

**MANUAL  
PARA LA**

**Colección, Preservación y  
Caracterización de  
Recursos Forrajeros Tropicales**

El CIAT es una institución sin ánimo de lucro, dedicada al desarrollo agrícola y económico de las zonas bajas tropicales. Su sede ocupa un terreno de 522 hectáreas, propiedad del Gobierno de Colombia, el cual en su calidad de país anfitrión brinda apoyo a las actividades del CIAT. El Centro trabaja en colaboración con el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en varias de sus estaciones experimentales y también con agencias agrícolas a nivel nacional en otros países de América Latina. Varios miembros del Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional financian los programas del CIAT. Los donantes en 1979 son: la Agencia Estadounidense para el Desarrollo Internacional (USAID), la Fundación Rockefeller, la Fundación Ford, la Fundación W.K. Kellogg, la Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional (CIDA), el Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento (BIRF) por intermedio de la Asociación Internacional del Desarrollo (IDA), el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), la Comunidad Económica Europea (EEC) y los gobiernos de Australia, Bélgica, la República Federal Alemana, Holanda, el Japón, Noruega, Suiza y el Reino Unido. Además, algunas de estas entidades, el Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo del Canadá (IDRC), y el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), financian proyectos especiales. La información y conclusiones contenidas en esta publicación no reflejan necesariamente la posición de ninguna de las instituciones, fundaciones o gobiernos mencionados.

Serie 05SG-1  
Junio, 1979

**MANUAL  
PARA LA**

**Colección, Preservación y  
Caracterización de  
Recursos Forrajeros Tropicales**

**Editor Técnico:** G.O. Mott  
Agronomy Department  
University of Florida

**Editor de Producción:** Alejandro Jiménez C.  
Unidad de Comunicaciones  
CIAT

**Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)  
Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia, S.A.**

**Esta publicación es el resultado de una reunión de discusión sobre la Colección, Preservación y Caracterización de Germoplasma de Recursos Forrajeros Tropicales, realizada en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en abril 11-14, 1978. La reunión de discusión fue copatrocinada por el Center for Tropical Agriculture, Universidad de Florida; la Agencia Estadounidense para el Desarrollo Internacional (AID); y el CIAT. La reunión de discusión y la preparación del manuscrito para este manual fueron financiadas por la AID, por medio de la donación AID/ta-G-1425 hecha a la Universidad de Florida.**

## CONTENIDO

Prefacio :		vii
Introducción :	Estrategias para la Colección y el Mejoramiento de Plantas Forrajeras <i>G.O. Mott y E. Mark Hutton</i>	1
I :	Preparación para el Viaje de Colección <i>R. Schultze-Kraft</i>	5
II :	Colección del Germoplasma en el campo <i>R. Schultze-Kraft</i>	9
III :	Descripción del Sito de Colección <i>R. Reid y J.R. Lazier</i>	15
IV :	Colección de Muestras de Suelos y Procedimientos <i>Luis A. León, W. E. Fenster y P. A. Sánchez</i>	19
V :	Colección de Cepas de <i>Rhizobium</i> <i>R.A. Date y J. Halliday</i>	23
VI :	Colección y Preservación de Insectos y Organismos Patógenos <i>R.M. Sonoda</i>	29
VII :	Caracterización y Evaluación Preliminar <i>A. E. Kretschmer, Jr.</i>	37
VIII :	Transferencia de Germoplasma de Forrajes <i>R.A. Luse</i>	51
IX :	Preservación de Germoplasma de Plantas Forrajeras <i>R.A. Luse</i>	59
X :	Manejo de la Información <i>L. Song y K. Rawal</i>	71

Apéndice 1 :	Lista de descriptores para la colección y evaluación de germoplasma de forrajes	75
Apéndice 2 :	Diccionario de descriptores para la colección y evaluación del germoplasma de forrajes	82
Apéndice 3 :	Procedimiento para enviar muestras de nódulos al CIAT	97
Apéndice 4 :	Lista de laboratorios en los cuales se hacen aislamientos de <i>Rhizobium</i> a solicitud del colector	97
Apéndice 5 :	Ejemplo del formato utilizado en India para hacer despachos de semilla	99
Apéndice 6 :	Lista de países y de sus correspondientes autoridades con capacidad para emitir certificados fitosanitarios	100
Apéndice 7 :	Recomendaciones y conclusiones principales del Grupo de Trabajo de la Junta Internacional de Recursos Genéticos Vegetales (IBPGR, International Board for Plant Genetic Resources) sobre Ingeniería Diseño y Costo de la Construcción de Facilidades para el Almacenamiento de Semilla a Largo Plazo	102
Apéndice 8 :	Condiciones recomendadas para hacer las pruebas de germinación de leguminosas y gramíneas forrajeras	104
Apéndice 9 :	Códigos alfabéticos para los países	105

## **PREFACIO**

En un primer esfuerzo de esta naturaleza en forrajes, se organizó un seminario internacional, con la participación de científicos especialistas en forrajes, a fin de discutir la forma de planear y coordinar las actividades de colección, preservación, distribución y caracterización de recursos de germoplasma de forrajes tropicales.

Las fases de planeación se realizaron en colaboración con las tres instituciones copatrocinadoras. El comité organizador se responsabilizó de la selección de los temas y autores que aparecen en este manual.

El comité ejecutivo seleccionó a los participantes y expositores — científicos sobresalientes quienes actualmente desempeñan un papel activo en diferentes áreas de la investigación en forrajes.

El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) sirvió de sede al seminario, proporcionando sus facilidades y el apoyo logístico. La Agencia Estadounidense para el Desarrollo Internacional le hizo a la Universidad de Florida una donación especial (AID/ta-G-1425) para cubrir los gastos de viaje de algunos participantes y los costos de la publicación.

La mayor parte del seminario se dedicó a discusiones informales entre los participantes sobre los temas presentados en este manual. Durante las deliberaciones, los autores de los diferentes capítulos tuvieron la responsabilidad de recoger conceptos de los participantes sobre su primer borrador, a fin de que este manual fuera representativo del consenso.

El comité organizador y el comité ejecutivo agradecen especialmente a los autores por su esfuerzo en la preparación tanto de los borradores preliminares distribuidos a los participantes el día de la apertura de la reunión, como de los capítulos en su forma final; y a los asistentes y expositores por su participación activa y sincera en los diálogos.





# INTRODUCCION

## ESTRATEGIAS PARA LA COLECCION Y EL MEJORAMIENTO DE PLANTAS FORRAJERAS

*G.O. Mott y E. Mark Hutton*

La evolución de las plantas ha producido la variabilidad genética y la amplia diversidad de géneros, especies y ecotipos de plantas forrajeras tropicales disponibles en la actualidad. Es indispensable aprovechar la experiencia obtenida con otros cultivos y también los logros alcanzados por varias organizaciones en la colección y evaluación de leguminosas y gramíneas. Es necesario aplicar toda la tecnología disponible para apresurar el desarrollo de nuevos cultivares de plantas forrajeras, a fin de mejorar la cantidad y la calidad de los forrajes.

Es indispensable coleccionar, a la mayor brevedad, una gama más amplia de ecotipos naturales de leguminosas y de aquellas gramíneas con mejores perspectivas, antes de que desaparezcan de muchas áreas, a causa del proceso de desmonte, cultivo y explotación de tierras, favorecido por el rápido crecimiento de la población registrado actualmente en muchos países. Hasta ahora, probablemente sólo se ha coleccionado una pequeña parte de los genes potencialmente valiosos de leguminosas y de gramíneas.

Apenas se está iniciando la monumental labor de tratar de coordinar la colección, preservación, distribución y caracterización de un gran número de especies y ecotipos, tanto de leguminosas como de gramíneas. Sería muy fácil acumular una masa inmanejable de germoplasma de una gran cantidad de especies, a menos que se den ciertos pasos para estandarizar los procedimientos a seguir con respecto a los distintos temas que se discutirán en los siguientes capítulos.

Es posible mejorar la tecnología disponible hasta el momento. Es necesario buscar maneras de aplicar la mejor tecnología a esta actividad, de tal forma que cada técnico o científico agrícola sea capaz de recuperar el germoplasma y la información disponible en el momento en el cual lo requiera. **Ahora** es el momento preciso de uniformar criterios, antes de que la cantidad de material coleccionado sobrepase la capacidad de almacenamiento de los bancos de germoplasma.

Es importante recordar que no sólo se colecta o genera información para sí mismo, sino también para los científicos dedicados al mejoramiento de los forrajes en el trópico.

## **Centros de Diversificación**

Dada la existencia de una gran reserva de géneros y especies de forrajes tropicales, es necesario preguntarse, qué tan importante es para los colectores identificar los centros de diversificación? Podría haber una tendencia a concentrar las actividades de colección en estos centros, cuando tal vez los genes que realmente nos interesan están localizados en zonas aledañas?

No debería ser más importante describir claramente los nichos ambientales de donde provienen las colecciones? Sería importante catalogar las leguminosas forrajeras, particularmente aquellas de los géneros más promisorios, ya incluidas en los principales herbarios del mundo? Se debería considerar la relación costo-beneficio de tal procedimiento en el desarrollo de nuevos cultivares?

Muchas hojas de los herbarios sólo dan información sobre el nombre botánico de la planta y del colector. En contraste, otras hojas dan una descripción muy completa del lugar en el cual se hizo la colección y dejan la impresión de ser posible llegar al lugar exacto y coleccionar el mismo ecotipo. Un objetivo específico, sobre el cual se está trabajando, es la preparación de mapas de distribución de los géneros y especies forrajeras más importantes.

## **Ecofisiología de los Forrajes Tropicales**

La evolución de las plantas forrajeras en el trópico ha respondido principalmente a fuerzas naturales y a la migración de especies a nuevos ambientes en donde han sido sometidas a otras presiones, dando lugar a nuevas combinaciones de caracteres. Las presiones de selección han sido aquellas impuestas por el clima, la humedad y la disponibilidad de nutrimentos en el suelo; estos factores y la competencia de otras especies vegetales, se podrían combinar para denominarlos como factores bióticos. El hombre ha intervenido, relativamente poco, en el proceso de selección de las plantas forrajeras, en comparación con la medida en que lo ha hecho en la evolución y selección de las plantas productoras de alimentos básicos.

En tiempos más recientes, el hombre ha introducido el animal doméstico ungulado (con casco o pezuña) al ecosistema de praderas cubiertas con pasto natural; varios ecotipos, tanto de gramíneas como de leguminosas, han sucumbido bajo el pastoreo de los animales. En el proceso de selección y en el desarrollo de nuevos cultivares, la capacidad de subsistencia de la planta al pastoreo y al corte es muy importante; quizás más que el potencial de producción. Puesto que la carga impuesta por el pastoreo (especialmente cuando éste es intenso) es un factor que interviene en el proceso de selección de

las plantas forrajeras, especialmente durante las fases iniciales de la evaluación de nuevos cultivares, el riesgo de fallar en la selección bajo condiciones de campo es alto. Esto significa que es necesario hacer un replanteamiento en los procedimientos de selección actualmente utilizados por agrónomos y fitomejoradores.

A medida que progresan las investigaciones sobre gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales, es asombroso constatar las adaptaciones que han ocurrido entre diferentes especies y dentro de cada especie, con respecto a la tolerancia de las plantas a las diferencias de humedad y de disponibilidad de nutrientes minerales en el suelo. Es importante el rango de tolerancia a la acidez y a la deficiencia de fósforo, tal como el existente en especies del género *Stylosanthes*. Es urgente investigar más a fondo la gama de germoplasma para identificar aquellas leguminosas con tolerancia a las condiciones extremas presentes en los suelos de las tierras bajas tropicales, tales como los bajos niveles de P y de Ca, un pH bajo y altos niveles de Al y Mn.

### **Relación Leguminosa-*Rhizobium***

En las últimas dos décadas, la investigación sobre *Rhizobium* se ha concentrado en la especificidad del binomio hospedante-*Rhizobium* y en la eficiencia de la fijación del nitrógeno. Al contrario de lo que sucede bajo condiciones de laboratorio, en las tierras ácidas tropicales, el hospedante y las bacterias fijadoras de nitrógeno están sometidas a varios factores interactivos relacionados con el pH del suelo, la toxicidad de Al y Mn, la eficiencia de P, las deficiencias o excesos de micronutrientes y muchos otros. Pueden las bacterias seleccionadas de *Rhizobium* que se utilizan en la inoculación de la semilla, ser capaces de sobrevivir en tal ambiente, con la competencia de rizobios naturales y de otros microorganismos? Es necesario desarrollar nuevos métodos para seleccionar en el laboratorio aquellos tipos de rizobios que puedan prosperar en suelos ácidos tropicales. Sin embargo, es necesario ayudar al microbiólogo en su búsqueda, mediante la colección de cepas de *Rhizobium* simultáneamente con la planta hospedante. La leguminosa y su correspondiente cepa de *Rhizobium* se debería considerar como una unidad inseparable en el proceso de colección.

### **Cultivares Obtenidos de Bancos de Germoplasma**

El desarrollo de nuevos cultivares no es una función exclusiva de los agrónomos especialistas en forrajes, ni de los fitomejoradores, sino que debe incluir una amplia gama de disciplinas. El CIAT tiene las facilidades, los recursos y el personal para cubrir los múltiples aspectos de la evaluación; este Centro está trabajando para cooperar con los investigadores de forrajes de todos los países tropicales. Entonces, cuál es el papel que desempeñan los investigadores? Cómo se pueden utilizar mejor los recursos que tienen estos investigadores a su disposición, para darle la mayor posibilidad de éxito a un nuevo cultivar? Estas son preguntas difíciles de responder. Cuanto más se logre

en la obtención de información – durante el proceso de colección – sobre la descripción del sitio, las propiedades físicas y químicas del suelo de esa localidad, los insectos, las enfermedades y el *Rhizobium* obtenido, más fácil será para los investigadores seleccionar las accesiones (nuevos linajes) con mayores probabilidades de éxito en su respectivo medio ambiente.

## **La Utilización de los Nuevos Cultivares**

Durante el desarrollo del programa de evaluación no se debe perder de vista el uso final que se le dará a un nuevo cultivar; el investigador se debe preguntar si el cultivar será usado por grandes ganaderos, por pequeños ganaderos o en un sistema de agricultura nómada? Será utilizado para elaborar heno, como pasto de corte, como abono verde o como pastura? El uso que se le dará a un nuevo cultivar determina, en gran parte, los métodos que se deben utilizar en la evaluación y selección de las características de la planta que los investigadores buscan.

La inclusión de una planta leguminosa en los sistemas de producción agrícola tiene tres propósitos principales: 1) agregar nitrógeno al suelo a través de su fijación biológica; 2) proporcionar alimento para el ganado; y 3) aprovechar la planta como abono verde, en la rotación de cultivos o en un sistema de cultivos múltiples. La fijación biológica del nitrógeno se ha considerado de primera prioridad, ya que se ha comprobado que las leguminosas pueden agregar al sistema agrícola hasta 200 kilogramos de nitrógeno por hectárea al año. En el sistema de pastoreo, el nitrógeno fijado proporcionará algunos de los nutrimentos requeridos por el animal, como la proteína que obtiene del forraje; pero una parte importante de este nitrógeno deberá quedar retenido en el proceso de reciclaje tierra-planta-animal. Si se aprende a manipular el sistema, el potencial de aumento en la producción de forrajes tropicales es realmente significativo.

## **Almacenamiento y Conservación de Germoplasma; Recuperación de Información**

Dentro de una estrategia integral, el almacenamiento y la preservación de germoplasma y la recuperación de información, son los componentes más importantes y más costosos del sistema. No es difícil mantener un sistema operante para unos pocos cientos de accesiones, pero cuando el número de éstas llega a los miles, es necesario adoptar la última tecnología disponible. Con respecto a plantas forrajeras tropicales, tenemos la buena suerte de estar en el período en el cual la acumulación de colecciones en nuestros bancos de germoplasma, apenas está comenzando a incrementar rápidamente.

Se espera que, todas las personas que estén involucradas en las actividades de investigación en forrajes, puedan utilizar este manual como guía para su valiosa labor.

# I

## PREPARACION PARA EL VIAJE DE COLECCION

*R. Schultze-Kraft*

La preparación de un viaje de colección de plantas se puede dividir en dos fases:

1. Búsqueda de información relacionada con el objetivo del viaje (región por explorar y germoplasma por coleccionar).
2. Obtención del equipo necesario para coleccionar el germoplasma.

En cada caso se debe hacer una distinción entre los aspectos técnicos y prácticos de la preparación del viaje.

En general, la preparación de un viaje para la colección de germoplasma de plantas forrajeras no es diferente de cualquier otra visita de campo con fines investigativos, aún a regiones desoladas. Por esta razón, se hará énfasis en los aspectos de la preparación del viaje relacionados con los objetivos específicos de la colección.

### **Datos sobre la Región por Explorar y el Germoplasma por Colectar**

#### Información general

La información general que se debe reunir al planear un viaje de colección se refiere a los aspectos de la infraestructura y servicios disponibles en la ruta del viaje; aspectos tales como la existencia y accesibilidad de carreteras y caminos; información sobre aspectos logísticos, tales como las posibilidades de pasar una noche en un determinado lugar, la disponibilidad de agua potable y de alimentos, de aceite y gasolina para el vehículo y la posibilidad de conseguir guías con un buen conocimiento de la región. Es muy importante obtener esta información de una fuente confiable preferiblemente de personas que realmente conozcan la región.

## **Información técnica**

Los informes de viajes realizados por científicos que han visitado la misma región en el pasado y las descripciones escritas sobre la vegetación, los suelos, la topografía y el clima, son muy útiles para el colector. Este tipo de información le dará un mejor conocimiento de la región y simplificará la identificación de áreas prioritarias.

La información recogida anteriormente por otros científicos sobre colecciones de germoplasma también es muy valiosa. Además, es aconsejable aprovechar la información disponible en herbarios regionales, nacionales e inclusive internacionales, sobre la distribución de aquellas especies que puedan ser de interés particular para el colector.

Es muy importante obtener la información más precisa posible sobre la distribución de lluvias en la región por explorar, ya que la posibilidad de encontrar plantas con semillas maduras depende básicamente de las condiciones climáticas. Durante las épocas de lluvia se obtienen muy pocas semillas maduras. Hacia el final de la época seca, posiblemente no se encuentren semillas y las plantas de interés para los investigadores han sido consumidas por el ganado. Si el objetivo es coleccionar una amplia gama de géneros, especies y ecotipos de germoplasma, el mejor momento para iniciar el viaje es cuatro u ocho semanas antes del comienzo de la época seca.

En muchos casos, el colector puede tener la oportunidad de hacer un viaje exploratorio a la región de interés antes del viaje de colección. Este viaje de inspección proporciona información valiosa sobre los aspectos tratados anteriormente.

Un aspecto importante de la información se refiere a las formas de reproducción del germoplasma por coleccionar. Con el fin de tomar la decisión de coleccionar semillas separadamente de las plantas individuales o si el muestreo se debe hacer con base en la población, el colector debe tener idea de si está trabajando con especies autóгамas o alógamas.

## **Equipo Necesario para Colectar Germoplasma**

### **Equipo general**

La complejidad del equipo general requerido para los viajes de colección de germoplasma depende principalmente de: la disponibilidad de información logística sobre la región por explorar; la duración del viaje; y la afición del colector por acampar en lugares aislados cuando sea necesario. A continuación se indican solamente los elementos básicos requeridos por el colector si no tiene proyectado acampar (si se proyecta hacerlo, seguramente conoce bien la clase de equipo que debe llevar):

- a. Un vehículo, preferiblemente con tracción en las cuatro ruedas; bien equipado; en perfectas condiciones mecánicas; con un tanque adicional de gasolina; aceites, líquido de frenos; repuestos esenciales, incluyendo equipo para arreglar llantas pinchadas; caja de herramientas para reparar el vehículo; un recipiente de agua; y otras herramientas, tales como pala, pica y machete.
- b. Termos para bebidas frías y calientes; agua potable; alimentos; medicinas preventivas y curativas (incluyendo antídotos contra diferentes tipos de venenos y suero antiofídico).
- c. Efectos personales, incluyendo artículos de higiene personal, botas altas (para protegerse de mordeduras de víboras), impermeable, sombrero y navaja.
- d. Cobija, hamaca, malla para protección contra los mosquitos, linterna con pilas de repuesto.
- e. Otros artículos no esenciales pero aconsejables tales como cartas de presentación y de recomendación para determinados funcionarios gubernamentales y particulares quienes puedan cooperar; y pequeños obsequios (para agradecer atenciones a determinadas personas).

### Equipo técnico

La cantidad de equipo técnico que se debe incluir en un viaje depende del número de participantes en el viaje de colección y su grado de especialización. Además del chofer, quien debe tener buenos conocimientos de mecánica, el ideal sería un equipo de dos o tres científicos, uno de ellos, especialista en suelos. Obviamente, si un botánico forma parte del equipo, debe llevar prensas para plantas y un horno secador para material de herbario (para mayor información sobre equipo especial, véanse los Capítulos IV, V y VI).

Si el objetivo principal (y casi exclusivo) del viaje es la colección de germoplasma de plantas forrajeras, los siguientes artículos son esenciales:

- a. Para la descripción del sitio de colección e identificación del material colectado:
  - mapas de carreteras y caminos (lo más detalladamente posible);
  - brújula y altímetro;
  - marcadores con tinta indeleble;
  - material para escribir información o preferiblemente una grabadora pequeña con suficientes cintas magnetofónicas;
  - cámara fotográfica con suficientes películas.
- b. Para coleccionar germoplasma
  - Semilla – suficientes bolsas de papel de varios tamaños y diferentes

calidades, cosedora con suficientes ganchos y un saca-ganchos;

Material vegetativo – pala pequeña, tijeras, bolsas plásticas con huecos, papel periódico y cajas de icopor, costales (sacos de yute o fique), un recipiente para agua, cinta adhesiva blanca, rótulos plásticos con tiras.

c. Para material de herbario:

- bolsa plástica grande;
- prensas con papel absorbente (periódico) y cartulina;
- lupa;
- frasco plástico con formaldehído (desinfectante).

d. Para procesar semilla colectada:

- “jaula” de alambre para guardar y secar las bolsas que contienen la semilla colectada;
- implemento para trillar y limpiar semilla (tablitas de Eternit con capas de caucho – véase el Capítulo IV);
- equipo de disección (incluyendo pinzas);
- fungicida e insecticida en polvo y mascarillas protectoras.



## II

### COLECCION DEL GERMOPLASMA EN EL CAMPO

*R. Schultze-Kraft*

#### **Consideraciones Básicas**

Durante el viaje, el colector tiene que tomar diariamente la decisión sobre el sitio y el número de veces que debe parar el vehículo para buscar germoplasma. La decisión sobre los sitios de colección y la frecuencia de las paradas, depende de una serie de factores relacionados con la experiencia del colector, el objetivo específico del viaje y el tiempo disponible.

Si el objetivo del viaje es reunir la mayor cantidad de muestras representativas de la variabilidad genética del germoplasma en una región muy amplia, los cambios en la vegetación, la topografía, la altitud y el uso de la tierra pueden servir de pautas para justificar una determinada parada. En caso de que la vegetación, la topografía y otras características ecológicas sean uniformes en distancias largas, lo apropiado es detenerse cada 30-50 kilómetros.

Otra decisión que debe tomar el colector es la relacionada con la colección de muestras al borde de la carretera. Como estas zonas frecuentemente se caracterizan por una mayor fertilidad y por una cierta protección de la vegetación contra los incendios y el pastoreo, la posibilidad de encontrar germoplasma y variabilidad genética (incluyendo productos de la hibridación natural) puede ser mayor en dichos sitios que en sus áreas adyacentes. Por otra parte, a causa del tráfico en las carreteras, el colector nunca está seguro de que el germoplasma presente en la orilla de la carretera sea nativo de ese lugar. Por lo tanto, una de las anotaciones más importantes que se debe hacer sobre el sitio de la colección es identificarlo como "área cerca de la carretera".

Siempre se debe tener presente que el objetivo principal de un viaje de colección de germoplasma es la colección en sí. Es preferible emplear el tiempo disponible en cierto sitio de colección reuniendo una gran cantidad de muestras que haciendo descripciones de rutina sobre características de menor importancia de las muestras colectadas. A menos que exista un interés especial en una característica específica, el colector sólo debe hacer observaciones de aquellas sobresalientes.

Se recomienda utilizar una grabadora pequeña para registrar información tanto del sitio de colección como de las características particulares del germoplasma colectado. Este recurso permite ahorrar tiempo. Al final del día, las observaciones grabadas se pasan a las tarjetas; cada tarjeta corresponde a una colección específica. La cámara fotográfica es otra herramienta de trabajo de gran utilidad, tanto para el registro gráfico del sitio de colección como para la descripción de las características particulares de las muestras colectadas. Fotografías bien seleccionadas del lugar y de las muestras colectadas suministran información valiosa para un banco de germoplasma.

Qué tan valioso es un determinado material en términos de su aparente falta de vigor o de sus similitudes con un material previamente colectado? El colector generalmente tiene que tomar dos decisiones: 1) si debe coleccionar semilla (o material vegetativo) de plantas con una apariencia relativamente pobre y de poco vigor; y 2) si vale la pena coleccionar material aparentemente idéntico a material colectado en paradas anteriores del viaje.

En cuanto a la primera decisión, el colector debe ser consciente de que un determinado genotipo, aunque no parezca ser una planta forrajera promisoría, puede ser una fuente valiosa de genes deseables y que, por tal razón, se debe conservar. Además, la apariencia externa de la planta, en ciertos sitios de colección, sólo refleja la interacción de su genotipo con ese ambiente en particular. En muchas ocasiones, un material presenta una apariencia poco promisoría en un sitio de colección determinado, pero en un ambiente diferente presenta una apariencia vigorosa.

En cuanto a la segunda decisión, es aconsejable repetir el muestreo de materiales de germoplasma y mantenerlo separado, aunque morfológicamente parezca ser idéntico a las plantas colectadas en la parada anterior. Es posible que existan diferencias con respecto a caracteres fisiológicos. Por lo tanto, es preferible correr el riesgo de coleccionar muestras idénticas o duplicados (se pueden unificar en las parcelas de introducción), en vez de correr el riesgo de perder germoplasma valioso.

## **Colección de Semilla**

Las siguientes observaciones se deben tener siempre presentes al coleccionar semillas:

- a. El colector debe asegurarse *in situ* que las muestras colectadas contienen realmente buenas semillas.
- b. En caso de que las semillas no estén completamente maduras, es preferible coleccionar semillas inmaduras que no coleccionar ninguna. En ocasiones, el material verde aún se encuentra fisiológicamente maduro y puede germinar.

- c. En el caso de las leguminosas con frutos dehiscentes, los cuales aparentemente ya no contienen semillas, se justifica buscar y recoger las que hayan caído al suelo.
- d. Las leguminosas con crecimiento estolonífero se deben sacar cuidadosamente del suelo. Algunos géneros de estas plantas producen frutos bajo la superficie del suelo, en ciertas condiciones (además del fruto normal que se desarrolla en la parte aérea de la planta).
- e. En el caso de germoplasma autofecundado o apomíctico se debe coleccionar semilla de más de una planta; las semillas se pueden mezclar siempre y cuando fenotípicamente puedan pertenecer al mismo ecotipo. En el caso del germoplasma del cual se sospeche que su reproducción sea por polinización cruzada, es preferible coleccionar semillas de plantas individuales y mantenerlas separadas.
- f. La cantidad de semilla que se debe coleccionar depende del sitio de reproducción, disponibilidad de semilla madura en el sitio de colección, disponibilidad de tiempo e intereses específicos del colector. Como lo más probable es que se requiera semilla para establecer ensayos posteriores de evaluación, lo más aconsejable es coleccionar la mayor cantidad posible de semillas. Sin embargo, el colector no debe pasar por alto que las actividades de limpieza y procesamiento de las semillas implican un trabajo laborioso y necesario el cual requiere tiempo.

Es aconsejable numerar consecutivamente los sitios de colección y marcar cada bolsa de papel con muestras de germoplasma, con el número del sitio respectivo y con el nombre del material coleccionado. La mejor manera de cerrar las bolsas es utilizando una cosedora de ganchos.

## **Colección de Material Vegetativo**

Con frecuencia es necesario coleccionar material vegetativo, cuando el germoplasma de interés para el colector no ha producido semillas maduras o cuando no han quedado semillas en la planta. El tiempo de maduración es tan variable que es imposible seleccionar una época óptima para hacer el viaje de colección en la cual todas las especies y ecotipos tengan frutos maduros.

Con respecto a las gramíneas, casi siempre es aconsejable coleccionar material vegetativo, ya que es extremadamente difícil estimar la calidad y la viabilidad de sus semillas en el campo. En el caso de las leguminosas, sólo se debe coleccionar material vegetativo cuando no se encuentra semilla madura. Cuando es necesario obtener muestras de especies herbáceas o de arbustos que no tienen un hábito de crecimiento estolonífero, el colector debe buscar plantas jóvenes y cavar el suelo cuidadosamente para obtenerlas en el sitio de crecimiento. Para especies de crecimiento estolonífero, se deben coleccionar estolones con nudos que tengan raíces fuertes.

A continuación se presentan tres alternativas para coleccionar material vegetativo:

- a. Transplantar el material con el suelo adecuado a bolsas plásticas que tengan pequeños huecos en el fondo a fin de obtener un buen drenaje.
- b. Colocar el material vegetativo sin suelo en costales de fibra, los cuales se deben mantener permanentemente húmedos.
- c. Envolver el material vegetativo sin suelo en papel periódico húmedo y conservarlo en cajas de icopor, las cuales mantienen la humedad por un tiempo suficientemente largo.

La duración del viaje, el tiempo y el espacio disponible en el vehículo son factores que determinan cuál de estos tres métodos es el más práctico. De todas formas, es muy importante identificar el material vegetativo reunido (por lo menos, con el número del sitio de colección). Si el material se transplanta a bolsas plásticas, es conveniente utilizar cinta adhesiva blanca. En cuanto a los otros dos métodos, se han obtenido buenos resultados utilizando las tarjetas plásticas blancas, con una perforación en una esquina, de tal manera que se puedan amarrar al material coleccionado. Se debe procurar utilizar un marcador con tinta indeleble el cual escriba sobre material plástico. El coleccionador debe verificar periódicamente si el material vegetativo se mantiene suficientemente húmedo.

### **Colección de Muestras para Herbarios**

Aunque el objetivo principal del viaje sea la colección de germoplasma, el coleccionador también puede estar interesado en obtener muestras para herbarios. A menos que un botánico forme parte del equipo de coleccionadores, la toma de muestras para herbario se debe limitar al mínimo. Además, conviene recordar que el coleccionador tendrá la oportunidad de obtener posteriormente muestras para herbario de plantas establecidas en invernaderos o parcelas de introducción.

En los pocos casos en los cuales el coleccionador definitivamente desea tomar muestras para herbario durante el viaje de colección, tiene que decidir si es indispensable prensar el material inmediatamente después de ser cortado o si se puede colocar en una bolsa plástica y prensarlo cuando termine el día de trabajo en el campo. El segundo procedimiento es más ventajoso en términos del tiempo gastado en el sitio de colección. Para la conservación de muestras para herbario, durante el viaje de colección se recomienda rociarlas con formaldehído después de prensarlas.

### **Procesamiento de la Semilla Colectada**

En muchos casos, el material coleccionado (frutos, semillas y otras partes de la planta, incluyendo flores, brácteas, hojas y trozos de tallo) todavía tiene un

exceso de humedad. Para prevenir el deterioro y la pérdida del germoplasma colectado, es necesario secar las muestras lo más pronto posible. Bajo condiciones de campo, las bolsas de papel que contienen las muestras se pueden exponer al sol y al aire. El equipo más adecuado para el secamiento es una jaula de alambre en la cual se colocan las bolsas con las muestras. Para lograr que las muestras se sequen lo suficiente, basta exponer la jaula al sol de tres a cinco veces al día (las paradas que se hacen en los sitios de colección pueden aprovecharse para este propósito).

El paso siguiente es la limpieza de la semilla. En algunos casos (como con *Centrosema*, *Galactia*, *Macroptilium*, etc.) ésta es una tarea fácil, la cual consiste en romper la cáscara o cubierta de los frutos. En otros casos (como con *Stylosanthes*, *Zornia*, *Desmodium*), esta labor es mucho más difícil, toma más tiempo y se debe disponer de algunos implementos especiales para facilitar la tarea. Se han obtenido buenos resultados utilizando pequeñas tablas de caucho (Figura 1) las cuales sirven para triturar las muestras colectadas una vez que se hayan secado lo suficiente. De esta manera, todo el material se desintegra con excepción de las semillas bien formadas y maduras. Después se separan las semillas del material triturado con una pinza (o un instrumento parecido) o aplicando aire a la muestra; el aire arrastra la basura y las semillas buenas permanecen.

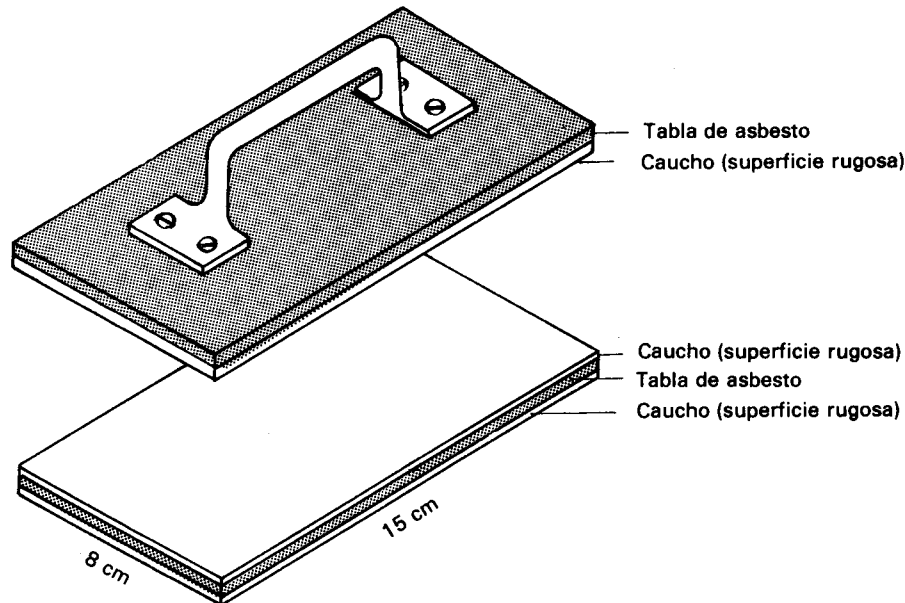


Figura 1. Tablillas de caucho para trillar y limpiar muestras de semilla.

Como paso final, las semillas obtenidas se deben tratar con un insecticida. El método más apropiado consiste en colocar las semillas limpias en una pequeña bolsa de papel o en un sobre; luego con una espátula se espolvorea una pequeña cantidad de insecticida sobre las semillas. Una vez se aplique el tratamiento se cierra la bolsa con una cosedora de ganchos y se sacude a fin de que las semillas se mezclen con el insecticida. Si la muestra se va a enviar a otro país en el cual las regulaciones fitosanitarias exigen que también sea tratada con un fungicida, éste se puede aplicar en mezcla con el insecticida.

### III

## DESCRIPCION DEL SITIO DE COLECCION

*R. Reid y J.R. Lazier*

Al considerar los descriptores para un sitio de colección, es necesario pensar no solamente en los datos que parecen de uso inmediato o importantes para los colectores, sino también en las futuras necesidades de los investigadores que trabajan con recursos genéticos. Para satisfacer las necesidades del futuro, es importante reunir la mayor cantidad de información posible sobre los sitios de colección.

Generalmente, una expedición de colección de plantas permanece en un sitio de colección específico sólo durante corto tiempo. Por lo tanto, es muy importante que los datos sobre el medio ambiente estén bien documentados, con información ecológica y agronómica; además, la información se debe registrar en forma estandarizada, con el propósito de que después se pueda recuperar rápida y eficientemente. La selección cuidadosa de los descriptores servirá para hacer nuevas estimaciones, en el caso de que en el futuro ocurrieran algunos cambios en las áreas de muestreo.

En los Capítulos I y II de este manual, se enfatiza la importancia de investigar la información disponible sobre la región de colección. La selección de los sitios de colección se debe basar en información sobre las condiciones climáticas de cada lugar, en mapas de suelos, en las características edafológicas y en los tipos de vegetación.

Mucha de esta información se tendrá que registrar, bien sea antes o después de la colección, ya que no siempre estará disponible en el campo al hacer la colección. Esto hace necesario que la localización del sitio de colección sea lo más exacta posible. Para reducir los problemas de comunicación, los descriptores adoptados para el esquema completo de colecciones de plantas se deben definir claramente. Dada la creciente cantidad de materiales colectados cada año, la gran masa de información eventualmente sólo se podrá manejar con sistemas basados en el uso de computadores.

## El Sistema

El sistema propuesto para la descripción del sitio de colección consiste en una lista de descriptores, sus números codificados, el número de caracteres (letras y números) asignados a cada descriptor y un glosario con definiciones de los descriptores. En el Apéndice 1 se encuentra una lista completa de los descriptores para el sitio de colección, para las condiciones del suelo, para *Rhizobium*, para insectos y enfermedades y para la caracterización y evaluación preliminar del germoplasma. En el Apéndice 2 se definen aquellos descriptores cuya explicación no está implícita. El sistema, adoptado para muchas plantas cultivadas del mundo, se organiza según el formato de datos para colección de germoplasma desarrollado por el Programa de Recursos Genéticos/Ciencias de la Información, Universidad de Colorado, Boulder. Este sistema no sólo reduce la dificultad en el manejo de la información sobre el sitio de colección y su recuperación posterior, sino también le facilita el trabajo al colector de campo, ya que presenta las decisiones que puede tomar en un formato estandarizado.

Además, el sistema es muy flexible, puesto que, a discreción del colector o de la institución responsable de hacer la colección, se puede incluir u omitir cualquier descriptor del formato del colector. Sin embargo, para que el sistema pueda funcionar eficientemente a nivel internacional, todas las organizaciones que forman parte de la red de información de germoplasma deben utilizar el mismo código para cada uno de los descriptores específicos. Es posible agregar descriptores con sus respectivos números de código en la medida en que sea necesario, pero el número de código sólo se debe asignar hasta que todas las instituciones que colaboran con la red de colección de germoplasma se hayan puesto de acuerdo al respecto. En este sistema, los descriptores se pueden ordenar en forma alfabética, alfa-numérica o numérica.

## El Formato

La institución responsable o el grupo de colección puede desarrollar cualquier tipo o tamaño de formato. Algunos colectores prefieren tarjetas de material grueso para registrar la información de los descriptores, en tanto que otros prefieren hojas de papel delgado con un diseño especial; este sistema permite reproducir la información (por duplicado, triplicado o más copias). Una de las copias se le puede anexar a la muestra de semillas o de plantas; otra, la puede utilizar el operador del computador; otra, se le puede adjuntar a la muestra de *Rhizobium*, etc. Lo importante es que los descriptores tengan la misma definición o equivalencia e igual número de código, independientemente del idioma del país integrante de la red de colección de germoplasma. Para cada muestra representativa de semilla, procedente de una sola planta, se debe utilizar un solo formato. Una excepción a esta regla es el caso de las especies de plantas forrajeras autopolinizadas o bien de pastos que se reproducen por apomixis, en donde es posible combinar en una sola muestra las semillas provenientes de una misma colonia de plantas. Esto se debe dejar a la discreción



del colector, pero si se tienen dudas, se puede seguir la siguiente regla: coleccionar semilla de una sola planta para obtener una sola muestra.

### **Descriptores Generales para el Sitio de Colección\***

Los descriptores del sitio de colección se clasifican en tres categorías: información general y localización (descriptores 1 a 39); habitat natural y vegetación del área (descriptores 40 a 59); y descriptores para el sitio específico de colección (descriptores 60 a 69).

---

\* En el Apéndice 1 se encuentra la lista de los descriptores y en el Apéndice 2 sus definiciones.



## IV

# COLECCION DE MUESTRAS DE SUELOS Y PROCEDIMIENTOS

*Luis A. León, William E. Fenster y Pedro A. Sánchez*

El objetivo principal de coleccionar plantas forrajeras, semillas y/o nódulos es descubrir y mantener nuevo germoplasma que pueda ser de importancia agronómica. A fin de lograr mantener este germoplasma, es importante conocer y entender el sistema ecológico del suelo en donde se han hecho las colecciones. El propósito de tomar muestras del suelo es determinar las características químicas y físicas del lugar en el cual se colectó una planta, semilla o cepa de *Rhizobium*. Cuando se dispone de este tipo de información, es posible determinar la interrelación existente entre la presencia de una planta y ciertas propiedades del suelo. Esta información se puede utilizar no solo para mantener ciertas especies en los bancos de germoplasma, sino también para hacer propagaciones futuras a una escala mucho mayor.

El propósito de este capítulo es indicar pautas para la toma y el manejo de muestras de suelos en los viajes de colección de germoplasma.

Dada la importancia que tiene para el colector de germoplasma obtener una muestra representativa del sitio de colección de la planta, se debe disponer de cierto equipo y tener conocimiento de algunas normas generales de procedimiento.

### **Materiales y Equipo**

El colector de germoplasma debe disponer de los siguientes materiales y equipos:

- taladro para excavar;
- pala pequeña;
- martillo de geología;

- cuchillo;
- botella plástica para lavado;
- metro metálico;
- balde plástico pequeño;
- bolsa de polietileno;
- bandas de caucho;
- bolsa de lona para llevar las muestras;
- equipo colorimétrico para medir el pH.

## **Pautas para el Muestreo**

### **Toma de la muestra**

La muestra de suelo se debe tomar en la vecindad inmediata de la raíz de la planta, cuya semilla u otra parte de la planta se ha colectado. El muestreo se debe hacer aproximadamente a 15 cm de profundidad, tomando 500 g de suelo para su análisis de laboratorio. Antes de tomar la muestra es muy importante remover los desechos orgánicos de la superficie del suelo. En muchos casos, el área puede ser bastante variable y, por lo tanto, queda al criterio del colector hacer el muestreo en la parte más representativa del suelo en donde está creciendo la planta.

### **Condiciones especiales del suelo**

En algunos casos, el colector debe determinar si una planta está creciendo en un sitio específico a causa de las condiciones especiales del lugar, como por ejemplo en áreas contiguas a cercas, carreteras o carretables, en lugares recientemente fertilizados o encalados o cerca de ellos, junto a corrales o saladeros, en sitios donde se manejan insumos agrícolas, etc. Es muy importante que las muestras de suelos reflejen cualquier condición poco frecuente la cual pueda ejercer algún efecto sobre el germoplasma presente en ese determinado lugar. En tales casos, el colector puede tomar dos muestras: una en el sitio en donde está presente la planta y otra en un área adyacente. En esta forma y mediante el análisis de las muestras, es posible determinar la razón por la cual el material está creciendo bajo tales circunstancias. Perfil del suelo.

Cuando sea posible se deben observar detalladamente los perfiles de los suelos, con el fin de anotar cualquier particularidad del mismo, como el grosor de los diferentes horizontes, su textura y color y la profundidad de la zona radical.

### **Presencia de piedras o rocas**

También se debe anotar la presencia, número y tamaño de piedras o rocas y su estado de descomposición. Estas anotaciones permiten hacer, por generalización, una clasificación taxonómica, siempre y cuando se tomen

muestras de los diferentes horizontes. Por ejemplo, esto se puede hacer cuando una planta se ha obtenido en un lugar cercano a un borde de carretera o a un canal de riego.

### **Muestra del subsuelo**

Si el material es un arbusto, es necesario tomar una muestra separada del subsuelo. La profundidad a la cual se debe tomar la muestra depende de la profundidad a la cual se encuentra el mayor número de raíces activas.

## **Manejo de la Muestra**

La muestra de suelo se debe mezclar bien en un balde plástico; se toman aproximadamente 500 g de la muestra y se empacan en una bolsa de polietileno limpia. (Esta misma operación se debe realizar con las muestras de subsuelo.) Las bolsas se deben marcar en idéntica forma que aquellas que contienen germplasma. Si una muestra está húmeda, se debe secar al aire en un lugar limpio y sombreado.

El resto de la muestra que queda en el balde se puede utilizar para realizar determinaciones de campo, tales como la textura del suelo y el pH. Todas las observaciones hechas en el campo se deben incluir en el formato denominado "Descriptores para las Características del Suelo". Es de suma importancia que el número de la muestra en el formato corresponda con el de la bolsa que contiene la muestra del suelo.

Si las muestras no se van a enviar al laboratorio, de todas maneras se deben tomar muestras de suelos para realizar determinaciones de campo, las cuales se deben anotar en el formato de colección.

## **Precauciones Especiales**

Se recomienda seguir las siguientes precauciones, cuando se considere necesario hacer un análisis de micronutrientes (Peterson R.G. y L.D. Galvin, 1975):

- Cuando se hagan análisis de contenido de Zn, Fe o Cu, se debe evitar el uso de herramientas galvanizadas, de acero dulce y/o bronce. En estos casos, el mejor equipo es un taladro de acero inoxidable, un balde plástico y bolsas de polietileno.
  
- Una vez tomadas las muestras se deben evitar las contaminaciones, tales como fertilizantes, cal y ceniza.

- No se recomienda el uso de bolsas de papel o de tela a menos de que éstas tengan un recubrimiento interno de plástico.

### **Envío de Muestras para Análisis**

Las muestras colectadas durante el día de trabajo se deben secar al aire y empacar inmediatamente en bolsas herméticas. Si la colección de muestras se ha hecho en un solo país, las muestras se deben enviar a un laboratorio local para su análisis. Este procedimiento evita demoras innecesarias ocasionadas por regulaciones de cuarentena para material vegetal y suelos no tratados.

Sin embargo, para obtener datos comparables, es esencial que todos los laboratorios a los cuales se despachen muestras utilicen los mismos procedimientos analíticos, especialmente en lo que concierne al pH del suelo, contenido de aluminio, elementos esenciales y capacidad de intercambio catiónico.

### **Descriptores para las Características del Suelo**

En el Apéndice 1 se presenta la lista de descriptores para las características del suelo (descriptores 80 a 99) y en el Apéndice 2, su definición.

# V

## COLECCION DE CEPAS DE *RHIZOBIUM*

*R. A. Date y J. Halliday*

Por lo general, una leguminosa establecida exitosamente en un sitio específico, es el producto de una asociación simbiótica efectiva entre la planta hospedante y una cepa de *Rhizobium*. Para un explorador botánico o colector de plantas quien sólo colecta semillas, es difícil apreciar todo el potencial de una línea promisoriosa en una evaluación posterior, a menos que haga un intento por reproducir experimentalmente una simbiosis eficiente. Con frecuencia, una leguminosa introducida no logra encontrar cepas nativas que sean compatibles y como resultado no logran nodular productivamente con las bacterias nitrificantes presentes en un medio ambiente nuevo. La experiencia muestra que esta situación se puede evitar si se consiguen cepas de *Rhizobium* que sean genética y geográficamente compatibles con ese hospedante, para utilizarlas como inoculantes. Por tal razón, la colección de nódulos (*Rhizobium*) debe considerarse como un procedimiento de rutina para los colectores de plantas.

Este capítulo tiene el objetivo de ilustrar al colector de plantas sin adiestramiento en microbiología de suelos y sin apoyo institucional en el área de la bacteriología de leguminosas dentro de su organización de investigación. Seguir paso a paso las instrucciones para coleccionar nódulos en el campo, asegura la posibilidad de obtener un aislamiento exitoso de una cepa de *Rhizobium* en el laboratorio en el cual se procesen las muestras. En una publicación complementaria a este manual se describen los métodos para lograr los aislamientos de *Rhizobium*, caracterizar las cepas en cultivo puro y para conservarlas en una colección de *Rhizobium*\*. Dicha publicación puede orientar a un grupo de investigadores que quieran iniciarse en esta área de trabajo y tiene interés especial para el personal de un laboratorio de fitopatología que aún no tenga experiencia en *Rhizobium*.

---

\* Halliday J. y Date R.A. Colección, Aislamiento, Caracterización y Conservación de Cepas de *Rhizobium*. CIAT, Colombia. En preparación.

## Preparación para el Viaje de Colección

La fecha del viaje de colección de nódulos se debe sincronizar con la estación de crecimiento vegetativo de las plantas y con la humedad adecuada del suelo. Este no será siempre el caso, ya que las expediciones para combinar colección de *Rhizobium* y plantas generalmente se hacen en el momento de la madurez fisiológica de la planta a fin de facilitar la colección de semilla. Desafortunadamente, en esa etapa del desarrollo de las leguminosas, éstas solamente tienen algunos nódulos (si es que hay alguno); además, es muy posible que las condiciones del suelo impidan excavar las raíces, a causa de su sequedad o calcinamiento.

Es muy posible que sea necesario organizar una expedición aparte sólo para coleccionar nódulos, ya que las épocas de colección de nódulos y semillas no coinciden. Por lo tanto, es necesario que la información sobre el sitio de colección de la planta sea lo suficientemente explícita para lograr una ubicación exacta del lugar (el ideal sería que fuera la misma planta) en el caso de que sea necesario volver en otra época del año.

## Materiales y Equipo

Los materiales que se requieren durante el viaje de colección dependen de su duración:

### Corto plazo

- pala;
- cuchillo;
- marcador de tinta indeleble;
- libreta de apuntes y manual de campo;
- bolsas de polietileno de varios tamaños;

### Mediano plazo

- todos los anteriores;
- frascos para colección (Figura 2);

### Largo plazo

- todos los anteriores;



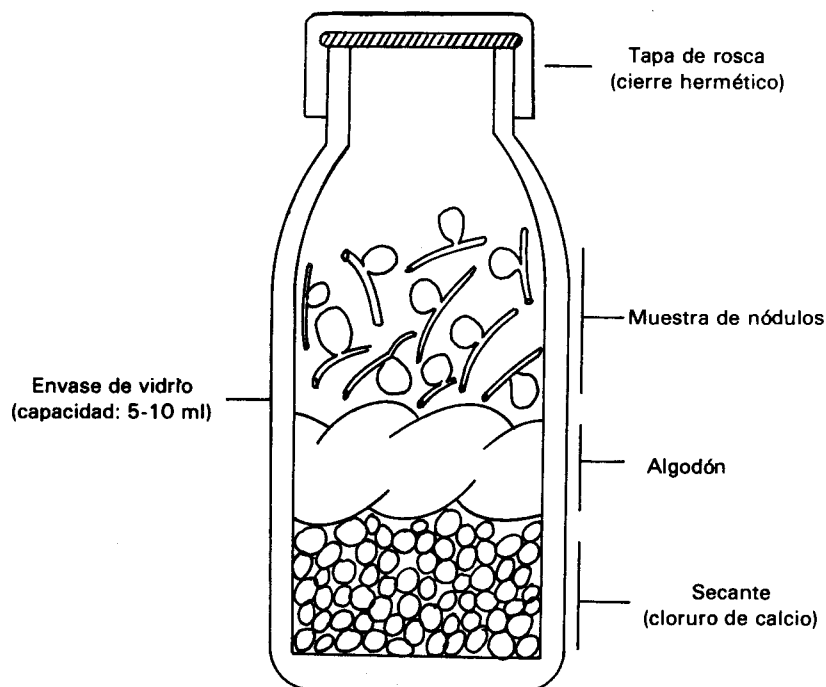


Figura 2. Recipiente para almacenar nódulos.

- empaques para despachar muestras a los colaboradores;
- solución esterilizante ( $\text{HgCl}_2$ ).

### Colección de Nódulos

Si se colectan materiales en los bordes de carretera y en otros lugares con características diferentes a las predominantes en la zona, se debe observar y anotar si las condiciones del suelo, el desarrollo de las plantas y la nodulación no son las típicas de esa región. Preferentemente se deben buscar leguminosas forrajeras que parecieran prosperar en un ecosistema estable, acorde con los propósitos de su programa de producción de forrajes. Después de haber localizado una planta de la cual se colectarán nódulos, los procedimientos subsiguientes dependen primordialmente de la duración del viaje.

Cuando se le facilita al colector despachar la muestra al laboratorio el mismo día de la colección, lo más conveniente es sacar la totalidad de la planta con su sistema radical nodulado y el suelo circundante, a fin de empacarlo firmemente en una bolsa de polietileno; en esta forma se facilita su transporte al laboratorio.

Para los viajes con una duración de 1-14 días, los nódulos colectados se deben proteger contra la descomposición e invasión de microorganismos, lo cual interfiere con los procedimientos posteriores de aislamiento del *Rhizobium*. En una bolsa plástica se colectan segmentos de la raíz nodulada (con la certeza de que pertenece a la planta apropiada) con suelo húmedo.

Los nódulos se pueden conservar en frascos de vidrio pequeños que contengan una sustancia secante. El frasco de colección (Figura 2) debe tener una tapa con cierre hermético. La sustancia secante (cloruro de calcio o gel sílica) debe ocupar de un cuarto a un tercio del volumen del recipiente y se mantendrá aislada de la muestra de nódulos mediante la inserción de un taco de algodón absorbente. El volumen de nódulos o de raíces no debe ser superior al volumen ocupado por el secante.

En muy pocas ocasiones es necesario excavar plantas enteras para obtener muestras de nódulos. Para realizar esta operación, se debe separar cuidadosamente el suelo que rodea la corona de la raíz o de los nudos de los estolones para localizar raíces adventicias; luego se excava cuidadosamente alrededor de éstas con una cuchilla. Si este método resulta infructuoso (lo cual depende en gran parte de las especies involucradas) quizás sea necesario excavar más profundamente el sistema radical. Se inserta una pala verticalmente en el terreno a unos 15 ó 20 cm de la base de la planta y en los cuatro costados de la misma, de tal manera que se pueda obtener un bloque intacto de suelo el cual contenga la mayor parte de las raíces de la planta. La extracción del sistema radical se facilita con la inmersión del bloque en agua, lo cual permite que el suelo se desprenda. Aún sin agua, es posible examinar el sistema radical en busca de nódulos haciéndolo manualmente.

La localización de los nódulos en el sistema radical depende de las especies. En un césped los nódulos de las leguminosas estoloníferas generalmente se concentran en la superficie, a 1 ó 2 cm de profundidad, ligados a las raíces adventicias. En la mayoría de las especies de *Stylosanthes* se distribuyen a una profundidad de 10-15 cm a lo largo de las raíces primarias y laterales, aunque en las de *Stylosanthes capitata* tienden a estar localizados a una profundidad de sólo 15-25 cm.

En *Leucaena*, sólo en raras ocasiones se encuentran nódulos bajo plantíos maduros; la mejor oportunidad de encontrarlos es en plántulas aisladas y en plantas jóvenes creciendo a pleno sol.

En las especies perennes de leguminosas forrajeras no se encuentran nódulos en la raíz principal. Los nódulos de la mayoría de las leguminosas tienen un ciclo de vida limitado; una raíz en maduración la cual pudo haber tenido nódulos en etapas más tempranas de su crecimiento, ya no tiene la estructura anatómica para permitir una nueva reinfección y nodulación. Algunas veces es posible localizar nódulos en especies perennes siguiendo el crecimiento de una raíz

hacia una zona de nuevo crecimiento; esta zona puede estar localizada a gran distancia de la corona de la raíz. No se puede esperar encontrar nódulos en una planta arrancada del suelo a la fuerza. En la mayoría de las especies, el punto de unión entre el nódulo y la raíz es débil.

Sólo se deben obtener muestras de nódulos frescos y firmes; se deben evitar nódulos dañados o en descomposición, ya que los procedimientos de aislamiento de *Rhizobium* son infructuosos con este material. Si la raíz presenta una nodulación abundante, se puede hacer el corte diametral de algunos nódulos con el fin de comprobar si su pigmentación es blanca, rosada o verde (los nódulos seccionados no se deben utilizar para hacer posteriores aislamientos). Con frecuencia, la pigmentación interna es visible a través de la peridermis semiopaca del nódulo, lo cual permite hacer una selección más fácil y rápida de los nódulos activos. Para separar la raíz se hace un corte con un cuchillo o unas tijeras pequeñas a 0.5 cm de cualquier lado del punto de unión del nódulo. Aun las raíces más finas pueden hacer gran resistencia a los intentos para partirlas con la mano, lo cual generalmente resulta en el daño de los nódulos.

Si una raíz presenta pocos nódulos sanos, es preferible coleccionarlos que cortarlos para observar su pigmentación. Deben coleccionarse, por lo menos, 10 nódulos en cada sitio de colección, por dos razones: en primer lugar, aumenta la posibilidad de obtener un aislamiento viable para una planta específica; y segundo, la proporción de nódulos procedentes de una sola planta con cepas, las cuales pueden resultar ser muy efectivas en la fijación de nitrógeno en el hospedante homólogo, puede ser baja, tal como sucede con el uso de *Stylosanthes*. Esto no es sorprendente dado el rango de efectividad de las cepas en la población de *Rhizobium* del suelo, las cuales pueden infectar especies nativas de leguminosas. Todos los nódulos procedentes de una sola planta representan una unidad de material coleccionado y se pueden conservar en el mismo frasco de vidrio. Bajo ninguna circunstancia se deben combinar muestras de nódulos de diferentes plantas. Cada muestra se identifica con un número de espécimen, el cual se relaciona con la documentación correspondiente a la accesión respectiva y a su sitio de origen.

Los viajes de colección de más de 14 días de duración presentan problemas especiales. No hay datos disponibles que sirvan para establecer la pérdida de viabilidad de *Rhizobium* en nódulos durante su almacenamiento. El estimativo de 14 días, como un límite seguro, es arbitrario y probablemente conservador. Un colector que planea permanecer lejos de su base de operaciones durante dos semanas o más, tiene las alternativas de despachar periódicamente las muestras al laboratorio colaborador o bien hacer él mismo los aislamientos durante el viaje. Para la mayoría de los colectores, la primera puede ser la opción más aceptable. Sin embargo, hay argumentos convincentes en favor de hacer aislamientos durante el viaje. En la publicación complementaria de este manual (Halliday, J. y Date, R. A. Colección, Aislamiento, Caracterización y Conservación de Cepas de *Rhizobium*) se incluye una metodología apropiada para seguir la segunda alternativa planteada.

## Documentación

La mayor parte de la información requerida para la colección de cepas de *Rhizobium* con respecto a su relación con el hospedante, ya se especificó en el Capítulo III. Los parámetros que se refieren específicamente a la nodulación incluyen: presencia o no de nódulos en la planta colectada; se colectan o no nódulos; se colectaron o no raíces de la planta; y se tomaron o no muestras de suelo en el sitio de colección. Al laboratorio cooperador se le debe enviar un recuento del origen de cada muestra de nódulos. De esta manera, cuando el laboratorio haga el aislamiento correspondiente, tendrá disponible toda la información necesaria.

## Laboratorios Especializados

El laboratorio de Microbiología de Suelos del CIAT está preparado para aislar, caracterizar y conservar cepas de *Rhizobium* compatibles con leguminosas forrajeras tropicales. Esa función la lleva a cabo como un servicio para cualquier colector, siempre y cuando éste autorice la incorporación de sus cepas al programa de selección de cepas de *Rhizobium* del CIAT. Las ventajas de este servicio para el usuario incluyen:

- a. Existencia de un mecanismo para autorizar la importación de muestras de nódulos a Colombia, el cual evita las demoras causadas por restricciones de cuarentena fitosanitaria (para mayores detalles de procedimiento véase el Apéndice 3).
- b. Disponibilidad de los aislamientos para el colector en forma de cultivos puros o de inoculantes en los cuales se ha utilizado turba como vehículo; estos inoculantes son de alta calidad y están listos para ser utilizados.
- c. Disponibilidad de información sobre cepas de *Rhizobium* colectadas para plantas forrajeras tropicales. Tal información se mantiene constantemente actualizada y catalogada para su distribución, cada seis meses, a grupos de investigadores en América Latina y en otras áreas del mundo. Esta disponibilidad asegura una difusión eficiente de la información y el fácil acceso a las cepas de *Rhizobium* recientemente colectados para su utilización posterior.

Existen laboratorios preparados para ofrecer algunos de estos servicios (Apéndice 4). Si utiliza laboratorios locales, el colector reduce el riesgo de que las muestras se pierdan en el correo. Si se proyecta utilizar estos servicios, se debe establecer previa comunicación con el laboratorio cooperador indicando la fecha en la cual se proyecta iniciar el viaje de colección y el número aproximado de muestras que se proyecta enviar al laboratorio; también se le debe informar al laboratorio si se desea dar un énfasis especial al estudio de las especies colectadas o al tipo de suelo en el cual se va a colectar el material.

## VI

# COLECCION Y PRESERVACION DE INSECTOS Y ORGANISMOS PATOGENOS

*R. M. Sonoda*

Muchos colectores de plantas forrajeras probablemente han observado daños causados por insectos y enfermedades pero, por lo general, no tienen tiempo, adiestramiento técnico o equipo apropiado para evaluar el problema o para coleccionar y preservar especímenes para una futura identificación. Hasta ahora la literatura sólo ha descrito unas pocas enfermedades y algunos insectos que atacan a las leguminosas y gramíneas forrajeras utilizadas en el trópico y el subtropical, aunque lo más probable es que los colectores hayan observado más. Los problemas ocasionados por insectos y enfermedades indudablemente irán aumentando en la medida en que se intensifique la siembra de gramíneas y leguminosas en estas zonas. Estos factores ya son limitantes importantes del crecimiento de los forrajes tropicales recientemente establecidos; por ejemplo, el barrenador del tallo y la antracnosis en las especies de *Stylosanthes* y el gusano soldado o gusano cortador en las gramíneas.

Un colector de plantas debería tener información sobre los principales insectos y enfermedades existentes en una determinada región, por las siguientes razones: 1) para tener la seguridad de que el material vegetal o las muestras de suelo que se han coleccionado y despachado estén libres de plagas o si las tuvieron, fueron libradas de ellas (ver Capítulo III sobre tratamiento de material vegetal para prevenir el traslado de plagas de las áreas de colección a las áreas de introducción); 2) el daño causado por una plaga en el sitio de colección, puede servir como advertencia de problemas potenciales de pestes; 3) las diferencias en el daño causado a plantas de la misma especie, pueden ser el resultado de diferencias en la susceptibilidad a la plaga.

El sitio de colección del material vegetal es una fuente importante de problemas ocasionados por insectos y enfermedades. La introducción de una plaga aparentemente de poca importancia junto con una planta hospedante, puede resultar en un problema serio bajo condiciones ambientales diferentes. La plaga puede ser altamente destructiva en plantas de la misma especie, las cuales

quizás fueron seleccionadas y reproducidas durante muchos años aisladas de la plaga y seleccionadas sin tomar en cuenta su tolerancia o susceptibilidad a ella. Además, una plaga de poca importancia para una determinada planta se puede convertir en una plaga de mucha importancia para plantas de otra especie en el área en la cual se introdujo. Es posible mantener áreas sin problemas potenciales de plagas si se aplican oportunamente medidas fitosanitarias de cuarentena vegetal.

Para prevenir el movimiento de las plagas y, a la vez, promover la introducción de nuevo material genético, es necesario identificar las pestes y tener un conocimiento general de sus ciclos de vida y de sus métodos de diseminación. La elaboración de un esquema básico de acción ayudará a prevenir la diseminación de una nueva plaga.

En una sección posterior de este capítulo se presentan técnicas que pueden ser utilizadas por los colectores para obtener la información y los especímenes necesarios para identificar problemas relacionados con las plagas. Es muy posible que el interés básico de los usuarios de este manual se relacione con la colección de las plantas. Por lo tanto, las técnicas descritas son aquellas que requieren menos tiempo, equipo y conocimientos técnicos pero que, sin embargo, dan resultados satisfactorios.

Cada colector de plantas puede utilizar la técnica que más se ajuste a sus condiciones y necesidades, para satisfacer los propósitos específicos de su viaje de colección. Sin embargo, dada la creciente importancia que están adquiriendo las plagas en las plantas forrajeras tropicales, el colector debe tratar de adquirir un conocimiento previo de los problemas relacionados con las plagas en los sitios de colección y debe tratar de hacer el mayor esfuerzo por reunir la información necesaria para identificar y evaluar la plaga o el problema involucrado.

Las técnicas sobre las cuales se hizo mención anteriormente son de dos tipos. La primera incluye fotografías y apuntes de campo. Los apuntes específicos sobre los síntomas, magnitud del daño, etc., son de gran utilidad en el momento de evaluar el problema. La segunda se relaciona con los métodos de colección y preservación de insectos y de tejidos vegetales afectados por patógenos.

## **Fotografías y Apuntes de Campo**

Los materiales requeridos incluyen tarjetas pequeñas (3 x 5 pulgadas) y una buena cámara fotográfica de 35 mm, con lentes para hacer tomas a corta distancia.

### **Fotografías**

Es muy importante tomar buenas fotografías de:

- a. El habitat de la planta afectada.
- b. La planta entera mostrando el daño o los síntomas de la enfermedad.
- c. Los síntomas generales causados por la enfermedad o el insecto.
- d. Toma de cerca de: 1) las lesiones, ya sea externas (por ejemplo, manchas en la hoja, veteado de tallos, etc.); o bien, internas (por ejemplo, manchas pardas vasculares, decoloración de la médula, etc.); 2) daños causados por insectos.
- e. Los diferentes estados del desarrollo de los síntomas o daños de la planta.
- f. Diferentes estados de la plaga (si están presentes en el campo).

#### Habitat de la planta afectada

Esta información se puede escribir en tarjetas preimpresas, en la forma descrita en el Capítulo III.

#### Descripción de los síntomas

Esta información se puede incorporar a las tarjetas que se utilizan en la colección de plantas o en tarjetas adicionales agregando un sistema de referencias cruzadas utilizando otro juego de tarjetas que contengan información sobre el área de colección. La información que se debe tratar de obtener incluye:

- a. Condición general de la planta (por ejemplo: buena, regular, mala, muerta).
- b. Parte afectada de la planta; (por ejemplo: hoja, tallos, planta entera, flores, frutos y semillas).
- c. Tipo de daño o síntomas (por ejemplo: enrollamiento de la hoja, hojas perforadas, manchas foliares, veteado de los tallos, decoloración vascular, etc).
- d. Estado de crecimiento de la planta afectada (por ejemplo: planta joven, planta vieja, planta en producción de frutos, planta que aún no está produciendo frutos).
- e. Ocurrencia de la plaga en algunas plantas y no en otras en el mismo estado de crecimiento.
- f. Estimación del porcentaje de daño en plantas individuales y en la población entera.

## Colección de Especímenes

### Insectos

Al coleccionar insectos, es necesario estar seguro de que el insecto coleccionado es en realidad el que está causando el daño observado. Es preferible coleccionar varios insectos asociados con el daño en vez de seleccionar uno sólo, el cual quizás no esté involucrado.

**a. Captura.** El método más sencillo para capturar insectos es mediante el uso de una red. Generalmente, se trata de un aro de 25-30 cm de diámetro. La red se agita varias veces sobre las plantas o entre ellas.

Otro método podría ser el siguiente: se coloca una tela debajo de la planta y ésta se golpea suavemente con un palo o bien se le rocía ligeramente con un insecticida de efecto rápido.

Se pueden instalar trampas sencillas si el colector planea permanecer en la misma zona durante varios días. Las trampas pueden incluir sustancias atrayentes; una sábana blanca colgada verticalmente con alguna fuente de luz detrás para atraer a los insectos nocturnos; un frasco o recipiente de boca ancha enterrado a ras de la superficie del suelo con un cebo; y otros.

Para coleccionar insectos muy pequeños, se puede usar un aspirador el cual consta de un frasco pequeño con tapa; ésta tiene dos orificios en los cuales se colocan dos tubos de vidrio conectados a sus respectivas tuberías de caucho. A través de una de las boquillas se toma aire con la boca y el terminal de la otra se coloca sobre el insecto; de esta manera se transporta fácilmente el insecto hacia el frasco.

**b. Para matar insectos capturados.** El método más ampliamente usado y conveniente para matar todo tipo de insectos es la pistola de veneno (frasco de vidrio cuya capacidad generalmente es de 200-300 cc y el cual contiene algún veneno). Los venenos más utilizados son el cianuro de potasio y el acetato de etilo. Ambos compuestos son venenosos para el hombre y, por tal razón, los frascos donde se guarden estas sustancias se deben marcar claramente y mantenerse en un sitio seguro. Como medida de seguridad, el fondo de la pistola se debe envolver con cinta pegante.

El cianuro de potasio (en polvo o cristalizado) se coloca en los frascos y se cubre con 3 a 5 mm de yeso de París o con trozos circulares de papel secante. Para aplicar el acetato de etilo se humedece el yeso de París, pequeños pedazos de papel secante, trozos finos de corcho o aserrín hervido y seco. Los frascos que contienen el cianuro de potasio pueden mantener su efectividad por varios meses; en cambio, puede ser necesario recargar diariamente los frascos con acetato de etilo.



Para prevenir que los insectos se hagan daño el uno al otro, se puede colocar papel periódico arrugado dentro de la pistola. El papel periódico se debe retirar del frasco cuando éstos se van a recargar con el acetato de etilo.

c. **Conservación de insectos.** Los dípteros, himenópteros y miembros de otros órdenes, sólo se pueden conservar en óptimas condiciones si se les traspasa con alfileres inmediatamente después de su captura en el campo. Los escarabajos e insectos de cuerpo blando se pueden guardar en alcohol isopropílico al 75 por ciento de concentración en pequeños frascos con tapa a presión. Los lepidópteros se deben colocar en sobres de papel o en triángulos hechos con trozos de papel rectangular. El papel se dobla diagonalmente de manera que en ambos bordes quede media pulgada para hacer un doblez. Se dobla un borde formando un sobre triangular; el insecto se coloca adentro con las alas hacia arriba y el otro borde se dobla para sellar el sobre. El sobre se coloca en un recipiente a prueba de insectos; el papel usado para hacer el sobre se puede impregnar con un insecticida.

Otro método para guardar insectos que no estén montados en alfileres, es colocarlos en una caja de tabacos o en un recipiente similar forrado con papel. Los insectos se colocan en el fondo de la caja y sobre ellos se coloca una cobertura de celulosa y sobre ésta se coloca otro grupo de insectos. Es conveniente colocar algodón entre la última cobertura de celulosa y la tapa del recipiente para mantener los insectos en su sitio. El cuerpo de los insectos no debe quedar en contacto con el algodón, puesto que algunas partes se pueden enredar en las fibras.

### Desórdenes sistémicos

En esta categoría se encuentran las enfermedades causadas por hongos, virus, bacterias, etc., y desórdenes causados por insectos, nemátodos y desequilibrios fisiológicos.

a. Se debe recoger la mayor cantidad posible de material de una planta, pero asegurándose que las plantas estén mal desarrolladas o enfermas y no muertas. Generalmente, las plantas muertas son de poco valor para determinar la causa de los problemas observados, ya que algunos organismos secundarios o saprofitos pueden enmascarar el efecto o la presencia del principal agente causal del desorden. Si no es posible coleccionar la planta entera, se deben obtener muestras representativas de las raíces, el tallo y el follaje. En los casos en los cuales la planta se encuentra sistémicamente infectada, la obtención de una muestra del suelo ayudaría a definir el problema. Si es posible, se debe coleccionar una planta sana o partes de ella, para hacer comparaciones.

b. Es importante asegurarse de examinar las plantas sistémicamente infectadas, a fin de constatar si las lesiones se presentan en la región vascular o en la médula. También, se debe observar la distribución de las lesiones.

## Patógenos limitados a partes específicas de la planta

a. Se pueden coleccionar partes dañadas de la planta y luego guardarlas en bolsas de polietileno durante un día o más; si se mantienen a baja temperatura, pueden permanecer libres de patógenos secundarios por un período más largo. Es conveniente obtener muestras de tejidos con lesiones tanto viejas como nuevas, puesto que en lesiones de diferentes edades se pueden presentar diferentes estados del ciclo de vida del patógeno. Se pueden coleccionar muestras en frascos pequeños, semejantes a los usados para coleccionar semillas.

b. Si el material vegetal no se puede examinar inmediatamente, es conveniente prensar algunas muestras de partes enfermas para conservarlas por un período más largo.

c. Las muestras de áreas enfermas (por ejemplo, lesiones, cortes de xilema enfermo, etc.), se pueden matar y fijar para practicar futuros seccionamientos. Para este propósito, el FAA es muy útil (50% de alcohol etílico del 95% + 5% de ácido acético glacial + 10% de formaldehído del 37-40% + 35% de agua). En el mercado existen otros agentes para matar y fijar tejidos vegetales, los cuales tienen un uso más específico.

Las muestras se cortan en porciones pequeñas, apropiadas para hacer cortes posteriores con el micrótopo, con el mínimo de daño superficial, aplastamiento o secamiento. Para la mayoría de las plantas forrajeras tropicales, basta utilizar una cuchilla con un solo filo. Inmediatamente después de hacer el corte, las muestras se sumergen en una solución para matarlas y fijarlas. Las muestras se pueden guardar en frascos pequeños con FAA hasta que sean procesadas para su seccionamiento.

d. Los patógenos fungosos y bacteriales se pueden aislar de las plantas enfermas y mantener en medios artificiales. Cuando sea necesario se pueden hacer pruebas de patogenicidad para determinar el agente causal de la enfermedad. Para este tipo de determinaciones es preferible utilizar lesiones jóvenes, puesto que, lo más probable es que éstas alberguen una menor cantidad de patógenos secundarios y saprófitos. Los aislamientos se deben hacer inmediatamente después de la colección y en un sitio protegido del sol y del agua (por ejemplo, en una carpa, dentro de un vehículo, etc.). El equipo para hacer los aislamientos incluye: un esterilizante superficial (dilución 1:10 de un blanqueador casero; comúnmente se utiliza NaOCl); agua esterilizada; recipientes esterilizados para la solución esterilizante; tijeras pequeñas y pinzas; mechero de kerosene o alcohol; varilla delgada de vidrio con puntas redondeadas; y tubos de ensayo con agar de superficie inclinada. Es más seguro e higiénico transportar las muestras en recipientes desechables plásticos y en tubos de ensayo.

Si se sospecha la presencia de hongos, se cortan trozos pequeños de tejido lesionado (aproximadamente 25 cm<sup>2</sup> para hojas y vainas y muestras de 1 cm de

largo para tallos y raíces) y se sumergen en la solución esterilizante durante 10 minutos. Posteriormente se lavan con agua esterilizada y se traspasan a los tubos con agar. Antes y después de traspasar el material enfermo se deben esterilizar las tijeras, las pinzas y la boca del tubo, utilizando para el efecto, el mechero. Algunos medios útiles para reproducir hongos patógenos incluyen los agares de agua, papa, dextrosa o avena.

Si se sospecha la presencia de bacterias, se coloca un trozo de tejido lesionado en un tubo con 1 cc de agua destilada esterilizada. El tejido se macera con la varilla de vidrio, cuyo extremo se frota posteriormente sobre el medio de carne-peptona-agar o papa-dextrosa-agar.

e. También se puede tomar una muestra superficial del área lesionada si se sospecha la presencia de un hongo. La cara adhesiva de una cinta pegante transparente (no cinta mágica transparente) se coloca sobre la lesión; luego se despega y se coloca en un porta-objetos, sobre el cual previamente se ha aplicado una gota de lactofenol. Este procedimiento es útil si el hongo está produciendo esporas. La muestra se puede examinar en el microscopio varios días después.

El error más frecuente al coleccionar material de plantas enfermas es no tomar suficiente material de muestra o bien coleccionar solamente una planta o una parte enferma de ella. Se debe obtener material del mayor número posible de plantas. En todos los casos, el material se debe identificar y empacar cuidadosamente. Cada etiqueta debe tener una referencia cruzada la cual la relacione con las notas de campo y las fotografías de la condición anómala observada.

Los especímenes se deben enviar lo más pronto posible a la persona o institución especializada en este tipo de problemas. Para prevenir una posible diseminación del patógeno, la muestra se debe enviar al especialista más cercano del sitio en donde se obtuvo el material.



## VII

### CARACTERIZACION Y EVALUACION PRELIMINAR

*A.E. Kretschmer, Jr.*

El objetivo de este capítulo es describir los procedimientos para la caracterización y evaluación preliminar de las introducciones, desde la germinación de las semillas hasta el desarrollo de plantas maduras en el campo. La evaluación inicial no incluye el nivel de rendimiento (productividad) ni la determinación de factores de calidad, aunque algunos estimativos de estas características se pueden obtener de las siembras iniciales.

En el Apéndice 1 se incluye una lista de descriptores y en el Apéndice 2 sus definiciones. Estos descriptores, junto con sus códigos y definiciones, facilitan el uso de un sistema de manejo de la información por computador, para recuperar información sobre colecciones individuales en la red mundial de bancos de germoplasma de forrajes. Por consiguiente, los colectores deben emplear los mismos descriptores, códigos y definiciones; sin embargo, la selección de descriptores y del formato para registrar la información, queda bajo el criterio de cada investigador. Este puede optar por el uso de tarjetas de campo o por libretas u hojas de apuntes. Por lo tanto, es necesario que los descriptores sean breves y significativos para el rango más amplio posible de condiciones ambientales.

La selección de procedimientos para la evaluación de colecciones incluida en este capítulo sirven como guías para el efecto y, por lo tanto, se espera que se hagan modificaciones. Los procedimientos difieren dependiendo del número de accesiones\* por evaluar (es diferente manejar 50 accesiones que manejar 5000) y de la disponibilidad de recursos de los investigadores. La evaluación preliminar de un gran número de colecciones, para detectar características deseables le proporciona al agrónomo y al fitomejorador una amplia base de información la cual le facilita la selección de las accesiones con el mayor potencial de producción de forraje. De esta manera, se reduce el número de accesiones por evaluar hasta un nivel manejable.

---

Colaboradores: J.B. Brolmann, J.R. Lazier, R.J. Clements, J.E. Ferguson, R.L. Burt, J.M. Keoghan y B. Grof.

\* Nuevos ecotipos colectados y numerados.

## Germinación

Las técnicas de germinación pueden ser críticas para la preservación de germoplasma cuando sólo se dispone de unas pocas semillas. Existen barreras químicas y particularmente físicas como también enfermedades, las cuales pueden obstaculizar la germinación y, por lo tanto, el establecimiento de las plantas y la multiplicación posterior de semilla de los materiales colectados.

### Escarificación

A causa de la dureza de su cubierta, la mayoría de las semillas de las leguminosas forrajeras tropicales requieren pasar por un proceso de escarificación para asegurar una germinación rápida y uniforme. Esto se puede lograr mediante procesos químicos, físicos o mecánicos. En algunos géneros (por ejemplo, *Aeschynomene*, *Stylosanthes*) las semillas se deben remover de las vainas antes de aplicarles algún tratamiento de escarificación.

1. **Acido sulfúrico.** Este procedimiento es efectivo pero puede ser peligroso para la viabilidad de la semilla y para la persona que maneja el ácido. El objetivo es permitir que el ácido se coma la cubierta de la semilla pero sin dañar el endosperma. Para *S. humilis* sin cubierta, las semillas se deben remojar en  $H_2SO_4$  concentrado durante 10 minutos. Para el caso de *Centrosema* y otras leguminosas cuyas cubiertas de la semilla son más permeables, es suficiente sumerjirlas durante 3 minutos.
2. **Aplicación de calor.** Cuando las semillas tienen una cubierta dura, se pueden colocar en agua o en un horno manteniendo la temperatura a 75° - 90°C durante 24 horas. Este tratamiento es muy efectivo para semillas sin cubierta. La temperatura no debe llegar a 100°C. Alternar temperaturas frías y calientes también puede ayudar a obtener una buena germinación.
3. **Tratamiento mecánico.** El método mecánico consiste en raspar o romper la vaina impermeable (si existe) y la cubierta de la semilla usando tela de esmeril o papel de lija, a fin de permitir el intercambio de agua y de gases. Esta técnica es excelente para muestras de 1-100 g de semilla. Cuando se tengan menos de 10 semillas para escarificar, estas se pueden frotar manualmente sobre una superficie áspera; se pueden raspar con unas pinzas afiladas; o se pueden pegar a un trozo de cinta adhesiva para sujetarlas y luego pelar con una cuchilla o instrumento cortante. Para cantidades mayores (hasta 100 g de semilla) se puede usar un pequeño escarificador eléctrico (Forsberg o de otro tipo) o un escarificador de aire comprimido aplicando 5-60 psi\* durante 2 minutos o más, para forzar la circulación de las semillas contra la pared de un recipiente cilíndrico forrado internamente con tela de esmeril.

---

\* Pounds per square inch (libras por pulgada cuadrada).

4. **Tioúrea.** Se ha encontrado que una solución de tioúrea en agua al 1 por ciento (con base en el peso), aumenta la germinación de semillas de *Stylosanthes humilis* químicamente inactivas. El rango de concentración para esta especie es limitado y cuando se usan concentraciones menores o mayores, existe la posibilidad de inhibir la germinación. En la mayoría de los casos *Centrosema virginianum* también responde favorablemente. Si sólo se dispone de unas pocas semillas, se recomienda escarificar manualmente las semillas en forma individual. En este caso, la tioúrea se debe usar solamente como un último recurso, después de observar que las semillas túrgidas por la absorción de agua y que parecieran listas a brotar, no han germinado a los tres días.

### Protección contra las enfermedades

Es muy difícil mantener los platos de petri en condiciones estériles durante el proceso de germinación de semillas o asegurar que no se presentarán patógenos portados por las semillas. Enfermedades causadas por *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* pueden matar las semillas en germinación. El *Rhizopus*, patógeno portado por la semilla o presente en el aire, puede ser particularmente dañino a causa de su capacidad para diseminarse rápidamente. Puede infectar las semillas y cubrir todo el plato de petri en pocos días. Para evitar que estas enfermedades constituyan un problema, los platos de petri se pueden espolvorear con Difolatan (polvo mojable del 80%), el cual demostró ser el más eficiente de ocho productos químicos ensayados para combatir un gran número de enfermedades que atacan las semillas durante el proceso de germinación. Se comprobó que es suficiente hacer dos o tres espolvoreos sobre cada plato de petri, utilizando un insulfador DeVilbiss. Este producto aún en concentraciones hasta de 1 cc por plato de petri, no es fitotóxico para *Aeschynomene americana*, *Stylosanthes guianensis*, *S. hamata*, *Calopogonium mucunoides* y *Centrosema pubescens*. La germinación de semillas de *Desmodium heterocarpon* y de *D. intortum* se retrasó al aplicar el producto, quizás por la concentración al aplicarlo en forma líquida; cuando se aplicó en polvo no se observó este efecto.

### Propagación Vegetativa y por Semilla e Inoculación

Ningún método para el establecimiento de plántulas es más efectivo que otros para los fines de la evaluación inicial. En general, cuando se sabe que el campo en el cual se va a hacer la evaluación del germoplasma está infestado de malezas y no se tomó la precaución de aplicar un herbicida de presiembra, es aconsejable establecer las plántulas en un recipiente pequeño antes de hacer el transplante. Sin embargo, si hubiera disponibilidad de buena semilla, la siembra directa en el campo puede ser satisfactoria.

a. **Platos de petri.** Para la germinación de semillas pequeñas y sólo cuando se disponga de una o dos, se deben usar platos de petri forrados con uno o dos

papeles de filtro u otro material absorbente. Los platos de petri también se pueden utilizar eficientemente para germinar cantidades más grandes de semilla. Permiten llevar la cuenta de las semillas y las que no germinaron y no están túrgidas se pueden secar con aire y, una vez secas, se pueden regresar a su recipiente de almacenamiento después de haber transplantado el número de plántulas requerido. Con especies que tienen semilla de mayor tamaño (por ejemplo, de *Centrosema*), se han utilizado con éxito los comprimidos cilíndricos ("pellets") de turba (Jiffy 7 y Jiffy 9). Generalmente, las plántulas no se deben transplantar directamente al campo de los platos de petri, sino que se deben desarrollar en otros recipientes (descritos más adelante) antes de su transplante al campo.

**b. Pequeños recipientes.** Para cultivar las plántulas transplantadas de los platos de petri se pueden utilizar materos cuadrados de turba (6 x 6 ó 10 x 10 cm) comprimidos cilíndricos de turba, materos redondos de barro o de porcelana (de aproximadamente 5 cm de diámetro), bolsas de polietileno rectangulares, vasos de icopor (de 7 a 8 cm de diámetro) y pequeños recipientes de estaño. Las semillas de *Stylosanthes* spp. no toleran el alto contenido de P de los comprimidos de turba Jiffy 7, ya que el P induce una deficiencia de Mn; en estos casos y, posiblemente, con algunas especies de otros géneros, se deben usar comprimidos de turba Jiffy 9.

La tierra virgen tratada o debidamente fertilizada asegura la obtención de plántulas sanas. Para obtener una buena germinación, es necesario utilizar un medio de germinación arenoso, con un buen drenaje; una buena germinación implica un buen crecimiento de las plántulas. Las mezclas de arena y turba (Jiffy Mix o Jiffy Mix Plus) o turba sola, también proveen un excelente medio de germinación aunque para *Stylosanthes* spp., se prefiere el Jiffy Mix a causa del problema del P que contiene el Jiffy Mix Plus.

En lo posible, se debe usar tierra esterilizada; si no se dispone de ella, se debe usar suelo cuidadosamente seleccionado para evitar la presencia de semillas de leguminosas nativas, las cuales pueden germinar con las semillas de las accesiones transplantadas.

Se debe tener cuidado de marcar adecuadamente todos los materos para mantener la identificación de las plantas. Existen en el mercado muchos tipos de estacas de plástico o de madera (de 10 a 15 cm de alto). Cada accesión o introducción se puede identificar con un número o una clave marcada en las estacas las cuales se colocan en el respectivo matero.

Actualmente, también se pueden conseguir en el mercado bandejas de propagación de plástico y de icopor, con 24 y hasta más de 100 celdas. Generalmente, las celdas cuadradas (de 4 x 4 ó 5 x 5 cm) tienen de 6 a 7 cm de profundidad. También se consiguen bandejas con celdas de forma piramidal, las cuales permiten un crecimiento normal de las raíces. Es preferible utilizar éstas



últimas, ya que en ellas las raíces crecen hacia abajo, sin enrollarse después de alcanzar el fondo de la celda, como sucede en las celdas corrientes. Estas bandejas, las cuales se pueden utilizar varias veces, son más fáciles de usar para transportar al campo grandes cantidades de plántulas, aunque se pueden hacer bandejas de madera para transportar los materos individuales al campo. Se pueden cortar trozos de tubo PVC de 4.0 a 7.5 cm de diámetro en tamaños apropiados; estos trozos de tubo se pueden utilizar como pequeños recipientes para cultivar plántulas y se pueden colocar en los marcos de madera para transportarlos al campo. Cuando las plantas están bien establecidas en la celda se pueden arrancar cuidadosamente de las cavidades sin perder mucha tierra de las raíces y luego se colocan en huecos de igual tamaño hechos en el suelo con un molde apropiado.

Varios días antes de efectuar el transplante al campo, las plantas deben permanecer en invernaderos, casas de malla o en otras áreas protegidas para lograr un mayor grado de fortalecimiento.

**c. Recipientes grandes.** Se pueden usar recipientes de plástico, de metal o de arcilla, de más o menos 15 a 25 cm de ancho y profundidad, cuando sólo ha germinado una o dos plantas de una accesión determinada y no hay más semillas disponibles. Las plantas pueden crecer en estos recipientes más grandes, en un área protegida, hasta que alcancen su madurez. Al producir semillas, se facilita su recolección para utilización posterior en evaluaciones de campo.

Los recipientes anteriormente mencionados se pueden usar para sembrar semillas directamente. Este es un método de establecimiento rápido y fácil, cuando hay suficiente semilla escarificada disponible para sembrar de tres a cinco semillas por recipiente. Una vez establecidas, las plántulas se pueden ralear, dejando la planta más vigorosa por recipiente.

**d. Propagación vegetativa.** Cuando la disponibilidad de semilla genética es limitada puede ser necesario propagar ciertas accesiones vegetativamente. Esto se puede hacer fácilmente con especies de *Stylosanthes* y de *Centrosema*. Se cortan los meristemas, o los tallos (o las porciones basales) con, por lo menos, un nudo, a fin de que éste quede enterrado cuando se haga la siembra del tejido vegetativo. Se pueden usar recipientes o bandejas grandes para el establecimiento de plantas propagadas vegetativamente, ya que se pueden sembrar de 5 a 10 estacas por recipiente. Un suelo con alta humedad pero bien drenado, favorece el rápido enraizamiento del material. El uso de reguladores del crecimiento, tales como el ácido indol acético (IAA-0,005% con base en el peso) puede ser beneficioso para el caso de especies de *Centrosema* pero, en el caso de las especies de *Stylosanthes* el enraizamiento ocurre en dos semanas, sin tratamiento químico.

Es necesario tener presente que las plantas propagadas vegetativamente no tienen raíz pivotante y que su crecimiento no necesariamente debe seguir el

mismo patrón que las plantas propagadas por semilla. Además, las plantas cultivadas en recipientes de cualquier tamaño, pueden presentar su raíz principal deforme como también sus raíces secundarias. Si se permite que las plantas permanezcan mucho tiempo en ese recipiente antes del trasplante, es posible que su sistema radical no se desarrolle normalmente al transplantarlas al campo. Por consiguiente, es posible que no resulten muy exactas las comparaciones que se hagan a nivel de campo entre las plantas producidas por semilla y las plantas transplantadas.

e. **Inoculación.** Aunque en casi todas las áreas tropicales y subtropicales del Hemisferio Occidental hay abundancia de cepas nativas de *Rhizobium* que son efectivas en la mayoría de las plantas Papilionoideae (dentro de las excepciones están *Lotononis* y algunos ecotipos de *Stylosanthes hamata*), se recomienda inocular las semillas o los trasplantes.

Se debe usar un exceso de inoculante para asegurar la inoculación. Se toman 10 a 20 cc de un inoculante a base de turba en 100 ml de agua, se agita vigorosamente por un minuto y se le agrega aproximadamente 1 ml de la suspensión a cada recipiente después de la germinación o el trasplante.

Si no hay un inoculante comercial disponible, se maceran en agua nódulos o raíces con nódulos activos (de coloración interna rosada) y, luego, se diluye en más agua antes de aplicar el líquido sobrenadante en cada recipiente. Los nódulos se deben seleccionar de plantas sanas y de especies de leguminosas que se supone sean promiscuas (no específicas) en sus rendimientos de *Rhizobium*. Los nódulos de *Stylosanthes guianensis*, *S. humilis*, *S. viscosa*, *S. subsericea*, *Centrosema virginianum*, *Aeschynomene* spp., *Vigna* spp., *Macroptilium* spp., *Phaseolus* spp., son algunos ejemplos de leguminosas de las cuales se pueden utilizar sus nódulos para este propósito. Después de varias semanas, las plantas que muestran una coloración amarilla o verde clara se deben reinocular, aplicándoles una sobredosis de inoculante en suspensión acuosa.

## Preparación del Sitio de Siembra

El objetivo de la evaluación inicial del germoplasma colectado es lograr un óptimo crecimiento de las plantas bajo las condiciones climáticas prevalecientes. Un área con condiciones uniformes de suelo y drenaje debe ser preparada cuidadosamente y liberada de toda maleza, especialmente especies perennes de gramíneas. En áreas enmalezadas y previamente cultivadas, el producto comercial Vorlex<sup>1</sup> (aceite metílico de mostaza, CH<sub>3</sub>-N-C=S) controla insectos y patógenos presentes en el suelo y mataría muchas semillas de maleza. Vapam<sup>2</sup> (metham) es menos costoso pero no controla malezas con la

1 Nor-Am Agric. Products, Inc., 20 N. Wacker Drive, Chicago, Ill. 60606, USA.

2 Stauffer Chemical Co., Agric. Chem. Div., Westport, Conn. 06880, USA.

efectividad del Vorlex. También se puede usar el bromuro de metilo. Otros herbicidas selectivos para presiembr, tales como el Treflan<sup>3</sup> (trifluralin) o Eptam<sup>2</sup> (EPTC), se han utilizado con algún éxito para controlar malezas, lo mismo que Premerge 3<sup>4</sup> (dinoseb), Dynap<sup>5</sup> (naptalam + dinoseb) y Lasso<sup>6</sup> (alachlor). Probablemente, el uso de estos productos químicos sólo se puede justificar cuando los costos de la mano de obra son altos.

Otro sistema posible, si la mano de obra es costosa o no está disponible, es usar herbicidas no específicos como el Ortho Paraquat Cl<sup>7</sup> (paraquat) o el Roundup<sup>6</sup> (glyphosate). Después de que las semillas de las malezas han germinado, se colocan sobre las plantas de la leguminosa unos pequeños tarros de estaño y otros recipientes y se aplica el tratamiento en el área. Se puede usar una rociadora de mano de 11 litros con una boquilla de abanico SS8004 (o semejante) para obtener un buen cubrimiento. El Paraquat sólo se debe aplicar cuando hay numerosas malezas germinadas, pero antes de que éstas alcancen una altura de más o menos 2 cm. Las malezas de mayor altura se pueden controlar con Roundup. Después de lograr el establecimiento de las plantas ya no será necesario cubrirlas para hacer aplicaciones adicionales, siempre y cuando esta operación se haga con mucho cuidado y cuando casi no haya viento. Las plantas no se deben rociar directamente. Después de aplicarles Paraquat, no se debe remover el suelo pues, de lo contrario, se expondrá un gran número de semillas de malezas al quedar éstas sobre la superficie y esto puede ocasionar una nueva germinación. Un tratamiento cada dos meses evitará el establecimiento de nuevas poblaciones de malezas. El Paraquat no es apropiado para eliminar malezas o leguminosas indeseables bien establecidas. Como es un herbicida de contacto y no de translocación, si caen pequeñas cantidades del herbicida a las leguminosas ya establecidas no será suficiente para matarlas. El Roundup es un herbicida de translocación y, por lo tanto, al usarlo experimentalmente no se debe aplicar tan cerca de la planta, como en el caso del Paraquat.

Aún no se ha investigado a fondo el control de las malezas por medio de herbicidas aplicados después de la siembra, pero es muy posible que el uso de estos herbicidas podría reducir los costos de mano de obra y podría ser más deseable que el de Ortho Paraquat solo. El producto Princep<sup>8</sup> granulado (simazine) se puede aplicar al voleo en dosis aproximadas de 1-3 kg/ha de ingrediente activo, después de que las plántulas de leguminosas forrajeras se han transplantado y se han establecido en el campo. Este producto evita la germinación de las semillas de malezas. Se pueden hacer tratamientos exitosos

3 Elanco Products, Div. Eli Lilly, P.O. Box 1750, Indianapolis, Ind. 46206, USA.

4 Dow Chemical Co., Ag. Organics Dept., P.O. Box 1706, Midland, Mich. 48640, USA.

5 Uniroyal Chemical, Div. Uniroyal Inc., Elm St., Naugatuck, Conn. 06770, USA.

6 Monsanto Co., Agricultural Products, 800 N. Lindberg Blvd., St. Louis, Mo. 63166, USA.

7 Chevron Chemical Co., Ortho Div., 200 Bush St. San Francisco, Calif. 94120, USA.

8 CIBA-Geigy Corp., Saw Mill River Rd., Ardsley, N.Y. 10502, USA.

de mezclas de Paraquat y Princep, con aplicaciones dirigidas hacia los callejones. Dacthal<sup>9</sup> (DCPA) se puede usar en aplicaciones no dirigidas en *Stylosanthes* spp., *Centrosema* spp. y en campos de leguminosas de granos comestibles. También, se han ensayado los herbicidas Betasan<sup>2</sup> (bensulide) y 2,4-D.

Cuando existen en un campo malezas difíciles de combatir, es conveniente comenzar la desyerba mecánica o manual lo antes posible. Se debe procurar no causar daños químicos a las plantas leguminosas forrajeras. El uso de una segadora rotatoria o de un equipo que se conoce en varios países latinoamericanos como "rotovator" facilita el control de las malezas y ayuda a evitar que las plantas leguminosas forrajeras se entremezclen con las malezas.

A veces es necesario controlar algunas especies de grillos (*Scapteriscus* spp.), puesto que con frecuencia causan sequedad del suelo y pueden dañar las plantas que se están estableciendo. Un cebo envenenado preparado con toxafeno, clordano o dylox, al 5 por ciento, es efectivo en el control de estos insectos cuando se aplica en la superficie húmeda del suelo en una dosis de 30 kg/ha.

El barrenador menor del tallo del maíz [*Elasmopalpus lignosellus* (Zeller)] , los gusanos y otros insectos se deben controlar hasta que las plantas estén establecidas. Las ratas se pueden controlar usando Warfarin o Pival. Los conejos pueden dañar las plantas establecidas y malograr las evaluaciones que se haya proyectado realizar. Para mantenerlos alejados, las cercas de alambre han resultado efectivas; la cacería también es un medio de control efectivo.

## Diseño del Campo

La decisión de utilizar parcelas de plantas individuales, hileras de plantas o pequeñas parcelas de plantas, con o sin repeticiones, depende de muchos factores. Aunque las parcelas repetidas son mucho más deseables para hacer evaluaciones secundarias, la poca disponibilidad de semilla y la frecuente necesidad de experimentar con un gran número de accesiones de plantas leguminosas forrajeras, dificulta el establecimiento de repeticiones en una evaluación y caracterización inicial. Sin embargo, se debe recordar que el establecimiento de dos repeticiones de cinco plantas transplantadas es mucho más deseable que una sola hilera de 10 plantas; de igual manera, cuatro repeticiones con tres plantas cada una tienen mayor valor experimental que una hilera de 12 plantas. Aunque los diseños repetidos requieren más trabajo y espacio, la ventaja de poder descartar un número más o menos grande de introducciones, en el primero o segundo año de investigación, teniendo seguridad de que la decisión de descartar tales introducciones fue correcta, es un factor positivo que supera las desventajas.

9 Diamond Shamrock Corp., Biochemicals Div., 300 Union Commerce Bldg., Cleveland, Ohio 44114, USA.

Las variaciones en la disponibilidad de nutrimentos en el suelo y en la humedad del mismo, y el hecho de que algunas plantas en la parcela mueren por causas conocidas o desconocidas, no implican pérdidas significativas de información experimental en un año, si hubo repetición de parcelas. Durante el primer año, si se desea información adicional, las plantas sembradas individualmente en una parcela repetida pueden servir para diferentes propósitos; por ejemplo, unas pueden brindar información sobre rendimiento, otras para obtener datos sobre época de floración, etc.

Sin tomar en consideración el tipo de parcela que se utilice, es conveniente establecer un ensayo con plantas leguminosas con hábitos de crecimiento similares (por ejemplo, *Macroptilium*, *Centrosema*, *Calopogonium*, *Pueraria*; o *Stylosanthes*, *Zornia*, *Aeschynomene*) en la misma área, y establecer una o varias parcelas de una leguminosa "estandar" (la leguminosa con mejor adaptación en experimentos previos) como testigo para hacer comparaciones. Entre las leguminosas de hábito de crecimiento postrado, el "Siratro", por ejemplo, podría servir como referencia. Para hacer evaluaciones de *Stylosanthes*, se pueden utilizar los cultivares denominados "Cook", "Endeavour", o "Verano" y un cultivar de *S. humilis* (para especies anuales).

Las parcelas establecidas con plantas individuales ofrecen la ventaja de que cada planta se puede observar con mayor facilidad y, en consecuencia, los índices de crecimiento, los tipos de sistemas radicales, fechas de floración y de producción de vainas y otras características agronómicas se pueden detallar con más facilidad y las correspondientes anotaciones en el libro de campo serán más precisas. En contraste, grandes poblaciones de plantas sembradas en hileras o pequeñas parcelas con demasiadas plantas dificultan más la observación de plantas individuales. Los espacios entre hileras de parcelas (pasillos) deben ser lo suficientemente amplios para permitir al investigador moverse con facilidad en el área experimental; los espacios entre parcelas con accesiones similares deben ser amplios para que las plantas no se mezclen y se confundan. Con leguminosas tropicales que tienen hábitos de crecimiento complejo, con tallos retorcidos (*Centrosema* spp., etc.), los pasillos, que pueden ser hasta de 2,5 m, pueden no ser suficientes para evitar una mezcla de plantas si no se aplica un control químico o mecánico. Sin embargo, en estos casos conviene buscar una dimensión apropiada para los pasillos o bien, establecer un manejo adecuado para las plantas en observación ya sea recortando sus tallos o aplicando Paraquat a los terminales de crecimiento.

En el primer año de observación, se puede obtener información agronómica adicional cortando el forraje producido por cada planta con el fin de obtener un estimativo del rendimiento de la misma. Esto permite una siembra de plantas más densa en la parcela. Con pocas plantas de *Centrosema* y de otras especies de hábito de crecimiento rastrero, es posible clavar estacas al lado de cada planta y éstas se pueden guiar para que crezcan alrededor de la estaca y, si es necesario, sujetarlas con cuerda. Este método es satisfactorio para obtener

información sobre fechas de floración, resistencia a insectos o enfermedades o bien para propósitos de mejoramiento genético. Además, requiere menos espacio puesto que las plantas crecen verticalmente, en vez de extenderse sobre el terreno.

Para observar introducciones, se han utilizado hileras de longitud variable (2 a 76 más metros). Las hileras tienen una ventaja en comparación con las parcelas de plantas individuales y es que la muerte de una o más plantas no interfiere el registro de datos. También se han usado parcelas de cinco o más plantas. La escasez de semilla hace que este tipo de parcela dificulte o imposibilite su uso; si las semillas no se siembran directamente en el campo, se requiere más tiempo y trabajo. Si fuera necesario transplantar plántulas se podría obtener una modificación del sistema de hileras, limitando el número de plantas por fila, de tres a cinco plantas separadas 15-60 cm.

En general, no es factible utilizar parcelas pequeñas, de forma rectangular, para hacer evaluaciones iniciales a causa de la poca disponibilidad de semilla. La ventaja de estas parcelas es que permiten acelerar el proceso de evaluación, obteniendo el primer año estimativos de rendimiento y características del tipo de césped que forman las plantas evaluadas y en los años siguientes, información sobre la persistencia de la especie.

## **Registro de Datos**

### **Introducción de plantas**

La caracterización y la evaluación inicial se debe complementar con un buen sistema de registro de datos. Es necesario registrar información sobre el país de origen, latitud y longitud, altitud, fecha de introducción, fecha de la siembra y número de la accesión con el propósito de mantener la continuidad del programa y evitar duplicaciones. Los pedidos para introducir semilla a un determinado país deben incluir información sobre el origen específico del material que se desea obtener, especialmente si se trata de obtener semilla de un segundo o tercer país.

Un método para mantener un archivo con información sobre las introducciones es escribir toda la información disponible en tarjetas permanentes. Por ejemplo, es muy útil el uso de una tarjeta de 13 x 20 cm de "Información Descriptiva de las Plantas". El frente de esta tarjeta proporciona espacio para incluir información sobre los sitios de colección y de evaluación de datos sobre las siembras efectuadas. En el otro lado se puede incluir información sobre hábitos de crecimiento, floración, formación de semilla, resistencia o susceptibilidad a enfermedades e insectos. Estas tarjetas se pueden colocar convenientemente en archivadores de hojas sueltas (con anillos metálicos que sujetan las hojas); cada hoja archivada llevará un número ascendente que corresponderá a una nueva accesión; la información se puede anotar en libros

separados con base en tipos o especies de plantas (por ejemplo, plantas de crecimiento postrado o erguido); o bien por género (por ejemplo, *Stylosanthes* spp., *Centrosema* spp.) o según el orden en el cual están localizadas las parcelas en el campo. Más adelante se sugieren otros métodos para tomar notas de campo.

Si el investigador desea participar en un sistema computadorizado de manejo y recuperación de información, debe utilizar el sistema de codificación que se incluye en el Apéndice 1 y Cuadro 1 para anotar los datos de su evaluación preliminar. Se deben incluir en el formato los descriptores que el investigador considere apropiados para su propósito particular. Los códigos sugeridos para cada uno de los descriptores no se deben alterar o cambiar.

Además del catálogo de tarjetas, se debe mantener una lista mecanografiada de accesiones ordenada en orden numérico ascendente, de tal forma que los números incluidos correspondan con los del catálogo de tarjetas. En esta lista se puede anotar una breve descripción, incluyendo el nombre científico, origen y el número de accesión con el cual se ha registrado el espécimen en otros países. Estas listas sirven de gran ayuda en la búsqueda de los números de accesión de un género o especie en los archivos. En igual forma, si se está dando mayor énfasis a la introducción de especies de *Centrosema*, se puede mecanografiar una lista especial en la cual se incluyen únicamente introducciones de *Centrosema*.

### Mapas de las parcelas experimentales

Para cualquier tipo de diseño de campo, es útil emplear estacas en los sitios apropiados, para identificar las plantas o las parcelas. Estas estacas se deben marcar claramente con los números apropiados de cada accesión. Los marcadores de cera o las pinturas son preferibles ya que la impresión que dejan es más durable. Una buena marca en las estacas reduce las probabilidades de error en el registro de los datos de campo, ya que el número de la estaca se puede comparar con el número de la tarjeta de introducción o con la hoja de diagramación de parcelas, en el momento de recolectar los datos. Se debe disponer de un mapa (dibujado en papel para escribir a máquina, tamaño carta) del área de siembra. Los números de las accesiones se deben incluir en la correspondiente lista de nombres. Se debe dejar suficiente espacio para anotar información sobre el vigor de la planta, altura, hábito de floración, etc., en relación con cada parcela, aunque estos datos se transferirán más tarde a las tarjetas de Información Descriptiva de las Plantas.

Este sistema se puede usar para parcelas de una sola planta o hileras de plantas y pequeñas parcelas, sean o no con repeticiones. Por ejemplo, utilizando seis leguminosas tropicales con tres repeticiones, se puede diseñar un diagrama de parcelas numerado de acuerdo con los números de las accesiones como el mostrado en la Figura 3. A causa de los hábitos de crecimiento, la distancia entre

REPETICION*			REPETICION+		
A	B	C	A	B	C
1697			418		
1926			605		
1927			1423		
1695			1780		
1197			1940		
2130			1778		

\* Accesiones erectas; las hileras contienen 5 plantas cada una, distanciadas 37 cm y la distancia entre hileras es de 2 m.

+ Accesiones volubles; las hileras contienen 5 plantas cada una, distanciadas 37 cm y la distancia entre hileras es de 3 m.

Figura 3. Ejemplo de un diseño de parcelas para un jardín de introducción de leguminosas.

hileras para leguminosas con tallo enroscado debe ser mayor que para las leguminosas de tipo erguido y ascendente.

### Hojas de trabajo

Para la recolección de datos, además de un diagrama que señale la ubicación de las parcelas, se puede diseñar una hoja de trabajo, utilizando para ello hojas de contabilidad de tamaño grande o papel de computador impreso con líneas (28 x 43 cm). Esta hoja de trabajo se puede utilizar para mecanografiar informes sobre el progreso alcanzado. Antes de proceder a la siembra de las parcelas experimentales, se debe hacer una lista de las introducciones, agrupada por especies dentro de cada género, en orden numérico ascendente, seguido por el nombre, origen y otro número de identificación. Las columnas numeradas o encabezadas por un título se pueden usar para identificar los diferentes tipos de datos de campo que se han obtenido (Cuadro 1). Los datos obtenidos del diagrama de las parcelas se pueden transferir a las hojas de trabajo. Estas se pueden utilizar nuevamente en el segundo año de observaciones, reduciendo así el trabajo escrito requerido en el registro de información.



Cuadro 1. Ejemplo de una hoja de trabajo para registrar información sobre el establecimiento y datos de floración de leguminosas tropicales.

Vivero de introducción de 1976 y 1977 (Parcela 4B)

IRFL No.	Origen y No. Identificación	Fecha de Siembra	Estado de la Planta+ 3/16/77	Fecha de Floración					No. de Herbario++
				Inicial		1977			
				1976	1977	4/20	6/24	8/8	
<i>Aeschynomene</i>									
1197	Costa Rica R43	7/76	S	251°	242	f	f	f	-
1926	India PI 196206	7/76	SD	251°	242	f	f	f	-
1927	Rodesia PI 225551	7/76	SD	251°	242	f	f	f	-
<i>Calopogonium</i>									
481	Costa Rica PI 227475	7/76	S	307	-	-	-	-	-
605	Australia CQ 562	7/76	SX	307	-	-	-	-	464
<i>Centrosema</i>									
1423	Honduras CPI 37273	10/76	X	#	-	-	-	-	279
1778	Bahamas* 9/76	9/76	S	265	277	-	-	-	436
1780	Bahamas* 8/76	8/76	S	243	242	f	f	f	437
<i>Desmodium</i>									
1695	India HAES 4530	10/76	S	#	NP	-	-	-	-
1697	Fiji Is. HAES 4999	10/76	S	#	NP	-	-	-	-
1799	Belice* 9/76	9/76	G	342	-	-	-	-	482

Floración de otoño 1976 - se iniciaron las observaciones semanales el día 251 (desde Dic. 31, 1975).

Floración de otoño 1977 - se iniciaron las observaciones semanales el día 244 (desde Dic. 31, 1976).

+ Estado de la planta:

S = sobrevivió a la helada de enero

SD= plántulas en el campo

X = resiembra en 3/18/77

NP= ausencia de plantas en el campo

G = en el invernadero

° Plantas presentes en la primera observación

# Plantas vivas, pero sin florecer antes del día 363 de 1976

ˆ Floración en la fecha indicada

++ Número local de la accesión en el herbario

\* Semilla colectada por personal de ARC Ft. Pierce



## VIII

### TRANSFERENCIA DE GERMOPLASMA DE FORRAJES

*R.A. Luse*

Repetidamente ocurre transferencia de germoplasma vegetal de una zona del mundo a otra, muchas veces sin control sobre su movimiento o introducción. Los primeros recuentos sobre la introducción de plantas (por ejemplo, las narraciones de los conquistadores españoles o del famoso capitán Bligh a la Polinesia) son fascinantes; sin embargo, es importante que en el mundo moderno, se ejerza un control más cuidadoso sobre el movimiento de material vegetal de las enfermedades y/o insectos plaga que puedan portar.

En este capítulo se esbozan recomendaciones para efectuar la transferencia de germoplasma de plantas en una forma eficiente pero controlada. En general, los pasos recomendados son aplicables a la mayoría de introducciones de plantas pero en este capítulo se refieren específicamente a las especies forrajeras.

#### **Cuarentena**

La mayoría de los países ha establecido regulaciones de cuarentena de plantas, en un esfuerzo para prevenir el transporte accidental de insectos plaga y enfermedades, a través de las fronteras internacionales; cada país toma medidas especiales para que las plagas o enfermedades no entren al territorio nacional. Las regulaciones normalmente son razonables y casi responden a un estándar o patrón común, pero la administración de las regulaciones, llevada a cabo por instituciones gubernamentales es, algunas veces, ineficiente y demorada. Por estas razones, los arreglos para hacer transferencias de germoplasma siempre se deben hacer con anticipación. Se debe recordar que cada muestra de material vegetal debe pasar por trámites, tanto de exportación como de importación al pasar de un país a otro. Estos trámites se discutirán en este capítulo usando, como modelo general, las regulaciones establecidas por el gobierno de India, ya que éstas han sido resumidas recientemente por Nirula (1). Periódicamente, se han hecho compilaciones de regulaciones nacionales (2),

pero con frecuencia se desactualizan en poco tiempo. Un libro recientemente escrito por Hewitt y Chiarappa (3) puede servir de valiosa referencia de carácter general, pero no tiene capítulos específicos sobre germoplasma de plantas forrajeras.

### Importaciones de semillas

En estos casos, el patrón general es el de que todo material de procedencia extranjera, acompañado de un certificado fitosanitario, debe ser inspeccionado por la institución nacional que tiene a su cargo la cuarentena de plantas en el país importador. Quizás sea necesario sembrar las semillas o una muestra de ellas en invernaderos de vidrio, aisladas y examinadas regularmente, hasta verificar que están libres de enfermedades. Las plantas enfermas y todas las otras semillas de ese lote se deben destruir. Las semillas de lotes en los cuales no se han encontrado enfermedades se pueden entregar a los investigadores que las importan.

Se pueden aplicar las siguientes instrucciones total o parcialmente:

1. Las semillas se deben haber cosechado de plantas libres de enfermedades y estar fisiológicamente maduras y secas. Las semillas pequeñas, las que han perdido peso o tamaño y las dañadas, se deben retirar del lote.
2. La presencia o ausencia de organismos causantes de enfermedades (tales como bacterias, hongos y virus) y las plagas de insectos, se debe comprobar mediante exámenes fitosanitarios hechos en las semillas. Los métodos que se siguen para estos exámenes dependen del patógeno que se busca, de la condición que presente la semilla, del objetivo de la investigación y de la especie vegetal. La selección del método y la evaluación de los resultados requieren experiencia en patología vegetal y/o en virología. En la sección de Exámenes Fitosanitarios de las Semillas de este Capítulo se incluyen las guías generales recomendadas para estos exámenes por la Asociación Internacional de Exámenes de Semillas.
3. Se deben examinar las muestras individuales para asegurarse de que no contengan semillas de malezas, residuos de cosecha (por ejemplo, basura resultante de los restos de hojas, plantas, glumas), partículas de tierra o materiales extraños (por ejemplo, piedras pequeñas o fragmentos de tela). De ser encontrados, estos materiales se deben retirar.
4. En el caso de introducciones de rutina, el volumen de material se debe limitar a unos pocos cientos de semillas, pero para colecciones de germoplasma y estudios de poblaciones, se pueden necesitar unos miles de semillas viables. Se debe evitar la importación de semillas en grandes cantidades, tratando, en lo posible, de no importar más de un kilogramo de semilla.

5. Todas las semillas deben haber sido inspeccionadas por los Servicios Nacionales de Cuarentena Vegetal del país exportador y deben tener certificado fitosanitario en la forma recomendada por la Convención Internacional sobre Protección Vegetal de la FAO, 1951 (el llamado "Certificado de Roma"), detallando cuál fue el tratamiento que se le aplicó a las semillas y haciendo las aclaraciones u observaciones necesarias con respecto a la ausencia de determinadas enfermedades.
6. Todos los envíos que se hagan, ya sea como importaciones hechas como carga aérea, paquetes postales, equipaje acompañado o no acompañado, se deben empacar de manera que no permitan la entrada o escape de ninguna plaga. Las muestras individuales de semilla se deben enviar en sobres sellados o en bolsas de tela empacadas cuidadosamente, de tal manera que no ocurran pérdidas de material o el escape de plagas.
7. Se debe colocar una copia del certificado fitosanitario en un sobre marcado y claramente visible en la parte exterior del recipiente que se utilice para el envío de las semillas. El original del certificado fitosanitario y las papeletas de embarque se deben colocar en un sobre dentro del envío. Las papeletas de embarque deben incluir el nombre del científico que envía las semillas, el nombre de la especie vegetal enviada, el número exacto de muestras, el número y la descripción de los paquetes, el país de origen y el nombre de la ciudad de donde se hace el despacho. Cada caja, cartón o bolsa debe contener una papeleta de embarque. Usualmente, se debe anotar que las semillas "no tienen valor comercial".

Es conveniente que el científico que envía las semillas a los investigadores de un determinado centro de recursos genéticos u otra institución similar, informe con anticipación acerca del envío de las semillas. Con este propósito se puede utilizar un formato como el que se presenta en el Apéndice 5. Este procedimiento permitirá a los científicos que importan el material hacer las gestiones necesarias con el Servicio Nacional de Cuarentena Vegetal (normalmente los envíos de semilla se deben hacer a esta dependencia).

### Exportación de semillas

Cuando un colector de germoplasma (o un científico que tiene responsabilidad en la colección de germoplasma) envía accesiones a otros países, puede seguir las instrucciones anteriormente descritas. Por ejemplo:

1. Todas las semillas se deben coleccionar de plantas sanas y libres de enfermedades. Las semillas deben estar fisiológicamente maduras y secas. Las semillas pequeñas, las que han perdido peso o tamaño y las dañadas, se deben retirar antes de ser sometidas a revisión para obtener su permiso de salida del país.

2. Las semillas deben ser tomadas de plantas libres de enfermedades y si se considera necesario, tratadas contra insectos plaga. Es recomendable hacer exámenes fitosanitarios a las semillas, como los descritos en la respectiva sección de este capítulo, para asegurar que el envío contiene semillas limpias.
3. Los lotes individuales de semilla deben tener una apariencia uniforme; no deben contener mezclas y deben estar libres de semillas de malezas, residuos de cosechas, partículas de suelo y materiales extraños.
4. Los pedidos de semilla deben estar acompañados por un formato el cual incluya la dirección del destinatario, la localización del aeropuerto más cercano y cualquier otra información especial pertinente a la importación. Sería deseable incluir una dirección y un nombre alternativos en caso de que haya dificultad para localizar a la persona a quien va dirigido el envío (destinatario).
5. El exportador debe asignar suficiente tiempo para efectuar los trámites de a) obtener los certificados fitosanitarios, b) envío de las semillas y c) inspección por parte de los servicios de cuarentena vegetal del país importador. El tiempo que es necesario para cumplir estos trámites varía mucho entre países, pero puede ser reducido marcando cuidadosamente los envíos y avisando por anticipado al científico que importa las semillas (destinatario) acerca del envío.

Se puede utilizar un formato similar al que se presenta en el Apéndice 5 para incluir el envío de las semillas dirigido al Servicio Nacional de Cuarentena Vegetal del país que recibe la muestra. Como referencia, en el Apéndice 6 se incluye una lista de autoridades fitosanitarias que expiden certificados para exportar lotes de semilla en los países latinoamericanos, algunos países del área del Caribe, Australia y los Estados Unidos.

Se debe tener en cuenta que, algunas veces, las regulaciones referentes a cuarentena vegetal son poco razonables. Las restricciones que prohíben la importación de semillas de áreas en las cuales no existen disposiciones de cuarentena para las enfermedades e insectos de determinados cultivos son obviamente excesivas. Si no se han hecho inspecciones de campo y si no existe un método establecido para examinar las semillas en relación con determinadas enfermedades, las restricciones de cuarentena sobre estas enfermedades son de muy poco valor. La cuarentena aplicada a enfermedades prevalentes en el país importador, también es una práctica cuestionable. En tales casos, el Centro de Recursos Genéticos debe tratar de eliminar tales regulaciones discutiéndolo con la institución nacional responsable. En algunos casos, se pueden establecer regulaciones regionales estandarizadas para cuarentena vegetal. También en este caso, el Centro de Recursos Genéticos puede desempeñar una función importante.

## Registros de Germoplasma

Generalmente, este término se entiende como la publicación de las características de un nuevo cultivar o variedad, con el propósito de informar a los investigadores interesados acerca de sus diferentes rasgos botánicos y agronómicos y posibles ventajas en programas de fitomejoramiento. Esta publicación se puede hacer a través de algunas revistas científicas (por ejemplo, *Crop Science* o algunas editadas en América Latina) o bien utilizando publicaciones privadas o boletines informativos especializados. En ciertos países, quizás sea posible aplicar a los usuarios del nuevo germoplasma, las regalías a las cuales tienen derecho los fitomejoradores que producen nuevos materiales genéticos.

Es importante reconocer el papel de las instituciones nacionales en la colección y transferencia de germoplasma. Para evitar confusiones, es conveniente asignar un número de accesión para identificar al país de origen del germoplasma. Este número contiene una referencia, en orden alfabético, del país de origen del germoplasma (por ejemplo, MEXICO 12345; véase el Apéndice 9), el cual formaría parte integral del código que se incluiría en el Catálogo. Este código identificaría a una determinada accesión en cualquier banco de germoplasma del mundo que utilice este catálogo y también, en todos los programas nacionales de fitomejoramiento.

## Exámenes Fitosanitarios de las Semillas

A continuación se describe la metodología general que se sigue para el examen de semillas y plantas, con el objeto de determinar la presencia o ausencia de enfermedades o insectos plaga; esta metodología se ha tomado de las Reglas Internacionales para el Examen de Semillas (4).

### Exámen sin incubación\*

1. **Examen directo.** La muestra obtenida, o una parte de ella, se examina, con o sin un microscopio estereoscópico, con el propósito de constatar la presencia de cornezuelos (hongos que parasitan los ovarios de algunos cereales) y otros esclerocios, llagas causadas por nemátodos, carbones, insectos o ácaros, o bien, constatar la presencia de enfermedades y de plagas portadas por las semillas o por materiales inertes, tales como fructificaciones de patógenos, decoloraciones y daños de diversa índole.
2. **Examen de semillas imbibidas.** La muestra con la cual se va a trabajar se sumerge en agua u otro líquido, para lograr que las fructificaciones, los síntomas o bien las plagas sean más fácilmente visibles; este procedimiento también puede estimular la liberación de esporas. Después

\* Estos exámenes no dan ninguna indicación con respecto a la viabilidad del patógeno.

de la inmersión, se hace un exámen cuidadoso de las semillas, ya sea superficial o internamente, preferiblemente, con un microscopio estereoscópico.

- 3. Exámen de organismos removidos por el lavado.** La muestra de trabajo se sumerge en agua, con un agente humectante, o en alcohol; se agita vigorosamente para remover esporas, hifas, nemátodos, etc., que puedan estar estremezclados o adheridos a las semillas. El exceso del líquido con el cual se hizo el lavado de la muestra se elimina posteriormente por filtración, centrifugación o evaporación; el material que se obtuvo se examina en un microscopio.

### Exámen después de la incubación

La muestra de trabajo se somete a un período específico de incubación y luego se examina para constatar la presencia de patógenos o de síntomas ocasionados por ellos, de insectos plaga o de disturbios fisiológicos sobre la superficie de las semillas o dentro de ellas, y también, en plántulas establecidas. El examen puede ser interno o superficial. En la mayoría de los casos, se utilizan tres tipos de medios.

1. Cuando es necesario cultivar los patógenos de las semillas o examinar las plántulas, se utiliza papel secante. Con o sin tratamiento previo, las semillas deben mantenerse espaciadas durante el período de incubación para evitar una dispersión secundaria de organismos. Cuando sea necesario, se calculan las condiciones de luz para estimular la esporulación de hongos. A veces, es deseable inhibir la germinación mediante sustancias químicas o por otros medios. Es posible identificar algunos patógenos sin utilizar lentes de aumento, pero frecuentemente es necesario usar un estereoscopio o un microscopio para hacer una mejor identificación de los patógenos.
2. Para identificar ciertos patógenos conviene utilizar arena, abonos artificiales y otros medios. Las semillas, usualmente sin tratamiento previo se siembran en el medio espaciadas a una distancia conveniente, para evitar una dispersión secundaria de organismos, y se incuban bajo condiciones favorables para lograr una expresión completa de los síntomas.
3. Se utilizan platos de petri con agar a fin de que el crecimiento de los organismos sea fácilmente identificable. Es necesario tomar cuidadosas precauciones de esterilidad. Normalmente, después del tratamiento, las semillas se esparcen y se incuban en la superficie de un medio de agar esterilizado. El agar es un medio de cultivo el cual permite identificar colonias características, bien sea macroscópica o microscópicamente. Frecuentemente, se utiliza la iluminación y también es posible usar inhibidores de la germinación.



## Exámen de las plantas en crecimiento

Con frecuencia, el procedimiento más práctico para determinar la presencia de bacterias, hongos o virus, es obtener plantas de la muestra de semillas y examinar los síntomas que se puedan presentar. Las semillas se pueden sembrar o bien el inóculo obtenido de la muestra se puede utilizar para hacer exámenes de infestación con plántulas sanas o con partes de plantas. Las plantas se deben proteger de infecciones accidentales provenientes de otras fuentes y, por consiguiente, se requiere un control cuidadoso de las condiciones.

### Otras técnicas

Se han desarrollado métodos especializados que incluyen reacciones serológicas, formación de fagoplasmas, etc., para el caso de algunos organismos infecciosos; en casos determinados, se pueden utilizar tales métodos.

## LITERATURA CITADA

1. Instructions for Import and Export of Seed Material. 1977. Compilado por K.K. Nirula. ICRISAT. Hyderabad, India.
2. USDA Export Certification Manual. Vols. I and II. U.S. Department of Agriculture, Plant Quarantine Division. Washington, D.C. (Contiene reglamentaciones emitidas de 1950 hasta el presente, de acuerdo con las revisiones realizadas).
3. Hewitt, W.B. y L. Chiarappa. Plant Health and Quarantine in International Transfer of Genetic Resources. Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio 44128, U.S.A.
4. ISTA Handbook on Seed Health Testing. Esta publicación se puede obtener en la International Seed Testing Association, en forma de Hojas de Trabajo: Dirección de la ISTA: Box 68, 1432 As-NLH, Noruega. Ver también Seed Sci. Technol. **4**, no. 1 (1976), pp 31-34, 152-155, para las reglamentaciones internacionales sobre análisis de semillas más recientes.



## IX

### **PRESERVACION DE GERMOPLASMA DE PLANTAS FORRAJERAS**

*R. A. Luse*

La necesidad de preservar las existencias actuales de germoplasma de plantas ha sido repetidamente enfatizada en años recientes (véase, por ejemplo, la referencia 1 en la sección de Literatura Citada de este capítulo). Buena parte del esfuerzo resultante para preservar estos recursos genéticos ha sido dirigida a aquellos cultivos de cereales de los cuales depende en gran parte el hombre para su nutrición diaria, tales como el trigo, el arroz y el maíz. Se han hecho menores esfuerzos para la preservación del germoplasma de forraje, del cual depende el hombre para alimentar a sus animales y, por lo tanto, indirectamente a sí mismo.

Sin embargo, la pérdida de pastos nativos (tanto de leguminosas forrajeras como de gramíneas) ha ocurrido dondequiera que el hombre ha extendido sus actividades de cultivos para producir alimentos, o bien, de construcción urbana. En las áreas en las cuales los frágiles sistemas ecológicos de praderas están expuestos a sequías, al pastoreo excesivo y al establecimiento de desiertos, han destruido especies nativas de pastos y el respectivo germoplasma forrajero. Estas especies no son fácilmente reemplazables ya que la adaptación a las condiciones adversas puede tomar siglos.

En tanto que la pérdida del germoplasma de plantas forrajeras del mundo no ha alcanzado un estado crítico, está ocurriendo una gran pérdida, precisamente en un momento en el cual se está dando un nuevo énfasis a los pastos mejorados como medio para obtener una producción ganadera más alta. Por ello la necesidad de coleccionar y preservar aquellos ecotipos que representen toda la gama de la diversidad genética aún existente entre las leguminosas y gramíneas forrajeras. Esta diversidad genética es lo que permite un mejoramiento más eficiente y rápido de las praderas en extensas áreas del mundo.

El propósito de este capítulo es presentar las técnicas recomendadas para la preservación de germoplasma de plantas forrajeras, tanto por propagación repetida de clones vegetativos como por almacenamiento de semilla verdadera.

Es considerablemente menor el conocimiento que se tiene acerca de la preservación de germoplasma de forrajes, en comparación con el arroz, por ejemplo; es necesario adelantar más investigaciones para aumentar el nivel de conocimiento sobre forrajes.

### **Propagación Vegetativa**

Para aquellas especies forrajeras que no producen semilla verdadera o que no la producen en cantidades suficientes, es necesario recurrir a métodos de propagación vegetativa. Dicha propagación se debe llevar a cabo siguiendo las mismas normas de sanidad vegetal que para la multiplicación por semilla (control de semilla de malezas, insectos y enfermedades, incluyendo virus). Las plantas que presentan síntomas de enfermedades se deben arrancar de las parcelas de campo o remover de los invernaderos. Se reconoce que la propagación vegetativa es laboriosa y puede requerir mayor área experimental; sin embargo, el mantenimiento de germoplasma a través de clones vegetativos es un esfuerzo que vale la pena hacer.

Las parcelas de campo de 1 x 3 m son de tamaño adecuado para conservar la mayoría de las especies forrajeras, aunque será necesario establecer parcelas más grandes cuando se necesiten cantidades mayores de semillas de las nuevas accesiones forrajeras. En las etapas iniciales de la multiplicación de una nueva accesión y si existe muy poco material de reproducción, se recomienda multiplicarlo en un invernadero o casa de malla para evitar una pérdida accidental de materiales valiosos. Con este propósito resulta apropiado el establecimiento del material en materos, ollas o vasijas y se recomienda hacer una propagación inicial bajo condiciones de alta humedad (como la obtenida en una cámara de vapor). También, es recomendable usar hormonas para obtener un buen desarrollo inicial de las raíces. En el Capítulo II se presenta información más detallada al respecto.

Se espera que en el futuro se pueda aplicar la técnica de cultivo de tejidos meristemáticos a germoplasma de plantas forrajeras, de manera que los clones vegetativos se puedan multiplicar posteriormente en forma extensa, cultivándolos inicialmente como plantas obtenidas asexualmente en probetas o frascos de vidrio y después conservándolo como poblaciones homogéneas libres del ataque de enfermedades e insectos. Es conveniente someter las plantitas a condiciones limitadas de nutrimentos (probablemente, azúcares) con el propósito de estimular un crecimiento lento, de manera que sea mínimo el manejo de material vegetal. La adaptación de la técnica del cultivo de tejidos meristemáticos para plantas forrajeras será de gran valor en el desarrollo de las labores de los centros de recursos genéticos.

### **Almacenamiento de Semillas**

#### **Calidad de la semilla antes del almacenamiento**

La calidad de la semilla que será preservada en un banco de germoplasma tienen mucha importancia. Es probable que las semillas de mala calidad pierdan

más rápidamente su viabilidad que las semillas de buena calidad, aun cuando estén en muy buenas condiciones de almacenamiento. Los factores más importantes en la calidad de la semilla son:

- a. **El daño mecánico**, ocasionado por causas físicas durante la cosecha mecánica o bien por maltrato durante la cosecha a mano. Este daño quiebra la cubierta de la semilla, causando hendiduras que permiten la entrada y el ataque de hongos y bacterias. Este tipo de daño se debería evitar a toda costa, bien sea cosechando a mano cuidadosamente o haciéndolo con trilladoras provistas de rodillos especiales.
- b. **La inmadurez fisiológica** usualmente resulta de efectuar una cosecha anticipada, forzada por la proximidad de un clima húmedo o bien por la decisión de adelantar la cosecha con el fin de evitar una pérdida de semilla por ruptura o desgrane de las vainas. Desafortunadamente, las espigas de las semillas en muchos pastos tropicales, son predominantemente inmaduras aun cuando el tallo esté maduro y listo para cosechar. En las parcelas de multiplicación de semilla para material de germoplasma, la cosecha se debe demorar hasta cuando sea más práctico hacerlo, ya que se tienen evidencias de que las semillas maduras se mantienen viables por más tiempo que las semillas inmaduras. Además, las semillas se deben mantener en la panícula después de cortadas pero antes de ser trilladas, a fin de que maduren.
- c. **El secamiento inapropiado de las semillas** resulta frecuente del propósito de secar rápidamente la semilla húmeda e inmadura antes de que se dañe en el almacenamiento. Un secamiento rápido, a temperaturas relativamente altas (por ejemplo, a más de 75°C), causa efectos drásticos sobre la viabilidad de la semilla. Sin embargo, el secamiento a 40°C es seguro para la mayoría de los cultivos y puede reducir la humedad de la semilla a un 11-12 por ciento. Se ha encontrado que en *Panicum maximum* el secamiento gradual, por un período de tres o cuatro días, retiene la viabilidad a un nivel aceptable; reducir el período del secamiento a un día reduce la viabilidad de la semilla a una tercera parte (J.M. Hopkinson, R.L. Harty, B.H. English, 1977, comunicación personal). Sin embargo, es posible aumentar la temperatura del aire para el secamiento (por ejemplo a 60°C), ya que la humedad de la semilla baja sin afectar la viabilidad de la misma.
- d. **Otros factores**, tales como el tamaño de la semilla y el contenido de proteínas, pueden afectar subsecuentemente su viabilidad y su vigor, pero estos factores no se pueden manipular fácilmente en el proceso experimental. El primer factor tiene alguna relación con la madurez de la semilla, mientras que el segundo parece estar relacionado con el estado de nutrición de la planta. De ahí que la cosecha de semillas maduras, procedentes de parcelas de multiplicación bien fertilizadas ayude a

asegurar una mejor calidad de la semilla. Después de la cosecha, lo tradicional es que el lote de semilla seca sea limpiado para eliminar semillas de maleza, semillas dañadas por insectos, semillas defectuosas y quebradas y otros contaminantes, de manera que sólo permanezca la semilla pura en las muestras para un largo período de almacenamiento.

### Condiciones óptimas de almacenamiento

Se ha comprobado, en las últimas tres décadas, que el mantenimiento de la viabilidad de la semilla se puede extender considerablemente por medio de su almacenamiento a temperaturas bajas, con un bajo contenido de humedad en la semilla y a una baja concentración de oxígeno. En casos ocasionales unas pocas semillas han permanecido almacenadas en condiciones frías y secas por largos períodos de tiempo (inclusive, siglos) y aún retienen su viabilidad; esto confirma el hecho de que las semillas son una unidad de almacenamiento notablemente estable, mediante la cual es posible conservar información genética. En estudios cuantitativos se ha determinado el valor de la baja temperatura, la baja humedad y el bajo contenido de oxígeno para preservar las semillas, con poca pérdida de viabilidad. La consideración de estos factores llevó a Roberts (2) a proponer la siguiente ecuación para relacionar el período de viabilidad de la semilla con la temperatura y el contenido de humedad bajo condiciones de almacenamiento:

$$\log \bar{p} = k_v - C_1 m - C_2 t \quad \text{donde}$$

- p es el período promedio de viabilidad; en la mayoría de las circunstancias, es el tiempo que se necesita para que el 50 por ciento de la semilla pierda su viabilidad;
- m es el contenido de humedad de la semilla, determinado por los métodos recomendados por la International Seed Testing Association;
- t es la temperatura en grados centígrado; y  $k_v$ ,  $C_1$  y  $C_2$  son constantes determinadas experimentalmente, con los valores 6,531, 0,159 y 0,069, respectivamente, para el caso del arroz.

Esta ecuación ha demostrado ser útil para estimar el período de viabilidad de un número de especies en rangos de temperatura de 0 a 40°C y contenidos de humedad de 5 al 25 por ciento (peso fresco). Se han obtenido nomógrafos basados en la ecuación para arroz, trigo, cebada, frijoles y guisantes, para estimar: 1) el período de tiempo en el cual la viabilidad de la semilla disminuirá a un cierto nivel, a una determinada temperatura y contenido de humedad; ó 2) las diversas combinaciones de temperaturas de almacenamiento y contenido de humedad que son necesarias para mantener la viabilidad de la semilla sobre un cierto valor, para un período dado.

Desafortunadamente, esta ecuación no se ha aplicado, ni aún para las principales especies forrajeras, hasta un punto en el cual las constantes experimentales de la ecuación de Roberts puedan ser determinadas y se puedan diseñar nomógrafos fáciles de usar. Boyce y Crawford (1976, comunicación

personal) informaron sobre la iniciación de experimentos por períodos largos en los cuales se examinarán los siguientes géneros para determinar su viabilidad, después del almacenamiento a 4°C y -10°C: *Astragalus* (varias especies), *Lotus* (5 especies), *Medicago* (44 especies), *Trifolium* (46 especies), *Trigonella* (12 especies). Es necesario hacer experimentos similares para las leguminosas tropicales que son de interés para los programas nacionales e internacionales.

Sin embargo, ya es posible enumerar las condiciones que se consideran como excelentes para el almacenamiento de semillas durante un período largo. El International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) las ha resumido de la siguiente manera (para más información véase el Apéndice 7):

- a. Temperatura mantenida a -20°C, aunque se puede usar a -10°C.
- b. Contenido de humedad de la semilla de aproximadamente un 5 por ciento (en base a peso fresco).
- c. Mantener las semillas en recipientes sellados (frascos de vidrio, envases de metal o paquetes de aluminio laminado).

No todas las instituciones o centros nacionales de colección de germoplasma disponen de cuartos fríos a -20°C, al iniciar sus operaciones. El establecimiento de un cuarto de almacenamiento, para períodos cortos a 0°C o inclusive a 10°C, mediante el uso de unidades portátiles de aire acondicionado o refrigeración es un primer paso práctico que puede ayudar a la conservación de materiales genéticos valiosos, por un cierto número de años. De manera similar, es posible que no sea práctico (o inclusive, deseable) reducir la humedad de la semilla hasta un nivel del 5 por ciento; el 8 por ciento puede resultar perfectamente aceptable. Sin embargo, no hay excusa para no usar recipientes sellados, ya que éstos evitarían una recuperación accidental de la humedad, cuando falle la refrigeración. El uso de paquetes de aluminio laminado es muy recomendable ya que estos son económicos, irrompibles y fáciles de almacenar\*.

El secamiento de las semillas se puede realizar sin necesidad de un equipo costoso por medio de gabinetes secadores y gel sílica. En el CIAT se ha desarrollado un sistema mediante el cual 2000 g de semillas de tamaño grande (*Phaseolus vulgaris*) pueden ser reducidos de un contenido inicial de humedad de 15 - 18 por ciento a menos del 7 por ciento durante un período de secamiento de siete días a 26-28°C con gel sílica. Las semillas pequeñas de forrajes se secan aún más rápidamente. Se utilizó un secador de laboratorio, de vidrio y acero inoxidable con puertas provistas de empaques y con estanterías de acero inoxidable (costo de US\$150), pero también debe ser posible usar un gabinete menos costoso, construido localmente.

\* Es posible obtener paquetes laminados, de un tamaño de 12 x 16 cm hasta 25 x 50 cm (y aún más grandes), que permiten incluir cinco líneas de información impresa (por ejemplo, Número de la accesión \_\_\_\_; Nombre de la especie: \_\_\_\_; Fecha de almacenamiento \_\_\_\_; Peso inicial \_\_\_\_; Remoción de la semilla y cantidad \_\_\_\_). Estos paquetes se pueden adquirir en Disbrow Envelope Corp., 25 Linden Avenue, East Jersey City, N.J. 07305, U.S.A. También se pueden adquirir en Kalle, P.O. Box 9165, D-6202 Weisbaden-Biebrich, Alemania Occidental.

Se debe anotar que los métodos para determinar el contenido de humedad de las semillas ha sido definido con precisión por la International Seed Testing Association (ISTA) y se deberían seguir en todos los centros de recursos genéticos. Brevemente, el método para forrajes es el siguiente (3):

- a. Se tritura en un molino de 4 a 5 g de muestra para obtener un polvo muy fino; la muestra no se debe calentar.
- b. En un horno a  $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 1 hora, se secan submuestras duplicadas del material molido. Se deben usar recipientes de peso conocido (vidrio o aluminio) con tapas que cierren a presión; se pesan los recipientes y se ajusta el peso de la muestra al miligramo (0,001 g).
- c. Después de secarla, se le coloca la tapa al recipiente y se deja enfriar.
- d. Se pesan las muestras secas y se calcula el contenido de humedad mediante la fórmula.

$$\text{Contenido de humedad} = \frac{(M_2 - M_3) \times 100}{(M_2 - M_1)} \quad \text{donde}$$

$M_1$  = peso en gramos del recipiente y su tapa

$M_2$  = peso del recipiente, su tapa y la muestra del suelo antes de secarla

$M_3$  = peso del recipiente, su tapa y la muestra después de secarla.

- e. La diferencia en los contenidos de humedad determinada en las dos submuestras no debe exceder al 0,2 por ciento (valor absoluto). El contenido de humedad se expresa como la media aritmética de las determinaciones duplicadas.

## Pruebas Durante el Almacenamiento

Tanto al comienzo como a intervalos apropiados durante el almacenamiento, los lotes individuales de semilla (germoplasma de accesiones) se deben probar para determinar su viabilidad. A medida que la viabilidad de las semillas disminuye con el tiempo de almacenamiento, la frecuencia de mutaciones en el resto de las semillas viables aumenta hasta un punto en el cual ya no es realmente representativa del material original. Este es un principio básico en relación con la preservación del germoplasma. Para minimizar estos cambios graduales en la composición genética de la población de semillas, es necesario remultiplicar las semillas cuando la viabilidad del lote disminuye a menos del 90 por ciento y también en aquellas especies "difíciles" con una viabilidad inicial más baja en las cuales sea fácil observar que la viabilidad disminuye en un 10 por ciento.

La viabilidad se determina en una de dos formas. Los métodos están claramente descritos en las Reglas Internacionales para Exámenes de Semillas.



Estas se pueden resumir de la siguiente manera:

### Pruebas de germinación

Se pueden hacer utilizando diferentes medios (papel absorbente, arena, tierra) y en cualquier tipo de gabinete de germinación que permita conservar alta humedad y tener un control de la temperatura a los niveles necesarios. No se requiere tener equipos costosos pero es esencial tener mucho cuidado al hacer las pruebas y al examinar las plántulas.

Las semillas se pueden sembrar en arena limpia lavada o en tierra fértil, homogénea y estéril pero, por conveniencia en la labor de medir el desarrollo de las raíces de las plántulas y en mantener una humedad uniformemente alta, se recomienda el uso de papel secante. La germinación se puede hacer en medio de dos hojas de papel de germinación (las cuales, más tarde, después de distribuir las semillas, se podrán enrollar para facilitar su colocación en el gabinete de germinación), o bien, sobre papel secante colocado en bandejas o en papel de cera para retener la humedad. En cualquier caso, se deben utilizar 25 o 50 semillas por cada papel de 25 x 38 cm (10 x 15"). Sería conveniente disponer de una mesa para recuento (con un recolector de semilla que opera al vacío, si se dispone de este aparato) para espaciar uniformemente el número requerido de semillas. Se recomienda el uso de agua desionizada para humedecer los papeles. Después de que las semillas han sido colocadas sobre el papel, la germinación se lleva a cabo en un gabinete el cual permita mantener temperaturas constantes o alternantes y una alta humedad relativa. Se recomienda utilizar bombillos blancos y fríos de luz fluorescente para la germinación de algunas semillas.

El Apéndice 8 resume las recomendaciones del ISTA para la germinación de algunas semillas de leguminosas y gramíneas forrajeras, aunque de ninguna manera pretende ser una lista completa para los forrajes tropicales.

En el Capítulo VII se incluyen algunos métodos adicionales para obtener una mejor germinación de semilla de forrajes (por ejemplo, por escarificación). En los casos en que la permeabilidad de la cobertura de la semilla lo permite (o después de la escarificación), el procedimiento de humedecer la semilla y luego enfriarla a 4°C produce una "estratificación" dentro de la semilla, la cual puede romper el período de reposo fisiológico de la misma y aumentar su germinación. Se ha encontrado que algunos productos químicos diferentes al nitrato (por ejemplo, nitrito, ácido giberélico, reactivos sulfhídricos) rompen el período de reposo en algunas especies y se deberían investigar a fondo con semillas de plantas forrajeras.

Después de que ha transcurrido el período apropiado de germinación se deben examinar las plántulas para constatar la presencia de anomalías, las cuales pueden ser de diferentes tipos; por ejemplo:

- Raíz primaria delgada y débil, larga o corta (Ic)\*
- Raíz primaria dividida o dañada longitudinalmente, con raíces adventicias y laterales débiles (Ilg)
- Hipocotilo corto y grueso, enroscado o volteado hacia arriba o bien, con apariencia acuosa (IIa)
- Sin hojas primarias, con o sin brote apical o yemas axilares; o faltando más de la mitad del área total de las hojas primarias; o en incapacidad de funcionar normalmente; o con sólo una hoja primaria y evidencia de daños en el brote apical (IIg)
- Coleoptilo y hojas primarias mostrando superalargamiento, palidez o apariencia acuosa (IIIe)
- Cotiledones de color gris (IVf) o hinchados y con coloración negruzca (IVg)
- Pudrición de los cotiledones, hipocotilo, epicotilo o tallo, raíz primaria (Va, b, c, e).

Además, es necesario contar las plántulas deformes o anormales y todas las semillas muertas (no simplemente las que están en período de reposo). Con base en estos recuentos, la germinación se expresa en porcentaje, dividiendo el número de plantas normales (N) entre el número total de semillas examinadas en ese lote (T), o sea,

$$\text{germinación} = 100 N/T = 100 (T-A-D)/T \quad \text{donde}$$

A = número de plántas anormales y

D = número de semillas muertas

### Ensayos bioquímicos

Estos exámenes se hacen con el objeto de determinar rápidamente la viabilidad de las semillas que normalmente germinan con lentitud o que muestran estar en su período de reposo. La prueba del tetrazolio se basa en la coloración producida al hidrogenar (reducir) el compuesto incoloro cloruro de 2, 3, 5-trifenil-tetrazolio mediante procesos que ocurren en células vivas y que forman una sustancia roja, estable, no difusible (trifenil-formazan). De esta manera, es posible distinguir las partes vivientes, rojizas, de las semillas, de aquellas partes muertas, incoloras. Las semillas pueden variar desde las viables, completamente teñidas, hasta las no viables, completamente sin tinción, y una

\* Los números y las letras entre paréntesis se refieren a artículos incluidos en la lista completa de categorías del ISTA, la cual debe ser consultada.

variedad de semillas parcialmente teñidas. La posición y tamaño relativo de las áreas no teñidas en el embrión y/o endospermo (no la intensidad del color rojo) determinan si una semilla se puede clasificar como viable o no. Se debe anotar que la prueba del tetrazolio no es válida para semillas previamente germinadas, independientemente de que éstas se hayan vuelto a secar.

La prueba del tetrazolio consiste en impregnar las semillas en una solución al 1 por ciento de cloruro (o bromuro) de 2, 3, 5-trifenil-tetrazolio a 30°C en completa oscuridad, por un período que haya sido encontrado apropiado para las especies que están bajo observación. Las semillas se remojan en agua y se examinan cuando están húmedas. Cada semilla se inspecciona y se clasifica como viable o no viable, con base en el patrón de manchas que presente. Las Reglas para Examinar Semillas del ISTA (1976) no establecen directrices específicas para las plantas forrajeras tropicales, pero las instrucciones 6, 5.2.A.26 (para *Medicago* spp., *Trifolium* spp., etc.) se pueden usar como guía:

1. Las semillas se sumergen en agua durante 18-20 horas, tomando en cuenta que es necesario separar el pericarpio de las semillas de ciertas especies antes de sumergirlas.
2. Las semillas túrgidas se sumergen en una solución de tetrazolio durante 24 horas.
3. Se anota el número de semillas que permanecen duras y se les practica un corte pequeño en la cubierta de la semilla, en el extremo opuesto a la radícula. Estas se sumergen en agua hasta que se hinchen y se sumergen en tetrazolio, como en el paso número 2.
4. Se decanta la solución de tetrazolio y las semillas se remojan en agua. Las semillas se separan para su inspección pero se deben conservar húmedas.
5. La cubierta de la semilla se separa del embrión; también la unión de los cotiledones y el eje de la radícula del hipocotilo, en la dirección de la punta de la radícula. Se anota el número de semillas rotas; por ejemplo, aquellas con embriones que no muestran conexión entre la radícula y ambos cotiledones.
6. Se examina cada semilla individualmente, y se consideran como viables aquellas que tengan una de las siguientes características:
  - Embrión completamente teñido.
  - Embrión mostrando una parte sin teñir en el extremo de la radícula, extendiéndose a no más de la mitad de la longitud de la misma.
  - Embrión mostrando partes sin teñir en el vértice o en los lados de los

cotiledones, que cubren la mitad de los dos cotiledones en la zona opuesta a su unión con el eje hipocotilo-radícula.

- Embrión mostrando secciones sin teñir en la cara interna de los cotiledones, únicamente en su parte inferior (en las partes opuestas a su unión).
- Los casos b, c y d combinados.

7. Para calcular la viabilidad, se suman las semillas clasificadas como viables tanto de las semillas túrgidas como de las duras. Además, se debe indicar el porcentaje de semillas duras y el número de éstas que sean viables.

## **Control del Inventario y de la Información sobre Pruebas Efectuadas**

Es evidente que en cualquier banco activo de germoplasma vegetal se genera abundante información acerca del estado actual de los inventarios de semillas; esta información debe estar fácilmente disponible para ser utilizada como referencia. Los resultados de las pruebas de germinación de la semilla y/o de las pruebas de viabilidad, las cuales se hacen periódicamente durante el almacenamiento de las semillas, también pueden alcanzar un gran volumen en un período corto de tiempo y pueden perderse fácilmente, a menos que se establezca un sistema más o menos automático para recobrar esa información con rapidez y exactitud.

Por estas razones, se recomienda que, en las etapas iniciales de planeación de un centro de recursos genéticos o de un banco de germoplasma, se considere el establecimiento de un sistema computadorizado para manejar y mantener actualizada toda la información relacionada con los inventarios de semillas. Esta información debe incluir la cantidad de semilla actualmente disponible de cada accesión, la fecha de su último examen, la germinación y la viabilidad de la semilla en el momento en que se hizo tal examen. También, es conveniente diseñar un sistema el cual permita determinar en un momento dado que, las existencias en los inventarios están muy bajas o bien que, la viabilidad de las semillas se encuentra a un nivel tal que es necesario hacer una nueva multiplicación de las mismas. El sistema EXIR/TAXIR ha sido desarrollado con el apoyo del IBPGR y satisface todos los requerimientos mencionados.

El Servicio de Información/Programa de Recursos Genéticos de la Universidad de Colorado, Boulder, Colorado 80309, E.E.U.U. provee asesoría para definir el sistema más conveniente para un determinado proyecto de colección de germoplasma que se proyecte establecer.

## **Cooperación Internacional**

Las colecciones de germoplasma de plantas forrajeras, incluyendo las que se llevan a cabo en universidades privadas y en otras instituciones nacionales

ligadas a la agricultura, se deben considerar como un recurso técnico valioso para toda la humanidad. Por tal motivo, se deben hacer esfuerzos para divulgar información acerca de la naturaleza de las accesiones, de tal manera que los investigadores calificados o los centros regionales de recursos genéticos que estén interesados en obtener nuevos materiales genéticos puedan solicitar y obtener determinado germoplasma el cual consideren útil para los programas de mejoramiento de plantas y de introducción de materiales promisorios. Para facilitar la transferencia de información y, posteriormente, la transferencia del germoplasma, se recomienda la preparación y distribución de catálogos, o por lo menos, de descripciones de las colecciones que se hagan. Es muy conveniente enviar copias de esta información a la Secretaria del IBPGR, FAO Roma; este organismo podrá reproducir y distribuir esta información a través del Boletín del IBPGR y de otros medios de difusión.

Para prevenir que un desastre imprevisto destruya valiosas colecciones de germoplasma, es muy conveniente mantener duplicados de las muestras en un segundo centro de recursos genéticos. Generalmente, tales duplicados no se distribuyen ya que éste está bajo la responsabilidad del centro primario, pero los duplicados están disponibles cuando los necesite el centro primario. Es posible establecer por convenio previo, que el segundo centro adquiera la responsabilidad regional de hacer colecciones de germoplasma. En general, el segundo centro no tiene la responsabilidad de multiplicar la semilla de las accesiones que se mantienen en duplicado de la colección básica del centro primario. Se ha comenzado la planeación para establecer en el CIAT un duplicado de la colección de plantas leguminosas forrajeras tropicales que tiene el CSIRO, Townsville, Australia; en esta forma, este germoplasma estará más fácilmente disponible en América Latina.

## LITERATURA CITADA

1. Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. O.H. Frankel y J.G. Hawkes, Ed., Cambridge University Press, 1975.
2. Viability of Seeds. E.H. Roberts, Ed., Syracuse University Press, 1972.
3. Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas, ISTA, publicadas en Seed Sci. Tech. 4 (no. 1), 1976. Disponibles en Inglés, Español, Francés y Alemán, ISTA, Box 68, 1432 As-NLH, Norway.



# X

## MANEJO DE LA INFORMACION

*L. Song and K. Rawal*

Es necesario hacer énfasis nuevamente en dos puntos importantes hechos en la introducción de este Manual, relacionado con el manejo de datos — preservación y recuperación de la información. En primer lugar, es imperativo adoptar desde un principio una forma de manejo de datos para los recursos genéticos vegetales, anticipándose al creciente número de accesiones que estarán disponibles a través del tiempo. En segundo lugar, sería deseable estandarizar los sistemas de registro de datos y este esfuerzo se debe hacer en los bancos de germoplasma de forrajes, puesto que apenas están comenzando a progresar.

En las diversas partes de las actividades de los centros de recursos genéticos (tales como la colección, almacenamiento o mantenimiento, evaluación y distribución) la información colectada se debe registrar en una forma tal, la cual permita una fácil recuperación e interpretación de los datos.

Dicha información, correctamente manejada, actuaría como puente entre el germoplasma en sí y los usuarios. Esto resultaría en la accesibilidad de la información para el colector de germoplasma y para otros investigadores que trabajan en la misma área.

### **Registro y Codificación de Datos**

El primer paso en el manejo de datos es la colección de la información. Este aspecto ha sido cubierto en la mayoría de los capítulos de este manual, utilizando un formato desarrollado por los Servicios de Información/Programa de Recursos Genéticos, Universidad de Colorado, Boulder, Colorado. Por ejemplo, en el Capítulo III se describe la manera como se podría utilizar este formato en el registro de datos durante la colección en el campo. Una ventaja de este formato es la facilidad de revisar con referencia cruzada la información codificada. Otra ventaja es la libre escogencia de la cantidad de información que

el colector desea registrar en el campo, teniendo en cuenta que el objetivo central de la salida al campo generalmente es coleccionar materiales en vez de toda la información. Una vez coleccionada la información, se puede codificar directamente al lado derecho respectivo de la página. Posteriormente, esta información puede entrar al computador bajo un sistema de formato fijo o libre. El uso de un sistema de formato libre ofrece ventajas en este caso, puesto que la cantidad de información coleccionada en el campo es variable. Por consiguiente, al asignar un valor (información coleccionada) y un identificador (número descriptor), cada muestra portará su propio juego de datos de colección. Este sistema proporciona la flexibilidad necesaria para registrar cualquier cantidad de información sobre la muestra, en un momento dado.

El siguiente paso que requiere ser mejorado es la entrada de los datos al computador. Frecuentemente, los datos codificados se perforan en tarjetas de computador de 80 columnas. Este sistema presenta pocos problemas si la información se puede revisar sistemáticamente para detectar errores. Sin embargo, desde hace poco tiempo se están desarrollando grabadoras electrónicas portátiles capaces de grabar información en un sistema alfa-numérico, las cuales permiten la entrada directa y almacenamiento de información en el lugar. En algunos centros se está probando, en la actualidad, este equipo para su aplicación en el manejo de datos de germoplasma (por ejemplo en la Universidad de Washington). La entrada directa de datos también es posible y poco costosa, a través de la utilización de diversos terminales de computador; existen varios tipos de minicomputadores los cuales pueden servir como dispositivos intermedios para la entrada de los datos.

## **Estandarización de los Datos**

En el desarrollo del "lenguaje de la comunicación" de datos entre científicos dedicados a los recursos genéticos, se debe hacer mucho énfasis en la definición de los descriptores utilizados por los científicos. Dicho objetivo eventualmente conduciría a la estandarización de datos los cuales podrían ser fácilmente interpretados por los usuarios.

Se pueden obtener datos consistentes y confiables si los científicos involucrados en la colección de datos siguen definiciones y medidas estándar. Por ejemplo, la utilización de un sistema de referencia estándar (ilustraciones, códigos, escalas, etc.) podría resolver algunos problemas creados por los idiomas. Un buen ejemplo para ilustrar este caso es la utilización de un código de seis letras para identificar al país de origen del germoplasma (Apéndice 9).

Sin embargo, la situación con germoplasma de forrajes tropicales sería mucho más sencilla si todos los descriptores de importancia y sus definiciones se les enviaran a todos los usuarios en la forma de "paquetes". Como primer paso, se propone utilizar la lista de descriptores y el número de sus códigos, presentes en el Apéndice 1 junto con sus definiciones en el Apéndice 2. Aquellos quienes



estén interesados en compartir sus datos deben seguir la lista de descriptores, su respectivo número de código y sus definiciones. Al respecto, este Manual serviría como guía para la colección y preparación de datos sobre el germoplasma de forrajes tropicales. Cuando, en algunos casos, hay ciertos descriptores y/o sus definiciones que no se presentan de la misma manera, es necesario hacer anotaciones adicionales. Se espera que todos los participantes en esta red de información sigan el sistema común esbozado en este Manual.

## **Actualización y Recuperación de la Información**

El sistema de información también debe permitir la adición, supresión o actualización de datos y debe permitir la recuperación y análisis de dicha información. Por lo tanto, los usuarios deben poder interactuar con el sistema a través de su idioma común (por ejemplo, inglés, español, portugués), y no tener que recurrir a lenguajes de computador (por ejemplo, FORTRAN IV, BASIC, COBOL) para localizar materiales de germoplasma a través de la red.

Se ha logrado un considerable progreso en lo que respecta a la estandarización de la recuperación de información. En la actualidad, existen programas de computador los cuales se están utilizando en diversos centros de germoplasma y los cuales pueden realizar recuperación de información, en particular el Programa Ejecutivo de Recuperación de Información (EXIR) desarrollado en la Universidad de Colorado en Boulder. Este programa también está disponible en paquetes más pequeños para ciertos minicomputadores. También existen otros paquetes de recuperación de información: en el Instituto John Innes se desarrolló un sistema para la colección de especies de *Pisum* y en el Institut für Pflanzbau Staatgutforschung der Fal en la República de Alemania, se ha utilizado el sistema GOLEM. Otros programas que se pueden mencionar son los paquetes EASYTHRIEVE (utilizado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos) e INFOL (utilizado por CSIRO, Australia). Además de éstos, hay otra serie de paquetes de computador (por ejemplo SAS, SPSS) los cuales pueden hacer análisis estadístico de datos. A pesar de que existe un gran número de paquetes de computador, cada día se siente una mayor necesidad de disponer de programas de computador más pequeños, de bajo costo y de amplia aplicación, especialmente diseñados para el trabajo con germoplasma.

## **Acceso a la Información y Comunicación**

El acceso a los datos colectados por los participantes de la red de germoplasma de forrajes tropicales se puede facilitar mediante la creación de centros de servicios de datos, equipados con un sistema de información computadorizado. Lo más indicado, pero no necesario, sería que dicho centro estuviera asociado con los sitios en donde se mantienen las colecciones de materiales. El centro ayudaría en el manejo de los datos proporcionando facilidades, personal y los expertos necesarios en sistemas de información. El centro se ocuparía de aspectos tales como el registro de datos, su análisis, recuperación y

comunicación. El centro le evitaría a los científicos dedicados a los trabajos con germoplasma tener que dedicarse a tareas asociadas con el procesamiento manual de los datos, lo cual toma mucho tiempo. El centro también podría enseñar a los científicos como simplificar sus propios procedimientos para el manejo de datos.

La comunicación de información sobre germoplasma es básica para el concepto de dicho centro. La comunicación establecida por dicho centro permitiría el acceso fácil y eficiente a los materiales. Además de procesar solicitudes específicas para el análisis de datos, el centro proporcionaría diversos documentos de referencia de interés más general para la comunidad de recursos genéticos. Por ejemplo, a través de anuncios se podría mantener una comunicación actualizada sobre el germoplasma disponible, como también sobre nuevas accesiones de interés especial para los fitomejoradores y otros científicos. Otros documentos de comunicación incluirían la publicación de resúmenes de datos generales sobre germoplasma de forrajes tropicales mantenido en diversos lugares. También se incluirían directorios específicos de cultivos, los cuales son documentos muy detallados, con listas comunes de descriptores, sus definiciones y datos colectados.

Los métodos que facilitan el acceso a la información y a la comunicación ayudan a que la gente se entere de la existencia del germoplasma de forrajes tropicales y del estado de su colección en diversos lugares. La información sobre dicho germoplasma, cuidadosamente registrada, actualizada cuando sea necesario y de fácil recuperación para su distribución, indudablemente agregaría una nueva dimensión al valor del germoplasma colectado.

## APENDICES

### Apéndice 1. Lista de descriptores para la colección y evaluación de germoplasma de forrajes\*.

No.	Descriptor	Código
<b>INFORMACION GENERAL Y LOCALIZACION</b>		
1	Patrocinador de la colección	1   : : : : : : : : : : : : : :
2	Institución colectora	2   : : : : : : : : : : : : : :
3	Nombre del Colector/Equipo	3   : : : : : : : : : : : : : :
4	País	4   : : : : : : : : : : : : : :
5	Punto principal de depósito	5   : : : : : : : : : : : : : :
6	Número del colector	6   : : : : : : : : : : : : : :
7	Número de la adquisición (Identificador Intl.)	7   : : : : : : : : : : : : : :
8	Otro número	8   : : : : : : : : : : : : : :
9	Fecha: Día-Mes-Año	9   :     :     :
10	Género	10   : : : : : : : : : : : : : :
11	Especie	11   : : : : : : : : : : : : : :
12	Nombre local	12   : : : : : : : : : : : : : :
13	Fuente de la muestra: Campo - Institución	13     F o

\* Adaptado de Rawal, Kanti: 1977. Una forma de reunir información para colecciones de germoplasma. IS/GR Tech. Bull. No. 7, University of Colorado, Boulder.





## DESCRIPTORES PARA LAS CARACTERISTICAS DEL SUELO

80	Textura del suelo	80	
81	Color de la superficie del suelo	81	
82	Drenaje del suelo (1-7)	82	
83	pH de la solución del suelo (1-4), pH	83	
84	Salinidad del suelo, mmhos/cm	84	: : :
85	P (ppm) - especificar extracto	85	: : :     : : : : :
86	Ca (meq/100 g) - especificar extracto	86	: : :     : : : : :
87	Mg (meq/100 g) - especificar extracto	87	: : :     : : : : :
88	K (meq/100 g) - especificar extracto	88	: : :     : : : : :
89	Al (meq/100 g) - especificar extracto	89	: : :     : : : : :
90	CIC efectiva (meq/100 g) - especificar extracto	90	: : :     : : : : :
91	Porcentaje de saturación de Al	91	:
92	Otros nutrimentos: cantidad	92	:     : :     :     : : :
93-99	Abierto		

## DESCRIPTORES PARA RHIZOBIUM

100-199 Abierto

## DESCRIPTORES PARA INSECTOS Y ENFERMEDADES

200	Insectos, tipo	200	: : : : : : : : : :
201	Insectos, parte de la planta	201	
202	Insectos, tolerancia de la planta	202	



321	Drenaje del suelo	321	
322	pH del suelo	322	:
323	Salinidad del suelo, mmhos/cm	323	: :
324	P (ppm) - especificar extracto	324	: : :     : : : : : : : :
325	Ca (meq/100 g) - especificar extracto	325	: : :     : : : : : : : :
326	Mg (meq/100 g) - especificar extracto	326	: : :     : : : : : : : :
327	K (meq/100 g) - especificar extracto	327	: : :     : : : : : : : :
328	Al (meq/100 g) - especificar extracto	328	: : :     : : : : : : : :
329	CIC efectiva (meq/100 g) - especificar extracto	329	: : :     : : : : : : : :
330	Porcentaje de saturación de Al.	330	:
331	Otros nutrimentos: cantidad	331	:     : :     :     : :
332	Fertilizante aplicado Kg de elemento/ha	332	: :   N   : :   P   : :   K
333	Cal aplicada (Cálcica o Dolomítica) (Kg/ha)	333	C or D   : : : :
334-339	Abierto		

### DESCRITORES PARA LOS PROCEDIMIENTOS DE SIEMBRA

340	Siembra en el laboratorio, día - mes - año	340	: : : : : : :     :   :   :
341	Siembra en el invernadero - día, mes, año	341	: : : : : : :     :   :   :
342	Siembra en el campo - día, mes, año	342	: : : : : : :     :   :   :
343	Configuración de la parcela, tamaño	343	: : : : : : : :



344	No. de repeticiones	344	.   :
345	Supervivencia de las plántulas	345	
346	Vigor de las plántulas	346	
347	Exito del establecimiento	347	
348-359	Abierto		

**DESCRIPTORES PARA EL  
CRECIMIENTO Y LA FLORACION**

360	Espécimen de herbario, No.	360	: : : : : : : : : : : : : : :
361	Longevidad	361	
362	Forma de vida (1-7)	362	
363	Hábito de crecimiento	363	
364	Tipo de floración	364	
365	Hábito de enraizamiento	365	:
366	Nodulación, parte de la raíz	366	
367	Nodulación, actividad	367	
368	Mecanismo de rebrote	368	
			J F M A M J J A S O N D
369	Capacidad de rebrote	369	: : : : : : : : : : : : :
370	Vigor general	370	: : : : : : : : : : : : :
371	Follaje	371	: : : : : : : : : : : : :
372	Deciduo - indicar meses	372	: : : : : : : : : : : : :
373	Tolerancia a heladas	373	: : : : : : : : : : : : :
374	Tolerancia al frío	374	: : : : : : : : : : : : :
375	Tolerancia a la sequía	375	: : : : : : : : : : : : :
376	Tolerancia al volcamiento por agua	376	: : : : : : : : : : : : :
377	Tolerancia a inundaciones	377	: : : : : : : : : : : : :
378	Floración	378	: : : : : : : : : : : : :
379	Estimativo de productividad, introducción	379	: : : : : : : : : : : : :
380	Estimativo de productividad, testigo	380	: : : : : : : : : : : : :

381	Diseminación de la planta, introducción	381		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
382	Diseminación de la planta, testigo	382		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
383	Proteína cruda (%)	383		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
384	Digestibilidad, IVOMD (%)	384		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
385-389	Abierto																				

### DESCRIPTORES PARA LAS CARACTERISTICAS DEL HABITO DE PRODUCCION DE SEMILLA

				J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D						
390	Producción de semilla	390		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
391	Resistencia a dispersarse	391																			
392	Germinación de semillas caídas	392																			
393	Calidad de las semillas	393																			
394	Tolerancia de las semillas a los insectos	394																			
395	Tolerancia de las semillas a las enfermedades	395																			
396	Tamaño de las semillas (mg/100 semillas)	396		:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	

### Apéndice 2. Diccionario de descriptores para la colección y evaluación del germoplasma de forrajes\*.

**Información General y Localización.** Los primeros 32 descriptores se consideran esenciales y representan la mínima información requerida. Los descriptores 1, 2, 3, 4 y 5 se incluyen para propósitos administrativos y de identificación. Estos descriptores podrían ser impresos posteriormente en el formato por la institución a cargo de la colección.

6. **El número asignado por el colector.** Este es el número asignado por el colector en el campo y debe identificar tanto al individuo como también a las muestras

\* En este diccionario no se incluyen los descriptores cuya definición está implícita.

colectadas, mediante un número secuencial que le es asignado. Por ejemplo, Joaquín Santos, muestra número 1285, se registraría como JS 1285, un descriptor alfa-numérico.

7. **El número de accesión** es un factor descriptivo alfa-numérico que incluye, en su prefijo, un código alfa-numérico que identifica el país, seguido de un número asignado por la organización nacional de colección en ese país. Ejemplo: BRASIL 27824. Véase el Apéndice 9 para los códigos alfabéticos IS-GR correspondientes a los países del mundo.
8. **Otro número** puede ser el asignado por otro colector o institución al mismo genotipo (especimen de herbario, colección de *Rhizobium*, etc.). Este número puede ser útil en referencias cruzadas.
9. **El día, mes y año** en que se hizo la colección.
10. **El género**, si es conocido o asignado posteriormente, antes de proceder a la perforación de las tarjetas del computador.
11. **La especie**, si es conocida o asignada posteriormente, antes de proceder a la perforación de las tarjetas del computador.
12. **El nombre local de la planta**, es el nombre dado a ésta por la gente de la región, el cual puede ser muy valioso para localizar la especie en futuros viajes de colección.
13. **La fuente de la muestra** debe indicar si la planta o la muestra fue colectada en el campo (F) o si fue obtenida a través de otra institución o estación experimental (I).
14. **La localidad** se debe determinar en la forma más precisa posible, indicando a cuántos kilómetros se encuentra, en cierta dirección, **desde (F) o hasta (T)** el poblado más cercano (descriptor 15).
15. **El pueblo más cercano** está incluido en el descriptor 14. Para facilidad la reubicación de la localidad, los colectores deben utilizar los nombres incluidos en el Times Atlas of the World (edición completa).
16. y 17. **Distrito/condado (o municipio) y provincia/estado** pueden ser obtenidos en mapas o atlas geográficos, o bien obteniendo información en cada localidad.
18. **El grupo étnico** se refiere a la clasificación específica de las poblaciones nativas residentes en el área en la cual se obtuvo la muestra.
19. y 20. **La latitud y longitud** deben ser anotadas por el colector (grados, Dg; minutos, Min) en su sede de trabajo. Cuando se necesite localizar con exactitud el sitio de colección, preferiblemente se deben consultar mapas de referencia con escalas de 1:250.000 ó mayores.
21. **El nombre del donante** se refiere al nombre de la institución o del individuo de quien se obtuvo la muestra.
22. **El número del donante** es el número de colección asignado por el donante.

23. **La fuente del donante se refiere al lugar en donde el donante obtuvo la muestra.**
24. **La planta colectada se refiere a la forma de propagación del material colectado, ya sea semilla o material vegetativo; el colector encontrará un espacio para hacer la anotación.**

**Habitat Natural y Vegetación del Area.** Este grupo de descriptores proporciona información acerca del ambiente y es indispensable para realizar estudios futuros sobre las interacciones agronómico-ambientales y para la selección de ecotipos adaptados de plantas forrajeras provenientes de nichos ecológicos específicos. Es preferible anotar los tres primeros descriptores (40-42) en la sede de trabajo y los últimos cinco (43-47) en el campo, ya que éstos sólo se pueden completar observando detenidamente el sitio de colección.

40. **Precipitación anual.**
41. **La estacionalidad de la lluvia se debe identificar como la época en la cual ocurre la precipitación:**
- 1) todas las estaciones (A)
  - 2) sequía durante el verano (B)
  - 3) sequía durante el invierno (W)
  - 4) sequía en todas las estaciones (D)
- Si se conoce el número de meses secos, se debe anotar.
42. **La altitud se puede obtener en mapas topográficos, o bien utilizando altímetros bien calibrados.**
43. **La topografía se describe como:**
- 1) terreno pantanoso (S)
  - 2) llanura inundada (F)
  - 3) terreno plano (L)
  - 4) terreno ondulado (U)
  - 5) colinas (H)
  - 6) área montañosa (M)
  - 7) otra (O). El formato tiene espacio por si ninguna de las anteriores seis descripciones topográficas se aplica al caso.
44. **El tipo de vegetación se describe como:**
- 1) bosque (F)
  - 2) pradera (G)
  - 3) desierto (D)
45. **El nombre local de la vegetación se debe anotar, si existe un único nombre descriptivo disponible. Ejemplo: cerrado, llanos, sabana, chaparral, etc.**

46. **El uso de la tierra puede ser descrito por una de ocho categorías:**

- 1) área recientemente removida (D)
- 2) pastos naturales (N)
- 3) pastos mejorados (I)
- 4) área cultivada (C)
- 5) borde de carretera (R)
- 6) borde de un manantial (W)
- 7) asentamiento (S)
- 8) otro (O). El formato tiene espacio para anotar otros usos de la tierra si ninguno de los primeros siete indicados se aplica al caso.

47. **El manejo puede ser uno de los siguientes:**

- 1) en desmonte (C)
- 2) en pastoreo de bovinos (B)
- 3) en pastoreo de ovejas (S)
- 4) en pastoreo de cabras (G)
- 5) arado (P)
- 6) riego (I)
- 7) quema (F)

Se provee espacio si ninguno de los anteriores procesos se aplica.

#### **Descriptorios para el Sitio Específico de Colección**

60. **La posición en el paisaje se puede describir como:**

- 1) baja (L)
- 2) media (M)
- 3) alta (H)

Se refiere a la posición del sitio de colección en relación con el paisaje global. Ejemplo: Si el sitio está en la mitad de una pendiente equivaldría a una posición media.

61. **La pendiente del sitio específico de colección puede describirse como:**

- |                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| 1) plano o casi plano (F)       | 0- 1°  |
| 2) pendiente suave (G)          | 1- 3°  |
| 3) inclinado (SL)               | 3- 7°  |
| 4) moderadamente pendiente (MS) | 7-14°  |
| 5) pendiente (ST)               | 14-29° |
| 6) muy pendiente (VST)          | >29°   |

De ser posible, la pendiente se debe determinar en términos cuantitativos mediante un nivel Abney o un instrumento similar.

62. **La orientación de la pendiente o el aspecto de un sitio inclinado puede ser anotado como un sector; por ejemplo: N, NE, E, SE, S, SW, W, NW, usando como**

referencia una línea paralela a la dirección de la pendiente máxima, tomada mirando hacia afuera. Las pendientes menores de 3° se pueden considerar como terreno plano.

63. **La cubierta del suelo** en el sitio de colección se estima dentro de un área de aproximadamente 1 m<sup>2</sup> alrededor de la planta, aunque esta área puede ser mayor o menor, dependiendo del tamaño de la planta. La cubierta del suelo se puede describir como:

1) descubierta (B)	
2) muy ligera (VT)	0- 19%
3) ligera (T)	20- 39%
4) moderada (M)	40- 59%
5) abundante (H)	60- 79%
6) muy abundante (VH)	80-100%

64. **El grado de sombra que recibe la planta** se estima de acuerdo a las siguientes categorías:

1) sin sombra (N)
2) muy suave (VS)
3) suave (S)
4) moderada (M)
5) fuerte (H)
6) completa (C)

65. **Sombra provista por**, se refiere a la fuente de la sombra indicada bajo el código 64:

1) malezas (W)
2) pastos (G)
3) arbustos (S)
4) árboles (T)
5) topografía (H)

Para este propósito, la topografía incluye edificios, puentes, desagües y otras obstrucciones lo mismo que barrancos y depresiones.

66. **Las especies objetivo** se refiere a las especies que motivan la colección (10, 11) y su **forma de vida** se debe anotar bajo una de las siguientes categorías.

1) árboles	>30 m
2) árboles	10-30 m
3) árboles	5-10 m
4) arbustos	2- 8 m
5) semiarbustos	0- 2 m
6) hierbas	> 1 m
7) hierbas	0- 1 m

67. **Los hábitos de crecimiento de las especies objetivo** se describen utilizando uno o más de los siguientes descriptores:

- |                      |   |
|----------------------|---|
| 1) postrado (P)      | reclinado en el suelo;  |
| 2) decumbente (D)    | reclinado en el suelo con terminal de crecimiento en ascenso;   |
| 3) erecto (E)        | casi vertical;  |
| 4) trepador (V)      | planta que se enreda sobre un soporte, con tentáculos o zarcillos para sujetarse;                                 |
| 5) sarmentoso (S)    | planta que produce vástagos largos, delgados, postrados;  |
| 6) liana (L)         | planta que enreda sobre un soporte; enredadera trepadora, sin tentáculos;   |
| 7) cespitoso (C)     | planta que crece formando un césped;  |
| 8) rizomatoso (R)    | planta cuyo tallo se arrastra bajo la superficie del suelo, capaz de producir nuevas ramificaciones en los nudos; |
| 9) estolonífero (ST) | planta con tallo que se arrastra sobre la superficie, que produce nuevas ramificaciones en los nudos;             |
| 10) subterráneo (RS) | planta con raíz subterránea que se expande bajo el suelo.   |

68. **Hábitos de formación de raíces de las especies objetivo.** El conocimiento de tales hábitos puede ser de interés dado que, entre diferentes especies y entre ecotipos de una misma especie, existe una gran variación en cuanto a los hábitos de formación de raíces. Las siguientes categorías incluyen todos los tipos de plantas forrajeras:

- 1) raíz principal profunda (DT)
- 2) raíz principal poco profunda (ST)
- 3) ramificación poco profunda (SS)
- 4) ramificación profunda (DS)
- 5) crecimiento fibroso (F)

69. **Estado de crecimiento de las especies objetivo,** se refiere al estado de crecimiento de la planta en el momento de la colección.

- 1) crecimiento vegetativo (V)
- 2) floración (A)
- 3) fructificación (F)

70. **Longevidad de las especies objetivo:**

- 1) anual (A)
- 2) bianual (B)
- 3) deciduo perenne (PD)
- 4) perenne, con verdor permanente (PE)

71. **Especies asociadas 1** se refiere a las especies que crecen con mayor frecuencia

en asociación con las especies objetivo. Se debe anotar su nombre botánico (si es conocido) o el nombre local comunmente usado.

72. La forma de vida de las especies asociadas 1 se debe anotar como en el descriptor 66.
73. y 74. Las segundas especies asociadas más frecuentes y su forma de vida, se deben anotar, como en los códigos 71 y 72.

#### **Descriptores para las Características del Suelo**

80. La textura del suelo se clasifica en el campo en una de cinco categorías:

- 1) arenosa (S)
- 2) limosa (L)
- 3) arcillosa (C)
- 4) orgánica (O)
- 5) rocosa (R)

81. Color de la superficie del suelo

- 1) rojo (R)
- 2) amarillo (Y)
- 3) pardo (B)
- 4) gris (G)

82. **Drenaje del suelo.** El concepto global de drenaje es amplio, incluyendo escorrentía, permeabilidad del suelo y drenaje interno del mismo. Las aguas de escorrentía constituyen, en este descriptor, el aspecto de importancia. A continuación se reproducen las siete categorías de suelos descritas en el Manual de Investigación sobre Suelos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (1951) relacionadas con la retención de agua en los suelos:

- 1) **Tierras con agua estancada.** Nada del agua acumulada sobre el suelo por precipitación o por gravedad, procedente de lotes adyacentes más altos se escapa por escorrentía. La cantidad total de agua que debe ser removida de áreas estancadas mediante remoción del suelo o por evaporación, es generalmente mayor que la precipitación total de aguas procedentes de la lluvia. Los estancamientos se producen como un fenómeno normal y pueden fluctuar estacionalmente.
- 2) **Tierras con drenaje muy deficiente.** El agua que se acumula en la superficie fluye con mucha lentitud y esto ocasiona que cierta cantidad de agua permanezca en la superficie por períodos largos de tiempo. El nivel freático está en la superficie o cerca de ella, durante una parte considerable del año.
- 3) **Tierras con drenaje deficiente.** El agua fluye con alguna lentitud como para mantener el suelo húmedo por largos períodos, pero no permanentemente.
- 4) **Tierras con drenaje moderadamente bueno.** El agua de la superficie fluye lo suficientemente rápido como para que una cantidad moderada de agua



penetre el perfil del suelo y el resto permanezca en la superficie solamente por cortos períodos de tiempo.

- 5) **Tierras con buen drenaje.** El agua no permanece en el suelo aunque su eliminación no es muy rápida.
  - 6) **Tierras con drenaje relativamente excesivo.** Una porción relativamente grande de la precipitación se mueve rápidamente sobre la superficie del suelo y sólo una pequeña parte se absorbe a través del perfil del suelo. El agua de la superficie fluye casi tan rápidamente como es captada.
  - 7) **Tierras con drenaje excesivo.** Una porción muy grande del agua fluye rápidamente sobre la superficie del suelo y sólo una parte muy pequeña es absorbida por el perfil. El agua de la superficie fluye tan rápidamente como es captada.
83. **pH del suelo.** Puesto que el método para determinar la acidez del suelo tiene influencia sobre el nivel del pH obtenido en el laboratorio, se debe indicar cuál fue el método usado para la determinación de la acidez:
- 1) suspensión 1:1 (suelo: agua) (1)
  - 2) suspensión 1:3 (suelo: agua) (3)
  - 3) suspensión 1:8 (suelo: agua) (8)
  - 4) suspensión 1:1 (suelo: KCl 1 N) (K)
92. **Otros nutrimentos.** Se proporciona espacio para registrar otros dos nutrimentos y la cantidad presente en el suelo en ppm o en meq/100 g de suelo.

#### **Descriptorios para Insectos y Enfermedades**

200. **Insectos.** Se indica la familia o género al cual pertenece y se describe el tipo de la siguiente manera:
- 1) chupador (S)
  - 2) masticador (C)
  - 3) perforador (B)
  - 4) daño desconocido (X)
201. **Insectos, parte de la planta atacada:**
- 1) hojas (L)
  - 2) tallos (S)
  - 3) raíces (R)
  - 4) inflorescencia (I)
202. **Insectos, tolerancia de la planta:**
- 1) mala (P)
  - 2) regular (F)
  - 3) moderada (M)

- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

250. **Enfermedades.** Se indica el género, si es conocido y se describe el tipo de enfermedad:

- 1) hongos (F)
- 2) bacterias (B)
- 3) virus (V)
- 4) nemátodos (N)
- 5) deficiencia mineral (MD)
- 6) toxicidad mineral (MT)
- 7) daño desconocido (X)

251. **Enfermedades, parte de la planta atacada:**

- 1) hojas (L)
- 2) tallos (S)
- 3) raíces (R)
- 4) inflorescencia (I)

252. **Enfermedades, tolerancia de la planta:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

#### **Descriptor para el Sitio de Evaluación**

301. **Fecha en la cual la accesión fue recibida por el evaluador.**

302. **Número de accesión asignado por el evaluador local.**

315. **Epocas lluviosas:** anote la época en la cual ocurre la precipitación:

- 1) durante todo el año (A)
- 2) sequía durante el verano (S)
- 3) sequía durante el invierno (W)
- 4) sequía durante todo el año (D)

319. Véase el descriptor 80.

320. Véase el descriptor 81.

331. **Otros nutrimentos.** Se provee espacio para anotar otros dos nutrimentos y también las cantidades de éstos presentes en el suelo, en ppm ó meq/100 g de suelo.

332. **Fertilizante aplicado.** La cantidad de fertilizante aplicado al semillero de evaluación se debe registrar en kilogramos por hectárea para cada uno de los elementos mayores.
333. **Cal aplicada.** Se debe anotar si hubo aplicación de cal o de dolomita expresando la cantidad en kilogramos por hectárea, con equivalencia basada en  $\text{CaCO}_3$ .

#### **Descriptores para los Procedimientos de Siembra**

340. **Plantas establecidas en laboratorio.** Se provee espacio para especificar el método de siembra, por ejemplo: platos de petri, uso de medios para cultivo, tratamiento de semillas, etc.; además, la fecha de siembra.
341. **Plantas establecidas en invernadero.** Se provee espacio para que el evaluador anote cualquier circunstancia no común, referente al método de siembra en el campo; además, la fecha de siembra.
343. **Configuración de la parcela.** Este descriptor se refiere al tipo de parcela y al espaciamiento y/o tamaño de la parcela:
- 1) planta individual (S) ej. - 2 metros
  - 2) surco o hilera (R) ej. - 10 plantas/3 m
  - 3) parcela (P) ej. - 1 x 4 metros
345. **Supervivencia de plántulas:**
- 1) mala (P)
  - 2) regular (F)
  - 3) moderada (M)
  - 4) alta (H)
  - 5) muy alta (V)
346. **Vigor de la plántula:**
- 1) malo (P)
  - 2) regular (F)
  - 3) moderado (M)
  - 4) alto (H)
  - 5) muy alto (V)
347. **Exito del establecimiento:**
- 1) malo (P)
  - 2) regular (F)
  - 3) moderado (M)
  - 4) alto (H)
  - 5) muy alto (V)

## Descriptorios para el Crecimiento y la Floración

360. **Espécimen de herbario.** Este espécimen se colecta en un semillero de evaluación para conservarlo en un herbario. Si la colección de material parece que sea una mezcla, quizás convenga adquirir más de un espécimen.
361. Véase el descriptor 70.
362. Véase el descriptor 66.
363. Véase el descriptor 67.
364. **Tipo de floración:**
- 1) determinado (D)
  - 2) indeterminado (I)
  - 3) desconocido (X)
365. **Hábito de enraizamiento.** Existe una gran variación en cuanto a los hábitos de enraizamiento entre las especies y dentro de los ecotipos de cada especie. El tipo de sistema de raíces puede determinar, en gran medida, la supervivencia de la planta bajo una diversidad de condiciones extremas (heladas, fríos, sequías, encharcamiento, etc.). Véase el descriptor 68.
366. **Nodulación.** Se debe indicar en cuál parte del sistema radical ocurre la nodulación:
- 1) área de la corona radical (C)
  - 2) raíz pivotante (T)
  - 3) raíces laterales (L)
367. **Nodulación.** Se debe indicar si hay evidencia de actividad del *Rhizobium*:
- 1) activo (A) - interior del nódulo pardo, rosado o rojo
  - 2) inactivo (N) - interior del nódulo blanco o verde
  - 3) ausente (W)
368. **Mecanismos de rebrote de las plántulas.** Se debe indicar la parte o partes de la planta en las cuales aparecen nuevos crecimientos después de la defoliación:
- 1) yemas basales o de la corona radical (B)
  - 2) yemas axilares (A)
  - 3) elongación de las hojas (L)
  - 4) estolones (S)
  - 5) rizomas (R)
369. a 383. Los descriptorios 369 a 383 inclusive, son caracteres que se pueden observar y registrar durante el período de crecimiento de la accesión. En algunos ambientes y para algunas especies, este período de crecimiento puede comprender los doce meses del año. La mayoría de estos descriptorios se pueden

estimar visualmente y calificarlos con base en una escala de 1 a 5, en la cual 1 es la expresión menos deseable del descriptor y 5 es la mejor expresión del mismo. Se provee espacio para hacer una recalificación cada mes para cada uno de los descriptores. Si el evaluador desea hacer calificaciones con mayor frecuencia, entonces sería necesario proveer más espacio.

**369. Capacidad de rebrote:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**370. Vigor general:**

- 1) malo (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderado (M)
- 4) bueno (G)
- 5) excelente (E)

**371. Follaje:**

- 1) malo (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderado (M)
- 4) bueno (G)
- 5) excelente (E)

**372. Plantas deciduas.** Se deben anotar los meses en los cuales la planta entra en reposo.

**373. Tolerancia a las heladas:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**374. Tolerancia al frío:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**375. Tolerancia a la sequía:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**376. Tolerancia al volcamiento por agua:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**377. Tolerancia a la inundación:**

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**378. Floración.** Indique, por meses, la abundancia de la producción de flores:

- 1) casi no florece (N)
- 2) pocas (F)
- 3) moderada (M)
- 4) muchas (A)
- 5) máximo (X)

**379. Estimativo de la productividad.** Un estimativo visual (por orden de excelencia) de la productividad de la **introducción**, por meses:

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**380. Estimativo de la productividad.** Un estimativo visual de la productividad de especies o cultivares **testigo**, por meses:

- 1) malo (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderado (M)
- 4) bueno (G)
- 5) excelente (E)

**381. Difusión de la planta.** Rango de difusión de la introducción (por medios vegetativos o por semilla) anotado por meses:

- 1) malo (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderado (M)
- 4) bueno (G)
- 5) excelente (E)

**382. Difusión de la planta.** Rango de difusión de las especies o cultivares testigo, anotado por meses:

- 1) malo (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderado (M)
- 4) bueno (G)
- 5) excelente (E)

**383. Proteína cruda.** Se provee espacio para anotar el porcentaje de proteína cruda, en seis épocas diferentes.

**384. Digestibilidad, IVOMD.** Se propone espacio para anotar el porcentaje de IVOMD en seis etapas diferentes.

#### **Descriptorios para las Características del Hábito de Producción de Semilla**

**390. Producción de semilla.** Una calificación visual de la capacidad de producción de semilla, anotada por meses, de tal forma que se pueda identificar el período de producción máxima de semilla.

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

**391. Resistencia de las semillas a dispersarse prematuramente.** Un estimativo visual de las semillas que se desprenden prematuramente de la vaina, empleando la siguiente escala:

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

392. **Germinación de semillas que quedan en el campo.** Estimativo visual de la germinación de plantas que brotan de semillas que quedaron en el campo en un cultivo anterior:

- 1) poco significativa (N)
- 2) pocas (F)
- 3) moderada (M)
- 4) muchas (A)
- 5) abundantes (X)

393. **Calidad de la semilla.** Apariencia visual:

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

394. **Tolerancia de la semilla a los insectos.** Un estimativo visual de la resistencia al daño causado por insectos:

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)

395. **Tolerancia de las semillas a las enfermedades.** Un estimativo visual de la resistencia a daños por enfermedades:

- 1) mala (P)
- 2) regular (F)
- 3) moderada (M)
- 4) buena (G)
- 5) excelente (E)



### **Apéndice 3. Procedimiento para enviar muestras de nódulos al CIAT.**

Cuatro semanas antes de despachar las muestras, por favor envíe al CIAT la siguiente información:

- Nombre de la persona que envía las muestras
- Nombre de su institución u organización
- Dirección de su institución u organización
- Localidad de origen de las muestras
- Forma del despacho (ej.: correo aéreo)
- Número aproximado de muestras

El CIAT le enviará una licencia en la forma de una etiqueta autoadhesiva, la cual se le debe adjuntar a las muestras.

Nota: La Licencia no es válida a menos que las muestras de nódulos se envíen en frascos de vidrio con tapas de cierre hermético y que la parte exterior de todos los frascos esté tratada con una solución de cloruro de mercurio (las etiquetas deben resistir el tratamiento). Todos los materiales utilizados para empacar los frascos deben ser nuevos y no usados.

En caso de que el laboratorio colaborador no sea el CIAT, es fundamental que el colector solicite los procedimientos específicos.

### **Apéndice 4. Lista de laboratorios en los cuales se hacen aislamientos de *Rhizobium* a solicitud del colector.**

#### **ARGENTINA**

Elizabeth G. de Olivero  
Unidad Simbiosis I.N.T.A.  
Casilla de Correo No. 25  
Castelar, Provincia de Buenos Aires

Eli Sidney López  
Instituto Agronomico de Campinas  
Av. Barao de Itapura 1481  
C.P. 28 Campinas  
Sao Paulo

#### **AUSTRALIA**

Richard A. Date  
Division Tropical Crops and Pastures  
C.S.I.R.O.  
Cunningham Laboratory  
Mill Road, St. Lucia  
Queensland 4067

Milton Vargas  
EMBRAPA, Centro de Pesquisa  
Agropecuaria dos Cerrados  
BR-20, Km. 18, Brasilia  
Planaltina, 70100

#### **BRASIL**

Avilio A. Franco  
EMBRAPA-SNLCS-PFN, Km. 47  
23460, Seropedica  
Rio de Janeiro

J.R. Jardim Freire  
Facultad de Agronomia  
Universidad Federal do Rio Grande do Sul  
Caixa Postal 776  
Porto Alegre

**COLOMBIA**

Sección de Microbiología  
Programa de Pastos Tropicales  
Centro Internacional de Agricultura Tropical  
(CIAT)  
Apartado Aéreo 67-13  
Cali

**CHILE**

Luis Bernardo Longeri  
Departamento de Microbiología  
Universidad de Concepción  
Casilla de Correo 272  
Concepción

**ESTADOS UNIDOS**

Deane F. Weber o Harold Keyser  
CCNF - Rhizobium Collection  
USDA-BARC  
Beltsville, MD 20705

Víctor Reyes  
University of Hawaii-Nihoa  
P.O. Box "O"  
Paia, HI 96779

**KENYA**

S.O. Keya  
MIRCEN Director and Chairman  
Department of Soil Science  
University of Nairobi  
P.O. Box 30197  
Nairobi

**MEXICO**

María Valdés  
Departamento de Microbiología  
Instituto Politécnico Nacional  
Apartado Postal 4-870  
México, D.F.

Antonio Moreno Quiroz  
Banco de México  
Apartado Postal No. 27  
Jiutepec  
Morelos

**PANAMA**

Bianca C. de Hernández  
Escuela de Microbiología  
Facultad de Biología  
Universidad de Panamá  
Panamá

**PERU**

José Carrión Gómez  
I.V.I.T.A.  
Universidad Nacional Mayor de  
San Marcos  
Museo Historia Natural  
Avenida Arenales 1256  
Apartado 1256  
Lima

**SUR AFRICA**

Ben W. Strijdom  
Plant Protection Research Institute  
Private Bag 134  
Pretoria

**VENEZUELA**

Iván Casas  
Apartado 1664  
Maracaibo  
Estado Zulia

**Apéndice 5. Ejemplo del formato utilizado en India para hacer despachos de semilla.**

No. ....

Fecha.....

**INFORMACION ANTICIPADA SOBRE EXPORTACION  
DE MUESTRAS DE SEMILLA**

Al  
Jefe del Proyecto  
(Dirección)

Estimado Señor:

Le estamos enviando, en un paquete separado, un despacho de semillas. Sírvase comunicarse lo antes posible con el Servicio de Cuarentena Vegetal de su país para presentar este documento y reclamar el pedido que le estamos anunciado.

1. Nombre del científico:.....  
Dirección local: .....
  2. i) Cultivo con su nombre botánico : .....  
ii) Número de cajas/bolsas/cartones: .....  
iii) Marcas distintivas: .....
  3. Peso: .....
  4. Forma de despacho: Carga aérea/paquete postal/equipaje  
acompañado/equipaje no acompañado
  5. Detalles del certificado fitosanitario: .....
  6. Sanidad Vegetal; incidencia e intensidad de las pestes en el momento de la colección de la semilla: .....
  7. Fecha(s) de colección: .....
  8. Fecha de despacho: .....
  9. Observaciones: .....
- Fecha: ..... Firma: .....
- cc Nombre: .....

- Nota: 1. Por favor llene, un formato separado para cada cultivo y para cada país.
2. Los científicos que importan germoplasma en maletas que se despachan como equipaje acompañado o no acompañado, deben llenar un formato inmediatamente después de su llegada al lugar de destino.

**Apéndice 6. Lista de países y de sus correspondientes autoridades con capacidad para emitir certificados fitosanitarios.**

**ARGENTINA**

Director General  
Servicio Nacional de Sanidad  
Vegetal  
Ministerio de Agricultura  
Paseo Colón 922, 1er Piso  
Oficina No. 196, Buenos Aires

**AUSTRALIA**

Assistant Director-General  
(Plant Quarantine)  
Dept. of Health  
Canberra, A.C.T.

**BOLIVIA**

Jefe  
Division Nacional de Sanidad  
Vegetal  
Ministerio de Agricultura  
Avenida Camacho No. 1471  
La Paz

**BRASIL**

Director  
Sub-Secretaria :retaria  
de Defensa Sanitaria Vegetal  
Ed. Venancio 2000, 3º andar  
70,000-Brasilia, D.F.

**CHILE**

Director  
Departamento de Defensa Agrícola  
Ministerio de Agricultura  
Casilla No. 4647  
Santiago

**COLOMBIA**

Director  
Servicio de Sanidad Vegetal  
Ministerio de Agricultura  
Calle 37 # 8-43, piso 8  
Bogotá, D.E.

**COSTA RICA**

Jefe  
Dept. de Cuarentena y Registro  
Ministerio de Agricultura y  
Ganadería  
San José

**CUBA**

Director  
Departamento de Cuarentena  
Vegetal  
Dirección Nacional de Sanidad  
Vegetal, INRA  
La Habana

**CURACAO**

Director of Agriculture  
Plantentium Cas-cora  
Willemstand

**ECUADOR**

Jefe  
Servicio de Sanidad Vegetal  
Ministerio de Agricultura y  
Ganadería, Quito

**EL SALVADOR**

Jefe  
Departamento de Cuarentena  
Agropecuaria  
Ministerio de Agri. y Ganadería  
San Salvador

**ESTADOS UNIDOS**

The Director  
Agric. Quarantine Inspection  
Division  
Agric. Research Service  
Dept. of Agriculture  
Federal Center Building  
Washington, D.C. 20250

**Germoplasma de Forrajes Tropicales**

## **GUATEMALA**

Jefe  
Departamento de Sanidad Vegetal  
y Cuarentena  
Ministerio de Agricultura  
12 Avenida Sur y 19 Calle Oeste  
Ciudad de Guatemala

## **GUYANA**

Chief Agricultural Officer  
Ministry of Agri. & Natural  
Resources  
Georgetown

## **HAITI**

Chef  
Service de Quarantine  
Dept. de L'agriculture  
Damien, Port-au-Prince

## **HONDURAS**

Jefe  
Dept. de Sanidad Vegetal  
Ministerio de Recursos Naturales  
Tegucigalpa, D.C.

## **JAMAICA**

Chief Plant Protection Officer  
Plant Protection Division  
Ministry of Agri. & Fisheries  
P.O. Box 480, Hope  
Kingston 6

## **MEXICO**

Jefe Dept. de Aplicación  
Cuarentenaria  
Dirección General de Sanidad  
Vegetal  
Secretaría de Agricultura  
y Ganadería  
Balderas 94,  
México 1, D.F.

**Apéndices**

## **NICARAGUA**

Jefe  
Dept. de Sanidad Vegetal  
Ministerio de Agri. y Ganadería  
Managua, D.N.

## **PANAMA**

Jefe  
Sección de Cuarentena Agropecuaria  
Dept. de Investigación Agrícola  
Ministerio de Agricultura,  
Comercio e Industrias  
Panamá

## **PARAGUAY**

Dirección de Defensa Agrícola  
Asunción

## **PERU**

Jefe  
División de Defensa Agrícola  
Ministerio de Agricultura  
Lima

## **PUERTO RICO**

Inspector-in-charge  
Agri. Quarantine Inspection  
Division  
U.S. Dept. of Agriculture  
P.O. Box 3386  
San Juan, 00904

## **REPUBLICA DOMINICANA**

Director  
Dept. de Sanidad Vegetal  
Secretaría de Estado de  
Agricultura  
Santo Domingo, D.N.

## **URUGUAY**

Director  
Servicio de Lucha Contra  
las Plagas  
Ministerio de Ganadería y Agricultura  
Maldonado 1276  
Montevideo

## **VENEZUELA**

Jefe  
División de Sanidad Vegetal  
Ministerio de Agricultura  
y Ganadería  
Torre Norte - Centro Simón Bolívar  
Piso 14, Caracas

## **TRINIDAD & TOBAGO**

Technical Officer (Res.)  
Ministry of Agriculture  
Lands & Fisheries  
Centeno

### **Apéndice 7. Recomendaciones y conclusiones principales del Grupo de Trabajo de la Junta Internacional de Recursos Genéticos Vegetales (IBPGR, International Board for Plant Genetic Resources) sobre Ingeniería, Diseño y Costo de la Construcción de Facilidades para el Almacenamiento de Semilla a Largo Plazo\*.**

1. Las recomendaciones son aplicables para el almacenamiento de semillas convencionales.
2. Las adquisiciones se deben almacenar en recipientes sellados, con un contenido de humedad de aproximadamente un 5%, en un cuarto frío a -20°C. La temperatura se puede elevar a -10°C, en casos especiales.
3. Los recipientes sellados apropiados, con algunas reservas, incluyen frascos de vidrio, latas y paquetes laminados de aluminio.
4. En general, no es necesario tomar medidas especiales para controlar la humedad relativa en los cuartos fríos.
5. El secamiento de las semillas se debe controlar cuidadosamente; existen varios sistemas alternativos que son satisfactorios.

---

\* El informe completo está disponible por intermedio de la Secretaría del IBPGR, Roma, Italia.

6. Las determinaciones de contenido de humedad y las pruebas periódicas de germinación se deben basar en las normas establecidas por la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (ISTA), con algunas modificaciones, a fin de minimizar la cantidad de semilla requerida para estos propósitos.
7. Los tamaños de muestra ideales para las accesiones individuales dependerá no sólo de los requerimientos para las pruebas de rutina, sino también principalmente de la heterogeneidad genética de las accesiones. En las colecciones de base es probable que el tamaño ideal oscile entre 3000 y 12.000 semillas.
8. Se debe considerar cuidadosamente la localización de las facilidades para el almacenamiento en frío.
9. Se recomienda que los entrepaños del cuarto frío sean prefabricados. La puerta de entrada debe disponer de un sistema de calentamiento y el cierre debe ser hermético. Se deben tener precauciones para evitar la formación de escarcha.
10. La utilización de estanterías móviles para guardar las accesiones en el cuarto frío es económica y deseable.
11. La refrigeración se debe hacer utilizando sistemas directos o indirectos de compresión de vapor, refrigerantes convencionales y condensadores de aire frío. Dentro del cuarto debe existir una recirculación adecuada del aire frío (5-10 cambios/hora).
12. Las precauciones de seguridad que deben adoptarse incluyen: la disponibilidad de dos unidades de refrigeración y un generador de emergencia; la incorporación de diversos mecanismos de alarma visuales y auditivos, en caso de que la planta de refrigeración falle; y la disponibilidad de mecanismos para asegurar que nadie quede encerrado accidentalmente en el cuarto. Se deben tomar precauciones adicionales en el caso de que ocurran temblores de tierra con frecuencia.
13. Se recomienda que las especificaciones de los cuartos fríos se basen en las normas de la American Society of Heating and Refrigeration Engineers (ASHRE).
14. Es necesario disponer de cuartos adicionales y equipo auxiliar para la operación de facilidades de almacenamiento de semilla a largo plazo. Se requiere asignar espacio para el secamiento, limpieza, prueba y empaque de semilla y para oficinas de registro y servicios.
15. Se considera que las necesidades de muchos bancos se pueden satisfacer con cuartos fríos de 85-200 m<sup>3</sup> (para aproximadamente 22,000-60,000 adquisiciones), aunque este informe ha cubierto facilidades hasta de 280 m<sup>3</sup> (90,000 adquisiciones) para casos especiales.
16. El costo capital de los cuartos fríos, incluyendo la estantería, varía según el tamaño del cuarto, entre \$0.80 hasta \$1.20 por adquisición almacenada. El costo capital para un banco completo de almacenamiento de semilla, con facilidades auxiliares mínimas pero satisfactorias, puede variar entre \$1.89 hasta \$10.74 por adquisición, según el tamaño y la localización del banco.

**Apéndice 8. Condiciones recomendadas para hacer las pruebas de germinación de leguminosas y gramíneas forrajeras.**

Especies	Medio	Temperatura ° C	Luz	Períodos de recuento (días)		Tratamientos adicionales
				Inicial	Final	
<i>Alysicarpus vaginalis</i>	EP	35	-	4	21	Taladre la cubierta de la semilla a los 21 días; crecimiento hasta los 35 días.
<i>Bracharia decumbens</i>	SP	20-35	+	4	21	Secamiento previo; aplique nitrato Aplique nitrato; enfriamiento previo a 10°C a los 7 días.
<i>Centrosema pubescens</i>	SP	20-35	-	4	10	
<i>Cynodon dactylon</i>	SP	20-35; 20-30	+	7	21	
<i>Desmodium intortum</i>	SP	20-30	-	4	10	Enfriamiento previo. Aplique nitrato, elimine las bacterias; raspe las cariopsis
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	SP	25	-	4	10	
<i>Medicago sativa</i>	SP, EP	20	-	4	10	
<i>Panicum maximum</i>	SP	20-35; 15-35	+	10	28	Aplique nitrato, elimine las bacterias; raspe las cariopsis
<i>Paspalum notatum</i>	SP	30-35	-	3	21	
<i>Stylosanthes guianensis</i>	SP	20-35; 10-35; 20-30	-	4	10	
<i>Stylosanthes humilis</i>	SP	25	-	4	10	

\* Abreviaturas: EP = entre hojas de papel; SP = sobre el papel; el nitrato se aplica humedeciendo el medio de germinación con una solución de KNO<sub>3</sub> al 0,2 por ciento (por ejemplo, 2 g del producto químico disuelto en un litro de agua). Después se humedece el medio solamente con agua.



**Apéndice 9. Códigos alfabéticos para los países\*.**

<b>Código</b>	<b>País</b>	<b>Código</b>	<b>País</b>
AFGH	Afganistán	GHANA	Ghana
ALBNA	Albania	GREECE	Grecia
ALGER	Algeria	GUATM	Guatemala
ANDOR	Andorra	GUINEA	Guinea
ARGNT	Argentina	GUYANA	Guyana
AUSTL	Australia	HAITI	Haití
AUSRI	Austria	HONDR	Honduras
BANGL	Bangladesh	HUNGARY	Hungría
BARBD	Barbados	ICELD	Islandia
BELGM	Bélgica	INDIA	India
BHUTN	Butan	INDON	Indonesia
BOLIV	Bolivia	IRAN	Irán
BOTSW	Botswana	IRAQ	Irak
BRAZL	Brasil	IRELD	Irlanda
BULGR	Bulgaria	ISRAEL	Israel
BURMA	Birmania	ITALY	Italia
BURUN	Burundi	IVO CO	Costa de Marfil
CAMBD	Cambodia	JAMAI	Jamaica
CAMER	Camerún	JAPAN	Japón
CANAD	Canadá	JORDAN	Jordania
CAFR	Rep. Africana Central	KENYA	Kenia
CHAD	Chad	KOREA N	Corea del Norte
CHILE	Chile	KOREA S	Corea del Sur
CHINA C	China Comunista	KUWAIT	Kuwait
CHINA T	China (Taiwán)	LAOS	Laos
COLOMB	Colombia	LEBN	Líbano
CONGO	Congo	LESOTH	Lesotho
CO RIC	Costa Rica	LIBER	Liberia
CUBA	Cuba	LYBIA	Libia
CYPRS	Chipre	LICHT	Liechtenstein
CZECH	Rep. Socialista de Checoslovaquia	LUXMB	Luxemburgo
DAHOM	Dahomey	MALAG	República de Malaya
DENMK	Dinamarca	MALAWI	Malawi
DOM R	República Dominicana	MALAY	Malaysia
ECUAD	Ecuador	MALDV	Islas Maldivas
EL SAL	El Salvador	MALI	Malí
ETHOP	Etiopía	MALTA	Malta
FINLD	Finlandia	MAURI	Mauritania
FRANCE	Francia	MEXICO	México
GABON	República de Gabón	MONACO	Mónaco
GAMBIA	Gambia	MONGO	Mongolia
GERM W	Alemania Occidental	MOROC	Marruecos
GERM E	Alemania Oriental	MUSCAT	Mascát
		NEPAL	Nepal

\* Desarrollado por IS/GR para el intercambio internacional de germoplasma de forrajes.

NETHR	Holanda
NEWZL	Nueva Zelanda
NICAR	Nicaragua
NIGER	Niger
NIGIA	Nigeria
NORWAY	Noruega
OMAN	Oman
PAKST	Pakistán
PANAMA	Panamá
PARAG	Paraguay
PERU	Perú
PHILP	Filipinas
POLAND	Polonia
PORTG	Portugal
RHOD	Rodesia
RUMAN	Rumania
RWANDA	Ruanda
SAMOA	Samoa
SAN MAR	San Marino
S ARAB	Arabia Saudita
SENGL	Senegal
S LEON	Sierra Leona
SINGP	Singapur
SOMAL	República Somalí
S AFR	Sudáfrica
SPAIN	España
SRILK	Sri Lanka

SUDAN	Sudán
SWEDEN	Suecia
SWITZ	Suiza
SYRIA	Siria
USSR	Unión de las Repúblicas Socialistas Soviéticas
TANZ	Tanzania
THAI	Tailandia
TOGO	Togo
TRINI	Trinidad
TOBAGO	Tobago
TUNIS	Túnez
TURKEY	Turquía
UGANDA	Uganda
UAR	República Árabe Unida
UK	Reino Unido
USA	Estados Unidos de América
UPVOLT	Alto Volta
URUG	Uruguay
VATIC	Ciudad del Vaticano
VENEZ	Venezuela
N VIETN	Vietnam del Norte
S VIETN	Vietnam del Sur
YEMEN	Yemen
YUGOS	Yugoslavia
ZAMBI	Zambia

Los siguientes miembros del personal de la Unidad de Comunicaciones del CIAT participaron en la producción del presente manual:

Colaboración editorial :	Beatriz Davis
Composición del texto :	Janeth Loaiza Yolanda de González
Artes y montaje :	Libardo Didier González Camilo Oliveros
Fotomecánica :	Luis E. Escobar



imanasques

Supremo Ltda.

Apartado Aéreo 13283 - Bogotá - Colombia