



Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos



Material de Apoyo a la Capacitación en
Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos

Sildana Jaramillo y Margarita Baena

Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI)
Grupo Américas

El Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) es un organismo internacional autónomo de carácter científico que opera bajo los auspicios del Grupo Consultivo sobre Investigación Agrícola Internacional (GCAI). El mandato del IPGRI es promover la conservación y el uso de los recursos fitogenéticos para beneficio actual y futuro de la humanidad. El IPGRI opera mediante tres programas: (1) el Programa de Recursos Fitogenéticos, (2) la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano (INIBAP) y (3) el Programa de Apoyo a las actividades en Recursos Fitogenéticos de los Centros del GCAI. El carácter de organismo internacional del IPGRI lo confiere la firma del Convenio de Creación del Instituto, a junio de 1999 ratificado por los gobiernos de los siguientes países: Argelia, Australia, Bélgica, Benin, Bolivia, Brasil, Burkina Faso, Camerún, Congo, Costa de Marfil, Costa Rica, Chile, China, Chipre, Dinamarca, Ecuador, Egipto, Eslovaquia, Grecia, Guinea, Hungría, India, Indonesia, Irán, Israel, Italia, Jordania, Kenia, Malasia, Mauritania, Marruecos, Noruega, Pakistán, Panamá, Perú, Polonia, Portugal, la República Checa, Rumania, Rusia, Senegal, Sudán, Suiza, Siria, Túnez, Turquía, Ucrania y Uganda.

Prestan apoyo financiero a los programas de investigación del IPGRI los gobiernos de Africa del Sur, Alemania, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Bulgaria, Canadá, Croacia, China, Chipre, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Estados Unidos, Estonia, Filipinas, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, Hungría, India, Irlanda, Islandia, Israel, Italia, Japón, Latvia, Lituania, Luxemburgo, Macedonia (antigua República Federativa de Yugoslavia), Malta, México, Mónaco, Noruega, los Países Bajos, Perú, Polonia, Portugal, el Reino Unido, la República de Corea, la República Checa, la República Federativa de Yugoslavia (Serbia y Montenegro), Rumania, Suecia, Suiza y Turquía, así como el Banco Asiático de Desarrollo, el Common Fund for Commodities (CFC), el Technical Centre for Agricultural and Rural Development (CTA), la Unión Europea, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), el Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo (CIID), el Fondo Internacional para el Desarrollo Agrícola (FIDA), la Asociación Internacional para la Promoción y Cooperación con Científicos de los Nuevos Estados Independientes de la Antigua Unión Soviética (INTAS), el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), el Natural Resources Institute (NRI), el Centro de Cooperación Internacional de Investigación Agropecuaria para el Desarrollo (CIRAD), el Nordic Genebank (NGB), la Fundación Rockefeller, el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), el Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente (PNUMA), el TBRI y el Banco Mundial.

Cita

Jaramillo, S. y M. Baena. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia.

Ilustración

Nelly Giraldo

Indice

Agradecimientos	v
Prólogo	vi
Contenido	2
I. Objetivos	3
II. Introducción	5
A. Los recursos fitogenéticos	6
B. Conservación de los recursos fitogenéticos	9
III. Conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos	12
IV. Etapas de la conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos ...	16
A. Adquisición del germoplasma	19
B. Multiplicación preliminar	38
C. Almacenamiento y conservación del germoplasma	42
D. Manejo del germoplasma conservado	60
V. Manejo de bancos y colecciones	95
A. Las colecciones de germoplasma	97
B. Los bancos de germoplasma	102
VI. Consideraciones finales	107
Referencias Consultadas	112
Acrónimos	121

Agradecimientos

El presente material es producto de un proyecto colaborativo entre el IPGRI y España, financiado por este país, para promover la capacitación y la investigación en recursos fitogenéticos en América Latina. Las autoras agradecen al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) de España por facilitar los fondos para desarrollar el proyecto, al Dr. José Francisco Montenegro Valls (CENARGEN/EMBRAPA) por sus contribuciones al esquema preliminar y a la versión inicial del documento, y al M.Sc. Luigi Guarino (IPGRI - Grupo Américas) por sus aportes a la sección sobre colecta. De igual manera agradecemos los aportes de los instructores y participantes en los talleres de prueba del material y a la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) por facilitar la realización de esos eventos.

Prólogo

Los recursos fitogenéticos son la base de la subsistencia de la humanidad. Suplen las necesidades básicas y ayudan a resolver problemas como el hambre y la pobreza. Sin embargo, se han ido perdiendo principalmente por el uso inadecuado que hacemos de ellos, así como por la destrucción de sus hábitat. Dada su vital importancia es necesario conservarlos para beneficio de las generaciones presentes y futuras.

Los recursos fitogenéticos se pueden conservar dentro o fuera de su hábitat natural, o combinando ambas alternativas. Fuera de su hábitat natural, los recursos fitogenéticos se conservan en bancos y colecciones de germoplasma, pasando por diferentes etapas y procedimientos que requieren personal capacitado. Con el fin de facilitar la capacitación de personal para el manejo de los bancos, el IPGRI ha desarrollado este material didáctico como parte de un proyecto colaborativo con España para fomentar la capacitación y la investigación en recursos fitogenéticos en América Latina.

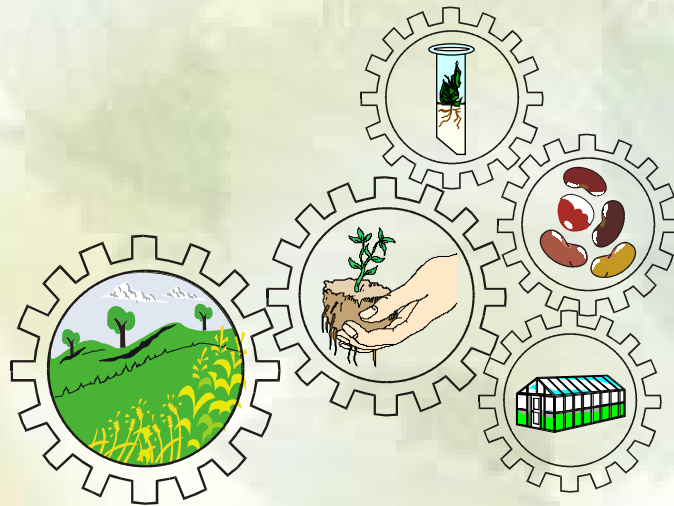
El material capacita al usuario en los aspectos fundamentales de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos, desde la etapa de colecta hasta la utilización del germoplasma. Explica los principios y describe los procedimientos necesarios para una conservación *ex situ* efectiva. Incluye referencias bibliográficas y ejemplos que ilustran cómo pasar de la teoría a la práctica.

Con el desarrollo y puesta a disposición de los usuarios de este material, el IPGRI espera hacer un aporte significativo a la capacitación de técnicos en recursos fitogenéticos que redunde en una mayor eficiencia en la conservación *ex situ* y la utilización del germoplasma.

Ramón Lastra
Director Regional, Grupo Américas



Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos



Contenido

- I. Objetivos
- II. Introducción
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- V. Manejo de bancos y colecciones
- VI. Consideraciones finales

I.	Objetivos	3
II.	Introducción	5
III.	Conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos	12
IV.	Etapas de la conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos	16
V.	Manejo de bancos y colecciones	95
VI.	Consideraciones finales	107

Contenido

- ▶ **I. Objetivos** ◀
- II. Introducción
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- V. Manejo de bancos y colecciones
- VI. Consideraciones finales

I. Objetivos

Estudiar las alternativas y métodos para conservar recursos fitogenéticos *ex situ*



Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 4

I. Objetivos

Al completar este módulo, el alumno:

- estará familiarizado con los propósitos, métodos y estrategias utilizados para conservar recursos fitogenéticos *ex situ*
- conocerá las diversas alternativas para conservar recursos fitogenéticos *ex situ* (qué conservar, en qué tipo de muestras y en qué condiciones)
- conocerá los procedimientos para manejar el germoplasma conservado y las responsabilidades inherentes al manejo de una colección de germoplasma
- conocerá los diferentes tipos de colección y el propósito con el cual se establecen

Contenido

- I. Objetivos
- ▶ **II. Introducción** ◀
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- V. Manejo de bancos y colecciones
- VI. Consideraciones finales

II. Introducción

Los recursos fitogenéticos

- son el conjunto de combinaciones de genes resultante de la evolución de las especies
- constituyen la base de la seguridad alimentaria mundial
- tienen potencial de uso agrícola actual o futuro



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 6

II. Introducción

A. Los recursos fitogenéticos

La especie humana depende de las plantas. Estas constituyen la base de la alimentación, suplen la mayoría de necesidades (incluyendo el vestido y el refugio) y se utilizan en la industria para fabricar combustibles, medicinas, fibras, caucho y otros productos. Sin embargo, el número de plantas que el hombre utiliza en su alimentación es mínimo comparado con el número de especies existente en la naturaleza. Tan sólo treinta cultivos entre los cuales se destacan el arroz, el trigo y el maíz, proporcionan el 95% de las calorías presentes en la dieta humana (FAO 1998). La dependencia de un número tan limitado de cultivos amenaza la seguridad alimentaria¹ de la humanidad (Valois 1996).

Los recursos fitogenéticos son de gran interés en la actualidad por cuanto se relacionan con la satisfacción de necesidades básicas del hombre y con la solución de problemas severos como el hambre y la pobreza. Existen 800 millones de personas desnutridas, de las cuales 200 millones son niños menores de 5 años. Se estima que en los próximos 30 años la población mundial aumentará en más de 2500 millones de habitantes hasta llegar a los 8500 millones. Satisfacer la demanda de alimentos de toda esa población requerirá mejorar el rendimiento de los cultivos de manera eficiente y sostenible (FAO 1996).



¹ Los términos subrayados forman parte del glosario. Para ver la definición, presionar una vez el término subrayado.

El hombre necesita agregar a su dieta cultivos de alto rendimiento y calidad que se adapten a las condiciones ambientales y resistan las plagas y las enfermedades. Puede aprovechar las especies nativas, exóticas, con potencial nutricional o industrial o crear nuevas variedades para lo cual necesitará reservas de material genético cuya conservación, manejo y utilización apenas empiezan a recibir la atención que merecen.

Los recursos fitogenéticos son la suma de todas las combinaciones de genes resultantes de la evolución de una especie. Comprenden desde especies silvestres con potencial agrícola hasta genes clonados (Hidalgo 1991). El término recursos genéticos implica que el material (el germoplasma) tiene o puede tener valor económico o utilitario, actual o futuro, siendo especialmente importante el que contribuye a la seguridad alimentaria (IBPGR 1991). En tanto le son útiles, el hombre aprovecha los recursos fitogenéticos y para ello debe conocerlos, manejarlos, mantenerlos y utilizarlos racionalmente.

Los recursos fitogenéticos



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos

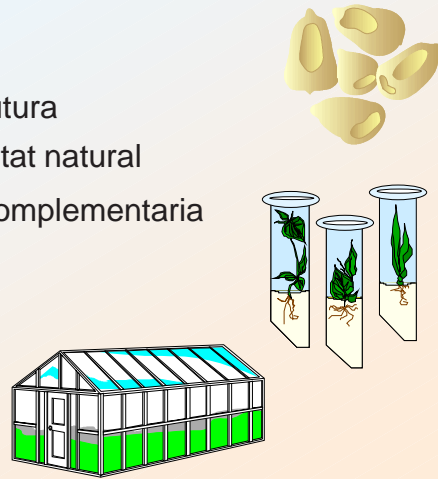
8

Los recursos fitogenéticos permiten desarrollar cultivos productivos, resistentes y de calidad. Ayudan a las naciones a incrementar la productividad y sostenibilidad de su agricultura e incluso a desarrollarse. Sin embargo, a pesar de contribuir al sustento de la población y al alivio de la pobreza, son vulnerables; se pueden erodar y hasta desaparecer, poniendo en peligro la continuidad de nuestra especie. La pérdida de los recursos fitogenéticos se denomina erosión genética.

Paradójicamente, tanto el aprovechamiento como la pérdida de los recursos fitogenéticos dependen de la intervención humana. El aumento de la población, la industrialización y la extensión de la frontera agrícola contribuyen a la erosión genética. A ello se suman la adopción de germoplasma élite y la modificación y/o destrucción de los centros de variabilidad genética. Esta pérdida de recursos fitogenéticos pone en evidencia la urgente necesidad de conservarlos y usarlos de manera sostenible.

Los recursos fitogenéticos se conservan

- por su utilidad actual o futura
- dentro o fuera de su hábitat natural
- idealmente de manera complementaria



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos

9

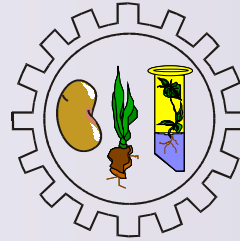
B. Conservación de los recursos fitogenéticos

Las plantas se conservan dependiendo de su necesidad y/o utilidad actuales y futuras. Los recursos fitogenéticos se pueden conservar en sus hábitat naturales (*in situ*), en condiciones diferentes a las de su hábitat natural (*ex situ*), o combinando los métodos *in situ* y *ex situ*, es decir, de manera complementaria. La selección de uno o varios métodos depende de las necesidades, las posibilidades y la especie objetivo.



La conservación requiere

- planificación y continuidad
- conocer las especies objetivo y cómo conservarlas
- recursos suficientes y constantes
- apoyo institucional continuo



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 10

La conservación: Un proceso continuo y estratégico

La conservación de los recursos fitogenéticos es una labor continua, de largo plazo, que implica inversiones importantes en tiempo, personal, instalaciones y operación, justificables en función de las necesidades no del deseo o conveniencia de conservar un material. Las razones para conservar y las especies objetivo se deben definir con base en criterios lógicos, científicos y económicos como la necesidad, el valor y uso de las especies, y la factibilidad de conservarlas (Maxted *et al.* 1997).

La conservación reporta el máximo beneficio cuando las actividades que la componen se articulan estrechamente. El éxito de la labor se medirá en términos de producir el resultado deseado al menor costo.

Requerimientos de la conservación

Como cualquier proceso estratégico, la conservación de los recursos fitogenéticos implica planificar y tomar decisiones con base en información previa. La conservación requiere establecer prioridades en cuanto a: a) *el tipo de material* que se va a conservar (especies en peligro o de interés para la alimentación y la agricultura), b) *las actividades* que se van a realizar con él posteriormente, y c) *los recursos disponibles* para realizar esas actividades. Las prioridades pueden variar pero hay que tener presente que la conservación y el uso del germoplasma son los objetivos más importantes.

La conservación debe disminuir al máximo posible los efectos del nuevo ambiente en las especies objetivo. Quienes conservan germoplasma deben conocer la taxonomía de las especies y las técnicas para representar su variabilidad genética y conservar estable el genotipo original. También se debe obtener información como datos de pasaporte, caracterización y evaluación (Cuevas 1988).



Las instalaciones en donde se va a conservar el material deben garantizar el aislamiento tanto de factores ambientales como contra plagas y enfermedades. Las instalaciones pueden variar en diseño y dimensiones dependiendo del número y el tamaño de las muestras que van a conservar pero deben contar con un suministro constante de energía eléctrica y equipos que permitan acondicionar, conservar y regenerar los materiales. Deben ser seguras para que protejan el material de incendios, inundaciones, robo, saqueo y disturbios de orden público.

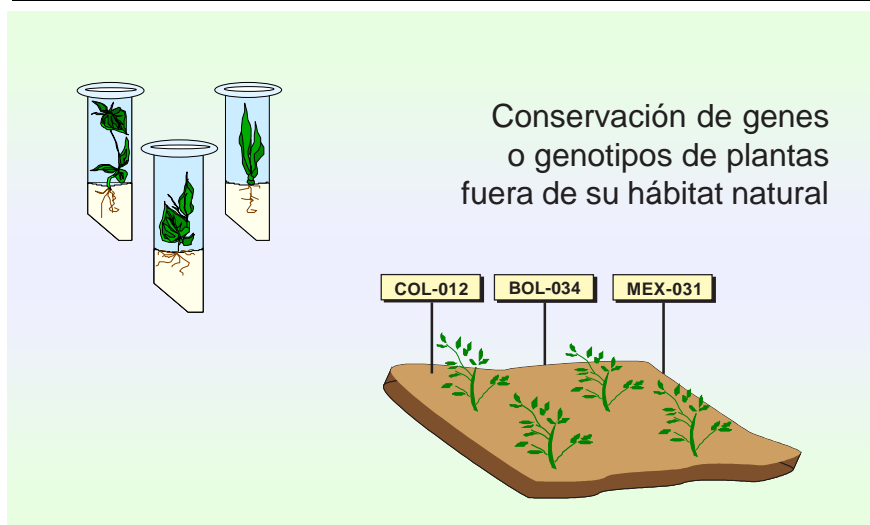
El manejo de las colecciones de recursos fitogenéticos debe estar a cargo de personal calificado, en lo posible de diversas disciplinas (fisiólogos, botánicos, mejoradores y agrónomos), que conozca los aspectos técnicos y los procedimientos de seguridad inherentes a sus labores. Conviene que la colección dependa de un grupo de personas laboralmente estables —no exclusivamente del curador— que puedan darle continuidad al trabajo de conservación, sin presiones políticas o de orden público.

La sola creación de un banco de germoplasma no garantiza la conservación de los recursos genéticos de interés para un país. La conservación requiere apoyo institucional, es decir, proveer de manera sostenida los recursos económicos, humanos y técnicos necesarios para mantener las colecciones y realizar las actividades de conservación.

Contenido

- I. Objetivos
- II. Introducción
- ▶ **III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos** ◀
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- V. Manejo de bancos y colecciones
- VI. Consideraciones finales

III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 13

III. La conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos

Como dijimos anteriormente, es la conservación de genes o genotipos de plantas fuera de su ambiente de ocurrencia natural, para uso actual o futuro (Hoyt 1988 citado por [Engle 1992](#)). La conservación *ex situ* pertenece al importante conjunto de actividades que componen el manejo de los recursos fitogenéticos. Se considera complementaria de la *in situ* por cuanto no es posible conservar *ex situ* todas las especies.

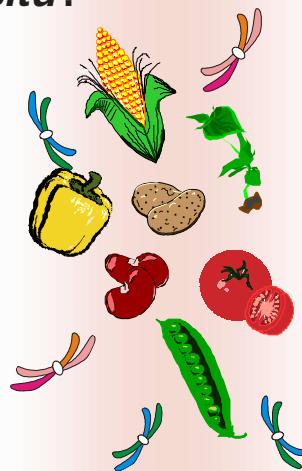
La conservación *ex situ* abarca un amplio espectro taxonómico. Sirve para proteger desde especies silvestres y formas regresivas hasta especies cultivadas. Aplicada a especies domesticadas, la conservación *ex situ* busca conservar fuera de su centro de origen o diversidad tanto las especies como la variabilidad producida durante el proceso evolutivo de domesticación. Este tipo de conservación se ha utilizado ampliamente durante las últimas décadas ([Hidalgo 1991](#)).

Qué se puede conservar *ex situ*?

Cualquier especie que podamos multiplicar

Principalmente materiales de uso agrícola, incluyendo

- especies silvestres y formas regresivas
- variedades tradicionales y mejoradas
- productos de biotecnología e ingeniería genética



Qué se puede conservar *ex situ*?

En teoría, todas las especies se pueden conservar *ex situ*, siempre que podamos multiplicarlas. Fuera de la naturaleza podemos conservar genotipos individuales pero no las relaciones entre ellas y su entorno ecológico. Tradicionalmente se han conservado *ex situ* recursos importantes para el hombre como las especies útiles en la alimentación y la agricultura, cuya conservación exige seguridad y disponibilidad inmediatas y futuras.

Dentro de las especies de uso agrícola interesantes para la investigación y base del sustento humano, existe un amplio rango de materiales que se pueden conservar *ex situ*, que incluye:

• **Especies silvestres y formas regresivas** pertenecientes a algunos géneros cultivados, que constituyen un amplio y variado rango de materiales importantes para la investigación y el mejoramiento de los cultivos (Harlan 1976; Stalker 1980; Prescott-Allen 1988 citados por Frankel *et al.* 1995). Los parientes silvestres y las forma regresivas, comúnmente utilizados como fuentes de genes para el mejoramiento de caracteres de interés, pueden también proporcionar resistencia a enfermedades y plagas. Entre los muchos cultivos favorecidos por las especies silvestres emparentadas, un buen ejemplo es la caña de azúcar. La caña de azúcar moderna es un complejo derivado de híbridos artificiales, cuyo pedigrí incluye la especie silvestre *S. spontaneum*, que aporta al rendimiento, vigor y resistencia a enfermedades del cultivo. Otros ejemplos son el maíz, el arroz y el tomate.

• **Variedades de agricultura tradicional:** razas nativas, cultivares primitivos y especies de importancia cultural (*e.g.*, uso en ceremonias religiosas).



- **Productos de los programas científicos de mejoramiento:** cultivares modernos y obsoletos, líneas avanzadas, mutantes, materiales sintéticos, etc.
- **Productos de biotecnología e ingeniería genética** que incluyen, entre otros, plantas transgénicas, fragmentos de ADN, genes clonados, genes marcadores, nuevas combinaciones genéticas, genes silenciosos, genoma de cloroplastos y otros. Esto es posible gracias a que la biotecnología y la ingeniería genética permiten aislar y transferir genes de plantas con caracteres de interés agronómico al igual que genes de casi cualquier especie vegetal, animal o bacteriana a los que antes no se tenía acceso ([Frankel et al. 1995](#); [FAO 1996](#); [Rao y Riley 1994](#)).

Contenido

- I. Objetivos
- II. Introducción
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
 - ▶ ***IV. Etapas de la conservación ex situ de los recursos fitogenéticos*** ◀
- V. Manejo de bancos y colecciones
- VI. Consideraciones finales

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

- Adquisición del germoplasma
- Multiplicación preliminar
- Almacenamiento de muestras
- Manejo del germoplasma conservado



Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 17

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

La conservación *ex situ* de germoplasma comprende una serie de actividades que inician con la adquisición del material y pueden llegar a incluir la utilización del mismo o el aprestamiento para la utilización. Estas actividades o etapas incluyen:


- la adquisición del germoplasma
- la multiplicación previa al almacenamiento
- el almacenamiento propiamente dicho y
- el manejo del germoplasma conservado, que comprende
 - la caracterización y la evaluación
 - la regeneración y la multiplicación para distribución y uso
 - la documentación y
 - la utilización o el aprestamiento para la utilización.

Estas etapas se describirán en detalle en lo que resta del presente módulo.

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

▶ *Adquisición del germoplasma* ◀

- Multiplicación preliminar
- Almacenamiento de muestras
- Manejo del germoplasma conservado



Adquisición del germoplasma

El germoplasma se adquiere

- por colecta, intercambio o donación
- para protegerlo, utilizarlo o completar colecciones

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 19

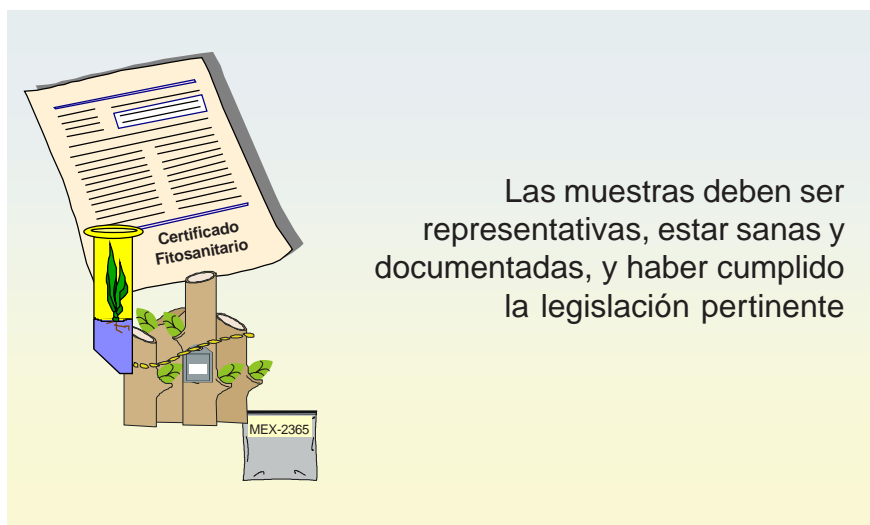
A. Adquisición del germoplasma

El germoplasma se puede adquirir por múltiples razones como protegerlo, estudiarlo, mejorarlo, distribuirlo y/o completar una colección existente (Engels *et al.* 1995).

Alternativas para adquirir germoplasma

El germoplasma de interés se puede obtener mediante la colecta, el intercambio o la donación. Por razones prácticas, conviene intentar conseguir el material deseado sin recurrir a los sitios de origen, valiéndose de la donación o el intercambio con instituciones que puedan tenerlo. Si no es posible y hay que optar por la colecta, el material se buscará en sitios donde existen poblaciones de la(s) especie(s) de interés.

Requisitos del material adquirido



Las muestras deben ser representativas, estar sanas y documentadas, y haber cumplido la legislación pertinente

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 20

Las muestras adquiridas deben ser sanas, representativas de la diversidad objetivo y estar bien documentadas para que ingresen sin problemas al sistema de conservación del país que las va a recibir y se puedan utilizar posteriormente. El país de origen y especialmente el que recibe el germoplasma deben asegurarse de que la muestra transferida esté sana. Por tanto, el germoplasma que ingresa a un país deberá ser sometido a inspección sanitaria y cuarentena.

La transferencia de germoplasma entre países está reglamentada por convenios internacionales de los que se hablará más adelante en esta sección. A continuación describiremos cómo adquirir germoplasma mediante colecta, intercambio y donación.

Adquisición por intercambio o donación

El germoplasma adquirido por intercambio o donación

- se obtiene de instituciones y/o investigadores
- está sujeto a legislación nacional e internacional



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 21

Adquisición por intercambio o donación

El intercambio de germoplasma es una práctica tradicional entre investigadores. Muchas accesiones que hoy forman parte de grandes colecciones se han obtenido mediante el intercambio o la donación. De la misma manera se han recuperado otras pérdidas en guerras, desastres naturales o por negligencia.

Para intercambiar o recibir germoplasma por donación, la persona o institución interesada lo solicita a quien lo posea. La transferencia del germoplasma se hace efectiva mediante la firma de un convenio entre las partes, en el cual se estipulan tanto los términos de la transferencia como la utilización del material (*e.g.*, conservación, investigación o producción de variedades comerciales). Estos convenios se denominan acuerdos para la transferencia de recursos genéticos² (Barton y Siebeck 1994).

Los convenios para la transferencia de germoplasma deben respetar los tratados sobre acceso a los recursos genéticos que tengan los países involucrados. Como la transferencia de germoplasma implica riesgos fitosanitarios, el intercambio o la donación se deben hacer a través de instituciones autorizadas y dentro de lo estipulado en la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (FAO 1997).

² En inglés se conocen como "material transfer agreements in genetic resources exchange (MTA)"

Adquisición mediante exploración y colecta



El germoplasma adquirido por exploración y colecta

- se busca en los sitios de distribución
- debe responder a un objetivo de conservación

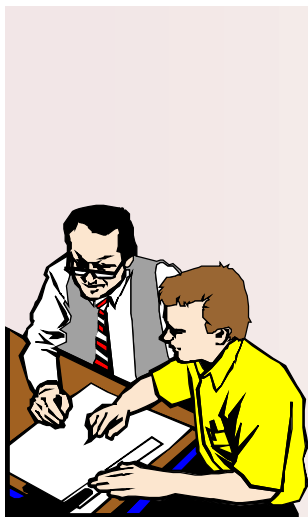
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 22

Adquisición mediante exploración y colecta

La exploración y la colecta consisten en salir al campo a buscar y recolectar variabilidad genética de especies cultivadas y silvestres que no es posible obtener de bancos de germoplasma, jardines botánicos u otras colecciones (Querol 1988). Las razones para coleccionar pueden ser diversas pero las prioridades se establecen con base en la(s) especie(s) de interés y/o en las regiones con una amplia diversidad genética del material deseado. Una colecta se justifica, por ejemplo, cuando en determinada área hay especies de interés en peligro de extinción, cuando son inminentes la investigación o el uso del material, o cuando la variabilidad de la especie objetivo en las colecciones *ex situ* se ha perdido o es insuficiente. A veces la oportunidad de coleccionar el material puede justificar la colecta. Otras veces, como parte de una expedición se puede coleccionar germoplasma que no es objetivo de la misión pero que podría resultar útil por sus características (Engels *et al.* 1995; Querol 1988; IPGRI 1996). De todos modos no debe perderse de vista el objetivo de conservación.

Planificación de la colecta



- Definir especies objetivo y sitios de recolección
- Recopilar información sobre especies y sitios
- Determinar estrategia de muestreo
- Cumplir requisitos legales
- Preparar logística

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 23

Cómo adquirir germoplasma mediante la colecta

La exploración y la colecta son actividades complejas que ponen en juego muchos recursos (biológicos, físicos, económicos y humanos) y requieren planificación. En esta sección explicaremos qué hacer antes y durante la colecta para garantizar que se adquiera el material de interés, que llegue al sitio de conservación en las mejores condiciones y que cumpla lo estipulado en el Código Internacional de Conducta para la Recolección y Transferencia de Germoplasma Vegetal ([FAO 1994](#), Anexo 1).

Planificación de la colecta

Antes de coleccionar, es necesario definir las especies objetivo, recopilar información sobre ellas y los sitios donde se encuentran, y verificar si se cuenta con recursos financieros para la expedición. También hay que determinar una estrategia para tomar las muestras, prever cómo se las manejará en el campo para que sobrevivan hasta llegar al sitio de conservación y cómo se documentarán a medida que se vayan coleccionando. Asimismo, es necesario solicitar permisos ante las autoridades competentes y respetar los reglamentos establecidos por el país donde se hará la colecta. Obtenidos los permisos, se preparan los aspectos logísticos del viaje. En el Anexo 2 se incluye una lista de aspectos logísticos importantes a la hora de planificar y desarrollar una colecta exitosa.

Selección de especies objetivo



Se basa en el **valor de uso**, determinado por una gama de variables. Las especies seleccionadas deben responder a un objetivo de conservación

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 24

Qué se va a coleccionar: Selección de las especies objetivo o prioritarias

Para determinar si conservamos un material tenemos que pensar en lo que haremos con él (valor de uso), es decir, su beneficio real o potencial para la alimentación, la agricultura, la industria, la investigación o el mejoramiento de cultivos. El valor de uso de una especie determina el interés, el compromiso y la prioridad de conservarla (Maxted *et al.* 1997). Una especie con un valor reconocido tendrá prioridad de conservación sobre otra cuyos usos ni siquiera se conocen. El valor de uso se determina analizando los siguientes aspectos de la especie:

a) el estado de conservación: Si la especie está o no suficientemente representada en colecciones de manera que las actividades de conservación no dupliquen las existentes. Por ejemplo, el maíz, el arroz y el trigo se han coleccionado durante décadas no así las raíces y tubérculos andinos (ulluco (*Ullucus tuberosus*), camote (*Ipomoea batatas*), isaño (*Tropaeolum tuberosum*) y arracacha (*arracacha xanthorrhiza*)) o los frutales neotropicales promisorios (chirimoya (*Annona cherimola*), papaya (*Carica papaya*), guayaba (*Psidium guajaba*), jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), marañón (*Anacardium occidentale*) y borjój (*Borojoa patinoi*)).

b) la urgencia de conservarla: La relevancia de una especie para conservación depende de qué tan amenazada esté, teniendo prioridad aquellas en peligro de extinción. El nivel de amenaza se puede averiguar buscándola en la lista roja de especies en peligro de extinción (Red List Categories) de la IUCN o ubicándola en una de las categorías de amenaza según el estado en que se encuentren las poblaciones (Anexo 3) o consultando las entidades del país encargadas de monitorear especies en peligro.



c) la importancia biológica de la especie con respecto a otras especies útiles: Aunque aparentemente algunas especies no tienen utilidad para el hombre, interactúan con otras que sí la tienen. Tal es el caso de la interdependencia entre especies de una sucesión vegetal de un bosque o selva, en donde la desaparición de unas podría poner en peligro la existencia de otras.

d) la contribución en términos de variabilidad genética: Las especies seleccionadas deben ser genéticamente diferentes a otras ya conservadas para mostrar lo que obtendremos conservándolas que ya no hayamos conservado.

e) la utilidad potencial de la especie: Especies que aporten a la satisfacción de necesidades básicas (alimento, medicinas, vivienda) tendrán mayor prioridad de conservación que otras como las ornamentales o las consideradas indeseables (arvenses compañeras).

f) el costo relativo de conservarla: Frente a dos especies igualmente prioritarias y un presupuesto limitado, el costo determinará cuál de ellas conservar. El criterio también se aplica al costo de conservar una especie en comparación con otra(s) y a la posibilidad de conservar la especie objetivo sola o en conjunto con otras de interés.

g) la importancia cultural para la comunidad: El valor estético, simbólico o cultural de una especie para una comunidad (*e.g.*, el papel que cumple en actividades culturales o religiosas) puede determinar que se la conserve. Un ejemplo lo constituyen las plantas consideradas emblemas nacionales, como la palma de cera del Quindío (*Ceroxylon quindiuense*), árbol nacional de Colombia, o los bosques y selvas conservados por su belleza.

La selección de especies objetivo se basa en interpretaciones que de hecho dan lugar a valoraciones subjetivas. Para evitar esto, quienes seleccionan las especies prioritarias deben sustentar sus decisiones y verificar que las especies elegidas realmente respondan al objetivo de conservación.

Documentación previa a la colecta

Reunir y analizar información sobre las especies objetivo y los sitios donde habitan



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 26

Recopilación y análisis de información sobre las especies objetivo de la colecta

Una vez definidas las especies que se van a colectar, necesitamos ubicar los ecosistemas donde habitan (sus sitios de origen o distribución) y reunir información sobre ambos.

Información sobre los hábitat



- Ubicación geográfica
- Topografía
- Clima
- Tipo de vegetación
- Vías de acceso
- Asentamientos humanos
- Ambiente social y político

Copyright IPGRI 2000

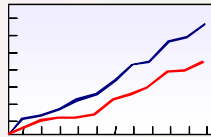
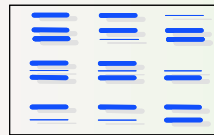
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 27

Información sobre los sitios de origen y distribución de las especies objetivo

La ubicación geográfica de los hábitat se puede precisar tomando datos de inventarios y estudios florísticos y ecogeográficos. Si la información no aparece compilada en estudios, será conveniente buscarla en bancos de germoplasma, herbarios, jardines botánicos, bases de datos agrícolas y fuentes de información etnológica (Jenkins 1988 citado por [Debouck 1995](#)) o consultar a otros investigadores y colectores. La búsqueda y recopilación de información deben resultar en una lista de zonas donde se pueden encontrar poblaciones representativas de las especies de interés. Localizadas geográficamente estas zonas, será preciso recopilar información básica sobre sus condiciones topográficas, clima, tipo de vegetación, vías de acceso, poblaciones humanas y ambiente social y político pues son determinantes para la organización de la colecta.

Información sobre las especies objetivo

- Distribución
- Taxonomía
- Morfología
- Anatomía
- Fisiología
- Composición genética
- Estrategia reproductiva



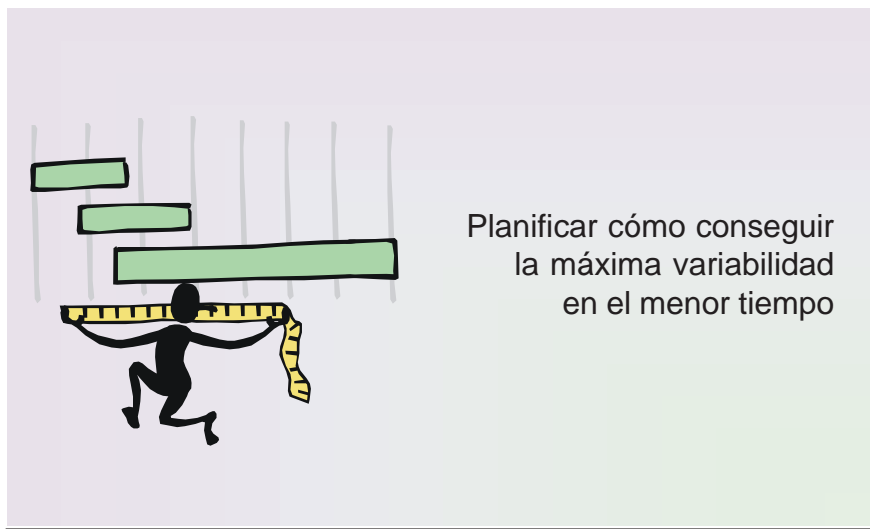
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 28

Información sobre la(s) especie(s) objetivo

Una colecta exitosa requiere un conocimiento profundo de las especies objetivo. Además de la distribución, debemos conocer la taxonomía, las características morfológicas, especialmente las relacionadas con la composición genética y la estrategia reproductiva (genética y dinámica de poblaciones). La morfología de la especie nos ayudará a reconocerla en el campo. La dinámica y la genética de poblaciones nos indicarán cómo tomar una muestra representativa de la especie, mientras que la fisiología y la anatomía las pautas para manejar la muestra. Con estos elementos podemos definir la estrategia de muestreo.

Estrategia de muestreo



Planificar cómo conseguir
la máxima variabilidad
en el menor tiempo

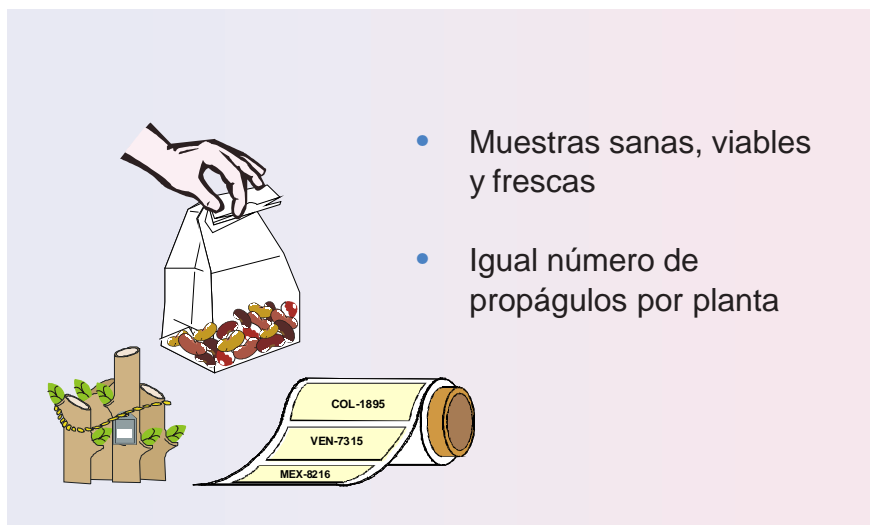
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 29

Cómo coleccionar las especies objetivo? Definición de la estrategia de muestreo

Habiendo seleccionado las especies objetivo, el colector define la estrategia de muestreo, que consiste en planificar la forma en que conseguirá la máxima variabilidad en el menor tiempo posible. Definir una estrategia de muestreo consiste en a) ubicar el sitio (uno o varios) de colecta, b) definir la frecuencia con que va a tomar las muestras (cada cuánto se detendrá a coleccionar, c) definir la metodología mediante la cual tomará las muestras y d) definir el tamaño óptimo de la muestra (el número de propágulos que representa la variabilidad genética disponible). La estrategia de muestreo se define con base en procedimientos estadísticos, por lo cual será conveniente que el colector se asesore de especialistas en la materia. El Anexo 4 contiene los pasos para definir la estrategia de muestreo.

Toma de muestras



- Muestras sanas, viables y frescas
- Igual número de propágulos por planta

Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 30

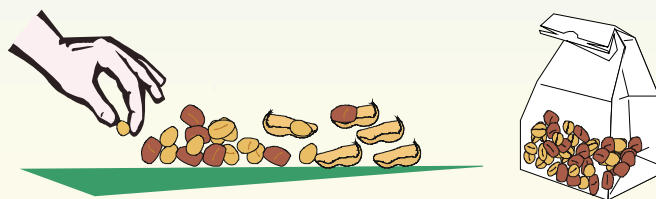
Cómo tomar las muestras durante la colecta

Independientemente del tipo de propágulo que se colecte, es conveniente tomar el mismo número de cada planta y en buenas condiciones físicas y sanitarias al igual que controlar el contenido de humedad de las muestras y la temperatura a la cual se van a mantener. Hay que evitar que las muestras se sequen demasiado o se pudran, pues tanto lo uno como lo otro afecta la viabilidad.

Si el objetivo es coleccionar semillas, conviene cosechar los frutos puesto que éstos mantienen las semillas viables por más tiempo, y extraer las semillas manualmente. Las semillas colectadas deben estar maduras para que toleren la desecación sin perder viabilidad. En el caso de material vegetativo, se deben coleccionar propágulos y yemas frescos para que se puedan reproducir posteriormente. Se pueden tomar muestras como plantas completas, tubérculos, rizomas y estacas. Las plantas se pueden coleccionar en cualquier recipiente siempre y cuando sea seguro y fácil de transportar; los tubérculos, rizomas y estacas en bolsas plásticas. También es posible coleccionar *in vitro* otro tipo de muestra, como veremos posteriormente.

Acondicionamiento durante la colecta

- Mantener las muestras viables hasta llegar al sitio de conservación
- Incluye limpieza, desecación/humidificación, almacenamiento temporal



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 31

Cómo acondicionar y almacenar las muestras durante la colecta

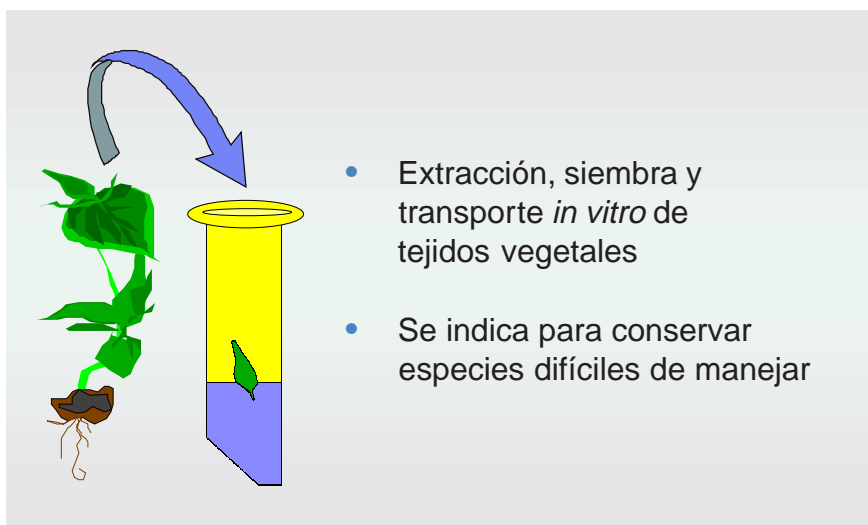
Las muestras colectadas se deben mantener viables hasta que lleguen al sitio de conservación. Hay que acondicionarlas para evitar que se dañen o contaminen. El acondicionamiento incluye limpiar las muestras, desecarlas si son semillas ortodoxas o mantenerlas húmedas si se trata de material vegetativo o de semillas recalcitrantes o intermedias.

La limpieza consiste en retirar todos los contaminantes ajenos a la muestra como piedras, tierra, insectos, semillas infectadas, dañadas o de otras especies y residuos vegetales. La desecación consiste en reducir el nivel de humedad de las semillas para almacenarlas. Se puede realizar con gel de sílice, aparatos de circulación de aire seco o extendiéndolas en capas delgadas, a la sombra, en sitios frescos y aireados.

Las muestras acondicionadas se deben almacenar hasta que sean llevadas al sitio de conservación. Las semillas ortodoxas se almacenan en bolsas de tela, alejadas de la luz o en recipientes que permitan la circulación de aire seco. Las semillas recalcitrantes e intermedias y las muestras vegetativas se deben mantener en recipientes humedecidos como papel periódico o toallas de papel, aserrín, arena y bolsas plásticas húmedas e infladas, cambiando el aire frecuentemente. También se pueden almacenar en neveras de icopor o en refrigeradores adaptados al vehículo.

Para evitar que el material pierda viabilidad durante la colecta conviene, si es posible, hacer envíos parciales de las muestras al sitio de conservación. El material enviado deberá estar claramente identificado y acompañado de instrucciones de manejo y de la documentación que indique el Código Internacional de Conducta para la Recolección y Transferencia de Germoplasma Vegetal (FAO 1994).

La colecta *in vitro*



Copyright IPGRI 2000

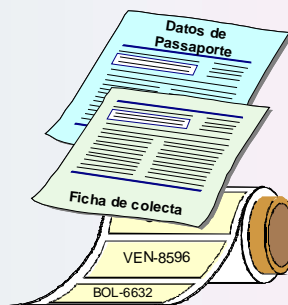
Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 32

La colecta *in vitro*

La colecta *in vitro* consiste en tomar y transportar *in vitro* hasta el laboratorio tejidos vegetales viables denominados explantes (*e.g.*, yemas, meristemas, embriones). El explante se extrae, se esteriliza y se siembra en un medio de cultivo. La colecta *in vitro* se practica con especies cuyas muestras son difíciles de manejar como las de reproducción vegetativa o de semilla no ortodoxa. Se la ha usado para coleccionar coco (*Cocos nucifera*), algodón (*Gossypium* spp.), cacao (*Theobroma cacao*), *Prunus*, *Vitis*, pastos y forrajes (Withers 1995).

Documentación durante la colecta

- Tomar datos de pasaporte, de recolección y otros relevantes
- Etiquetar el material
- Tomar muestras de herbario



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 33

Documentación de muestras durante la colecta

Documentar las muestras a medida que se van colectando es fundamental para identificarlas, caracterizarlas y utilizarlas posteriormente. Los datos de pasaporte y de recolección se toman durante la colecta y se registran en las fichas de colecta (Anexo 5). Los datos de pasaporte incluyen a) el número de orden de la ficha de colecta; b) el género; c) la especie, subespecie y/o variedad del material botánico; d) el lugar, provincia y país de recolección de la muestra; e) el nombre del recolector o recolectores y f) la fecha de recolección. Estos datos deben aparecer en todas las fichas de colecta. Las fichas, que incluso pueden tener formatos preestablecidos, facilitan registrar los datos ordenada y sistemáticamente, evitan las inconsistencias y omisiones propias de las anotaciones libres, y se pueden adaptar a las necesidades del recolector.

Identificar las muestras en el campo es tan importante como documentarlas. Colocarles etiquetas adhesivas con el número de la muestra, el lugar de origen, las iniciales del recolector y el número de identificación de la respectiva ficha de colecta facilita la identificación posterior. También es útil tomar muestras para herbarios, fotografías del material colectado, y datos etnobotánicos, ecológicos y geográficos (altitud, latitud, altura sobre el nivel del mar, pendiente, etc.). Estos datos se pueden registrar en una libreta de campo ([Querol 1988](#)).

Cuidados durante la colecta



- Proteger las poblaciones vegetales, los hábitat, el personal y el equipo de colecta
- Respetar las comunidades que habitan la zona

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 34

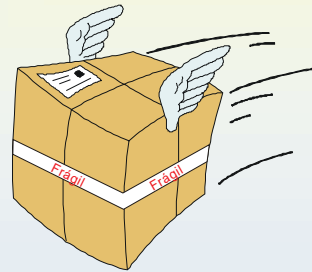
Cuidados durante la colecta

Descuidos o negligencia en el desarrollo de las colectas pueden causar daños a las poblaciones de plantas y a sus hábitat. Esto ocurre, por ejemplo, cuando se toman muestras grandes en poblaciones pequeñas, se transporta germoplasma contaminado o se introducen especies que pueden desplazar a las nativas por competencia y/o hibridación.

Respetar las costumbres, conocimientos y creencias de las comunidades que habitan en el sitio de colecta garantiza su colaboración durante la expedición y en el futuro. Deben tomarse medidas de seguridad con respecto al personal que realiza la colecta, especialmente prever el acceso a asistencia médica en caso de urgencia. Los equipos se deben manipular con cuidado y prestarles el debido mantenimiento.

Movimiento de germoplasma

- Sujeto a legislación para evitar riesgos fitosanitarios
- Por convenio entre las partes interesadas



Copyright IPGRI 2000

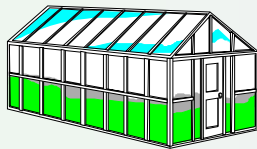
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 35

Requisitos para el movimiento de germoplasma

Mover germoplasma de un país a otro involucra riesgos fitosanitarios, por lo cual está sujeto a legislación. Las partes interesadas en mover germoplasma acuerdan los términos de la transferencia, asegurándose de que ésta sea legal y de que el germoplasma transportado esté sano. Los acuerdos deberán ajustarse a la reglamentación internacional vigente en instrumentos como el Convenio sobre Diversidad Biológica ([Glowka et al. 1994](#)), el Código Internacional de Conducta para la Recolección y Transferencia de Germoplasma Vegetal (Anexo 1) y la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (Anexo 6). Estos convenios regulan el acceso, la transferencia segura, y los derechos y responsabilidades de las partes con respecto a la utilización del germoplasma transferido.

El principal riesgo del movimiento de germoplasma es la transferencia de plagas y patógenos, que se deben detectar en la inspección sanitaria del material cuando ingresa a un país. La inspección sanitaria tiene en la cuarentena la medida de control más efectiva y de mayor aplicación a nivel mundial.

La Cuarentena



- Medida gubernamental de inspección fitosanitaria
- Incluye inspección, tratamiento, certificación, liberación o destrucción del material

Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 36

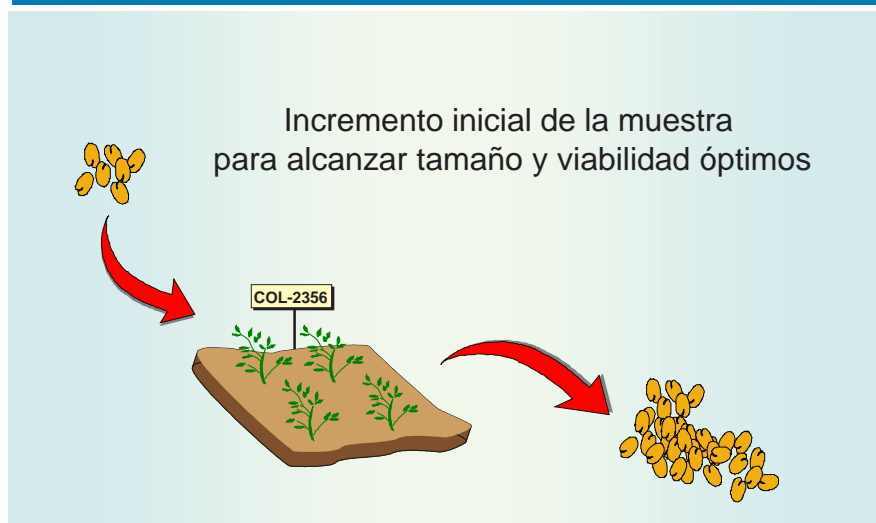
Cuarentena

La cuarentena es una medida gubernamental que controla el ingreso a un país de plantas, material vegetativo o cualquier producto vegetal, muestras de suelos y organismos vivos, con el fin de evitar que se introduzcan o diseminen plagas, patógenos y malezas (Nath 1993). Incluye la inspección para detectar plagas y patógenos, el tratamiento o limpieza de las muestras, y su certificación y liberación si no hay peligro o la destrucción del material si está muy contaminado o no se dispone de tecnología para limpiarlo.

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

- Adquisición del germoplasma
- ▶ **Multiplicación preliminar** ◀
- Almacenamiento de muestras
- Manejo del germoplasma conservado

Multiplicación preliminar



Copyright IPGRI 2000

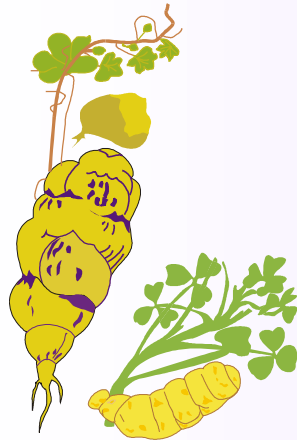
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 38

B. Multiplicación preliminar

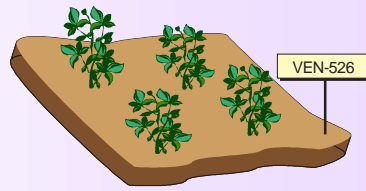
Cumplidos los trámites fitosanitarios, el germoplasma se lleva al sitio de conservación en donde se verifica si las muestras son suficientes y viables para conservarlas. Si la muestra es viable y suficiente se puede almacenar inmediatamente; si no, deberá someterse a multiplicación preliminar.

La multiplicación preliminar es el incremento inicial del germoplasma en condiciones óptimas de cultivo para garantizar muestras suficientes, viables y que mantengan la identidad genética original. El material multiplicado permitirá almacenar, conservar y distribuir las especies objetivo, y establecer poblaciones representativas para caracterización y evaluación. Casi siempre es necesaria debido a que las muestras obtenidas por donación/intercambio o colecta generalmente son pequeñas o poco viables.

Material vegetativo y semillas no ortodoxas



Se multiplican en campo
en invernaderos o *in vitro*



Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 39

El material vegetativo se multiplica en el campo o en invernaderos utilizando propágulos (*e.g.*, estacas, bulbos) esterilizados previamente o *in vitro* mediante yemas o meristemas tomados de las muestras originales. Las semillas recalcitrantes e intermedias se siembran en campo o en invernadero para obtener plantas completas de las cuales se tomarán yemas o meristemas que se multiplicarán *in vitro*. Otra alternativa es esperar a que las nuevas plantas produzcan semillas y multiplicar en campo a través de ellas.

Las semillas ortodoxas se pueden multiplicar en campo aunque conviene hacerlo en invernaderos para evitar recombinación genética y la presencia de plagas y enfermedades. Antes de multiplicar las muestras se deben verificar el tamaño y la viabilidad. La viabilidad inicial de la muestra servirá de base para monitoreos posteriores.

Viabilidad inicial



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 40

Cómo determinar la viabilidad inicial de las muestras

Teóricamente, las semillas ortodoxas se pueden almacenar después de acondicionarlas. Sin embargo, antes de conservar las muestras conviene verificar su tamaño y viabilidad. Los estándares mínimos para tamaño y viabilidad son 1000 semillas (preferiblemente 2000) y 85% de germinación, respectivamente.

La viabilidad inicial de las muestras se determina sometiendo las semillas a pruebas de germinación, cuyos estándares en cuanto a duración, número de semillas, niveles de desecación y temperatura de incubación han sido establecidos por la International Seed Testing Association (ISTA 1993a; 1993b citado por [Hong y Ellis 1996](#)). En ocasiones hay que realizar procedimientos adicionales para determinar el porcentaje de germinación como cuando se trabaja con semillas durmientes. Información detallada sobre los diversos métodos para determinar la viabilidad de semillas se puede encontrar en las reglas internacionales para el análisis de semillas (ISTA 1993), en el manual sobre tecnología de semilla para bancos de germoplasma ([Ellis et al. 1985](#)) y en el protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en almacenamiento ([Hong y Ellis 1996](#)).

Terminada la multiplicación preliminar, el material está en condiciones óptimas para pasar a la etapa de almacenamiento y conservación.

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

- Adquisición del germoplasma
- Multiplicación preliminar
- ▶ **Almacenamiento de muestras** ◀
- Manejo del germoplasma conservado

Almacenamiento y conservación del germoplasma

- Objetivo: Materiales viables y genéticamente íntegros
- Medio: Control de condiciones de almacenamiento



Copyright IPGRI 2000

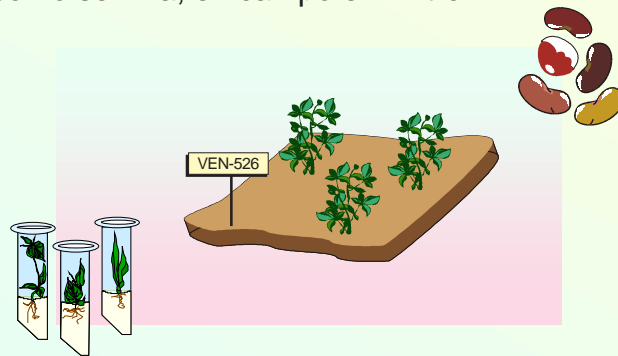
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 42

C. Almacenamiento y conservación del germoplasma

La conservación de los recursos fitogenéticos no se limita a la consecución y posesión física de los materiales (recolección y almacenamiento) sino que requiere asegurar la existencia de estos en condiciones viables y con sus características genéticas originales. Esto se logra, en el caso de semillas o material conservado *in vitro*, controlando las condiciones de almacenamiento para que inhiban o reduzcan el metabolismo de las muestras y, en el de material vegetativo, manteniéndolo en condiciones óptimas de cultivo.

Alternativas para almacenar y conservar el germoplasma

El germoplasma conservado se almacena como semilla, en campo e *in vitro*



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 43

Alternativas para almacenar y conservar el germoplasma

El germoplasma se puede almacenar en forma de semilla, en campo o *in vitro*, dependiendo de cómo la especie se reproduce y reacciona al almacenamiento. Estas características determinan a su vez las condiciones en que permanecerá viable.

El material vegetativo se podrá almacenar como plantas completas en el campo o como tejido cultivado *in vitro*. Si la especie se reproduce por semilla, habrá que determinar su reacción al almacenamiento para saber si es ortodoxa, recalcitrante o intermedia, puesto que esta característica determinará la forma, el tiempo y las condiciones en que se deberán almacenar las muestras. Si la especie es de semilla ortodoxa, lo más conveniente será conservarla en forma de semillas. Si es recalcitrante o intermedia, resultará más conveniente conservarla en campo o *in vitro* porque las especies con estas características sólo se pueden conservar como semillas por períodos muy cortos y en condiciones especiales.

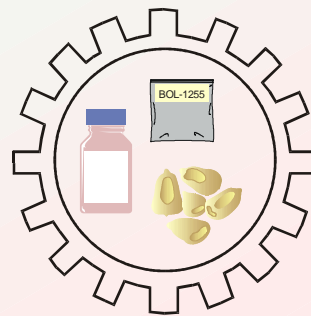
La reacción de la especie al almacenamiento se puede averiguar revisando literatura como el compendio sobre el comportamiento de semillas en almacenamiento (Hong *et al.* 1996), que contiene información sobre más de 2000 géneros de unas 250 familias. Si no se encuentra la información sobre la especie de interés, será preciso hacer pruebas para clasificar sus semillas. Información sobre las condiciones adecuadas para almacenar semillas se puede obtener en el protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en almacenamiento (Hong y Ellis 1996). Ambos documentos se encuentran disponibles en Internet (véase lista de referencias).

A continuación nos referiremos a las actividades previas al almacenamiento de germoplasma dependiendo de si éste se va a conservar como semilla, en campo o *in vitro*.

Almacenamiento como semilla

Incluye

- acondicionamiento
- empaque
- almacenamiento



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos

44

Almacenamiento en forma de semilla

El almacenamiento de semillas ortodoxas se realiza en tres etapas: a) acondicionamiento, b) empaque y c) almacenamiento de las muestras en cámaras con ambiente controlado. El acondicionamiento, cuyo objetivo es producir una muestra limpia y con un contenido de humedad que garantice su longevidad en almacenamiento, consta de limpieza física y sanitaria, y desecación.

La limpieza física y sanitaria, similar a la realizada durante la colecta pero más rigurosa, consiste en eliminar cualquier contaminante de la muestra como impurezas físicas, semillas infectadas o extrañas a la muestra e insectos. La desecación consiste en reducir el contenido de humedad de las semillas a un nivel mínimo de actividad metabólica, sin que pierdan viabilidad. Antes de desecar, es necesario determinar el contenido de humedad inicial de la muestra. El Anexo 7 contiene los parámetros para almacenar muestras de semillas.

Acondicionamiento de semilla

Contenido de humedad determinado directa o indirectamente o mediante humidímetros



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 45

Determinación del contenido de humedad de las semillas previo al almacenamiento

El contenido de humedad de las semillas se puede determinar cuantificando directa o indirectamente el agua que contienen. Las determinaciones directas se pueden hacer mediante métodos gravimétricos, de cromatografía y de espectrofotometría, y las indirectas mediante métodos higrométricos, de espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear y reacciones químicas de las semillas ([Grabe 1989](#)).

En la actualidad existen en el mercado analizadores electrónicos (humidímetros) que permiten cuantificar con rapidez y exactitud el contenido de humedad de la semilla. Si no se dispone de esa tecnología, se puede recurrir a los métodos mencionados en el párrafo anterior, descritos en el manual sobre tecnología de semillas para bancos de germoplasma ([Ellis et al. 1985](#)) y en el protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en almacenamiento ([Hong y Ellis 1996](#)).

Acondicionamiento de semillas - Desección



Desección de las semillas

La desección debe iniciarse en el campo, inmediatamente después de la colecta y/o de la extracción de las semillas. Las semillas se pueden secar con ayuda de equipos que permiten la circulación de aire a diferentes temperaturas o con gel de sílice, un método fácil y efectivo (Hong y Ellis, 1996). Existen secadores electrónicos que permiten programar los ciclos de secado, la temperatura, el flujo y la velocidad del aire de secado.

Terminado el secado se vuelve a medir el contenido de humedad para verificar si se ha alcanzado el nivel requerido (8-12%) y determinar si hay que someter las muestras a un nuevo ciclo de desección o rehidratación. Es importante establecer con exactitud las temperaturas y tiempos de desección para no poner en peligro las muestras puesto que repetir los procedimientos puede reducir la viabilidad.

Empaque

Envases que garanticen la supervivencia de las muestras



Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 47

Empaque

Terminado el acondicionamiento, el material está listo para empaquetar y llevar al sitio de almacenamiento. Tanto el envase en el que se empaquetar como el sitio en el que se almacene deben responder a los requerimientos de la especie y garantizar la supervivencia de las muestras.

Envases – Semillas ortodoxas

- Variedad de formas, materiales y tamaños
- Deben ser herméticos y acordes con las características de las semillas



Copyright IPGRI 2000

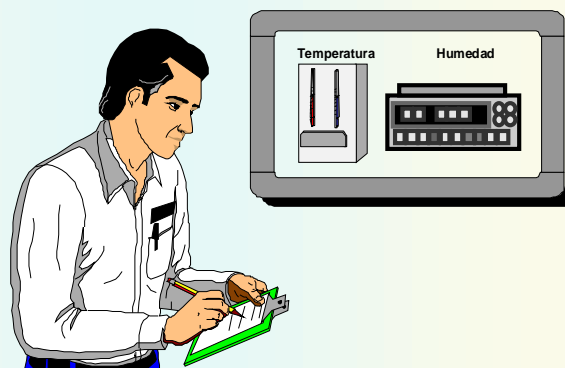
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 48

Envases

Existe una amplia gama de recipientes para empacar semillas, de variadas formas y materiales, desde sobres de papel y de aluminio hasta frascos de vidrio y latas de diferentes metales. Más que la forma o el material, lo que importa del envase es la hermeticidad, es decir, que aisle el germoplasma para evitar que absorba humedad y/o se contamine. La elección del envase dependerá de las características de las semillas y del término al cual se espera conservarlas. En la práctica también está determinada por los recursos del banco, puesto que así como los envases varían en forma y materiales, también varían en costos. Los envases herméticos, por ejemplo, son óptimos pero costosos. La inversión dependerá de lo que se desee hacer con el material. A manera de ilustración, el Anexo 8 describe una serie de envases comúnmente utilizados en los bancos de germoplasma.

Condiciones de almacenamiento – Semillas ortodoxas

Controladas y acordes con la especie, el objetivo de conservación y el plazo



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 49

Condiciones para almacenar semillas ortodoxas

Las semillas se pueden almacenar en cámaras durante diferentes períodos – largo, mediano y corto plazos. Las condiciones de almacenamiento para mantener las muestras viables se determinan de acuerdo con la especie, el objetivo de conservarla y el tiempo de almacenamiento proyectado. La cámara de almacenamiento deberá mantener constantes la temperatura, la humedad relativa y la intensidad de la luz mediante equipos de refrigeración, deshumidificación y control de horas luz.

La mayoría de especies de semilla ortodoxa se pueden conservar por tiempo indefinido a temperaturas entre -10 y -20°C , con un contenido de humedad de 3-7% y una viabilidad no inferior al 85%. Las semillas conservadas en estas condiciones se mantienen durante 70-100 años aproximadamente.

Si el objetivo es conservar las semillas a mediano plazo (10-20 años, máximo 30), se las puede mantener a temperaturas entre 0 y 15°C (generalmente $1-4^{\circ}\text{C}$), con contenidos de humedad entre 3 y 7% y una viabilidad no inferior al 65%. Si el material se va a utilizar a corto plazo, la semilla se puede almacenar en cuartos con aire acondicionado (Towil y Roos 1989; Engle 1992; Cromarty *et al.* 1985).

La cámara de almacenamiento debe ser hermética y diseñada para las muestras que almacenará, el período durante el cual permanecerán en ella y el clima de la zona donde se establecerá. En general, se recomienda construirlas con paneles prefabricados de acero galvanizado, unidos con espuma de poliuretano y aislantes que protejan el germoplasma de las condiciones externas. Cada cámara deberá tener dos sistemas de refrigeración independientes, un suministro de energía constante y estable, e instrumentos de verificación como termómetros de mercurio y de bulbo húmedo y seco. Información sobre la infraestructura y equipos requeridos se puede encontrar en el manual para diseñar instalaciones de almacenamiento de semilla (Cromarty *et al.* 1985).

Conservación en campo – Material vegetativo



Copyright IPGRI 2000

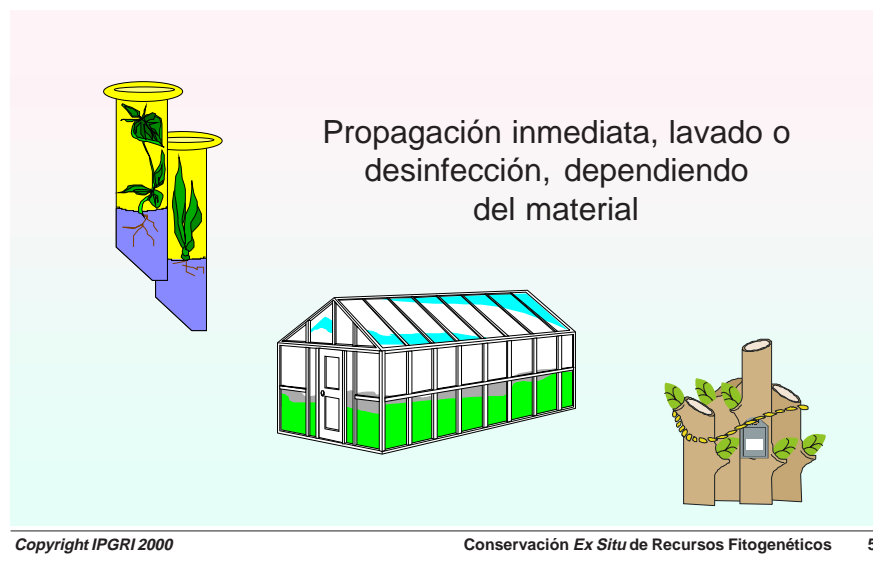
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 50

Conservación de material vegetativo en el campo

No todas las especies se pueden conservar como semilla aunque se reproduzcan como tales y menos si son de propagación vegetativa. Las semillas recalcitrantes e intermedias, aún en condiciones óptimas, duran unas cuantas semanas por lo cual resulta más fácil conservarlas en campo o *in vitro*.

La conservación en el campo se indica en especies perennes, arbóreas, silvestres, semidomesticadas, heterocigotas y aquellas con reproducción vegetativa o con semillas de vida corta o sensibles a la desecación. Implica acondicionar el material (si se requiere), multiplicarlo, elegir un sitio y prepararlo para la siembra, sembrar los materiales y registrar información sobre la ubicación de las accesiones.

Acondicionamiento y propagación de material vegetativo



Acondicionamiento y propagación de material vegetativo

El material vegetativo colectado se lava y desinfecta antes de propagarlo y llevarlo al sitio de conservación. La desinfección se puede hacer con bactericidas, fungicidas (bulbos y rizomas) o termoterapia (estacas). Una vez desinfectado, el material vegetativo se propaga en campo, en invernadero o *in vitro*. En campo y en invernaderos, las muestras se siembran en semilleros o en potes y se dejan crecer hasta obtener plantas de las que se puedan tomar nuevas muestras, repitiendo el procedimiento hasta llegar al número de plantas necesario para establecer la colección en el sitio definitivo.

Si se desea propagar *in vitro*, las muestras se siembran en invernaderos, en suelos de óptima calidad nutricional, y de las plantas resultantes –preferiblemente de las más jóvenes– se extraen explantes que se micropropagan *in vitro* hasta obtener plantas completas que se llevan de nuevo a invernaderos, se siembran en suelo estéril y 2 ó 3 semanas después se trasladan al sitio definitivo en el campo. La micropropagación consiste en a) desinfectar el explante en una solución de hipoclorito de sodio o de calcio, cloruro de mercurio o etanol, b) sembrarlo en un medio de cultivo *in vitro* hasta que se produzcan nuevos brotes y c) enraizar los brotes hasta obtener plantas completas (George y Sherrington 1984; Roca y Mroginski 1991; George 1996; IPGRI/CIAT 1994; Frison 1994).

La propagación en campo e invernaderos es sencilla pero requiere tiempo y espacio y no garantiza que las plantas obtenidas sean sanas y genéticamente idénticas a las originales. La propagación *in vitro* resuelve estos problemas y permite propagar muchas especies, incluso las que se reproducen por semilla, resultando más conveniente.

Conservación en campo – Selección y preparación del sitio

El sitio de conservación en campo
debe favorecer el desarrollo
de las plantas



Copyright IPGRI 2000

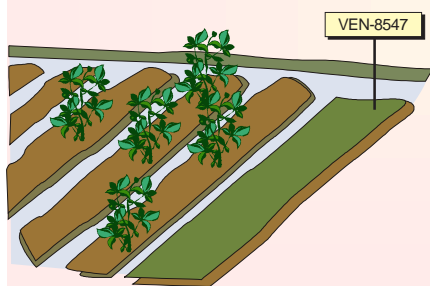
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 52

Selección y preparación del sitio

El sitio seleccionado para conservar el material en campo debe ser seguro y favorecer el desarrollo de las plantas. Debe estar aislado para evitar ataques de plagas y enfermedades pero ser de fácil acceso para las labores de manejo. La preparación física y química del sitio de siembra depende de los requerimientos de la especie y del número de accesiones que se espera tener en el campo.

Siembra de material en el campo

- Evitar que las plantas intercambien polen
- Registrar en mapas e identificar las plantas en el campo



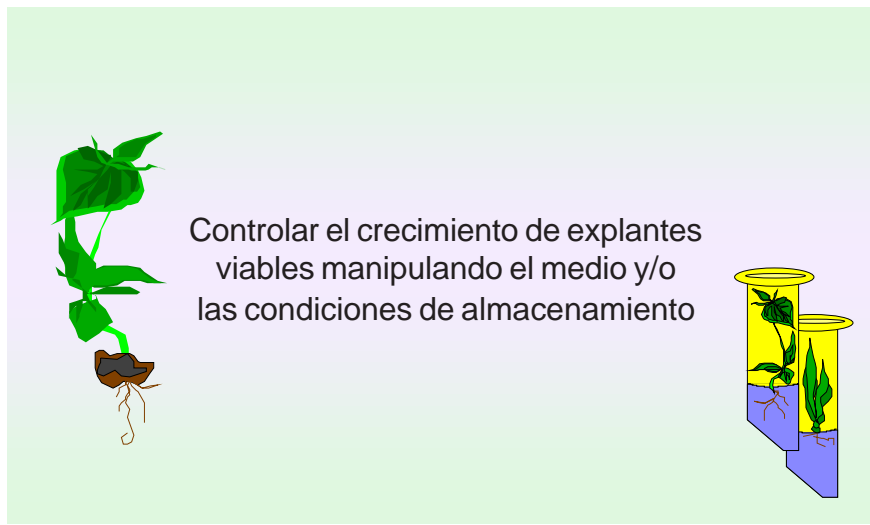
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 53

Siembra del material en el campo

Llevar al campo plantas vigorosas en un número representativo de la variabilidad genética de las accesiones asegurará la continuidad de los materiales conservados. Las plantas se dispondrán en el campo de manera que no intercambien polen para evitar que las poblaciones pierdan el genotipo original. El sitio exacto donde se sembró cada accesión debe quedar registrado en un mapa; las accesiones se deben identificar tanto en el campo como en las plantas.

Conservación *in vitro*



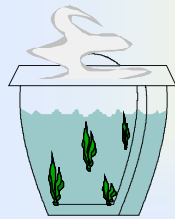
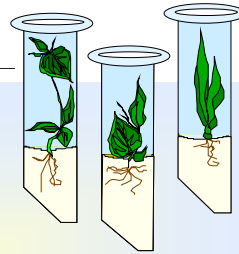
Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 54

Almacenamiento y conservación *in vitro*

El cultivo de tejidos permite conservar *in vitro* un amplio rango de especies en diversos tipos de muestra como plantas completas, semillas, retoños, yemas, ápices caulinares, meristemas, óvulos, embriones, células en suspensión, protoplastos, anteras, polen y ADN. La conservación *in vitro* de germoplasma se centra en controlar el crecimiento normal de explantes viables –reduciéndolo o deteniéndolo– manipulando ya sea la constitución del medio de cultivo y/o las condiciones de almacenamiento.

Conservación *in vitro*



- Crecimiento lento o criopreservación
- Incluye acondicionamiento, siembra *in vitro* y almacenamiento

Copyright IPGRI 2000

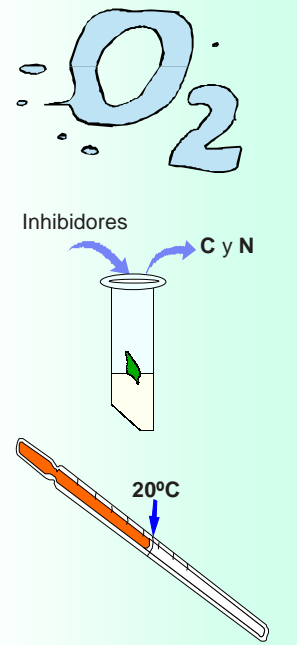
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 55

Al igual que en la conservación en campo, el material se acondiciona, se siembra –*in vitro* en este caso– y se lleva al sitio de conservación. El acondicionamiento consiste en desinfectar las muestras y lavarlas posteriormente con agua destilada para eliminar los residuos de desinfectante. Las soluciones desinfectantes más utilizadas son la de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1-3%, la de hipoclorito de calcio (Ca(OCl)₂) al 6-12%, la de cloruro de mercurio (HgCl₂) al 0.1-1.5% y la de etanol al 70%. De la muestra limpia se extraen los explantes (cuanto más pequeños, mejor), se siembran en medios de cultivo y en recipientes de vidrio, y se someten a una de dos formas de conservación *in vitro*: crecimiento lento o criopreservación. En ambos casos el medio y el ambiente de conservación deberán ser estériles y las condiciones de almacenamiento controladas. A continuación describiremos las dos formas de almacenar germoplasma *in vitro* (Roca y Mroginski 1991; George 1996).

Crecimiento lento

Reducir el crecimiento del explante modificando

- el medio de cultivo
 - potencial osmótico, inhibidores de crecimiento, nutrientes
- las condiciones de almacenamiento
 - envase, presión parcial de oxígeno, luz y temperatura



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 56

Crecimiento lento

El crecimiento lento consiste en reducir el desarrollo del explante modificando el medio de cultivo y/o las condiciones en que se lo mantiene. A través del medio de cultivo, el crecimiento se puede reducir aumentando el potencial osmótico (agregando manitol, prolina, glicerol o sacarosa), adicionando inhibidores de crecimiento (ácido abscísico) y reduciendo o suprimiendo los nutrientes que el explante necesita para crecer (carbono y nitrógeno). El crecimiento también se limita controlando las condiciones en que se almacenan las muestras, ya sea utilizando envases pequeños o reduciendo la temperatura, la iluminación y la presión parcial de oxígeno. Reducir la temperatura es la forma más efectiva para controlar el crecimiento de los explantes en tanto reduce la actividad metabólica, pero como es igualmente importante asegurar y mantener una baja tasa de crecimiento que permita conservar los explantes viables durante el mayor tiempo posible, conviene utilizar una combinación de métodos.

Las muestras en crecimiento lento se mantienen en cámaras con baja temperatura durante períodos que pueden variar de unos meses a varios años (generalmente dos). La temperatura dependerá de la especie y la variedad aunque la mayoría de cultivos *in vitro* se mantiene a temperaturas entre 20 y 30°C; temperaturas menores pueden reducir aún más el crecimiento de algunas especies pero afectar negativamente otras. Algunas especies del género *Prunus*, por ejemplo, se conservan bien a -3°C mientras que temperaturas inferiores a 15°C destruyen rápidamente explantes de *Musa* spp. (Pérez-Ruiz 1997), y aquellas inferiores a 18°C deterioran variedades de yuca (Withers 1984 citada por Roca *et al.* 1991).

El material conservado en crecimiento lento necesita renovarse cada cierto tiempo en tanto ha continuado creciendo así sea lentamente. Las muestras se micropropagan y se transfieren a un medio de recuperación y fortalecimiento. Cuando los nuevos explantes se han establecido, se propagan nuevamente y se llevan de nuevo al medio de conservación. Un ejemplo de la aplicación exitosa de esta metodología lo constituye el caso de la yuca en CIAT, Colombia, donde se conservan alrededor de 6017 accesiones (Roca *et al.* 1991; IPGRI/CIAT 1994).

Crioconservación



- Detener crecimiento mediante inmersión en nitrógeno líquido
- Depende de la reacción de la especie al congelamiento

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 57

Crioconservación

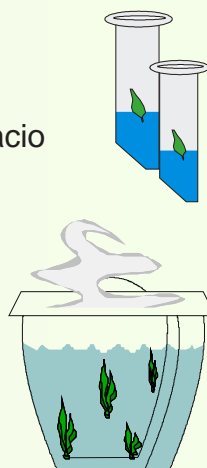
La crioconservación consiste en colocar los explantes en nitrógeno líquido (-196°C) para detener su crecimiento pero conservando la viabilidad y la estabilidad genética y fisiológica. Es una técnica reciente y con buenas perspectivas, pues permite almacenar por períodos indefinidos cualquier especie que tolere y sobreviva al congelamiento. Por esta razón, resulta particularmente útil para conservar especies de semilla no ortodoxa o de reproducción vegetativa, difíciles de conservar en cámaras o en campo (Ashmore 1997; Benson 1999; Engelman 2000).

La crioconservación consiste en a) cultivar el explante *in vitro* (precrecimiento), b) desecarlo al mínimo permisible según la especie, c) tratarlo con crioprotectores (glicerol, sacarosa, manitol, prolina, polietilenglicol) para evitar la cristalización de líquidos intracelulares, d) congelarlo en nitrógeno líquido, e) almacenarlo, f) descongelarlo y g) tratarlo para recuperar plantas viables (Wang *et al.* 1993; Rao y Riley 1994; Pérez-Ruiz 1997).

El éxito de la crioconservación depende de la reacción de la especie al congelamiento por lo que requiere protocolos específicos. Existen diversas técnicas como la deshidratación-encapsulación, la vitrificación, la encapsulación-vitrificación, la desecación, el precrecimiento, el precrecimiento-desecación y el goteo-congelamiento (Ashmore 1997) pero las investigaciones en este campo, como las que realiza el CIP (Perú) con papas tolerantes al congelamiento y el CIAT con yuca, todavía se basan en el ensayo y el error (Rao y Riley 1994). La metodología tiene limitantes siendo las principales la dificultad y el tiempo requeridos para regenerar plantas completas a partir de las estructuras conservadas.

Conservación *in vitro*

- Permite mantener muchas especies en diversidad de muestras y en poco espacio
- Facilita el intercambio de germoplasma
- Depende aún del desarrollo de la tecnología
- Requiere recursos considerables



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 58

El cultivo *in vitro* cobra cada vez mayor importancia como herramienta de conservación e intercambio de germoplasma porque permite mantener un amplio rango de especies, en diversidad de muestras sanas y en poco espacio, e intercambiarlas fácilmente. Sin embargo, requiere tecnología y conocimientos aún en desarrollo, protocolos para cada especie y recursos considerables por lo que conviene evaluar la alternativa de conservar germoplasma *in vitro* frente a otras opciones de conservación, y aplicarla principalmente en aquellas especies difíciles de conservar como semilla o en campo.

IV. Etapas de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos

- Adquisición del germoplasma
- Multiplicación preliminar
- Almacenamiento de muestras
- ▶ **Manejo del germoplasma conservado** ◀
 - Caracterización y evaluación
 - Multiplicación y regeneración
 - Información y documentación
 - Utilización del germoplasma

Manejo del germoplasma conservado

▶ *Caracterización y evaluación* ◀

- Multiplicación y regeneración
- Información y documentación
- Utilización del germoplasma

D. Manejo del germoplasma conservado

Una vez que el material se acondiciona y almacena en el sitio de conservación, en condiciones óptimas para asegurar su supervivencia, se realizan las actividades de manejo del mismo, iniciando con las de caracterización y evaluación.

Caracterización y evaluación

- Describen los atributos que permiten diferenciar las accesiones y determinar su utilidad potencial
- Son complementarias y se basan en el registro de datos



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 61

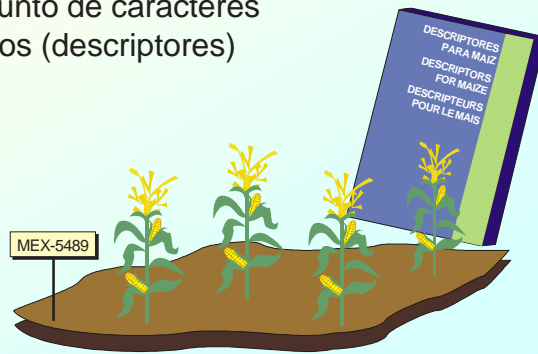
Caracterización y evaluación del germoplasma

Los recursos fitogenéticos se conservan para utilizarlos, y ello sólo es posible si se conocen sus características y posibles usos. La información que nos permite conocer el germoplasma y determinar su utilidad proviene de tomar y analizar un conjunto de datos sobre el germoplasma, en diversas etapas de la conservación pero principalmente durante la caracterización y la evaluación.

La caracterización y la evaluación son actividades complementarias que consisten en describir los atributos cualitativos y cuantitativos de las accesiones de una misma especie para diferenciarlas, determinar su utilidad, estructura, variabilidad genética y relaciones entre ellas, y localizar genes que estimulen su uso en la producción o en el mejoramiento de cultivos. Las dos actividades requieren exactitud, cuidado y constancia, e incluyen un componente importante de registro de datos.

Caracterización

Descripción sistemática a partir
de un conjunto de caracteres
cualitativos (descriptores)



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 62

Caracterización del germoplasma

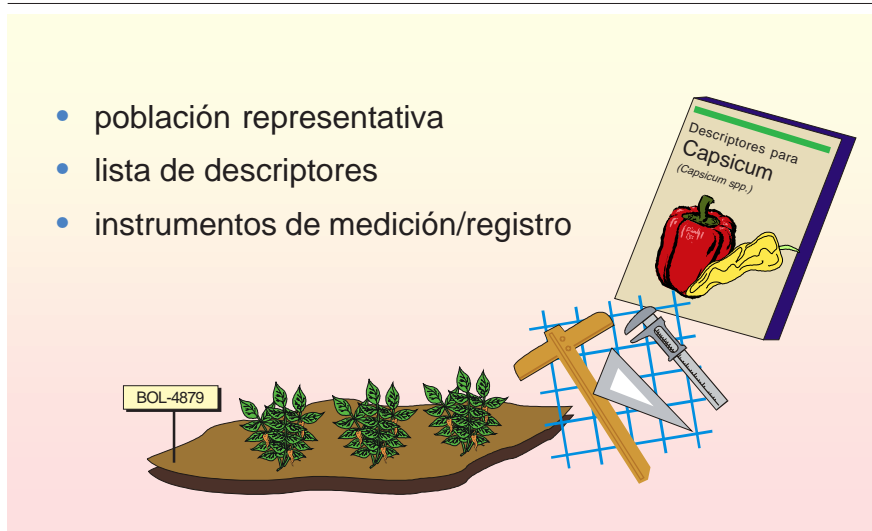
Caracterizar germoplasma consiste en describir sistemáticamente las accesiones de una especie a partir de características cualitativas como el hábito de crecimiento, la altura de la planta y el color de las flores. Estas características son de alta heredabilidad y no varían con el ambiente.

La caracterización se realiza en una población representativa de la accesión y mediante una lista de descriptores (características) y los instrumentos para registrarlos. El material que se va a caracterizar se siembra en el campo o en invernaderos, en parcelas debidamente identificadas, y en condiciones de manejo uniformes. Establecidas las poblaciones objetivo, se observan las características de la especie en las diversas etapas de desarrollo y se registra la expresión a partir de un conjunto seleccionado de descriptores. Los datos se toman y registran de forma sistemática, ordenada y consistente para facilitar su posterior análisis estadístico, y para que la información que se obtenga en diferentes regiones a partir de los mismos descriptores sea comparable y compatible.

Veamos ahora cómo establecer y manejar los componentes de la caracterización:

Componentes de la caracterización

- población representativa
- lista de descriptores
- instrumentos de medición/registro



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 63

La población representativa de la especie

La población que se caracteriza debe representar la variabilidad genética total de la accesión de manera que permita observar y registrar las características que posee. En cuanto a variabilidad, una población representativa contiene por lo menos 95% de los alelos de la accesión. El tamaño lo determinará el tipo de reproducción de la especie, pues si es alógama (muy variable), la población deberá ser mayor que si es autógama (poco variable). En general, se recomienda establecer poblaciones grandes para que la descripción sea confiable, dividiendo la población en repeticiones que permitan tomar el dato de una misma característica varias veces y usar el promedio como el valor real.

Los descriptores

Los descriptores son las características mediante las cuales podremos conocer el germoplasma y determinar su utilidad potencial. Deben ser específicos para cada especie, diferenciar los genotipos y expresar el atributo de manera precisa y uniforme. Muchos atributos pueden describir un material pero los caracteres realmente útiles son aquellos que se pueden detectar a simple vista, registrar fácilmente, que tienen alta heredabilidad, alto valor taxonómico y agronómico, que se pueden aplicar a muestras pequeñas, y permiten diferenciar una accesión de otra. Ese conjunto debe constituir la lista de descriptores de la especie.



En la caracterización se registra la expresión de caracteres cualitativos constantes en los diversos estados fisiológicos de la planta (fenotipo). Los datos se toman en el estado de plántula, antes de y durante la floración, y en la etapa de producción, y se suman a los datos de pasaporte, previamente registrados durante la colecta o adquisición del material. En la etapa de plántula podremos utilizar descriptores como el color y pubescencia del hipocótilo, la longitud de la hoja primaria y el grosor del pecíolo. En la etapa de planta registraremos datos como la altura y el tipo de crecimiento, la posición de las hojas, el color de la flor y los días hasta la floración. En la etapa productiva se registran datos como número, tamaño y forma de los frutos y el rendimiento.

No todas las características de una planta se expresan con la misma intensidad. Algunas, especialmente las cuantitativas, pueden presentar diferentes grados de expresión, que se registran mediante escalas de valor (generalmente entre 1 y 9) denominadas estados del descriptor (IPGRI 1996). Tal es el caso de la resistencia o susceptibilidad a diferentes tipos de estrés biótico (plagas y enfermedades) y abiótico (sequía, salinidad, acidez o baja fertilidad del suelo).

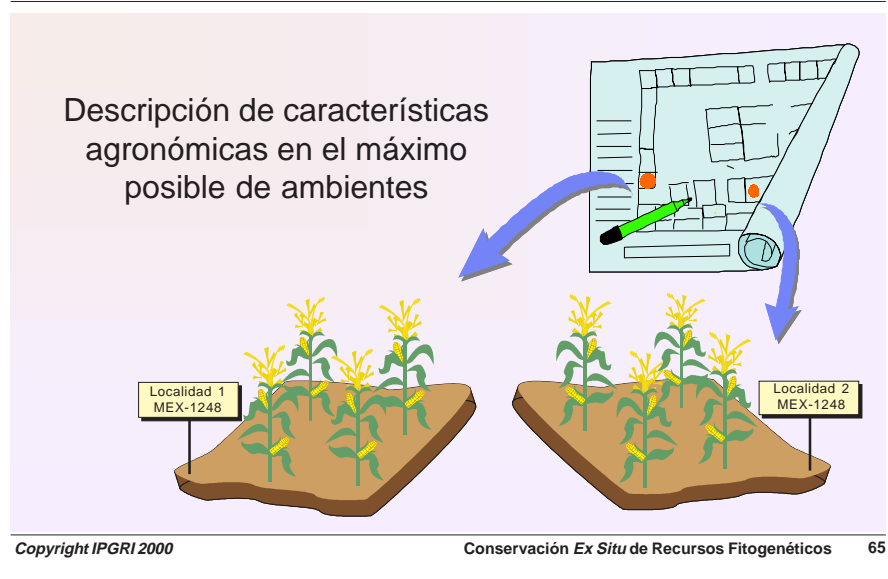
Los instrumentos de medición

Las características también se expresan de maneras diferentes, requiriendo variados instrumentos para registrarlas. Mientras que algunas veces bastará con observar y registrar la presencia o ausencia de una característica (espinas, tricomas), en otras (número de frutos, altura de la planta, número de estambres) será necesario contar y/o medir estructuras utilizando cintas métricas, reglas de varios tamaños y graduaciones. El registro de datos muy precisos necesitará herramientas como cartas de colores (como la Royal Horticultural Society Colour Chart, el Methuen Handbook of Colour o las Munsell Colour Charts for Plant Tissues), calibradores Vernier, microscopios o estereoscopios, balanzas, medidores de pH, durómetros (para medir la resistencia o dureza de cáscara y pulpa), estufas (para calcular cantidad de agua y materia seca), y reactivos químicos e instrumental de laboratorio (para caracterización y evaluación enzimática y molecular).

El trabajo de caracterización se facilita cuando se utilizan listas de descriptores existentes, preparadas por expertos y publicadas por organismos reconocidos internacionalmente. El IPGRI, por ejemplo, ha publicado hasta la fecha listas de descriptores para algo más de 80 especies y una lista multiespecies para datos de pasaporte (Anexo 9) disponible también en Internet (véase lista de referencias). También se puede recurrir a los descriptores del Informationzentrum für Genetische Ressourcen (IGR), a la adaptación de trabajos previos sobre la especie o especies afines, o a la consulta con expertos. Sin embargo, si se trabaja con cultivos poco estudiados y/o no se dispone de una lista de descriptores, es preciso identificar los caracteres relevantes expresados anteriormente. Esta labor requiere el concurso de expertos en la especie en cuestión.

De la caracterización debemos obtener un conjunto de datos que nos muestre las características de las accesiones con que contamos. Sin embargo, como necesitamos determinar el beneficio que esas características nos ofrecen (posibles usos), lo averiguamos evaluando el germoplasma.

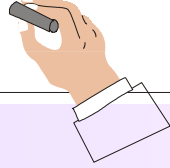
Evaluación



Evaluación del germoplasma

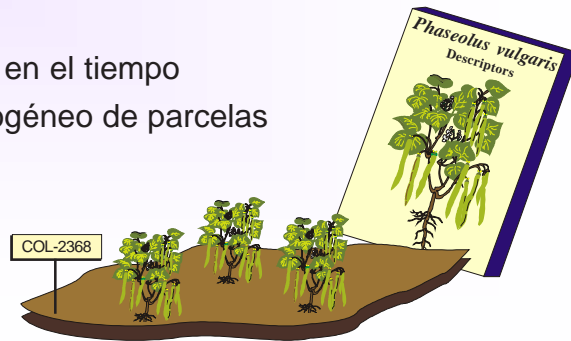
Una vez conocidas las características morfológicas y anatómicas del germoplasma a través de la caracterización, la información para determinar su potencial de uso se amplía con los datos de la evaluación. La evaluación consiste en describir las características agronómicas de las accesiones (rendimiento o resistencia a estrés biótico o abiótico) –generalmente cuantitativas (variables con el ambiente) y de baja heredabilidad– en el máximo posible de ambientes, con el fin de identificar materiales adaptables y con genes útiles para la producción de alimentos y/o el mejoramiento de cultivos. En la mayoría de los casos es realizada por mejoradores.

1 2 3 4 5 6



Componentes de la evaluación

- Población representativa
- Descriptores
- Repeticiones en el tiempo
- Manejo homogéneo de parcelas



Copyright IPGRI 2000

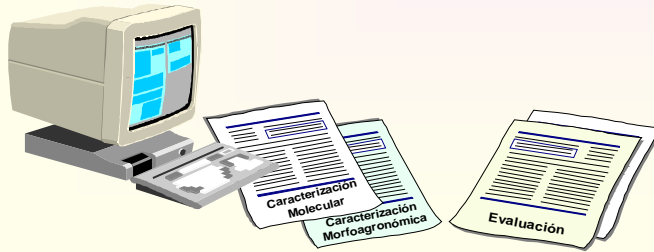
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 66

La evaluación es complementaria a la caracterización y también se realiza sobre una población representativa de la especie y mediante descriptores. Se puede realizar en campo, en invernadero o en laboratorio dependiendo de la característica que se desee evaluar, y siguiendo el mismo procedimiento. A diferencia de la caracterización, donde las plantas se siembran una sola vez, para evaluar es necesario sembrar el germoplasma simultáneamente en diferentes ambientes y durante varios años. De ahí que no resulte económicamente factible evaluar todas las accesiones y haya que optar por una evaluación preliminar para observar la adaptación de las accesiones al nuevo ambiente. Las que muestren buen comportamiento frente a un testigo se evalúan con un objetivo específico. Los ensayos de evaluación deben tener en cuenta la especie, el objetivo de evaluación, los sitios, y obedecer a un diseño experimental (varias localidades y repeticiones).

La evaluación de germoplasma también requiere un manejo homogéneo de las parcelas, y tomar y registrar los datos observados sistemáticamente para facilitar el análisis estadístico y poder concluir sobre la utilidad del material.

Manejo de datos de caracterización y evaluación

- Registro, análisis, conclusiones e información a los usuarios
- Variedad de métodos



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 67

Análisis de la información para concluir sobre la utilidad del germoplasma

En la caracterización y evaluación del germoplasma no es suficiente registrar, organizar y almacenar los datos; es preciso analizarlos y ponerlos a disposición de los usuarios. Sin análisis, no habrá conclusiones sobre la utilidad potencial del germoplasma. Los datos obtenidos y analizados deben representar fielmente las características y el comportamiento de las accesiones, de manera que permitan diferenciarlas y seleccionar aquellas con potencial para el mejoramiento de cultivos. De ahí la importancia de que el germoplasma esté debidamente caracterizado y evaluado.

El análisis de los datos se puede hacer mediante métodos simples o complejos que van desde la utilización de gráficas hasta los análisis estadísticos como los de variancia, de comparación de medias, multivariados, de conglomerados, de correspondencia múltiple y de similitud.

En ocasiones, los datos de caracterización y evaluación morfoagronómicas no son suficientes para establecer diferencias entre especies o entre accesiones. En estos casos se puede recurrir a estudios del genoma, como el cariotipo, el número de cromosomas y el nivel de ploidía. También es posible estudiar directamente el genoma utilizando marcadores bioquímicos (isoenzimas) y moleculares (microsatélites, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (**RFLP**), ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (**RAPD**) caracteres de *loci* cuantitativos (**QTL**)). Estas metodologías permiten localizar los genes de interés con mayor exactitud pero no evalúan el efecto del ambiente en la expresión de esos genes. En consecuencia, no sustituyen –sino que complementan– la caracterización y la evaluación morfoagronómicas.

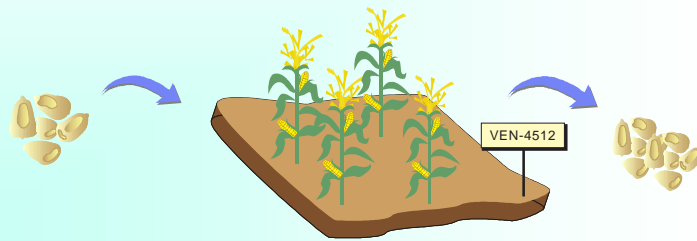
Manejo del germoplasma conservado

- Caracterización y evaluación
- ▶ **Multiplicación y regeneración** ◀
- Información y documentación
- Utilización del germoplasma

Multiplicación y regeneración

Recuperar cantidad y viabilidad del germoplasma perdidas en almacenamiento

- Multiplicación para recuperar tamaño
- Regeneración para optimizar viabilidad



Copyright IPGRI 2000

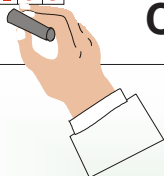
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 69

Multiplicación y regeneración

Durante el tiempo que se mantiene conservado, el germoplasma puede disminuir en cantidad y calidad (viabilidad). El tamaño de las muestras disminuye con el uso y la distribución mientras la viabilidad se reduce con el tiempo, incluso si el germoplasma se ha almacenado en condiciones óptimas (FAO 1996 citado por [Sackville Hamilton y Chorlton 1997](#)). Cuando esto sucede, hay que multiplicar o regenerar. Si el objetivo es recuperar viabilidad hablamos de regeneración o rejuvenecimiento; si es llevar las muestras a un tamaño óptimo, hablamos de multiplicación. De todos modos, las muestras obtenidas de la multiplicación/regeneración deben ser viables, sanas, de tamaño óptimo para el almacenamiento y genéticamente idénticas a la original.

Al igual que otras actividades de conservación, la multiplicación/regeneración parte de monitorear las muestras y se rige por normas y procedimientos que precisan la calidad y cantidad del material requerido, el número de plantas y el ambiente (véase Anexo 7) ([Sackville Hamilton y Chorlton 1997](#)). A continuación describiremos los procedimientos para multiplicar/regenerar.

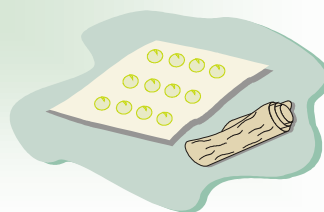
1 2 3 4 5 6



Cuándo multiplicar o regenerar?

Monitoreo de tamaño y viabilidad por

- conteo de muestras
- pruebas de germinación



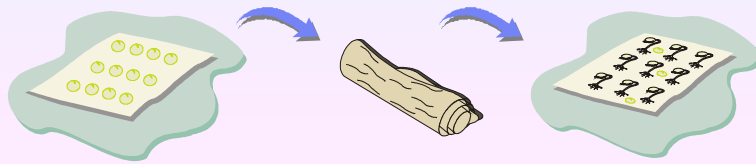
Monitoreo para determinar la necesidad de multiplicar/regenerar

Una muestra está en óptimas condiciones cuando es viable y suficiente. Si la muestra no satisface alguno de estos requisitos debe ser multiplicada/regenerada, decisión que proviene de monitorear tanto el tamaño como la viabilidad de las accesiones. El tamaño se monitorea contando la cantidad de propágulos disponibles por accesión. Si la muestra es de semillas, el tamaño mínimo permisible indicado en las Normas para Bancos de Genes (Anexo 7) es de 1500 a 2000 semillas. No existen estándares para el tamaño de muestras de propágulos vegetativos conservados en campo o *in vitro* pero generalmente se mantienen entre 3 y 20 repeticiones por accesión. La viabilidad se monitorea mediante observaciones o pruebas, dependiendo del tipo de muestra.

La viabilidad del material vegetativo (plantas en campo o *in vitro* en crecimiento lento) se monitorea observando sistemáticamente la sanidad, el desarrollo y las condiciones en que se ha conservado. Si no satisface alguno de los criterios anteriores, debe ser regenerado. Si el material conservado es semilla, la viabilidad se monitorea practicando pruebas de germinación que consisten en poner a germinar una muestra de semillas para averiguar a) cuántas (%) germinan y b) si las que no germinan han muerto o están durmientes. Estas determinaciones se comparan con la viabilidad inicial –tomada durante la multiplicación preliminar– y, si se ha reducido a un nivel igual o menor a 85%, es tiempo de regenerar la muestra.

Pruebas de germinación

- Determinan el porcentaje de viabilidad
- Están sujetas a normas ISTA



Copyright IPGRI 2000

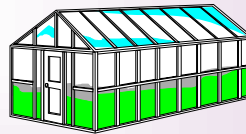
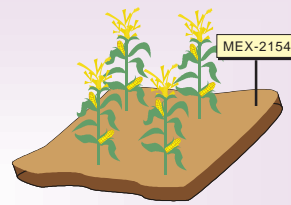
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 71

Las pruebas de germinación se realizan sobre una muestra mínima de 200 semillas tomadas al azar (FAO/IPGRI 1994). Las semillas se colocan sobre papel (toallas y rollos) o en sustratos (arena o suelo) y, dependiendo de la especie, se incuban a diferentes temperaturas hasta que germinan. Las pruebas deben seguir las normas indicadas en las Reglas Internacionales para la Evaluación de Semillas (ISTA 1993). Cuando las pruebas de germinación no dan resultados satisfactorios, se puede recurrir a pruebas complementarias para determinar si el embrión está muerto o durmiente, como la del tetrazolio y la de rayos X. Estas pruebas no permiten utilizar el material posteriormente por lo cual se recomienda aplicarlas sólo cuando se dispone de suficiente semilla.

Para decidir regenerar/multiplicar no se debe esperar hasta que la muestra llegue a los niveles mínimos de tamaño y viabilidad, pero tampoco debe hacerse frecuentemente pues es costoso y pone en peligro la integridad genética del germoplasma. También conviene tener en cuenta que la viabilidad es prioritaria sobre el tamaño; así, será más urgente regenerar/multiplicar una muestra grande cuya viabilidad es baja que una pequeña cuya viabilidad es óptima.

Cómo multiplicar/regenerar

- Las plantas se establecen en condiciones óptimas para la especie
- Puede hacerse en campo, invernaderos, casas de malla o *in vitro*



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 72

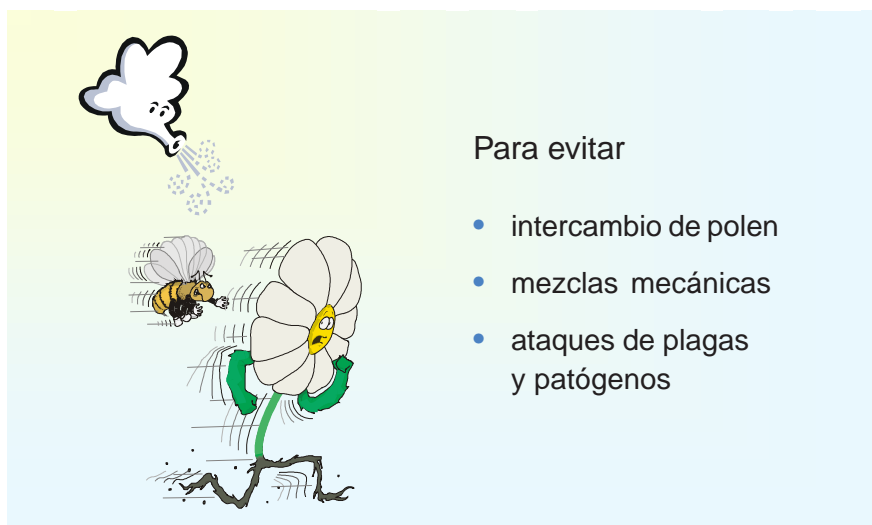
Cómo multiplicar/regenerar

Una vez se ha determinado que la muestra debe ser regenerada/multiplicada, las plantas se establecen en el sitio de regeneración/multiplicación, en condiciones óptimas de desarrollo de manera que la muestra de germoplasma que se obtenga sea viable, sana, suficiente para almacenar y genéticamente igual a la original. El tipo de reproducción de la especie determinará esas condiciones.

Las especies que no requieren control de la polinización, como las de reproducción asexual y las autógamias, se multiplican/regeneran en el campo o en casas de malla. Si se las multiplica/regenera en el campo, el germoplasma se siembra en parcelas relativamente pequeñas y con poblaciones grandes. Las de reproducción vegetativa se multiplican a partir de muestras estériles como estacas, acodos e injertos. Las especies de reproducción sexual, que sí necesitan control de la polinización (alógamas), se multiplican/regeneran preferiblemente en invernaderos y casas de malla; se pueden multiplicar/regenerar en el campo, siempre y cuando el terreno esté aislado y la polinización se controle estrictamente. Si las accesiones son especies silvestres, se pueden multiplicar/regenerar en surcos o parcelas en el campo, en casas de malla o invernaderos dependiendo de la cantidad de semilla disponible y de los requerimientos de la especie. Ciertas especies silvestres (*e.g.*, *Lycopersicon peruvianum*) necesitarán condiciones ambientales especiales para reproducirse.

La multiplicación/regeneración de germoplasma en campo o en casas de malla requiere espacio, tiempo y gran cantidad de material y recursos. El cultivo *in vitro* de tejidos, que requiere poco tiempo y espacio y permite trabajar con diversos tipos de muestra, ofrece también la posibilidad de multiplicar/regenerar una variedad de especies, asegurando muestras sanas y genéticamente idénticas a la original. Consiste en micropropagar ápices de yemas axilares y meristemas hasta obtener plantas completas. Sin embargo, se indica preferiblemente para germoplasma conservado *in vitro* o en campo.

Control del ambiente en colecciones de campo



Para evitar

- intercambio de polen
- mezclas mecánicas
- ataques de plagas y patógenos

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 73

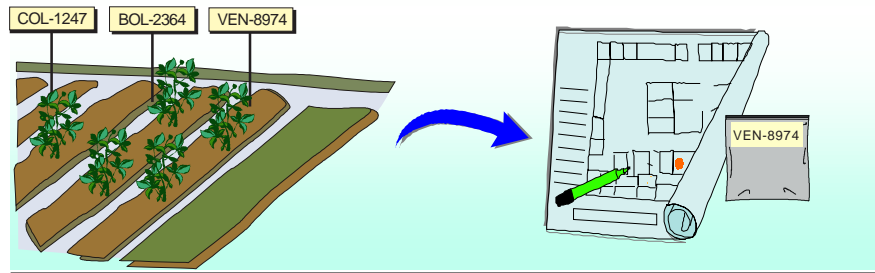
Control del ambiente en colecciones de campo

Obtener una muestra de buena calidad fisiológica (propágulos vegetativos o semillas viables, vigorosos y sanos) e idéntica al genotipo original requiere un control estricto del ambiente. La calidad fisiológica del germoplasma depende de sus características genéticas y del ambiente en que se desarrolla pero puede verse afectada durante el ciclo de cultivo por factores ambientales adversos por lo que es preciso evitar cualquier estrés biótico o abiótico. El sitio seleccionado debe tener un suelo fértil y con fuentes de agua para suplir los requerimientos de la especie, estar preferiblemente aislado para evitar ataques de plagas y patógenos u ofrecer facilidades para controlarlos si se presentan. También habrá que establecer condiciones uniformes de distancia entre surcos y entre plantas y realizar las labores agronómicas que la especie requiera. Las semillas y propágulos se deben cosechar cuando estén fisiológicamente maduros y sanos, evitando ocasionar daños mecánicos.

El control del ambiente para mantener el genotipo original consiste en evitar que las accesiones se contaminen por intercambio de polen (alógamas) o se mezclen mecánicamente (autógamas y de reproducción asexual). Las poblaciones se pueden aislar en el campo o en casas de malla. Si se siembran en el campo, conviene utilizar terrenos aislados, separar las accesiones por distancias amplias, y someterlas a raleos y podas para evitar traslapes entre plantas y mezclas de frutos y semillas. Además, las especies alógamas exigen un control estricto de la polinización que se logra embolsando estructuras reproductivas y manejando las poblaciones de insectos polinizadores. Usar casas de malla individuales para cada accesión elimina el riesgo de contaminación pero incrementa los costos.

Identificación de las muestras

Ubicación de plantas, surcos y parcelas en el sitio y en un mapa



Copyright IPGRI 2000

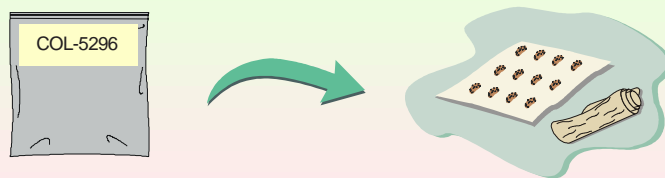
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 74

Identificación de las muestras

En la multiplicación/regeneración, como en todas las actividades de conservación de germoplasma, hay que identificar las muestras con precisión para evitar mezclas que den lugar a confusiones y/o pérdidas. La ubicación de parcelas, surcos y plantas en regeneración/multiplicación se debe consignar en un mapa y en el sitio con su número de accesión, utilizando elementos resistentes a la intemperie. En caso de presentarse alguna duda, la identificación del material se puede verificar comparando las plantas sembradas con muestras de herbario o con los datos disponibles sobre ellas (datos de pasaporte, caracterización y evaluación).

Viabilidad para monitoreo y acondicionamiento

Las muestras regeneradas se someten a pruebas de viabilidad y se acondicionan para almacenamiento



Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 75

Finalmente, una vez el material esté multiplicado/regenerado, se somete a pruebas de viabilidad y se acondiciona para almacenarlo. Los resultados de estas pruebas servirán de punto de referencia para monitoreo posteriores.

Manejo del germoplasma conservado

- Caracterización y evaluación
- Multiplicación y regeneración
- ▶ **Información y documentación** ◀
- Utilización del germoplasma

Información y documentación



Registro y manejo de datos
sobre el germoplasma conservado
que incrementa su valor de uso

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 77

Información y documentación

La conservación de germoplasma, en sus diversas etapas, comprende una gama de actividades para las cuales se requiere información o de las cuales se deriva información. Esta puede referirse a las especies, sus sitios de origen y las actividades o etapas de la conservación. La actividad de registrar, organizar y analizar datos de conservación se denomina documentación y es fundamental para conocer el germoplasma y tomar decisiones sobre su manejo. El valor del germoplasma aumenta a medida que se le conoce; de ahí la importancia de que esté bien documentado.

Datos que se documentan

Datos de pasaporte,
sitio de colecta, caracterización,
evaluación y manejo



Categorías de datos sobre el germoplasma

Debido al gran volumen de información que genera la conservación, conviene establecer categorías de datos que permitan manejarlos. Estas categorías incluyen los datos pasaporte y recolección, del sitio y medio ambiente, de caracterización, de evaluación y de manejo.

Datos de pasaporte y recolección

- Identifican el material y el sitio de colecta
- Pueden incluir conocimiento tradicional



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 79

Los datos de pasaporte (identificación del material) y de recolección (características del sitio y ambiente donde se colectó la muestra) se toman en el momento de la colecta; ayudan a determinar cómo manejar la muestra e interpretar los datos de caracterización y evaluación que se tomen posteriormente. Durante la colecta también se registra información sobre el conocimiento que la comunidad local tiene del germoplasma (conocimiento autóctono o tradicional, o información etnobotánica), resultante del uso en el tiempo. Esta información puede incluir características de las especies, cómo se cultivan, conservan y usan, y se utiliza posteriormente para caracterizar, evaluar, conservar y utilizar el germoplasma. La importancia que esta información ha ido ganando se refleja actualmente en el establecimiento de centros compiladores de conocimiento autóctono de nivel mundial (Holanda y Estados Unidos), regional (Nigeria y Filipinas) y nacional (Alemania, Filipinas, Indonesia, Burkina Faso, Sri Lanka, Africa del Sur, Nigeria, Ghana, Kenia, México, Venezuela, Brasil), cuyo objetivo es estudiar, comprender y difundir este conocimiento para mejorar la conservación y la utilización de los recursos fitogenéticos (Warren 1991; Warren y Rajasekaran 1993).

Datos de caracterización y evaluación

- Atributos físicos y agronómicos del germoplasma
- Permiten diferenciar accesiones y determinar utilidad potencial



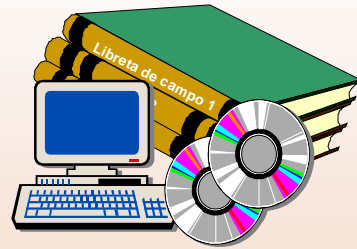
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 80

Los datos de caracterización describen los atributos físicos del germoplasma. Varían dependiendo de la especie pero en general describen la planta en todas sus etapas de desarrollo. Son necesarios para conocer y diferenciar fácil y rápidamente las accesiones. Los datos de evaluación describen la planta en función de sus características agronómicas. Permiten determinar la utilidad potencial del germoplasma y seleccionar aquellos genotipos útiles para la producción y el mejoramiento de los cultivos.

Datos de manejo

Resultan de las actividades de conservación y permiten evaluar la efectividad de ésta

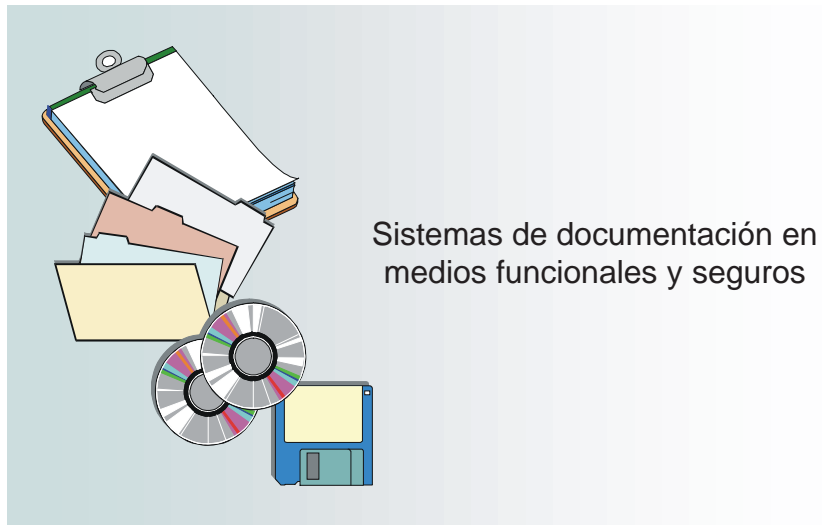


Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 81

Los datos de manejo surgen de las diferentes actividades propias de la conservación, es decir, las que se realizan con el germoplasma como la multiplicación preliminar, la determinación y monitoreo de la viabilidad, los ciclos de multiplicación y regeneración, las condiciones de almacenamiento y la distribución. Esta información sirve de base para evaluar la eficiencia y efectividad de la conservación.

Registro y almacenamiento de la información



Sistemas de documentación en medios funcionales y seguros

Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 82

Cómo almacenar la información: los sistemas de documentación

Como ya dijimos, son muchos y variados los datos que se van tomando y registrando sobre los recursos fitogenéticos conservados y, por su volumen, se deben organizar, registrar, analizar y almacenar en sistemas que faciliten el trabajo. La información se puede almacenar en diferentes medios –papel, microficha, bases de datos, disquetes– pero el que se elija debe ser funcional y seguro. Los medios para manejar la información sobre el germoplasma se denominan sistemas de documentación.

Sistemas de documentación – Características

- Exactitud
- Organización y funcionalidad
- Flexibilidad
- Facilidad de manejo



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 83

Un sistema de documentación debe contener información de valor tanto para los que conservan el material como para los usuarios. En consecuencia, debe a) incluir información exacta, veraz, confiable y actualizada; b) facilitarle al usuario acceder a la información y recuperarla; c) ser de fácil manejo y requerir una capacitación mínima para usarlo; d) ser flexible para que se adapte a cambios futuros, y d) organizar los datos en categorías de uso que faciliten el registro, almacenamiento, actualización, procesamiento y recuperación de la información (Painting *et al.* 1993).

Los sistemas de documentación pueden ser manuales o computarizados. Los manuales almacenan la información en libros de campo, formatos impresos o microfichas. Se han utilizado durante décadas pero han ido perdiendo vigencia pues la información queda registrada pero dispersa, y ubicarla, recuperarla y manejarla se dificulta cuanto mayor sea el número de accesiones. Los sistemas computarizados registran la información en bases de datos, a partir de aplicaciones (software) comerciales o desarrolladas para fines de documentación de germoplasma. Estos sistemas están siendo cada vez más utilizados porque permiten consignar y organizar minuciosa y sistemáticamente la información, agruparla e interrelacionarla y actualizarla regularmente. También permiten localizar y recuperar rápidamente la información y almacenar un volumen considerable de datos; ocupan poco espacio y son más seguros pues se pueden duplicar.

En la actualidad, la mayoría de los bancos de germoplasma maneja la información en bases de datos desarrolladas por ellos mismos o adaptadas de sistemas desarrollados por otros como el Genebank Management Information System (GMS) desarrollado por el IPGRI, el pcGRIN (Sistema de documentación del Germplasm Resources Information Network (GRIN)), desarrollado por el USDA y el IPGRI, y el Caribbean Seed and Germplasm Resources Information Network (CSEGRIN) desarrollado por la FAO. Estos sistemas pueden ser fácilmente adoptados por los bancos solicitando copias del software a las instituciones que los han desarrollado.

Manejo de datos sobre el germoplasma



- Registro
- Análisis
- Conclusiones
- Decisiones de manejo
- Divulgación para estimular uso

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 84

Qué hacer con los datos almacenados en un sistema de documentación

Una vez registrados y organizados en categorías, los datos se analizan para tomar decisiones de manejo de las colecciones y elaborar productos de divulgación que fomenten la utilización del germoplasma conservado. Comparar los diferentes grupos de datos a través del tiempo permite planificar las actividades que se realizarán con el germoplasma (e.g., la necesidad de multiplicar/regenerar las accesiones), detectar fallas como el deterioro y/o pérdida de accesiones y evaluar la efectividad de la conservación. El análisis estadístico de los datos de caracterización y evaluación permite concluir sobre la cantidad y características de la diversidad que se conserva y sus posibles usos, información que dirigida a los usuarios fomentará la utilización del germoplasma.

Estimular el uso de los recursos fitogenéticos también incluye dar a conocer a los usuarios los servicios que presta el banco, los recursos fitogenéticos que conserva y cómo acceder a ellos. Catálogos de germoplasma (en papel o en medio electrónico), bases de datos en línea y folletos son algunos ejemplos de productos y servicios mediante los cuales se puede dar a conocer la información a los usuarios. Actualmente se está promoviendo el uso de páginas de Internet para consultar bases de datos y catálogos virtuales de colecciones, que pueden incluir hasta imágenes de las accesiones (Puzone y Hazekamp 1998). Ejemplos de esta forma de divulgación de los recursos genéticos son el catálogo virtual de germoplasma de olivo y árboles frutales del Istituto sulla Propagazione delle Specie Legnose CNR (Consiglio Nazionale delle Ricerche) en Italia (Roselli *et al.* 1998), la Red de Información sobre los Recursos Genéticos de los Centros del CGIAR (SINGER), la base de datos sobre germoplasma del IPGRI y el Sistema Mundial de Información y Alerta sobre Recursos Fitogenéticos, administrado por la FAO, conocido como WIEWS (World Information and Early Warning System on Plant Genetic Resources) (CGIAR 1997; IPGRI 1998; FAO 1999).



[SINGER](#) es una red de intercambio de información sobre las colecciones de germoplasma en custodia de los Centros del [CGIAR](#) (más de 500,000 muestras de germoplasma de cultivos, forrajeras y árboles importantes para la alimentación y la agricultura. La base de datos sobre germoplasma del [IPGRI](#) contiene información sobre la institución que mantiene la colección, el tipo de germoplasma que conserva, el nombre de las especies, y el tipo y número de accesiones por cada especie. Contiene datos para unos 5 millones de accesiones de colecciones de germoplasma de todo el mundo y está ligada al [WIEWS](#). El WIEWS contiene varias bases de datos, entre ellas una de colecciones *ex situ* de germoplasma, que indica el nombre de la especie y el número de accesiones para esta especie, el tipo de material (desde silvestre hasta mutante), la distribución geográfica y el lugar donde se mantienen duplicados de seguridad.

Como hemos visto, un sistema de documentación sólido constituye un apoyo para quienes manejan el germoplasma puesto que les permite establecer prioridades, planificar las actividades de manejo y optimizar recursos. También fomenta la utilización pues facilita que los usuarios accedan a la información que les permitirá identificar accesiones de interés ([Painting et al. 1993](#)).

Manejo del germoplasma conservado

- Caracterización y evaluación
- Multiplicación y regeneración
- Información y documentación
- ▶ **Utilización del germoplasma** ◀

Utilización del germoplasma

- El germoplasma se puede usar en su forma original o mejorado
- El uso depende del conocimiento y la disponibilidad



Copyright IPGRI 2000

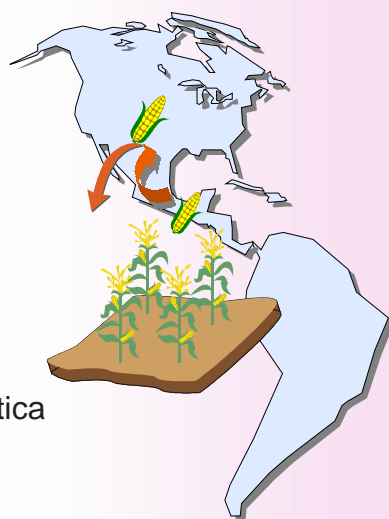
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 87

Utilización del germoplasma

El germoplasma se conserva para utilizarlo. El aprovechamiento depende de saber dónde está, conocer sus características y utilidad, y mantenerlo viable y disponible. El germoplasma se puede utilizar directa (uso inmediato) e indirectamente (mejora genética), como veremos a continuación.

Utilización directa

- Introducción o reintroducción de materiales
- Ofrece ventajas inmediatas pero puede reducir base genética



Utilización directa

La utilización directa consiste en identificar materiales con características deseables —generalmente razas nativas— e introducirlos en su forma original en otras regiones. El germoplasma normalmente se introduce con fines de producción pero se puede utilizar para restaurar un hábitat o reintroducir donde se ha perdido. Esta antigua forma de utilización es conveniente porque aprovecha materiales con buenas características pero implica riesgos como la introducción de plagas, enfermedades y malezas, la sustitución y/o eliminación de especies nativas, y el empobrecimiento genético de las variedades locales. Ejemplos de utilización directa son la adaptación del maíz y el frijol a diversos sitios de América y la introducción de la papa y el tomate en Europa.

Utilización indirecta

Fitomejoramiento: Introducción de genes de unos materiales en otros para mejorar calidad o productividad



Copyright IPGRI 2000

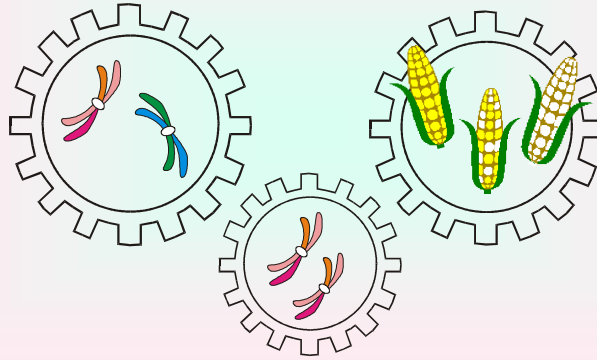
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 89

Utilización indirecta

Consiste en buscar genes en especies silvestres, formas regresivas y variedades tradicionales para introducirlos en otros cultivares con el fin de obtener materiales atractivos y fáciles de usar. Esta forma de utilización se conoce como fitomejoramiento y busca incrementar la producción y/o mejorar la calidad de los cultivos. La producción se incrementa mejorando el rendimiento, la eficiencia fisiológica, la adaptación y los caracteres agronómicos, e introduciendo resistencia a plagas y enfermedades. La calidad se mejora elevando el contenido nutricional y la palatabilidad, o refinando atributos como forma, color y duración en almacenamiento.

Cómo se mejora el germoplasma?

Modificando la frecuencia de alelos o el genotipo



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 90

Cómo se mejora el germoplasma?

Los materiales mejorados se obtienen modificando la frecuencia de alelos o las combinaciones de los genes (genotipo). Dependiendo del objetivo, la variabilidad genética de la especie y la disponibilidad de recursos, el fitomejorador utilizará a) la selección para modificar frecuencia de los genes o b) la hibridación, el retrocruzamiento o la transferencia de genes para modificar el genotipo. A continuación describiremos estas opciones:

Cambios en la frecuencia de los alelos

Selección sucesiva de genotipos
con base en características deseadas



Copyright IPGRI 2000

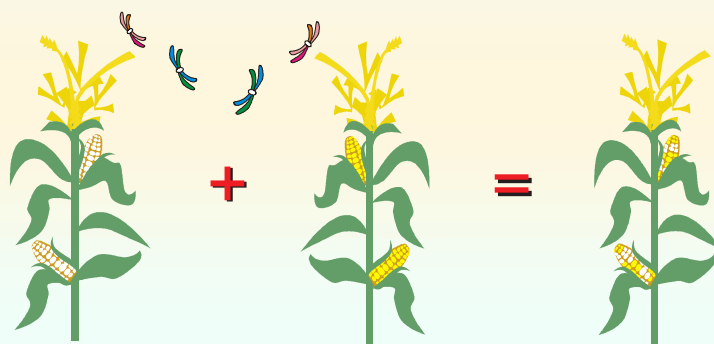
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 91

Modificación de las frecuencias de los alelos

Las frecuencias de los alelos o de los genotipos se modifican mediante la selección, que consiste identificar –dentro de una población genéticamente variable, cultivada en ambientes escogidos y en condiciones uniformes– genotipos con una o más características (genes) de interés y seleccionarlos repetidas veces hasta obtener materiales agronómicamente sobresalientes. La expresión de la característica deseada en el material mejorado se observa indirectamente a través del fenotipo pero debe ser una manifestación del genotipo y no un efecto del ambiente. Los métodos de selección más utilizados son la selección masal, la de líneas puras y la de plantas individuales con prueba de progenie en especies autóгамas (*e.g.*, el arroz), la selección recurrente y la selección entre y dentro de familias de medios hermanos y hermanos completos en alógamas (*e.g.*, el maíz).

Modificación del genotipo

Transferencia de genes de un material a otro por hibridación, retrocruzamiento y premejoramiento



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 92

Transferencia de genes para modificar el genotipo

Los genes se pueden transferir cruzando plantas (hibridación, retrocruzamiento y premejoramiento) o insertando genes o fragmentos de ADN directamente en el genoma, mediante biotecnología e ingeniería genética. La hibridación consiste en cruzar dos cultivares genéticamente diferentes para reunir en uno (generación híbrida) genes o características de interés que ellos poseen. Es el principal método para mejorar especies alógamas como el maíz. La hibridación aumenta la variabilidad genética de la especie en tanto permite hacer nuevas combinaciones de genes (Poehlman y Sleper 1995). El retrocruzamiento consiste en introducir –mediante hibridación– un carácter de interés presente en un progenitor donante en un cultivar con buenas características agronómicas pero cruzando el híbrido producido varias veces con el cultivar inicial (progenitor recurrente) hasta recuperar las características que se perdieron con la hibridación. Este método ha sido muy utilizado para mejorar el tomate.

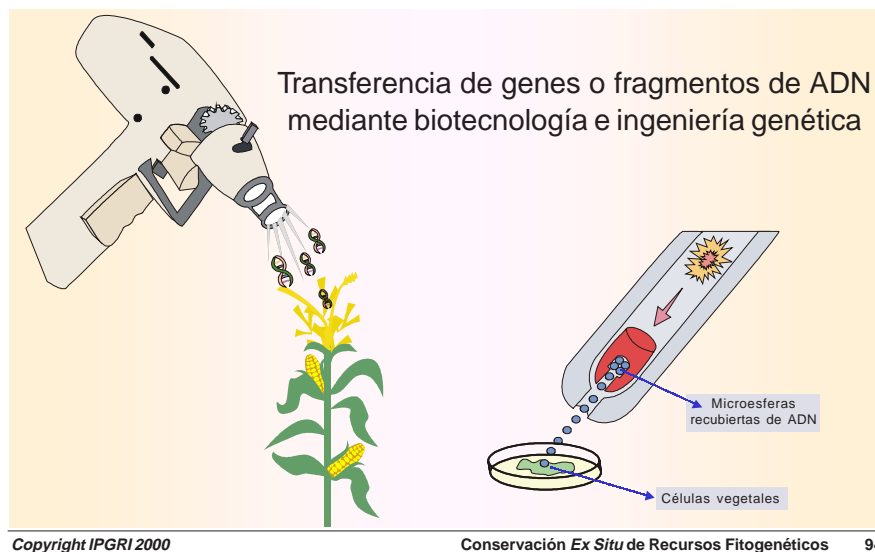
El premejoramiento es la transferencia de genes o combinaciones de genes de especies silvestres a materiales mejorados o cultivados para incrementar la calidad y/o el rendimiento de los cultivos. Amplía la base genética de las especies cultivadas y se realiza mediante la introgresión y la incorporación (FAO 1998; Duvick 1990). La primera opera sobre plantas individuales y la segunda sobre poblaciones.

La introgresión consiste en cruzar un material donante (que contiene el gen de interés) con el que se busca mejorar y retrocruzar el nuevo material hasta recuperar en él todas las características de interés. Se ha utilizado con éxito para transferir resistencia a estrés biótico y abiótico, y para introducir características de calidad.



Un ejemplo clásico es el del tomate (*Lycopersicon esculentum*), cuyas especies silvestres han aportado genes de resistencia a enfermedades fungosas (*L. hirsutum*, *L. pimpinellifolium*) y virales (*L. chilense*, *L. peruvianum*), y a nematodos (*L. peruvianum*) e insectos (*L. hirsutum*). *L. chmielewskii* y *L. cheesmanii* han servido para mejorar la calidad del fruto y la adaptación a diferentes ambientes, respectivamente. A través de la introgresión también se han mejorado otros cultivos como el trigo, el maíz, la alfalfa, el arroz, la yuca y el sorgo (FAO 1998). La incorporación consiste en mejorar poblaciones localmente adaptadas con genes de especies silvestres. En tanto trabaja con poblaciones, amplía la base genética de las especies. Ejemplos de mejoramiento por incorporación son la adaptación de germoplasma tropical de maíz al clima templado del sur de los Estados Unidos, y la ampliación de la base genética de la especie europea *Solanum tuberosum* con germoplasma suramericano de *Solanum andigenum* (FAO 1998).

Modificación directa del genoma



Transferencia de genes o fragmentos de ADN al genoma

La biotecnología y la ingeniería genética permiten pasar de trabajar con toda la planta (mejoramiento clásico) a trabajar a nivel celular o molecular (transformación genética) manipulando directamente el ADN. El procedimiento consiste en a) localizar el gen o el fragmento de ADN deseado, b) cortarlo utilizando enzimas de restricción, c) colocarlo dentro de un vector o plásmido, d) insertar el vector con el ADN en el genoma del material objetivo y e) evaluar la expresión del gen o fragmento insertado en la planta modificada. Estas nuevas metodologías, aún en etapa de perfeccionamiento, facilitan la mejora de cultivos pues superan limitaciones de los métodos clásicos como la incompatibilidad, la autoincompatibilidad y la esterilidad.

El mejoramiento clásico y las nuevas metodologías no son excluyentes; por el contrario, utilizados de forma complementaria permiten obtener mejores y más contundentes resultados. Ejemplos de esta complementariedad son el mejoramiento asistido por marcadores moleculares, la producción de plantas transgénicas con resistencia a plagas y enfermedades, y el mejoramiento de la calidad nutricional de leguminosas y cereales.

Hasta aquí hemos visto cómo la conservación *ex situ* es un proceso que va desde determinar la necesidad de conservar una especie hasta dar a conocer sus características y utilidad potencial para fomentar su uso. Las diversas etapas a través de las cuales el germoplasma se mantiene viable y disponible se interrelacionan y se facilitan agrupando el germoplasma en colecciones y bancos como veremos a continuación.

Contenido

- I. Objetivos
- II. Introducción
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- ▶ **V. Manejo de bancos y colecciones** ◀
- VI. Consideraciones finales

V. Manejo de bancos y colecciones

Colecciones y bancos de germoplasma

Las muestras se agrupan en colecciones cuyo manejo, distribución y promoción para uso se realiza en los bancos



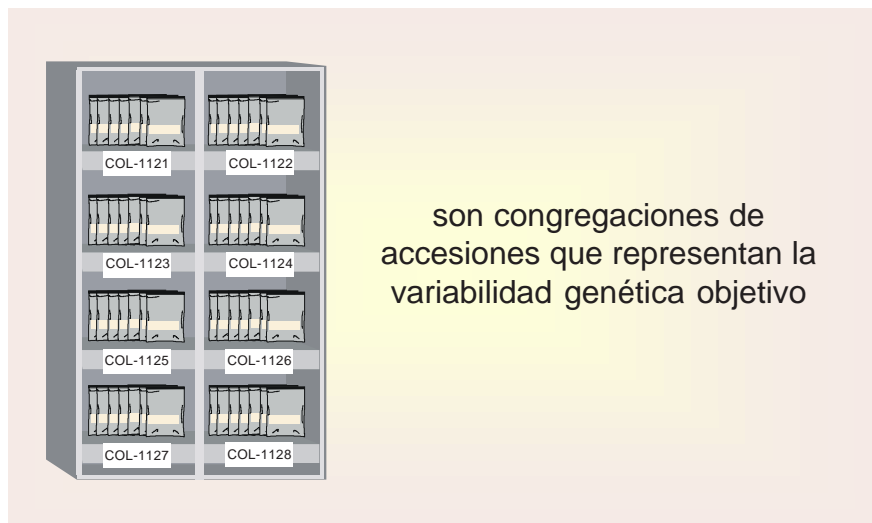
Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 96

V. Colecciones y bancos de germoplasma

A lo largo del presente módulo hemos estudiado cómo conservar muestras de germoplasma *ex situ*, es decir, fuera de su hábitat natural. Las muestras de una especie se agrupan en una colección, cuyo manejo está a cargo de una institución. Las colecciones, las actividades y los servicios que la institución presta a partir del germoplasma que conserva nos llevan a hablar de bancos de germoplasma. A continuación describiremos los tipos de colección y de banco de germoplasma y daremos algunos ejemplos.

Las colecciones de germoplasma



Copyright IPGRI 2000

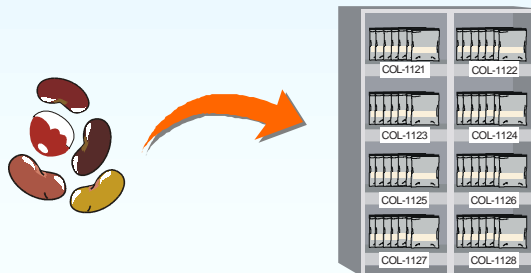
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 97

A. Las colecciones de germoplasma

Las colecciones son congregaciones de accesiones representativas de una variación genética objetivo de conservación y/o utilización. Pueden contener desde decenas hasta miles de muestras, mantenidas en los ambientes y condiciones relevantes. Las colecciones de germoplasma se clasifican en colección base, activa, núcleo y de trabajo. Veamos ahora qué materiales las componen, en qué condiciones se conservan y durante cuánto tiempo.

Colección base

- Agrupa la variabilidad genética posible de las especies de interés
- Se usa para conservar y recuperar accesiones



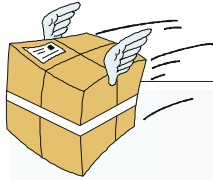
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 98

Colección base

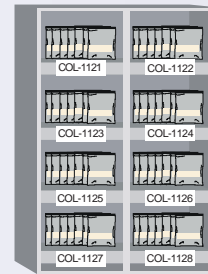
La colección base agrupa la variabilidad genética posible de las especies de interés, incluyendo parientes silvestres, formas intermedias, cultivares, variedades tradicionales y germoplasma élite (Vilela-Morales y Valois 1996). Se establece para conservar el germoplasma a largo plazo y recuperar accesiones perdidas, no para distribuir o intercambiar (Hanson *et al.* 1984 citados por Plucknet *et al.* 1992; Towil y Roos 1989; Vilela-Morales y Valois 1996; National Research Council 1993). Puede contener muestras de semilla (ortodoxas únicamente) o material vegetativo. Si contiene semillas, éstas se llevan a un contenido de humedad del 3-7%, se empacan en recipientes sellados y se almacenan en cámaras a temperaturas entre -10 y -20°C (Towil y Roos 1989; Paroda y Arora 1991; FAO/IPGRI 1994; Vilela-Morales y Valois 1996). Si conserva material vegetativo, lo mantiene en el campo o crioconservado.

Por la variabilidad que contiene y la función que cumple, la colección base es estratégica para un país, debe estar duplicada y a cargo de una institución que pueda responder por la supervivencia del germoplasma. Normalmente está a cargo de un programa nacional o de un centro internacional de investigación agrícola; algunos ejemplos son la colección base de *Arachis* spp. de CENARGEN (Brasil), la de *Phaseolus* spp. y *Manihot* spp. en el CIAT (Colombia), la de *Zea* y *Triticum* en el CIMMYT (México) y la de raíces y tubérculos andinos en el CIP (Perú).



Colección activa

- Duplicado de la colección base
- Se usa para manejar y distribuir accesiones



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 99

Colección activa

La colección activa es un duplicado de la colección base, establecida a corto y mediano plazos para manejo y distribución. Puede conservar germoplasma en forma de semilla, en campo o *in vitro*. Si conserva semillas, éstas se almacenan a un contenido de humedad de 3-7% y a temperaturas superiores a 0°C e inferiores a 15°C (National Research Council 1993; Engle 1992). Si se establece *in vitro*, el material se conserva en crecimiento lento. Las colecciones activas pueden estar a cargo de una variedad de instituciones tanto públicas como privadas, incluyendo centros internacionales de investigación, programas nacionales, regionales, provinciales y municipales, universidades y organizaciones no gubernamentales. Dos ejemplos son las colecciones de maíz en el CIMMYT (México) y de yuca en el CIAT (Colombia).

Colección núcleo



- Mayor variabilidad genética en el menor número de muestras de una especie
- Se establece para manejo y utilización

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 100

Colección núcleo

Comúnmente conocida como 'core collection', la colección núcleo reúne la mayor variabilidad genética de una especie en el menor número de muestras. Se forma duplicando la colección base, separando las accesiones que constituirán la colección núcleo (70-80% de variabilidad representada en 10-15% de las accesiones) y llevando el resto a una colección de reserva. La colección núcleo se establece para facilitar el manejo y fomentar la utilización del germoplasma. Permite detectar duplicados en la colección base y establecer prioridades para caracterizar y evaluar las muestras; además, ofrece fácil acceso a los materiales conservados (Pérez-Ruíz 1997; Frankel *et al.* 1995; Hodgkin *et al.* 1995). La colección núcleo conserva semilla o material vegetativo en las mismas condiciones de una colección activa. Al igual que las dos anteriores, está a cargo de centros internacionales, programas nacionales o programas colaborativos de cultivos específicos, entre otros. Algunos ejemplos son la colección núcleo de papa en el INTA (Argentina) y en el IBTA (Bolivia), las de yuca y papa en el CENARGEN (Brasil), las de papa y batata en el CNPH (Brasil), y la de yuca en el CIAT (Colombia).

Los sistemas de información permiten crear una colección núcleo virtual. Si el germoplasma está bien documentado y el sistema de documentación permite búsquedas específicas, la colección núcleo virtual se obtiene buscando y marcando las accesiones que tienen las características de interés (Valls y Engels, comunicación personal).

Colección de trabajo

- Accesiones con características de interés para el mejoramiento
- Proveer germoplasma a mejoradores



Copyright IPGRI 2000

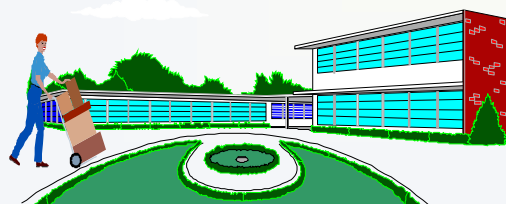
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 101

Colección de trabajo

La colección de trabajo, o colección del mejorador, se establece para suministrar germoplasma a investigadores, instituciones o programas de investigación y/o mejoramiento. Contiene accesiones con características de interés para el mejoramiento de un cultivo, aunque no representativas de la variabilidad genética de la especie. Conserva semillas o plantas a corto plazo. Las semillas se mantienen a temperatura ambiente pero, si el clima es caliente y húmedo, en habitaciones con aire acondicionado y deshumidificadores. Las plantas se conservan en campo o en invernaderos. Las colecciones de trabajo normalmente están a cargo de programas de mejoramiento de cultivos.

Los bancos de germoplasma

Se establecen para cumplir objetivos de conservación de instituciones, países o regiones



Copyright IPGRI 2000

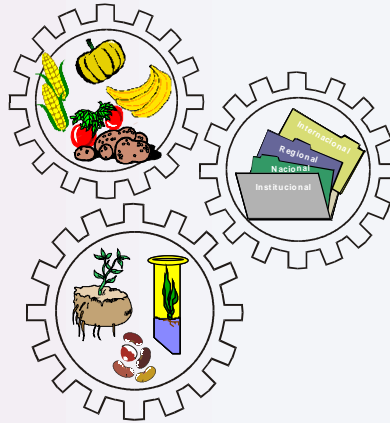
Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 102

B. Los bancos de germoplasma

Se establecen para cumplir los objetivos de conservación de una institución de investigación, un país o una región. Realizan diferentes actividades que van desde adquirir el germoplasma, conocer sus características y utilidad potencial, y asegurar su supervivencia, hasta mantenerlo disponible para los usuarios y difundir información que estimule su utilización. Generalmente están adscritos a una institución o a cargo de un grupo de personas (curadores) con la capacidad y los recursos para mantener el germoplasma en condiciones óptimas por el tiempo que se requiera.

Los bancos se clasifican por el

- tipo de muestra
- número de especies que conservan
- mandato institucional



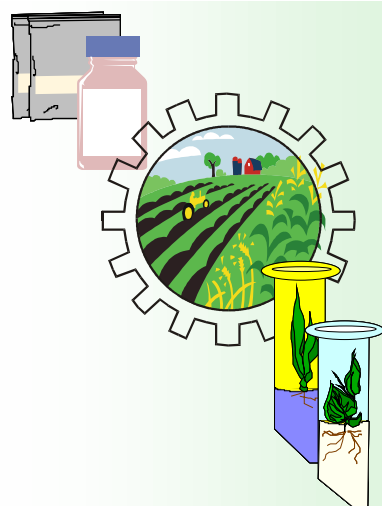
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 103

Tipos de banco

Los bancos de germoplasma se clasifican según el tipo de muestra y el número de especies que conservan, y por el mandato de la institución a la cual están adscritos. Por el tipo de muestra, los bancos pueden ser de semilla, de campo (incluyendo jardines botánicos y *arboreta*) e *in vitro*. Según el número de especies se clasifican en mono, oligo y poliespecíficos. Por mandato institucional se clasifican en bancos institucionales, nacionales, regionales e internacionales.

Según el tipo de muestra



hay bancos

- de semilla
- de campo
- *in vitro*

Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 104

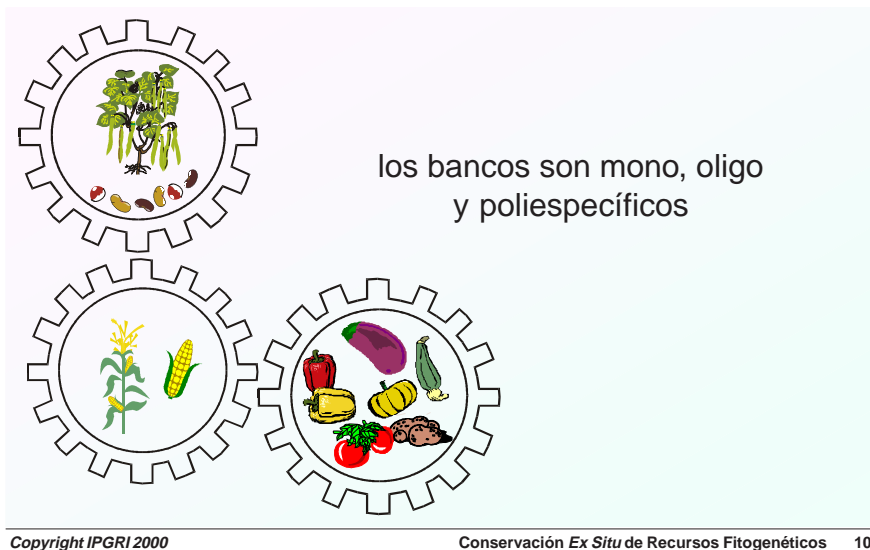
Los bancos según el tipo de muestra

Los bancos de semilla conservan semillas ortodoxas a corto, mediano y largo plazos, y en condiciones controladas de humedad y temperatura (Ellis y Roberts 1991; Withers 1995; Maxted *et al.* 1997). Son abundantes los ejemplos de bancos de semilla siendo algunos el de frijol en el CIAT (Colombia), el de maíz y trigo en el CIMMYT (México), los de *Capsicum*, *Cucurbita* y *Solanum* en el CATIE (Costa Rica), los de arroz en el IITA (Nigeria) y en el IRRI (Filipinas) y el de sorgo en el ICRISAT (India).

Los bancos de campo conservan especies cuyo almacenamiento en forma de semilla es problemático o poco factible. Incluyen los jardines botánicos y *arboreta*, tradicionalmente establecidos para estudiar las plantas (principalmente especies medicinales) y cuyo objetivo actual es conservar especies raras, en peligro de extinción y/o útiles para restaurar ecosistemas (Querol 1988; Frankel *et al.* 1995; Heywood 1991). Ejemplos de bancos de campo son el de yuca en el CIAT (Colombia), el de forrajeras en el INTA (Argentina), los de papa y raíces y tubérculos andinos en el CIP (Perú), y el de yuca y cítricos en CENARGEN (Brasil). Ejemplos de jardines botánicos son el José Celestino Mutis y el de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Caldas en Colombia, el Arenal y el Lankester en Costa Rica y el de Lancetilla en Honduras.

Los bancos *in vitro* son colecciones de germoplasma mantenidas en laboratorio en condiciones que permitan reducir o suspender el crecimiento de las muestras. Los bancos *in vitro* conservan especies que no se pueden conservar como semilla, en diferentes tipos de muestra como plantas completas, tejidos (ápices, meristemas y callos) y fragmentos de ADN (Frankel *et al.* 1995). Dos ejemplos son el banco de yuca ubicado en el CIAT (Colombia) y el de papa en el CIP (Perú).

Según el número de especies



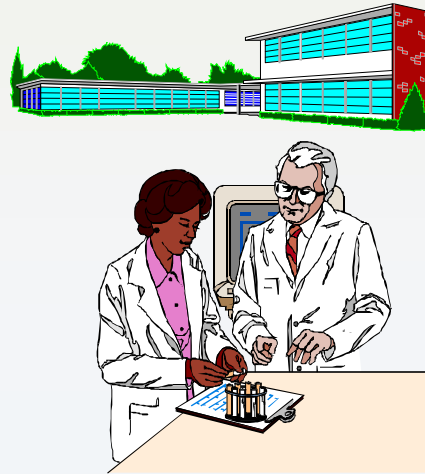
Los bancos según el número de especies que conservan

Los bancos mono y oligoespecíficos conservan, respectivamente, una o pocas especies a corto y mediano plazos. Ejemplos de esta categoría son los bancos de programas de investigación en centros nacionales e internacionales como el banco de germoplasma de soya del Programa de Oleaginosas de [CORPOICA](#) (Colombia), y el de maíz del Programa de Mejoramiento para suelos ácidos tropicales en el [CIMMYT](#) (Colombia).

Los bancos poliespecíficos se establecen a manera de centro nacional de recursos fitogenéticos de un determinado país, con fines de investigación y mejoramiento. Conservan a largo plazo y distribuyen una amplia gama de especies de interés actual o potencial. Ejemplo de este tipo de banco es el del [INTA](#) en Argentina, que mantiene, entre otras, colecciones de *Arachis* spp., *Linum usitatissimum*, *Triticum* spp., *Zea mays*, *Sorghum* spp., *Gossypium hirsutum*, *Glycine max*, *Solanum* spp. y *Helianthus* spp.

Según el mandato son

- institucionales
- regionales
- internacionales



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 106

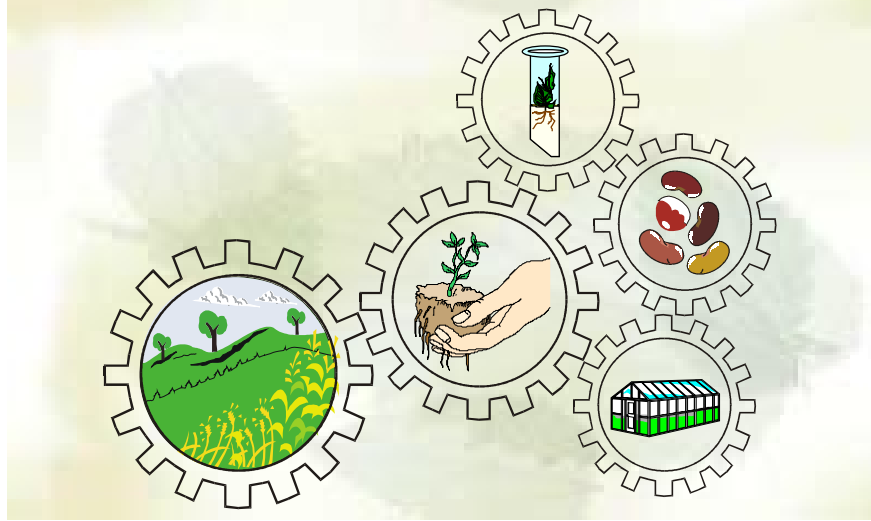
Los bancos según el mandato institucional

Los bancos de germoplasma normalmente están adscritos a una institución cuyo mandato, naturaleza o cobertura geográfica se reflejan en sus objetivos. De ahí que se los pueda denominar bancos institucionales, nacionales, regionales o internacionales. Los bancos institucionales únicamente conservan germoplasma utilizado para investigación por el instituto al cual están adscritos. Un ejemplo es el de la Universidad Federal de Viçosa (Brasil), que conserva germoplasma de los géneros *Lycopersicon* y *Solanum*. Los bancos regionales se establecen como empresa colaborativa entre varios países para conservar el germoplasma y apoyar la investigación de una determinada región. En el caso de América Latina, un ejemplo lo constituye el banco del [CATIE](#) en Costa Rica, que posee colecciones de varios géneros como *Capsicum* spp., *Cucurbita* spp. y *Solanum* spp. Los bancos ubicados en los centros internacionales de investigación agrícola, establecidos inicialmente para apoyar programas de mejoramiento, conservan germoplasma de cultivos bajo su mandato y de otros cultivos. Dos ejemplos son el banco de germoplasma de *Phaseolus* spp., *Manihot* spp. y forrajeras tropicales en el [CIAT](#) (Colombia) y el de *Zea*, *Triticum*, *Hordeum* y *Secale* en el [CIMMYT](#) (México).

Contenido

- I. Objetivos
- II. Introducción
- III. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- IV. Etapas de la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos
- V. Manejo de bancos y colecciones
- ▶ **VI. Consideraciones finales** ◀

VI. Consideraciones finales



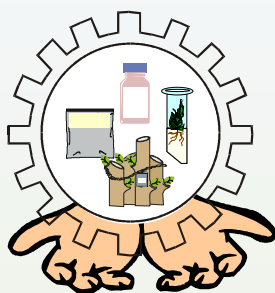
Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 108

VI. Consideraciones finales sobre la conservación *ex situ*

Según hemos visto en el desarrollo de este módulo, la conservación *ex situ* es compleja y requiere múltiples recursos, esfuerzos y compromiso por parte de quienes la realizan y/o auspician. Ofrece muchos beneficios pero constituye sólo una alternativa para conservar la diversidad existente. Conservar la diversidad a todos los niveles (genes, especies y ecosistemas) en continua evolución y disponible requiere utilizar o combinar otras alternativas y herramientas de conservación.

La conservación *ex situ*



- congrega variabilidad genética
- mantiene el germoplasma estable, seguro y disponible
- interrumpe producción de nueva diversidad

Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 109

VI. Consideraciones finales sobre la conservación *ex situ*

Los recursos fitogenéticos se pueden conservar dentro (*in situ*) y fuera (*ex situ*) de sus ambientes de origen, dependiendo de lo que se pretenda hacer con ellos. Escoger una u otra alternativa ofrece ventajas y desventajas.

Conservar *ex situ* congrega en un solo sitio la diversidad genética de una o muchas especies de interés, sin que cambie o desaparezca como en la naturaleza. Es una alternativa segura y confiable en tanto permite mantener duplicados de las mismas accesiones durante diferentes períodos y en diversos tipos de muestra, y facilita acceder al germoplasma para estudio o distribución. Sin embargo, conserva solamente las combinaciones genéticas existentes en un momento dado e interrumpe la evolución y coevolución que generan nueva diversidad. Además, puede afectar la expresión normal de las características de los recursos conservados. Por eso se indica cuando el objetivo es conservar la diversidad de especies o genotipos mas no las interacciones entre ellos y con el ambiente.

Dentro del esquema *ex situ*, el uso que se dará al germoplasma determinará el tipo de colección y el tiempo durante el cual se mantendrá. Si el objetivo es disponer de la mayor variabilidad en el tiempo, el germoplasma se conservará a largo plazo en una colección base, pero si es para utilizarlo en mejoramiento, se mantendrá a corto plazo en una colección de trabajo. Para facilitar el manejo se lo mantendrá a mediano o corto plazos en una colección activa pero si el objetivo es fomentar el uso, se lo tendrá en una colección núcleo a corto o mediano plazos. Las características de la especie, por su parte, determinarán el tipo de muestra en que conviene conservarla. Si la especie es ortodoxa se conservará en forma de semilla y en cámaras, y si es recalcitrante, intermedia o de reproducción vegetativa se mantendrá en campo o se cultivará *in vitro*. De todos modos, el resultado debe ser una colección representativa y viable con potencial de uso.

Conservación complementaria



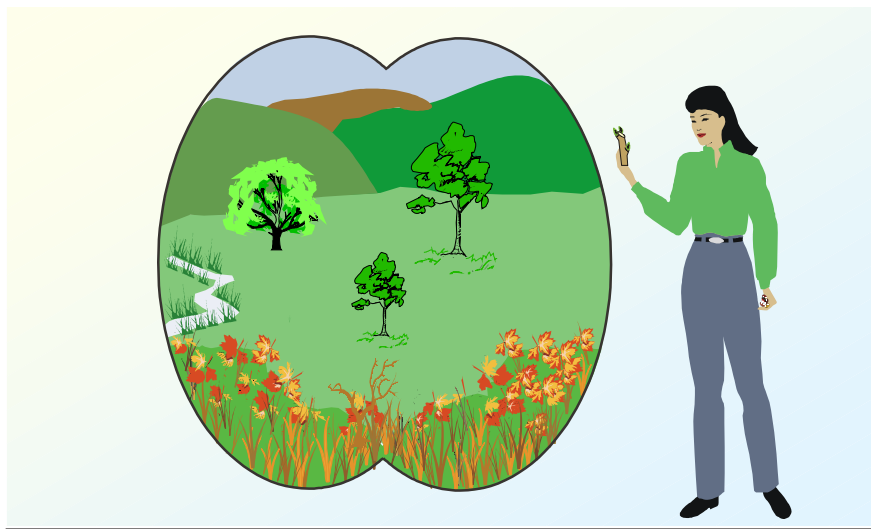
- Combina metodología *ex situ* e *in situ*
- Compensa desventajas de una metodología con ventajas de otra
- Más efectiva, segura, duradera, flexible y sostenible

Copyright IPGRI 2000

Conservación *Ex Situ* de Recursos Fitogenéticos 110

Ahora, si el objetivo es conservar la diversidad en sentido amplio, conviene conservar combinaciones genéticas específicas (*ex situ*) pero permitir que continúen evolucionando (*in situ*) y generando nueva diversidad. Conservar las plantas, sus hábitat naturales y las interacciones entre ellos en un enfoque combinado *in situ-ex situ* se denomina conservación complementaria y consiste en aprovechar las ventajas de una metodología para compensar las desventajas de la otra. Dentro de este enfoque, las especies de interés se mantienen simultáneamente en su sitio de origen (*in situ*, especialmente en sistemas tradicionales de cultivo) y en bancos de germoplasma, en los que además se almacena información sobre el manejo que se les ha dado *in situ*. Esta alternativa es más efectiva, segura, duradera, flexible, y económica y biológicamente sostenible que utilizar cualquiera de las dos alternativas individualmente (Maxted *et al.* 1997).

Conservar y utilizar la diversidad sin lesionar ambientes naturales



Copyright IPGRI 2000

Conservación Ex Situ de Recursos Fitogenéticos 111

Los recursos fitogenéticos son la base de la existencia de la humanidad y su utilización futura depende del valor que se les de y de la racionalidad con la que se los maneje. Conservar y utilizar los recursos genéticos no debe lesionar los ambientes naturales. Así como no olvidamos que la humanidad depende de las plantas, también debemos tener presente que es la principal causante de la erosión y pérdida de los recursos genéticos vegetales. Informar y sensibilizar a la opinión pública sobre estos aspectos redundará en apoyo a la conservación y utilización racionales de estos recursos.

Referencias Consultadas

1. Adams, R.P. y J.E. Adams. 1992. Conservation of plant genes: DNA banking and *in vitro* biotechnology. Academic Press, Estados Unidos. 85p.
2. Ashmore, S.E. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 67p.
3. Barton, J.H. y W.E. Siebeck. 1994. Material transfer agreements in genetic resources exchange: The case of the International Agricultural Research Centres. Issues in Genetic Resources N° 1. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 61p.
4. Benson, E.E. (ed.). 1999. Plant conservation biotechnology. Taylor and Francis Ltd., Reino Unido. 309p.
5. Brown, A.H.D., O.H. Frankel, D.R. Marshall y J.T. Williams (eds.). 1988. The use of plant genetic resources. Cambridge University Press, Reino Unido. 382p.
6. Brown, A.D.H. 1988. The case for core collections. *En: The use of plant genetic resources* (A.H.D Brown, O.H. Frankel, D.R. Marshall y J.T. Williams, eds.). Cambridge University Press, Reino Unido. p. 136-56.
7. Castillo, R., J. Estrella y C. Tapia (eds.). 1991. Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Editorial Porvenir, Ecuador. 248p.
8. Cromarty, A.S., R.H. Ellis y E.H. Roberts. 1985. The design of seed storage facilities for genetic conservation. Handbook for Genebanks N° 1. International Board for Plant Genetic Resources, Italia. 100p.
9. CGIAR. 1997. The CGIAR System-wide Genetic Resources Programme. <http://sgrp.cgiar.org>
10. CGIAR. 1997. CGIAR System-wide Information Network for Genetic Resources. <http://singer.cgiar.org>
11. Chang, T.T. 1988. The case for large collections. *En: The use of plant genetic resources* (A.H.D. Brown, O.H. Frankel, D.R. Marshall y J.T. Williams, eds.). Cambridge University Press, Reino Unido. p. 123-35.
12. Chang, T.T., S.M. Dietz y M.N. Westwood. 1989. Management and use of plant germplasm collections. *En: Biotic diversity and germplasm preservation, global imperatives* (L. Knutson y A.K. Stoner, eds.). Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 127-159.
13. Cromarty, A.S., R.H. Ellis y E.H. Roberts. 1985. The design of seed storage facilities for genetic conservation. Handbook for Genebanks N° 1. International Board for Plant Genetic Resources, Italia. 100p.
14. Cuevas, A.J. 1988. Recursos fitogenéticos: Bases conceptuales para su estudio y conservación. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 244p.

15. Damania, A.B. 1996. Biodiversity conservation: A review of options complementary to standard *ex situ* methods. *Plant Genetic Resources Newsletter* 107:1-18.
16. Debouck, D. 1995. Conservación *in situ* de recursos fitogenéticos y documentación. *En: Documentación de recursos fitogenéticos. Memorias del curso realizado en Palmira por el International Plant Genetic Resources Institute y la Universidad Nacional de Colombia, abril 23-28 de 1995. Universidad Nacional de Colombia, Colombia. p. 1-24.*
17. De la Rosa, L. 1997. Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. *En: VI Curso Internacional sobre Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Memorias del curso realizado en San Fernando de Henares por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, la Agencia Española de Cooperación Internacional y el Banco Interamericano de Desarrollo, noviembre 3-28 de 1997. Escuela Central de Capacitación Agraria San Fernando de Henares, España. 4p.*
18. Duvick, D.N. 1990. Genetic enhancement and plant breeding. *En: Advances in new crops (J. Janick y J.E. Simon, eds.), Estados Unidos. p. 90-96.*
19. Ellis, R.H., T.D. Hong y E.H. Roberts. 1985. Seed technology for genebanks. *Handbook for Genebanks N°2, Vol. 1. International Board for Plant Genetic Resources Institute, Italia. 210p.*
20. Ellis, R.H. y E. H. Roberts. 1991. Seed moisture content, storage, viability and vigour. *Seed Science Research* 1:275-279.
21. Engelmann, F. y H. Takagi (eds.). 2000. Cryopreservation of tropical plant Germplasm: Current research progress and application. *Japan International Research Center for Agricultural Sciences e International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 496p.*
22. Engels, J. 1985. Descripción sistemática de colecciones de germoplasma. *Lecturas sobre Recursos Fitogenéticos. Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos, Italia. 32p.*
23. Engels, J.M.M., R.K. Arora y L. Guarino. 1995. An introduction to plant germplasm exploration and collecting: Planning, methods and procedure, follow-up. *En: Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines (L. Guarino, V.R. Rao. y R. Reid, eds.). CAB International, Reino Unido. p. 31-63.*
24. Engle, L.M. 1992. Introduction to concepts of germplasm conservation. *En: Germplasm collection, evaluation, documentation and conservation (M.L. Chadna, A.M.K. Anzad Hossain y S.M. Monowar Hossain, comp.). Memorias del curso realizado en Bangladesh por el Asian Vegetable Research and Development Center, el Bangladesh Agricultural Research Council y el Bangladesh Agricultural Research Institute, mayo 4-6 de 1992. Asian Vegetable Research and Development Center, Taiwan. p. 11-17.*

25. Esquinas, J.T. 1983. Los recursos fitogenéticos, una inversión segura para el futuro. Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos e Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, España. 44p.
26. FAO. 1993. *Ex situ* storage of seeds, pollen and *in vitro* cultures of perennial woody plant species. Forestry Paper N° 113. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 84p.
27. FAO. 1994. Código internacional de conducta para la recolección y transferencia de germoplasma vegetal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 22p.
<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPS/PGR/icc/iccs.htm>
28. FAO. 1996. Conservación y utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura: Plan de acción mundial e informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 10p.
29. FAO. 1996. Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 75p.
30. FAO. 1996. Plan de acción mundial para la conservación y utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 64p.
31. FAO. 1997. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. 11p.
<http://www.fao.org/legal/inicio.htm>
32. FAO. 1998. The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 510p.
33. FAO. 1999. The FAO World Information and Early Warning System on Plant Genetic Resources. <http://apps2.fao.org/wIEWS/>
34. FAO/IPGRI. 1994. Normas para bancos de genes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación e Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Italia. 15p.
35. Ford-Lloyd, B. y M. Jackson. 1986. Plant genetic resources: An introduction to their conservation and use. Edward Arnold Publishers, Reino Unido. 152p.
36. Frankel, O.H., A.H.D. Brown y J.J. Burdon. 1995. Conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Reino Unido. 299p.
37. Frankel, O.H. y E. Bennet (eds.). 1970. Genetic resources in plants: Their exploration and conservation. IBP Handbook N° 11. Blackwell Scientific Publications, Reino Unido. 554p.
38. Frison, E.A. 1994. Sanitation techniques for cassava. Tropical Science 34(1):146-153.

39. George, E.F. y P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture: Handbook and directory of commercial laboratories. Parte 1. Exegetics Limited, Reino Unido. 709p.
40. George, E.F. 1996. Plant propagation by tissue culture: In practice. Parte 2. Exegetics Limited, Reino Unido. 1361p.
41. Glowka, L., F. Burhenne-Guilmin, J.A. McNeely y L. Günding. 1994. A guide to the Convention on Biological Diversity. Environmental Policy and Law, Paper N° 30. IUCN Suiza y Reino Unido. The Burlington Press, Reino Unido. 161p. http://www.iucn.org/themes/law/elp_publications_guide-s.html
42. Grabe, D.F. 1989. Measurement of seed moisture. *En: Seed moisture* (P.C. Stanwood y M.B. Miller, eds.). Special Publication N° 14. Memorias del simposio realizado en Atlanta por la Crop Science Society of America, noviembre 30 de 1987. Crop Science Society of America, Estados Unidos. p. 69-92.
43. Guarino, L., V.R. Rao. y R. Reid (eds.). 1995. Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines. CAB International, Reino Unido. 748p.
44. Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. *En: Seed Biology*. Vol.3 (T.T. Kozlowsky, ed.). Academic Press, Reino Unido. 8p.
45. Hawkes, J.G. 1991. Dynamic *in situ* conservation of wild relatives of major cultivated plants. *Israel Journal of Botany* 40:529-536.
46. Heywood, V.H. 1992. Efforts to conserve tropical plants: A global perspective. *En: Conservation of plant genes, DNA banking and in vitro biotechnology* (R.P. Adams y J.E. Adams, eds.). Academic Press, Reino Unido. p. 1-14.
47. Heywood, V.H. 1991. The changing role of the botanic garden. *En: Botanic gardens and the world conservation strategy* (D. Bramwell, O. Hamann, V. Heywood y H. Singe, eds.). Academic Press, Reino Unido. p. 3-18.
48. Hidalgo, R. 1991. Conservación *ex situ*. *En: Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales* (R. Castillo, J. Estrella y C. Tapia, eds.). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Ecuador. p. 71-87.
49. Hodgkin, T., A.H.D. Brown, T.J.L. van Hintum y E.A. Vilela-Morales (eds.). 1995. Core collections of plant genetic resources. John Wiley and Sons, Reino Unido. 269p.
50. Hong, T.D. y R.H. Ellis. 1996. A protocol to determine seed storage behavior. Technical Bulletin N° 1. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 64p. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/download.htm>
51. Hong, T.D., S. Linington y R.H. Ellis. 1996. Seed storage behavior: A compendium. Handbook for Genebanks N° 4. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 656p. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/download.htm>
52. IBPGR. 1988. Conservation and movement of vegetatively propagated germplasm: *In vitro* culture and disease aspects. International Board for Plant Genetic Resources, Advisory Committee on *In Vitro* Storage, Italia. 60p.

53. IBPGR (comp.). 1991. Elsevier's dictionary of plant genetic resources. Elsevier Science Publishers B.V., Holanda. 187p.
54. IPGRI. 1996. Descriptores para el tomate (*Lycopersicon* spp). International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 44p.
55. IPGRI. 1996. Evaluation of seed storage containers used in genebanks. Report of a survey. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 21p.
56. IPGRI. 1996. Introduction to collecting. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia 25p.
<http://www.cgiar.org/ipgri/TRAINING/8-2-1/index.htm>
57. IPGRI. 1996. Planning collecting missions. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia 31p.
<http://www.cgiar.org/ipgri/TRAINING/8-2-1/index.htm>
58. IPGRI. 1997. Multicrop passport descriptors. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 4p. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/download.htm>
59. IPGRI. 1997. Formulario de recolección de germoplasma. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 6p. No publicado.
60. IPGRI. 1998. Germplasm Documentation: Databases. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/dbases.htm>
61. IPGRI. 1998. Directory of Germplasm Collections. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/dbintro.htm>
62. IPGRI/CIAT. 1994. Establishment and operation of a pilot *in vitro* active genebank. Report of a CIAT-IBPGR collaborative project using cassava (*Manihot esculenta* Crantz) as a model. International Plant Genetic Resources Institute y Centro Internacional de Agricultura Tropical, Italia. 59p.
63. ISTA. 1993. International rules for seed testing. Seed Science and Technology, 21, Supplement. International Seed Testing Association, Suiza. 288p.
64. JICA. 1988. Preservation of plant genetic resources. Technical assistance activities for genetic resources projects. Ref N° 1 de 1988. Japan International Cooperation Agency, Japón. 158p.
65. JICA. 1993. Cryopreservation of plant genetic resources. Technical assistance activities for genetic resources projects. Ref N° 1 de 1993. Japan International Cooperation Agency, Japón. 135p.
66. Karp, A., S. Kresovich, K.V. Bhat, W.G. Ayad y T. Hodqkin. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: A guide to the technologies. Technical Bulletin N° 2. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 47p.
67. Maxted, N., B.V. Ford-Lloyd y J.G. Hawkes (eds.). 1997. Plant genetic conservation: The *in situ* approach. Chapman and Hall, Reino Unido. 446p.

68. Maxted, N., K. Painting y L. Guarino. 1997. Ecogeographic surveys. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 54p. <http://www.cgiar.org/ipgri/TRAINING/5-2/index.htm>
69. Nath, R. 1993. Plant quarantine: Principles and concepts. *En*: Plant quarantine and genetic resources management (R.S. Rana, R. Nath, R.K. Khetarpal, N. Gokte y J.S. Bisht, eds.). National Bureau of Plant Genetic Resources. Indian Council of Agricultural Research, India. p. 19-24.
70. National Research Council. 1993. Managing global genetic resources: Agricultural crop issues and policies. Board on Agriculture. National Academic Press, Estados Unidos. 171p.
71. Ortíz, J.M. 1997. Marcadores moleculares en la caracterización de material vegetal. *En*: VI Curso Internacional sobre Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Memorias del curso realizado en San Fernando de Henares por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, la Agencia Española de Cooperación Internacional y el Banco Interamericano de Desarrollo, noviembre 3-28 de 1997. Escuela Central de Capacitación Agraria San Fernando de Henares, España. 4p.
72. Painting, K.A., M.C. Perry, R.A. Denning y W.G. Ayad. 1993. Guía para la documentación de recursos genéticos. Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos. Italia. 310p. <http://www.cgiar.org/ipgri/doc/download.htm>
73. Paroda, R.S., R.K. Arora y K.P.S. Chandel (eds.). 1987. Conservation of biological diversity: Indian perspective. National Bureau of Plant Genetic Resources, India. 545p.
74. Paroda, R.S. y R.K. Arora. 1991. Plant genetic resources. Conservation and management: Concepts and approaches. International Board for Plant Genetic Resources. Regional Office for South and Southeast Asia, India. 392p.
75. Pérez-Ruíz, C. 1997. Conservación *in vitro* de recursos genéticos. *En*: VI Curso Internacional sobre Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Memorias del curso realizado en San Fernando de Henares por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, la Agencia Española de Cooperación Internacional y el Banco Interamericano de Desarrollo, noviembre 3-28 de 1997. Escuela Central de Capacitación Agraria San Fernando de Henares, España. 4p.
76. Pita, J.M. 1997. Información y documentación: Bases de datos. *En*: VI Curso Internacional sobre Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Memorias del curso realizado en San Fernando de Henares por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, la Agencia Española de Cooperación Internacional y el Banco Interamericano de Desarrollo, noviembre 3-28 de 1997. Escuela Central de Capacitación Agraria San Fernando de Henares, España. 2p.

77. Plucknett, D.L., T.J. Williams, N.J.H. Smith y N.M. Anishetty. 1992. Los bancos genéticos y la alimentación mundial. Colección Investigación y Desarrollo N° 21, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Centro Internacional de Agricultura Tropical, Costa Rica. 257p.
78. Poehlman, J.M y D.A. Sleper. 1995. Breeding field crops. Iowa State University, Estados Unidos. 493p.
79. Prescott-Allen, R. y C. Prescott-Allen. 1988. Genes from the wild: Using wild genetic resources for food and raw materials. Earth Scans Publications, Reino Unido. 112p.
80. Puzone, L. y T. Hazekamp (comp.). 1998. Characterization and documentation of genetic resources utilizing multimedia databases. Memorias del taller realizado en Nápoles por el International Plant Genetic Resources Institute, diciembre 19-20 de 1996. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 67p.
81. Querol, D. 1988. Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado: Aproximación técnica y socioeconómica. Industrial Gráfica S.A., Perú. 218p.
82. Rao, R. y K.W. Riley. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Genetic Resources Newsletter 97:3-20.
83. Roca, W.M. y L.A. Mroginski. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Colombia. 969p.
84. Rosselli, G., G. Ianni, P. Mariotti, A. Tronconi y S. Cerreti. 1998. Virtual catalogue on olive and other fruit trees. *En*: Characterization and documentation of genetic resources utilizing multimedia databases (L. Puzone y T. Hazekamp, comp.). Memorias del taller realizado en Nápoles por el International Plant Genetic Resources Institute, diciembre 19-20 de 1996. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. p. 2-3.
85. Sackville Hamilton, N.R. y K.H. Chorlton. 1997. Regeneration of accessions in seed collections: A decision guide. Handbook for Genebanks N° 5. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 75p.
86. Shan-An, H. 1991. Features and functions of botanical gardens in China. *En*: Primera Conferencia Internacional de Jardines Botánicos. Memorias de la conferencia realizada en Tokio por la Japan Association of Botanical Gardens, División de Asia, mayo 20-22 de 1991. Japan Association of Botanical Gardens, Japón. p. 63-75.
87. Sharma, B.D. 1991. Botanic gardens and their role in present day context of the Indian subcontinent. *En*: Primera Conferencia Internacional de Jardines Botánicos. Memorias de la conferencia realizada en Tokio por la Japan Association of Botanical Gardens, División de Asia, mayo 20-22 de 1991. Japan Association of Botanical Gardens, Japón. p. 30-44.
88. Smith, R.D. 1995. Collecting and handling seeds in the field. *En*: Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines (L. Guarino, V.R. Rao. y R. Reid, eds.). CAB International, Reino Unido. p. 419-466.

89. Toll, J., K.L. Tao y E. Frison. 1994. Genebank management. *En: Ex situ* germplasm conservation (E. Frison y M. Bolton, eds.). Memorias del taller realizado en Praga, octubre 7-9 de 1993. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación e Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Italia. p 10-16.
90. Toll, J. 1995. IPGRI's concerns for field genebank management; CGIAR System-wide Genetic Resources Programme consultation exercises. *En: Field genebank management: Problems and potential solutions*. Memorias del taller realizado en Mayagüez por el International Plant Genetic Resources Institute, noviembre 12-18 de 1995. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 2p.
91. Towil, L.E. y E.E. Roos. 1989. Techniques for preserving of plant germplasm. *En: Biotic diversity and germplasm preservation, global imperatives* (L. Knutson y A.K. Stoner, eds.). Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 379-403.
92. Valois, A.C.C. 1996. Conservação de germoplasma vegetal *ex situ*. *En: Diálogo XLV: Conservación de germoplasma vegetal*. Memorias del curso realizado en Brasilia por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, septiembre 19-30 de 1994. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Uruguay. p.7-11.
93. Vilela-Morales, E.A. y A.C.C. Valois. 1996. Principios genéticos para recursos genéticos. *En: Diálogo XLV: Conservación de germoplasma vegetal*. Memorias del curso realizado en Brasilia por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, septiembre 19-30 de 1994. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Uruguay. p. 35-48.
94. Vilela-Morales, E.A. y A.C.C. Valois. 1996. Principios para la conservação e uso de recursos genéticos. *En: Diálogo XLV: Conservación de germoplasma Vegetal*. Memorias del curso realizado en Brasilia por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, septiembre 19-30 de 1994. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Uruguay. p. 13-34.
95. Vilela-Morales, E.A., J. Schmitt, R.A. Mendes, J.N. Fonseca y E.R. Godoy. 1996. Princípios de documentação para recursos genéticos vegetais. *En: Diálogo XLV: Conservación de germoplasma vegetal*. Memorias del curso realizado en Brasilia por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, septiembre 19-30 de 1994. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Uruguay. p 49-67.
96. van den Hurk, A. 1997. Complementary conservation strategies. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 51p. No publicado.
97. van den Hurk, A. 1997. Developing a conservation strategies. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 39p. No publicado.

98. Wang, B.S.P., P. Charest y B. Downie. 1993. *Ex situ* storage of seeds, pollen and *in vitro* perennial woody plant species. Forestry Paper 113. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 85p.
99. Warren, D.M. 1991. Using indigenous knowledge in agricultural development. Discussion Group Paper N° 127. World Bank, Estados Unidos. 46p.
100. Warren, D.M. y B. Rajasekaran. 1993. Putting local knowledge to good use. *International Agricultural Development* 13(4):8-10.
101. Wilkes, H. 1989. Germplasm preservation: Objectives and needs. *En: Biotic diversity and germplasm preservation, global imperatives* (L. Knutson y A.K. Stoner, eds.). Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 13-41.
102. Williams, T. 1989. Germplasm preservation: A global perspective. *En: Biotic diversity and germplasm preservation, global imperatives* (L. Knutson y A.K. Stoner, eds.). Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 81-115.
103. Withers, L.A. 1995. Collecting *in vitro* for genetic resources conservation. *En: Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines* (L. Guarino, V.R. Rao. y R. Reid, eds.). CAB International, Reino Unido. p. 511-525.
104. Zhiming, Z. 1991. *Ex situ* conservation of wild plants in Beijing Botanical Garden. *En: Primera Conferencia Internacional de Jardines Botánicos. Memorias de la conferencia realizada en Tokio por la Japan Association of Botanical Gardens, División de Asia, mayo 20-22 de 1991. Japan Association of Botanical Gardens, Japón.* p. 75-80.

Acrónimos

CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Costa Rica
CENARGEN	Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnología, Brasil
CGIAR	Grupo Consultivo sobre Investigación Agrícola Internacional
CSEGRIN	Caribbean Seed and Germplasm Resources Information Network
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical, Colombia
CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, México
CNR	Consiglio Nazionale Ricerche, Italia
CIP	Centro Internacional de la Papa, Perú
CORPOICA	Corporación Colombiana para la Investigación Agropecuaria, Colombia
CNPB-EMBRAPA	Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia
FONAIAP	Fondo Nacional de Investigación y Promoción Agropecuaria, Venezuela
GMS	Genebank Management Information System
GPS	Localizadores Satelitales por Coordenadas
GRIN	Germplasm Resources Information Network
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources
IBTA-PROINPA	Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria, Programa de Investigación de la Papa, Bolivia
ICRISAT	International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, India
IITA	International Institute of Tropical Agriculture, Nigeria
IGR	Informationzentrum für Genetische Ressourcen, Alemania
INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Ecuador
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute, Italia

IRRI	International Rice Research Institute, Filipinas
ISTA	International Seed Testing Association, Estados Unidos
IUCN	The World Conservation Union, Suiza
PcGRIN	Personal Computer Version of the Germplasm Resources Information Network (Sistema de Documentación del GRIN)
PROINPA	Programa de Investigación de la Papa, Bolivia
QTL	<i>Loci</i> de los Caracteres Cuantitativos
RAPD	ADN Polimórfico Amplificado Aleatoriamente
RFLP	Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción
SINGER	System-Wide Information Network for Genetic Resources
UPOV	Unión Internacional para la Protección de Nuevas Obtenciones Vegetales, Suiza
USDA	United States Department of Agriculture, Estados Unidos
WIEWS	World Information and Early Warning System on Plant Genetic Resources