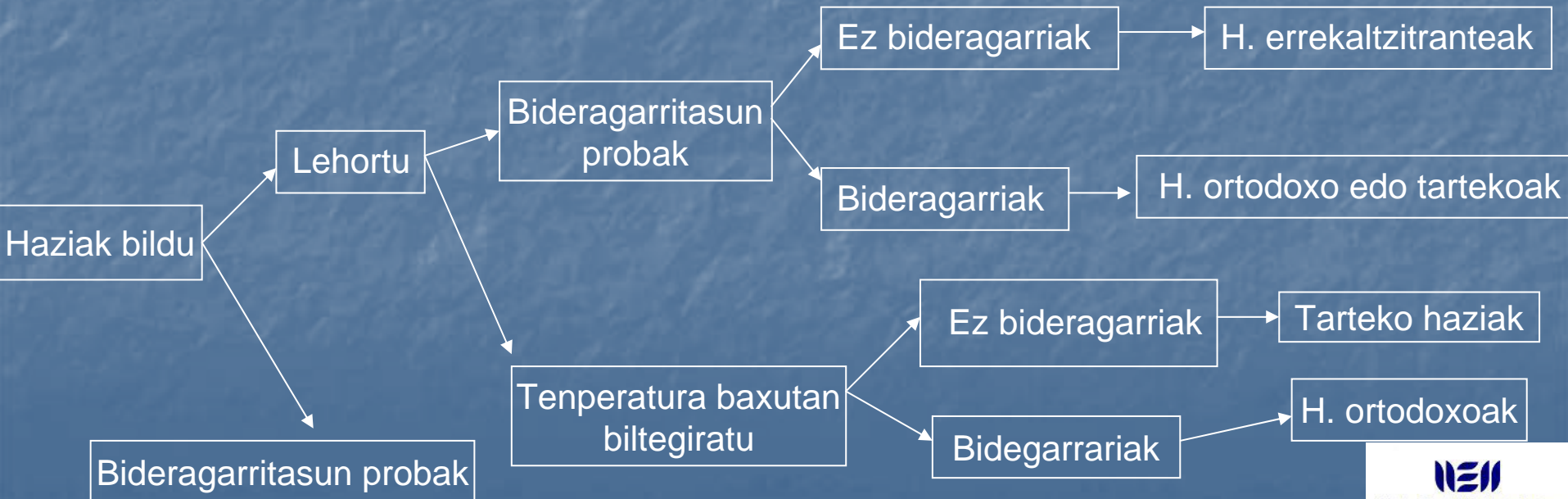
% 8-12 arteko ur-edukia

Lehortzea (% 5-6) eta ultra-lehortzea (% 2-3) jasaten dute

❖ Hazi errekalzitrateak

% 15-30 arteko ur-edukia

Ez dute lehortzea jasaten



Hazi-banku motak

❖ Banku Aktiboa

Epe ertain eta motzerako

Hazi ultra-lehortuak

0-5 °C

❖ Bankua Iraunkorra

Epe luzerako

Hazi ultra-lehortuak

-20 °C inguru



Germoplasma banku motak: Ultra-Lehorketa

Prozedura (I)

❖ Lanaren diseinua

Lehentasunak finkatu
Mendiko lanaren planifikazioa

❖ Bilketa

Landarearen identifikazioa
Herbariorako plegua
Populazioaren aldakortasuna
Hazien garapen unearen balorazioa
Hazien egoera sanitarioa
Haziak paperezko gutunazaletan sartu
Kodeak
Habitata, altuera, UTM koordenadak, biltzaileak....
Mehatxu erreal eta potentziak, kontserbazio-egoera eta populazioen demografia
Argazkiak

...



Prozedura (II)

❖ Tratamendua

Garbiketa

Aurre-lehorketa

Ernalketa eta bideragarritasun probak

❖ Biltegiraketa

Ultra-lehorketa (silika-gela)

Hontziraketa

Banku Aktiboa Vs. Banku Iraunkorra

Duplikatuak

❖ Datuen tratamendua eta interpretazioa

Ikerketaren bilakaera aztertu eta lehentasunak berdefinitu

❖ Lan osagarriak

Index seminum

Azterketa genetikoak

Espezie mehatxatuen kontserbazio egoera

Informazio korologikoa

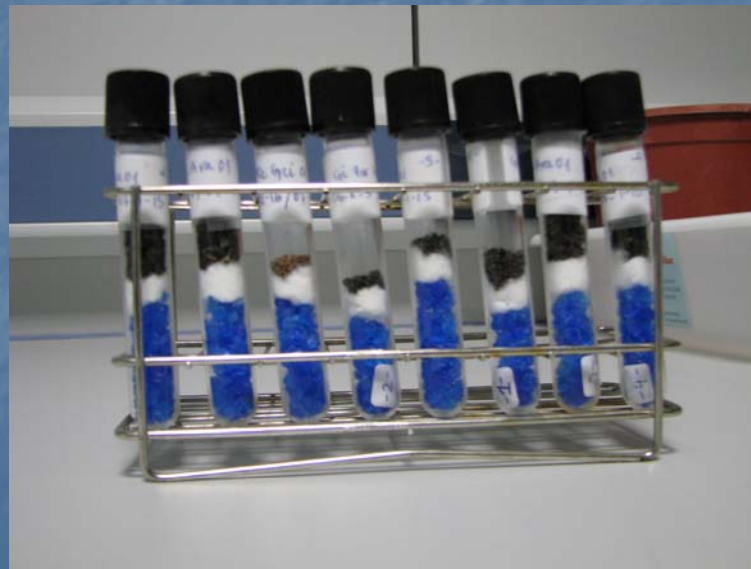
...



Germoplasma banku motak: Ultra-Lehorketa

Fraisoroko Nekazaritza Ikerketa Laborategian mantentzen diren landare mehatxatuak

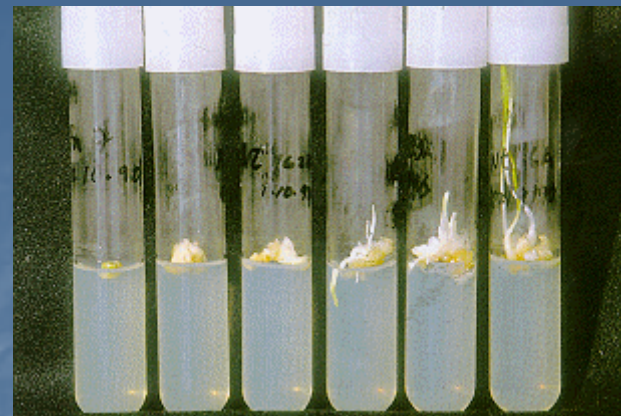
Espezia	Jatorria
<i>Aconitum variegatum</i> subsp. <i>pyrenaicum</i>	Aralar (Gipuzkoa)
<i>Galium arenarium</i>	Zarautz (Gipuzkoa)
<i>Geranium cinereum</i>	Aizkorri (Gipuzkoa)
<i>Ranunculus aconitifolius</i>	Altzania (Gipuzkoa)



REDBAGeko Hazi Bankuetariko batzuen ezaugarriak

	UPMko Hazi Bankua	Kordobako L. B. (Andaluziako LGB)	Valentziako L. B. (Valentziako LGB)	Sollerreko L. B. (Balearetako LGB)	Atlantikoko L. B. (Asturiasko LGB)
Garbiketa	Eskuz	Ezkuz / haize makina	Ezkuz / haize makina	Ezkuz / haize makina	Ezkuz / haize makina
Lehorketa	Metakrilatozko kamara	Metakrilatozko kamara	Metakrilatozko kamara	Gela lehorra	Metakrilatozko kamara
Banku Aktiboa					
Ingurunea	Gela	Kamarak	Kamarak	Kamarak	Kamarak
Tenperatura	+ 5 °C	- 5 °C	+ 5 °C	- 10 °C	+ 5 °C
Hazien kontserbazioa	Poteak, paperezko sobreak	Termoseilatutako aluminiozko sobreak	Poteak	Plastikozko poteak	Poteak
Hezetasun indikatzailea	Bai	Ez	Bai	Bai	Bai
Banku Iraunkorra					
Ingurunea	Gela	Kamarak	Kamarak	Kamarak	Kamarak
Temperatura	- 10 °C	- 20 °C	- 20 °C	- 25 °C	- 18 °C
Hazien kontserbazioa	Kapsuletan sartuak	Goma eta parafinaz seilatutako boteak	Kapsuletan sartuak	Kapsuletan sartuak	Kapsuletan sartuak
Hezetasun indikatzailea	Bai	Bai	Bai	Bai	Bai

HAZKUNTZA MOTELA



- ❖ *In vitro* kultiboak
- ❖ Hazkuntza tasa mugatu hazkuntza baldintzak aldatuz
 - Temperatura
 - Hazkuntza medioa aldatu:
 - Oinarrizko elementuak
 - Sukrosa
 - Gasak
- ❖ Epe motz-ertaina
- ❖ Arazoak
 - Mutazioak
 - Hetereogeneitate klonala jaitsi

Landare Germoplasma Banku motak: Kriopreserbazioa

KRIOPRESERBAZIOA

- ❖ Germoplasmaren kontserbazioa tenperatura ultrabaxutan (< -130 °C)
- ❖ Aktibitate metaboliko guztiak geratu

❖ Prozedura

Aurrekultiboa

Laginen aurretratamendua (DMSO, sukrosa, glizerola, glikol etilenoa...): lagina deshidratatu eta babestu

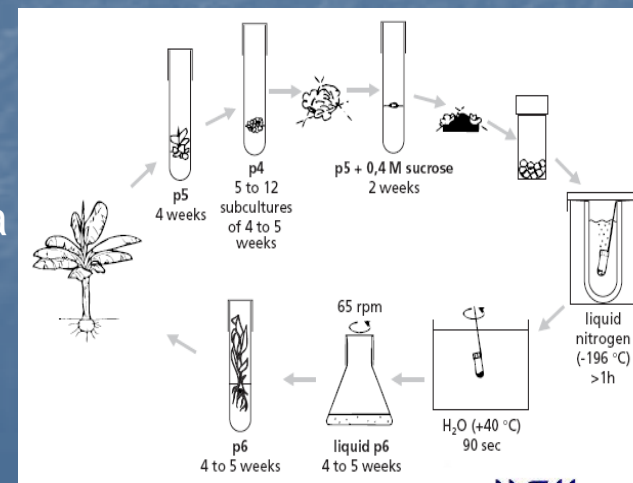
Nitrogeno likidotan sartu (-196 °C)

❖ Mikropropagazioa

Azkar desizoztu + babes kultibo medioa

❖ Epe luzerako

❖ Mutazio eta heterogeneitate arazorik ez




IZOKETA MOTELA

❖ Prozedura

Aurrekultiboa

Laginen aurretratamendua (DMSO, sukrosa, glizerola, glikol etilenoa...): lagina deshidratatu eta babestu

Slow Cooling

0,1 - 2 °C jaitsi minutuko  -20 / -40 °C arte

Nitrogeno likidotan sartu (-196 °C)

❖ Mikropropagazioa

Azkar desizoztu + babes kultibo medioa

❖ Abantailak

Epe luzerako

Mutazio eta heterogeneitate arazorik ez

❖ Eragozpena

Erlatiboki garestia



ENKAPSULAZIOA ETA DESHIDRATAZIOA

❖ Prozedura

Aurrekultiboa sukrosa kontzentrazio altutan

Ehunak kaltzio arginatzoko tantetan

Sukrosa kontzentrazio altuko bainua (babestu eta deshidratatu)

Haize ponpa edo silika-gela (% 18-20 HE)

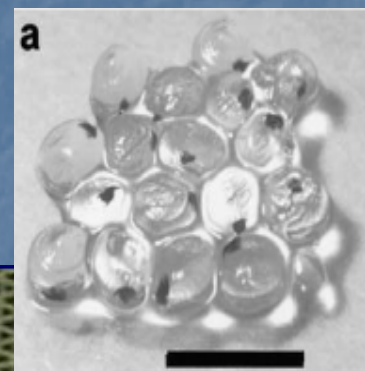
Nitrogeno likidotan sartu (-196 °C)

❖ Mikropropagazioa

Azkar desizoztu + kultibo medioa

❖ Epe luzerako

❖ Mutazio eta heterogeneitate arazorik ez



BITRIFIKAZIOA

❖ Batez ere kimuetarako

❖ Prozedura

Aurrekultiboa

Kimuak medio babeslean kultibatu (PVS2)

Nitrogeno likidotan sartu (-196 °C)

❖ Mikropropagazioa

Azkar desizoztu + babes kultibo medioa

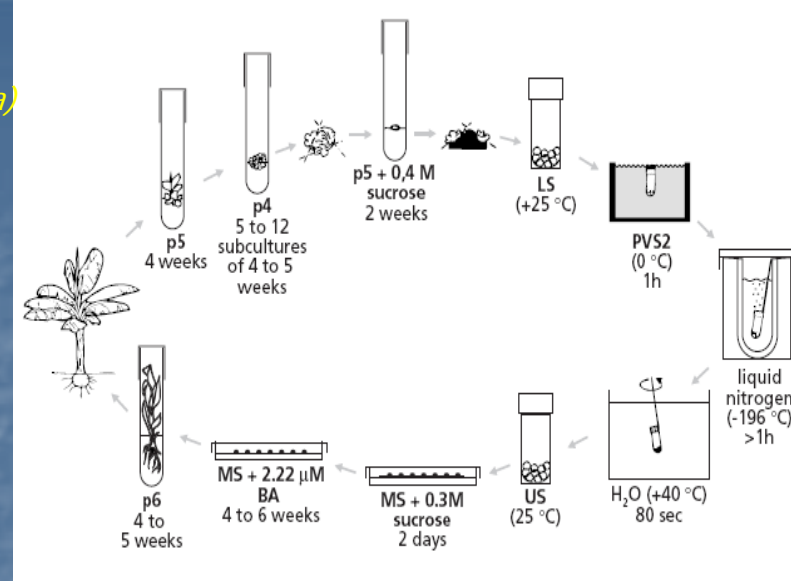
❖ Abantailak

Epe luzerako

Mutazio eta heterogeneitate arazorik ez

Erlatiboki merkea

Material biologikoaren manipulazio txikia

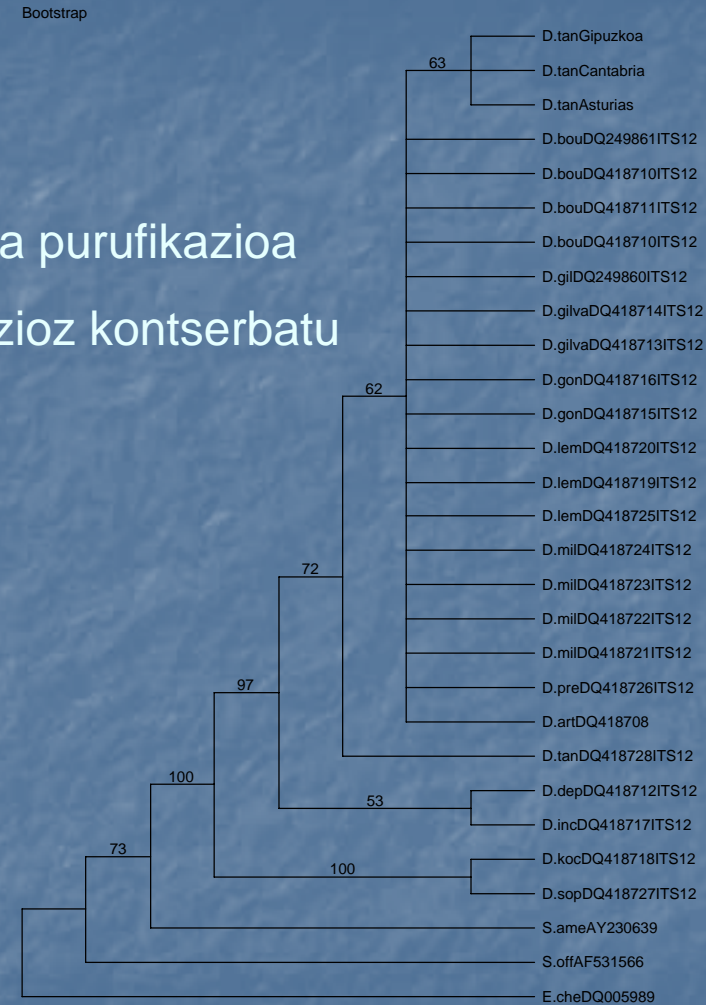
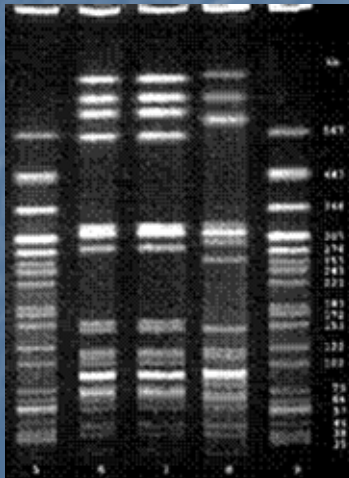


	Slow-cooling	Vitrification	Encapsulation-dehydration
Species and explants	Birch, shoot tips (Ryynänen & Häggman, 2001)	Aspen, shoot tips (Hubscher, Touchell & Tsai, unpubl. data)	Eucalyptus, axillary buds (Blakesley & Kiernan, 2001)
Pretreatment	<i>Cold acclimatization:</i> 100 μM ABA at 5°C, 8 h photoperiod w/ low light (c. 25% normal intensity), 28 d	None	<i>Encapsulation</i> 3% sodium alginate, 0.1 M sucrose
Conditioning	100 μM ABA 5% (v: v) DMSO, same conditions 3 d	0.6–1.6 M Sorbitol or glycerol, normal conditions 2 d	Sucrose + glycerol: 0.4 M each, 3 d, 0.7 M each, 3 d, 1.0 M each, 3 d, normal conditions
Cryoprotection or Dehydration	10% (w: v) PEG 8000 10% (w: v) glucose 10% (v: v) DMSO dropwise addition over a 30-min period, 0°C, 30 min	PVS2: 30% (w: v) glycerol 15% (w: v) ethylene glycol 15% (v: v) DMSO, 0.15 M sucrose and various modifications, 0°C, 30 min	Sterile airflow dry 3–5 h (moisture content < 25% f. wt)
Freezing	<i>Slow cooling</i> 0.17°C min ⁻¹ to -38°C, direct plunge in LN	<i>Rapid cooling</i> Direct plunge in LN	<i>Slow cooling</i> 10°C min ⁻¹ to 0°C, 0.5°C min ⁻¹ to -40°C, direct plunge in LN
Thawing (warming)	37°C, 5 min	40°C, 2 min	38°C, 2 min
Washing	22°C, 30 min w/ liquid medium	22°C, 3 \times 3 min w/ liquid medium	None
Post-thaw recovery	Normal conditions	1 wk dark then normal conditions	Sucrose + glycerol: 1.0 M each, 2 d (dark) 0.7 M each, 3 d, 0.4 M each, 3 d, normal conditions
% Regrowth	Up to 87%, 6 wk (genotype-dependent)	Up to 60%, 6 wk	Up to 68%, 12 wk

ABA, abscisic acid; DMSO, dimethyl sulfoxide; LN, liquid nitrogen; PEG, polyethylene glycol.

DNA-BANKUAK

- ❖ DNAREN ekstrakzioa, karakterizazioa eta purifikazioa
- ❖ Purifikatutako DNA zatiak kriopreserbazioz kontserbatu



BILDUMA BIZIAK

❖ *Lorategi Botanikoetan Kontserbaziorako Agenda (BGCI), 2000*

Landare mehatxatuak kontserbatu

Habitat degradatueta barneratzeko materiala sortu

Ikerketarako materiala sortu

Germoplasma bankuak sortu

Landare basatiengan egon daitekeen presioa murriztu (*index seminum...*)

Hezkuntza, dibulgazio eta sentsibilizazioa

❖ Abantailak

In situ-lanetarako materiala

Espeziearen biologiaren ezagutzak

Sentsibilizazioa

❖ Arazoak

Kultiborako zailtasunak

Aklimatazioa

Habitat egokien moldaketa

Dibertsitate genetiko urria



Iturrarango Lorategi Botanikoan mantentzen diren landare mehatxatuak

Espeziea	Jatorria
<i>Aconitum variegatum</i> subsp. <i>pyrenaicum</i>	Aralar (Gipuzkoa)
<i>Arenaria vitoriana</i>	Bernedo (Araba)
<i>Arisarum simorrhinum</i> *	Muskiz (Bizkaia)
<i>Armeria arenaria</i>	-
<i>Armeria euscadiensis</i>	Matxitxako (Bizkaia)
<i>Armeria pubinervis</i>	-
<i>Arum cylindraceum</i> *	Oltza (Gipuzkoa)
<i>Berberis vulgaris</i>	Lantaron (Araba)
<i>Carpinus betulus</i>	Alegia (Gipuzkoa)
<i>Culcita macrocarpa</i>	Kantabria
<i>Descurainia tanacetifolia</i> subsp. <i>suffruticosa</i>	Artzanburu (Gipuzkoa)
<i>Erodium manescavii</i>	Bertizarana (Nafarroa)
<i>Galium arenarium</i>	Zarautz (Gipuzkoa)
<i>Genista legionensis</i>	Abanto-Zierbena (Bizkaia)
<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>lutea</i>	Askiola (Araba)

Espeziea	Jatorria
<i>Limonium humile</i>	Zarautz (Gipuzkoa)
<i>Menyanthes trifoliata</i>	Urbia (Gipuzkoa)
<i>Narcissus asturiensis</i> subsp. <i>jacetanus</i>	-
<i>N. bulbocodium</i> subsp. <i>citrinus</i>	Bernedo (Araba)
<i>N. triandrus</i>	-
<i>N. vardullensis</i>	Bernedo (Araba)
<i>Ophioglossum vulgatum</i>	Espontanea
<i>Prunus lusitanica</i> subsp. <i>lusitanica</i>	Murumendi (Gipuzkoa), Gorbeia (Gipuzkoa)
<i>Sempervivum vicentei</i> subsp. <i>cantabrica</i>	Kolitz mendia (Bizkaia)
<i>Thelypteris palustris</i>	Jaizkibel (Gipuzkoa)
<i>Thymus loscosii</i>	Oion (Araba)
<i>Veratrum album</i>	Altzania (Gipuzkoa)
<i>Woodwardia radicans</i>	Mutriku (Gipuzkoa)

* babes arauditan ez egondare ere, kontserbazioarako interesekoak espezieak

ONDORIOAK

Ex situ kontserbazioa ez da helburua, lanabesa baizik

In situ egiten diren lanek lehentasuna

In situ eta ex situ egiten diren lanak uztartu

Erakunde ezberdinen arteko elkarlana ezinbestekoa





**ESKERRIK ASKO ZUEN
ARRETAGATIK**