



Para conservar la **BIODIVERSIDAD** genética vegetal

María Teresa González-Arnao, Yolanda María Martínez Ocampo
y Jorge Molina Torres

México reúne una elevada proporción de la flora mundial, alrededor del 10 por ciento, a pesar de que su superficie únicamente representa el 1.3 por ciento de la tierra emergida del mar.

Como parte fundamental de su biodiversidad, cuenta con más de 141.7 millones de hectáreas de bosques y áreas naturales, que constituyen un importante valor ambiental, social y económico. Estas áreas estabilizan e impiden la erosión de los suelos, promueven el ciclo hídrico, desempeñan un papel relevante en el balance del carbono mundial y son una fuente indispensable de elementos para la subsistencia de muchas comunidades rurales. Sin embargo, todos estos recursos no han sido conservados ni aprovechados de manera sustentable, y por eso el territorio mexicano presenta actualmente una de las tasas más altas de deforestación de América Latina (Segura y García-Peña, 2001).

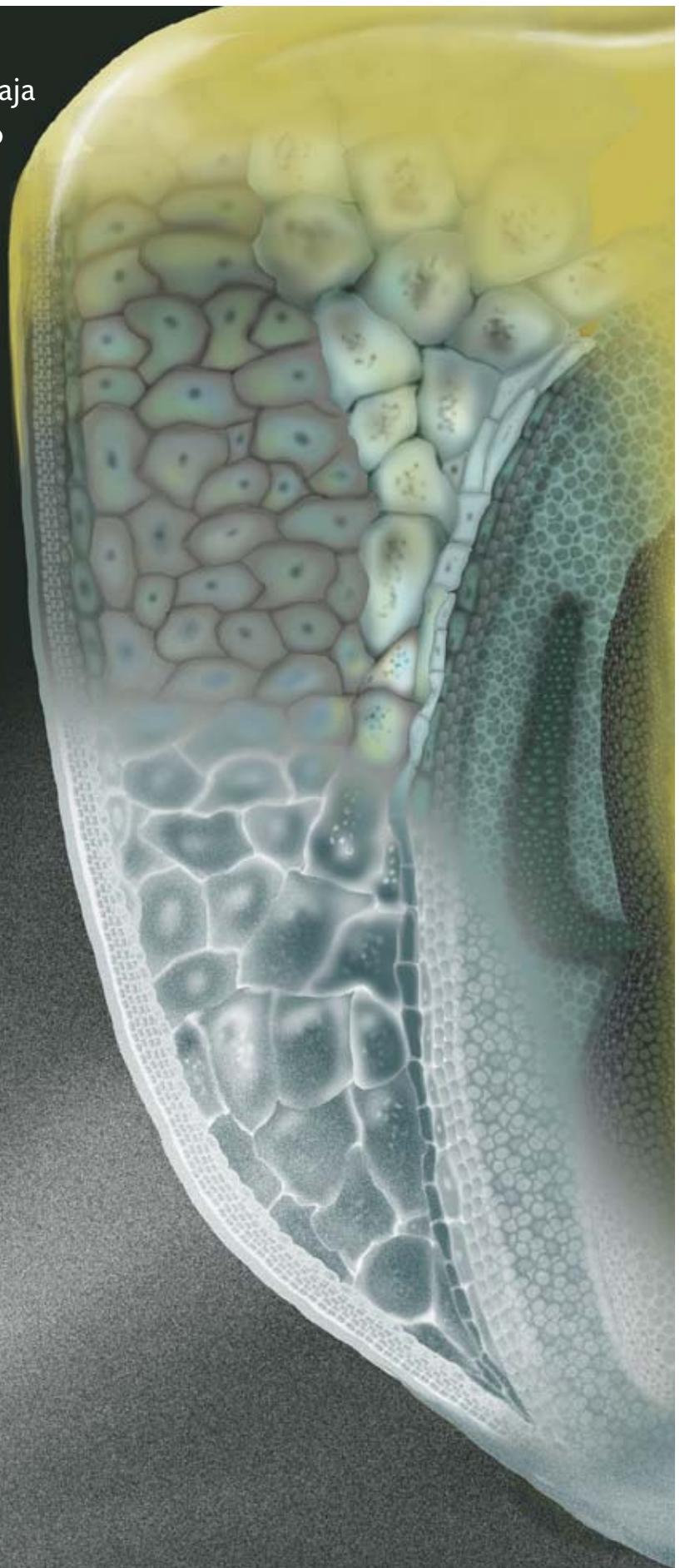
Los antiguos mesoamericanos lograron un amplio conocimiento de las especies vivientes, y cuidaron de ellas con gran esmero tras siglos de observación y selección en un medio rico en biodiversidad. Se ignora en qué momento comenzaron a utilizar técnicas sencillas para la conservación de las carnes, como el secado al sol y el salado. En cambio, se encuentran mejor documentadas las empleadas para almacenar el maíz y la conservación de su semilla. Seguramente ésta fue una de las primeras funciones que tuvo entonces la cerámica. Más tarde se construyeron almacenes, con el fin de que la semilla no se humedeciera y para aislarla de roedores, insectos y otras plagas. La semilla seca se logró

conservar de esta forma durante meses y a veces años. Este tipo de almacenamiento se ha perfeccionado con el tiempo y es lo que hoy se conoce como *bancos de semillas* (Vargas, 1999).

En la actualidad los bancos de semillas utilizan cámaras refrigeradas con humedad relativa y temperatura baja, ambas controladas. En este régimen solamente pueden conservarse a largo plazo las especies que producen las denominadas semillas *ortodoxas*, como el tomate, el chile y el frijol, entre otras. Las semillas ortodoxas se pueden desecar hasta un bajo contenido de humedad sin sufrir daño, al menos hasta un nivel constante que se mantenga en equilibrio con una humedad ambiental relativa de 10 por ciento. En equilibrio con estas condiciones, las semillas con almidón tienen un contenido de humedad cercano a 5 por ciento, en tanto que las oleaginosas de 2 a 3 por ciento. La longevidad de las semillas ortodoxas aumenta cuando se disminuye, hasta cierto límite, el contenido de humedad y la temperatura durante el almacenamiento. Esta longevidad se define por la duración promedio de vida bajo condiciones óptimas de conservación en un medio controlado. Las semillas ortodoxas quedarían clasificadas entre aquellas que pierden su viabilidad después de más de 10 años de almacenamiento (Roberts, 1973).

En contraste, las semillas denominadas *recalcitrantes* poseen una humedad elevada y no pueden desecarse por debajo de un nivel relativamente alto, superior al 10 por ciento, sin dañarse (Roberts, 1973). Existe una gran variación en el contenido de humedad entre

Una temperatura ultra baja aplicada a un organismo es capaz de provocar la suspensión total de sus procesos metabólicos, incluida la división celular. De esta forma, el material biológico pasa a un estado de inanimación absoluta en el que puede conservarse por periodos teóricamente ilimitados



las especies: algunas comienzan a morir rápidamente cuando se alcanza el equilibrio con una humedad relativa ambiental alta, y la mayoría con una del 60 al 70 por ciento. Estos últimos valores corresponden a contenidos de humedad de 16 a 30 por ciento del peso fresco de las semillas. Además del daño por el contenido de humedad, las semillas recalcitrantes sufren afectaciones drásticas con el descenso de la temperatura entre 10 y 0 grados Celsius. Muchas especies tropicales producen semillas del tipo recalcitrante y, por lo tanto, dichas semillas tienen un tiempo de vida corto, menor a un año, presentan gran fragilidad y son difíciles de almacenar. Es el caso de cultivos como el cacao, el mango y el coco (González-Arno, 2000).

Otras especies producen semillas con un comportamiento intermedio, y aunque toleran en mayor grado la deshidratación, su sensibilidad al frío impide que puedan almacenarse a largo plazo bajo el régimen de los bancos de semillas. El café y la palma de aceite constituyen dos ejemplos importantes en esta categoría (González-Arno, 2000).

Adicionalmente, existen varios cultivos de valor económico y alimentario como el plátano, la caña de azúcar, los cítricos y la papa, que comúnmente se pro-

pagan por la vía vegetativa, mediante fragmentos de la planta, y no involucran el estado de semilla. No todas estas especies producen semillas: algunas son estériles y otras, aunque muestran comportamiento de ortodoxas, son altamente heterocigóticas (los genes que proceden de cada uno de sus progenitores son distintos), por lo que las semillas sólo tendrían un interés limitado para la conservación. Estos inconvenientes hacen que la forma de conservar su germoplasma sea tradicionalmente a través de colecciones en campo. Estas colecciones son una estrategia importante y necesaria, pero presentan limitaciones de carácter biótico (como el ataque de plagas y enfermedades) y abiótico (como las condiciones climáticas adversas). Asimismo, requieren de grandes extensiones de tierra para mantener un número de réplicas adecuado, lo que implica altos costos de mantenimiento (Withers y Engelmann, 1997). Los jardines botánicos constituyen otra alternativa relevante de conservación *ex situ*, pero son instituciones comprometidas mayormente con la investigación y la difusión, además de promover vínculos a través de redes nacionales e internacionales.

El auge creciente de la biotecnología de plantas, y en particular la aplicación de las técnicas de cultivo de



Granos de café.



Fruto de la palma *Elaeis* con la que se elabora aceite.

tejidos, ha aportado métodos adicionales para resguardar satisfactoriamente los recursos genéticos de las especies “problema”; o sea, las que producen semillas recalcitrantes o que se propagan vegetativamente (sin semillas). Por otra parte, los métodos de conservación biotecnológicos son de utilidad también para los productos que resultan de los programas de hibridación somática e ingeniería genética (González-Arno, 2000).

Métodos biotecnológicos de conservación

Durante los últimos 30 años las técnicas de cultivo *in vitro* se han desarrollado y extendido a más de mil especies diferentes de plantas. Estos métodos facilitan el manejo e intercambio internacional de germoplasma, garantizan la obtención y la propagación del material en condiciones asépticas y fitosanitarias adecuadas y favorecen el ahorro por concepto de mantenimiento y de espacio utilizado (Withers y Engelmann, 1997).

El cultivo de tejidos vegetales representa uno de los avances biotecnológicos de mayor impacto mundial. Esta técnica se basa en la “totipotencia celular”, definida como la capacidad que tiene una célula de formar un organismo completo bajo condiciones de cultivo apropiadas. El cultivo de tejidos se ha aplicado principalmente para multiplicar material botánico en forma masiva y en un tiempo corto, aventajando en muchos casos a los sistemas convencionales de reproducción asexual. Para que las células expresen todo su potencial, se utilizan sustratos nutritivos que constituyen los denominados *medios de cultivo*, que contienen diferentes reguladores del crecimiento. Generalmente se realizan subcultivos periódicos cada 25-30 días, mediante la transferencia a medio fresco para evitar el agotamiento de los nutrientes. También se adoptan procedimientos de asepsia para manipular los cultivos libres de contaminación microbiana, y se mantienen en condiciones de temperatura e iluminación controladas. Asimismo, con la aplicación de las tecnologías *in vitro*, se ha logrado el almacenamiento a mediano y largo plazos mediante dos estrategias: crecimiento lento y crioconservación, respectivamente (González-Arno, 2000).

Conservación *in vitro* a mediano plazo

La conservación *in vitro* a mediano plazo tiene el propósito de reducir la frecuencia de los subcultivos y retardar el crecimiento del material de los bancos de semillas. Para ello se alteran las condiciones óptimas de cultivo a través de modificaciones, como la disminución moderada de la temperatura, el uso de medios nutritivos mínimos, la adición de inhibidores del crecimiento y el incremento de la osmolaridad del medio, entre otros.

La utilización de medios nutritivos mínimos implica la ausencia de ciertos nutrientes que constituyen fuentes de carbono y nitrógeno necesarios al explante. Como inhibidor de crecimiento, el más usado para añadirlo al medio es el ácido abscísico. Para elevar el potencial osmótico se adiciona manitol, prolina, glicerol o sacarosa. Estas alternativas limitan el desarrollo, pero no lo detienen totalmente. Es por ello que se han denominado “de crecimiento lento”. El material conservado de esta forma necesita renovarse cada cierto tiempo, pues ha continuado creciendo lentamente. Las muestras se micropropagan y se transfieren a un medio de recuperación y fortalecimiento. Cuando los nuevos explantes se han establecido y propagado, pasan otra vez al medio de conservación (González-Arno, 2000).



Cultivo de tejidos vegetales. Imagen tomada del Instituto de Horticultura de la Universidad de Chapingo.

Bajo las condiciones de crecimiento lento los cultivos se mantienen por espacio de varios años, pero estas condiciones se recomiendan sólo para la conservación a mediano plazo, generalmente dos años. Esta estrategia se ha ido incorporando paulatinamente y ya existen bancos establecidos en varios laboratorios y centros internacionales, que constituyen una fuente valiosa de intercambio y distribución de germoplasma. Los ejemplos más exitosos incluyen la yuca (*Manihot esculenta*) en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) de Colombia, donde mantienen alrededor de 6 mil 017 accesiones; el de la papa en el Centro Internacional de la Papa (CIP) de Perú; y el de la caña de azúcar en el Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) de Montpellier, Francia (Engelmann y colaboradores, 1999).

El objetivo principal de la crioconservación es lograr que se alcance la temperatura de almacenamiento deseada sin que se produzcan daños irreversibles por la formación de cristales de hielo dentro de las células

No obstante, el material así conservado no está exento del peligro de contaminación; además de que manipular grandes colecciones implica problemas considerables aun cuando los ciclos de subcultivos estén lo suficientemente espaciados. El CIRAD de Montpellier redujo en 1994 su colección *in vitro* de 650 variedades de caña de azúcar a 300 clones. La finalidad de esta medida fue minimizar los riesgos de inestabilidad genética en las variedades mantenidas por crecimiento lento durante 13 años, reducir las pérdidas por contaminación en el manejo de grandes volúmenes de material y bajar los costos en el mantenimiento del banco. Por ello, para lograr plazos largos de almacenamiento se utilizan otros métodos de conservación *in vitro*, considerados más seguros y menos laboriosos (Engelmann y colaboradores, 1999).

Conservación *in vitro* a largo plazo

Una temperatura ultra baja aplicada a un organismo es capaz de provocar la suspensión total de sus procesos metabólicos, incluida la división celular. De esta forma, el material biológico pasa a un estado de inanimación absoluta en el que puede conservarse por periodos teóricamente ilimitados (González-Arno, 1996).

Este proceso, denominado *crioconservación*, se basa en el almacenamiento preferiblemente en nitrógeno líquido, a -196 grados Celsius. Esta técnica constituye en la actualidad la forma más segura para mantener a largo plazo el germoplasma de las especies problema, que pueden almacenarse así sin alteraciones genéticas, protegidas de la contaminación y en el espacio reducido de un termo con nitrógeno líquido. La mayor dificultad está en establecer el procedimiento criogénico, pues representa someter al material a condiciones severas de estrés hídrico y térmico. El mantenimiento posterior de una colección no requiere de personal abundante, ni de grandes superficies: la condición indispensable es mantener el nivel adecuado de nitrógeno líquido en los termos de almacenamiento. Sin embargo, a pesar de las ventajas prácticas que presenta esta tecnología y de los avances experimentados, su aplicación rutinaria a gran escala sigue siendo insuficiente hasta la fecha.

El objetivo principal de la crioconservación es lograr que se alcance la temperatura de almacenamiento deseada sin que se produzcan daños irreversibles por la formación de cristales de hielo dentro de las células. Desde el punto de vista biológico, cuando se trata de estructuras organizadas como ápices y embriones, lo importante es mantener la integridad de las células de la zona meristemática, y esto a su vez se torna más complejo. El interés en este tipo de explante viene dado por su estabilidad genética, su alta tasa de propagación y la posibilidad de regenerar plantas libres de virus (Withers y Engelmann, 1997).

En los últimos 15 años las investigaciones en el campo de la criobiología han alcanzado importantes avances dirigidos a simplificar el procedimiento de congelación, facilitar la manipulación de un gran nú-

mero de muestras, extender los protocolos a una mayor cantidad de especies y abaratar el costo del proceso criogénico (Sakai, 2004). A partir de 1990, los métodos de crioconservación se clasificaron en dos grandes grupos: los denominados protocolos convencionales y las técnicas más nuevas. La diferencia entre ellos radica en los mecanismos físicos en los que se basan (Withers y Engelmann, 1997).

Métodos convencionales de crioconservación

Cuando un material biológico se somete a una temperatura de congelación, mientras menor sea su contenido de agua menor será la probabilidad de que ocurran daños letales por la cristalización de la fase acuosa en el medio intracelular. Por lo tanto, para cualquier proceso criogénico, la clave del éxito radica, inicialmente, en la habilidad de extraer la mayor fracción posible del agua congelable.

Con los métodos convencionales, la máxima deshidratación de las muestras se alcanza durante el descenso de la temperatura en el curso del proceso de congelación. Para ello, el enfriamiento se realiza de forma lenta hasta un nivel intermedio, usualmente hasta -40 grados Celsius, seguido por la inmersión rápida en el nitrógeno líquido. Para disminuir gradualmente la temperatura se utilizan por lo regular equipos de congelación programable; normalmente la tasa de enfriamiento se ajusta a 0.5 grados Celsius por minuto.

El éxito de este proceso requiere de un tratamiento previo con soluciones que contengan sustancias con propiedades protectoras contra el congelamiento (crioprotectoras), las cuales se aplican simples o en mezclas. Entre ellas se destacan el dimetil sulfóxido, la sacarosa y el glicerol. Los crioprotectores pueden actuar desde el interior o el exterior de las células, pero entre sus funciones más importantes está la disminución del punto de congelación, la protección de la integridad de la membrana y el incremento de la viscosidad de la solución celular (González-Arno, 1996).

Cuando se realiza el enfriamiento del material biológico inmerso en la solución crioprotectora, la muestra tiende en un inicio a mantenerse subenfriada, o sea,

a permanecer sin congelar a una temperatura inferior a su punto de congelación. Para evitar el subenfriamiento, se induce la formación de los primeros cristales de hielo mediante la nucleación heterogénea, que promueve el inicio de la cristalización y desencadena el proceso fundamental de deshidratación del sistema biológico. Como la membrana celular retarda la congelación del medio interno, y la presión de vapor de agua de las células subenfriadas es mayor a la de la solución externa que parcialmente ha comenzado a congelarse, la continua disminución de la temperatura provoca que el equilibrio osmótico sólo se restablezca con la salida del agua intracelular.

Bajo condiciones de congelación óptimas, se estima que la mayor parte del agua congelable logra escapar de las células en el momento de realizar la inmersión en el nitrógeno líquido. Por lo tanto, el paso clave de los métodos convencionales lo constituye la etapa



de deshidratación durante el proceso lento de congelación. El retorno a la temperatura ambiente después del almacenamiento a -196 grados Celsius es también de vital importancia. Para un régimen de enfriamiento lento, generalmente se necesita un método de descongelación rápido. De esta forma, se evitará la recrystalización del agua remanente en las células y podrá mantenerse la viabilidad del material que, después de permanecer criopreservado, se devuelve a las condiciones de cultivo normal (González-Arno, 1996).

Se ha comprobado que los métodos convencionales resultan más eficientes para criopreservar estructuras desorganizadas como las suspensiones celulares y los callos. Se han obtenido resultados positivos con pera, papa, soya y muchas más especies tanto ornamentales como medicinales. Sin embargo, con sistemas diferenciados de plantas tropicales se usan casi excepcionalmente (Withers y Engelmann, 1997); un buen ejemplo es la yuca (*Manihot esculenta*).

Nuevas técnicas de criopreservación

Las nuevas técnicas de criopreservación se desarrollaron y pusieron en práctica a partir de los años noventa. A pesar que desde hace 15 años se han aplicado con éxito, en la actualidad conservan



esta denominación. Con ellas, el evento de la deshidratación es más severo y permite extraer una fracción mayor del agua congelable. Esto tiene lugar antes del proceso de congelación, ya sea por el uso de soluciones crioprotectoras muy concentradas, que retiran el agua por ósmosis, o mediante el secado por evaporación, utilizando como agente desecante el gel de sílice o exponiendo las muestras, encapsuladas o no, al aire estéril que corre en una campana de flujo laminar (González-Arno, 2000).

Las nuevas técnicas se basan en el fenómeno de la *vitrificación*, que consiste en el paso directo de la fase líquida altamente concentrada a sólido amorfo, debido a la disminución rápida de la temperatura. La transición vítrea inhibe la cristalización del agua y por consiguiente los daños inherentes a este evento físico. Además, como el enfriamiento se realiza de forma rápida, por inmersión directa en nitrógeno líquido, no se requiere el uso de equipos sofisticados de congelación programable, lo cual abarata los costos y facilita la transferencia tecnológica a los usuarios potenciales (Sakai, 2004).

Entre las nuevas técnicas se destacan fundamentalmente la encapsulación-deshidratación, la vitrificación, la combinación de ambos métodos y el precultivo-deseccación, entre otros (Withers y Engelmann, 1997). Estos procedimientos han permitido extender mejor los beneficios de la criopreservación a los sistemas organizados de un gran número de especies, como cítricos, piña, plátano, té, café, etcétera, con resultados más reproducibles y niveles de recuperación más elevados, de hasta 90 por ciento (Sakai, 2004).

En el caso de los cultivos que se propagan vegetativamente, una ventaja importante es que las condiciones de cultivo *in vitro* están bien establecidas para abundantes variedades comerciales. El hecho de partir de un material fisiológicamente más homogéneo hace factible definir con mayor precisión el efecto de cada parámetro tecnológico. Todo ello ha impulsado significativamente la criopreservación exitosa de estas especies (González-Arno, 2000).

Comparativamente, las plantas que producen semillas recalcitrantes no presentan esta misma situación. Las diferencias en el grado de maduración y en el

contenido de humedad de las semillas producen variaciones significativas en la respuesta del material frente a la congelación. Es factible congelar la semilla íntegra si ésta es de tamaño pequeño, pero la principal dificultad parece estar relacionada con el poco conocimiento sobre la biología y el comportamiento de las especies silvestres y sus géneros afines. La limitante en otros casos es que los métodos de cultivo *in vitro* no siempre están bien establecidos, y sin esta condición no es posible definir un protocolo de crioconservación satisfactorio (González-Arnao, 2000).

El progreso experimentado en años recientes por la crioconservación de germoplasma vegetal ha sido producto del continuo desarrollo del cultivo de tejidos, de la mejor adaptación de las técnicas de congelación simplificada y de la mayor comprensión de ciertos mecanismos de resistencia. Algunos ejemplos evidencian estos logros: colecciones crioconservadas de semillas de 80 accesiones de café (*C. arabica*) en el CATIE de Turrialba, Costa Rica, y de 75 accesiones de té en el National Bureau of Plant Genetic Resources (NBPGR) de Nueva Delhi, India. De especies con propagación vegetativa, 219 variedades de papa se conservan en Braunschweig, Alemania, y otras 200 en el CIP de Lima, Perú. También se mantienen exitosamente 100 accesiones de pera en el National Clonal Germplasm Repository (NCGR) de Corvallis, Oregon, Estados Unidos. De productos biotecnológicos, se destacan 80 cul-

tivos embriogénicos de palma de aceite crioconservados en el Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Montpellier, Francia; alrededor de 3 a 4 mil suspensiones embriogénicas de pino en Sylvagen, Vancouver, Canadá, y más de 20 especies de callos embriogénicos de cítricos en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en Valencia, España (González-Arnao, 2000).

En México, la Universidad Autónoma de Tamaulipas y la Universidad Veracruzana son las instituciones que han reportado el desarrollo de actividades de investigación asociadas a crioconservar germoplasma de cítricos y piña, respectivamente (González-Arnao y colaboradores, 1997; Gámez-Pastrana y colaboradores, 2004).

El avance de la ciencia se estructura sobre la base de constantes metas a superar. Los recursos genéticos almacenados en bancos de germoplasma permitirán obtener nuevas variedades de plantas a través del mejoramiento genético clásico y la biotecnología. Los bancos de germoplasma son una herramienta no explotada suficientemente para la conservación de especies silvestres, de las cuales aún conocemos poco, pero sabemos que son un valioso tesoro de biodiversidad. La conservación de la biodiversidad representa una inversión de uso potencial, mientras que la de los recursos fitogenéticos es de importancia inmediata. La necesidad de caracterizar, utilizar y conservar nuestros recursos no debe, por tanto, esperar más.



Bibliografía

- Engelmann, F., M. T. González-Arnao, F. Paulet y J. C. Glaszmann (1999), *Biodiversidad y biotecnología de la caña de azúcar*, *Elfos Scientiae*, pp. 11-23.
- Gómez-Pastrana R., Y. Martínez Ocampo, C. I. Beristain y M. T. González-Arnao (2004), "An Improved Cryopreservation Protocol for Pineapple Apices Using the Encapsulation-vitrification", en *Cryoletters*, 25, pp. 405-411.
- Gonzalez-Arnao, M. T. (1996), *Desarrollo de una técnica para la criopreservación de meristemos apicales de caña de azúcar*, Cuba, tesis doctoral.
- González-Arnao M. T., A. Cárdenas-Lara y C. Urra (1997), "Criopreservación de callos embriogénicos de *Citrus sinensis* var. Pineapple", *BIOTAM*, vol. 8, núms. 2 y 3, pp. 21-32.
- González-Arnao M. T. (2000), "Métodos biotecnológicos para la conservación de germoplasma vegetal", IV Congreso Internacional de Biotecnología de las Plantas, Portugal.
- Roberts, H. F. (1973), "Predicting the Storage Life of Seeds", en *Seed Science and Technology*, 1, pp. 499-514.
- Sakai A. (2004), "Plant Cryopreservation", en B. J. Fuller, N. Lane y E. Benson (eds.), *Life in the Frozen State*, Boca Raton, CRC Press, pp. 329-345.
- Segura Warnholtz G. y E. García-Peña Valenzuela (2001), "Desarrollo forestal comunitario", en Beatriz Rendón y Silvia Rebollán, *Plantas, cultura y sociedad*, pp. 191-194.
- Vargas, L. A. (1999), "Las ciencias naturales en México", en Hugo Aréchiga y Carlos Beyer, *Biblioteca Mexicana*, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, pp. 52-53.
- Withers, L. A. y F. Engelmann (1997), "In Vitro Conservation of Plant Genetic Resources", en *Biotechnology in agriculture*, Marcel Dekker, pp. 57-88.

María Teresa González-Arnao es profesora investigadora de tiempo completo de la Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba, de la Universidad de Veracruz. Obtuvo el grado de doctora en ciencias técnicas en Cuba, en colaboración científica con Francia, en el área de biotecnología de las plantas. Realizó una estancia posdoctoral en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias en España. Es especialista en métodos de conservación *in vitro*, fundamentalmente por técnica de criopreservación. Ha sido investigadora principal de varios proyectos de colaboración con diversas instituciones y organismos internacionales.

mtgarnao1@hotmail.com

Yolanda María Martínez Ocampo es profesora investigadora de tiempo completo de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Córdoba, de la Universidad Veracruzana. Obtuvo el grado de doctora en ciencias en el área de biotecnología de las plantas. Es responsable del laboratorio de criopreservación de germoplasma vegetal de su facultad, y del cuerpo académico que desarrolla la línea de uso y protección de recursos vegetales y fúngicos.

yolimar@mexico.com

Jorge Molina Torres es profesor investigador titular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, Guanajuato. Obtuvo el grado de doctor en ciencias químicas en la University College of North Wales, en Bangor, Gran Bretaña. Es especialista en bioquímica del metabolismo secundario de especies vegetales endémicas en Mesoamérica y en cultivo *in vitro*. Es miembro del sistema nacional de investigadores y tiene una amplia experiencia en la formación de recursos humanos a nivel doctorado, maestría y licenciatura.

jmolina@ira.cinvestav.mx

