

CONSERVACION Y MANEJO DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE
FORRAJERAS TROPICALES DEL CIAT



Javier Belalcázar G.*

Introducción

El objetivo básico de la Unidad de Recursos Genéticos del CIAT, es la conservación de la variabilidad genética de las especies cultivables y sus parientes silvestres, que en el presente corren el peligro de desaparecer debido a cambios agrícolas, expansión de la ganadería y cambios sociales entre otros (por ejemplo, la sustitución de un cultivar primitivo por cultivares mejorados). La pérdida de la variabilidad genética en el mundo (erosión genética) ha dado origen a la necesidad de establecer "Bancos de Germoplasma", en los cuales puedan conservarse estos materiales frecuentemente nativos y no domesticados. El mantenimiento de germoplasma para uso inmediato y futuro, es una operación artificial destinada a conservar la mayor diversidad genética de las especies. Esta operación debe hacerse evitando las pérdidas de viabilidad y vigor, previniendo mezclas mecánicas en el caso de semillas, manteniendo la identidad genética de las entradas y documentandolas de modo que puedan identificarse correctamente.

* Ingeniero Agrónomo, Investigador Asociado de la Unidad de Recursos Genéticos del CIAT, A.A. 6713, Cali-Colombia. Trabajo presentado en el SEMINARIO-TALLER sobre LEGUMINOSAS. Organizado por la Asociación Colombiana de Herbarios; Universidad del Valle, Cali, Junio 4-8, 1990.

SISTEMAS DE CONSERVACION DEL GERMOPLASMA

El germoplasma puede ser conservado como semilla, polen, órganos vegetativos y plantaciones en el campo. Es esencial que el método de conservación garantice viabilidad y una máxima estabilidad genética.

Hay que tener en cuenta la clase de semilla que se quiere conservar:

La viabilidad de la semilla de numerosas especies puede ser preservada durante períodos muy largos, bajo condiciones de almacenamiento con temperaturas bajas (-10 a -20°C) y con un contenido de humedad de la semilla por debajo del 10%. Estas semillas que se dejan conservar las denominó Roberts (1972) "ortodoxas". Aquellas especies cuyas semillas no pueden ser deshidratadas por debajo de cierto nivel de humedad sin causar daño celular inmediato y pérdida completa de la viabilidad, las denominó semillas "recalcitrantes".

Estas semillas recalcitrantes permanecen viables por períodos muy cortos, aún si se mantienen en condiciones de humedad alta. La longevidad máxima de esta semilla varía entre algunas semanas a unos pocos meses. Las semillas son de tamaño grande con alto contenido de humedad, son producidas más o menos continuamente, y crecen en ambientes tropicales húmedos, como el Chachafruto (Erythrina edulis). Por lo tanto, no han desarrollado mecanismos de adaptación ni a la sequedad ni al frío. Estas semillas al caer de las plantas germinan rápidamente sin dormancia aparente. En esta clase de semillas se encuentran arbustos y árboles frutales, forestales tropicales y de zonas templadas.

Germoplasma con semilla recalcitrante se conserva en forma de colección viva en el campo o en el invernadero. Otra forma de conservación es la propuesta por Hawkes (1980), de utilizar la "estrategia evolutiva de éstas especies de sobrevivir como plántulas o plantas pequeñas y no como semillas" ("Banco de plántulas" in vitro).

Dentro de los sistemas para conservar el germoplasma se incluyen:

- Banco de Germoplasma a Corto Plazo (Colección Activa):

Es el cuarto con temperatura controlada donde se guarda el germoplasma recolectado, para uso inmediato de multiplicación, evaluación o estudios básicos en el futuro.

De este banco se utiliza el germoplasma multiplicado inicialmente para programas de rejuvenecimiento de materiales de colecciones enteras, y se inicia el almacenamiento a largo plazo. El cuarto debe permanecer a una temperatura entre 5 y 8°C con una humedad relativa entre 30 y 40%; las semillas, dependiendo de la especie, deben contener entre 6 y 8% de humedad. Las semillas se deben guardar en recipientes plásticos con doble tapa, o en bolsas de papel metálico selladas herméticamente. Para el almacenamiento de semillas a corto plazo (cinco años), la suma de la temperatura en grados Fahrenheit en el banco y el porcentaje de humedad de la semilla no debe exceder de 100 (Harrington, 1963).

- Banco de Germoplasma a Largo Plazo (Colección de Base):

Es el cuarto donde se conserva el germoplasma por períodos de más de veinte años. Se han establecido cantidades entre 3.000 y 12.000 semillas por genotipo, y entre 500 y 2000 semillas para vigilar la germinación, respectivamente. Para iniciar el rejuvenecimiento del material con tiempo se recomienda realizar las pruebas de germinación con cierta frecuencia (cada 3 a 5 años). Las semillas se deben guardar con una humedad aproximada entre 4 y 7%. La temperatura recomendada es entre -10 y -20°C, y la humedad relativa debe ser controlada por medio del hermetismo del empaque, usando bolsas de capa múltiple (plástico/aluminio/papel).

En el almacenamiento a largo plazo de las semillas ortodoxas, es necesario considerar, que el período de viabilidad de las semillas se reduce a la mitad por cada aumento de 5°C en la temperatura del depósito (rango de 0 a 50°C), y que por cada aumento del 1% en la humedad de las semillas la viabilidad igualmente se reduce a la mitad. Estas dos reglas son independientes y los efectos de la temperatura y la humedad de las semillas son aditivos (Harrington, 1972; Holle, 1985).

FACTORES QUE AFECTAN LA LONGEVIDAD DE LA SEMILLA

La vida de la semilla en almacenamiento se ve afectada por varios factores:

1. Manejo del cultivo en la multiplicación.
2. Procesamiento de semilla.
3. Contenido de humedad de la semilla.
4. Temperatura del almacén.
5. Tipo de envase.

1. Manejo del Cultivo en la Multiplicación

La multiplicación de semilla, ya sea en invernadero o en el campo debe hacerse bajo las mejores condiciones de manejo agronómico; tales como una buena fertilización, irrigación, control de enfermedades e insectos, exclusión de contaminantes, eliminación de plantas atípicas, cosecha en la época de madurez apropiada, manipuleo cuidadoso de la semilla para evitar mezclas mecánicas y daños mecánicos que pueden afectar la viabilidad, entre otras. Es importante tener en cuenta un buen etiquetado de las muestras en el campo. El cultivo cuidadoso de las plantas en condiciones ecológicas apropiadas dan como resultado semillas de calidad superior y mayor longevidad. Por lo regular sitios de humedad relativa baja, son ideales para producir semilla sana.

2. Procesamiento de Semilla

El proceso de extracción de la semilla depende de la especie. Se supone que al trillar, el contenido de humedad de los frutos secos es más alto que el que se requiere al envasar la semilla. Entonces se debe secar en el patio a niveles apropiados de humedad de la semilla para asegurar una buena viabilidad sin causar daños mecánicos a la semilla, por efectos del manipuleo. La fase de limpieza por corriente de aire o por gravedad deja la semilla lista para verificar el contenido de humedad en el cuarto de secado.

3. Contenido de Humedad de la Semilla

El contenido de humedad de las semillas (c.h.s.) es un factor tan importante como la temperatura en el almacenamiento para la longevidad de las semillas. Por cada 1% de disminución en el contenido de la humedad de la semilla, se duplica el período de vida de las semillas ortodoxas en conservación (Harrington, 1972).

Goldbach (1980) fijó los siguientes límites con respecto a la influencia del c.h.s.:

Contenido de agua (porcentaje del peso fresco)

Superior al 40%: Hay germinación;

Superior al 18-20%: Puede haber calentamiento en lotes de semillas almacenadas;

Superior al 12-14%: Pueden desarrollarse hongos en el interior y exterior de la semilla;

Superior al 10-12%: El almacenamiento hermético no es seguro y puede causar deterioro de las semillas;

Superior al 8-9%: Casi todos los insectos se vuelven activos y se multiplican, con pocas excepciones no se reproducen a niveles inferiores de humedad;

4-7%: Se considera óptimo para almacenamiento a largo plazo;

Menor del 4%: Muchas semillas se dañan por desecación, lo cual causa trastornos intracelulares.

El secado de las semillas se puede hacer exponiéndolas a una atmósfera seca, en la cual se ponen gradualmente en equilibrio con el contenido de humedad. Dependiendo de la especie al utilizar, con un deshumidificador que mantenga una humedad relativa entre 10 y 20% a una temperatura entre 22 y 24°C, se obtiene un c.h.s. del 5 ó 6% en 4 o 5 días.

El secado con aire caliente es el método comercial corriente; sin embargo, las temperaturas superiores a 40°C pueden dañar las semillas y reducir su vigor. Un secado muy rápido puede causar daño a algunas semillas, especialmente a

las de tamaño grande, posiblemente porque se producen tensiones de contracción entre las partes exteriores y las interiores todavía húmedas (Goldbach, 1980). Las llamadas semillas recalitrantes no pueden secarse sin que ocurra pérdida de viabilidad.

Es posible obtener atmósferas con humedad relativa baja, extrayendo agua del aire por medio de sustancias químicas higroscópicas tales como Sílica-gel (Cuadro 1).

Existe una interacción entre la humedad y la temperatura referente a la longevidad de la semilla. Sin embargo, es más exitoso guardar semillas con bajo contenido de humedad en ambientes secos, que conservar semillas con alta humedad a temperaturas bajas (Cuadro 2).

4. Temperatura del Almacén

Cuanto más baja es la temperatura tanto más largo es el período en que las semillas mantienen su viabilidad. Numerosos experimentos de laboratorio han puesto de manifiesto que las temperaturas inferiores a cero grados centígrados son ventajosas para el amacenamiento de semillas. Por ejemplo semillas de lechuga con 4% de c.h.s. mantuvo su capacidad germinativa por 8 años cuando fue almacenada a -12°C , pero perdieron rápidamente viabilidad a temperaturas de $+10^{\circ}\text{C}$ o mayores (Cuadro 2).

Desde el punto de vista práctico, el IBPGR (1976) recomienda temperaturas entre -10°C y -20°C como factibles y seguras para el almacenamiento de semillas en bancos de germoplasma a largo plazo.

5. Tipo de Envase

Se prolonga la vida de las semillas, reduciendo la tensión de oxígeno en la atmósfera del almacenamiento. Según Goldbach (1980), la razón puede ser que los procesos oxidativos causen deterioro de la semilla y por lo tanto la sustitución de oxígeno por anhídrido carbónico (CO_2), nitrógeno (N_2), argón y otros gases inertes, retarda el proceso de envejecimiento.

Cuando se usan envases con cierre hermético como bolsas de capa múltiple (plástico/aluminio/papel), envases plásticos con doble tapa y cuando hay solamente una pequeña cantidad de aire dentro del envase en comparación con el espacio ocupado por las semillas, el oxígeno será consumido y se producirá anhídrido carbónico. Una proporción alta de CO_2/O_2 probablemente favorece la longevidad de las semillas

(Golbach, 1980). Esto se aprecia en el Cuadro 2, donde el porcentaje de germinación fué mayor en latas que contenían semillas en gas aire y al vacío a los ocho años de almacenamiento.

Conclusiones

La conservación de la variabilidad genética de las especies vegetales se logra, poniendo en práctica en asocio, todos los factores que pueden afectar la longevidad de la semilla, los cuales son: un buen manejo del cultivo en las fases de multiplicación, un procesamiento adecuado de la semilla, de la humedad de la misma, temperaturas bajas del almacén y un hermetismo de los envases. Si falla alguno de estos factores la viabilidad y longevidad de la semilla se verá reducida o perdida.

Cuadro 1.: COMPARACION DE SECADO DE SEMILLA ENTRE SILICA-GEL Y DOBLE SECADO: DESHUMIFICADOR

Género/Especie	% Humedad inicial	Sílica-Gel*	
		% Humedad final	Tiempo (días) en bajar % de humedad
<u>Aeschynomene</u> spp.	8.2	5.7	7
<u>Crotolaria</u> spp.	11.8	7.0	12
<u>Desmodium ovalifolium</u>	9.1	6.6	6
<u>Leucaena leucocephala</u>	10.1	6.3	30
<u>Macroptilium</u> spp.	8.3	6.2	6
<u>Pueraria phaseoloides</u>	8.2	6.5	6
<u>Stylosanthes hamata</u>	9.6	7.2	6
<u>Stylosanthes guianensis</u>	7.9	5.2	7
<u>Vigna</u> spp.	11.5	6.3	14
Deshumificador**			
<u>Calopogonium mucunoides</u>	7.8	6.6	5
<u>Cajanus cajan</u>	12.0	6.7	5
<u>Canavalia</u> spp.	12.5	7.0	8
<u>Centrosema brasilianum</u>	7.8	6.3	5
<u>Centrosema macrocarpum</u>	8.1	6.5	5
<u>Centrosema pubescens</u>	8.0	6.5	5
<u>Galactia</u> spp.	8.2	6.7	5
<u>Teramnus</u> spp.	7.8	6.7	5

* Reemplazo de Sílica-Gel 2 veces al día

** Cuarto grande con deshumificador a 40% de humedad relativa y 22-23°C. Secador interno con 18-20 % de humedad relativa y 29-30°C.

Cuadro 2. Germinación (%)* de lechuga *Lactuca sativa* L. con diferentes porcentajes de humedad de semilla en varias temperaturas y en latas con diferentes gases a los 8 años de almacenamiento (Justice y Bass, 1978)

Temperatura °C	% humedad de semilla	Germinación inicial	Aire	Vacío.	CO ₂	N	Testigo**
-12	4	97	96	96	94	94	92
	7	97	98	97	94	95	96
	10	95	94	95	93	93	95
- 1	4	97	90	95	89	90	84
	7	97	76	62	96	96	90
	10	95	91	91	92	96	96
10	4	97	90	5***	93	95	0
	7	97	1***	91	93	94	0
	10	95	0	0	0	0	0
21	4	97	90	90	92	89	0
	7	97	0	0	0	0	0
	10	95	0	0	0	0	0
32	4	87	36	90	92	85	2
	7	97	0	0	0	0	0
	10	95	0	0	0	0	0

* Diferencia mínima significativa (P=0.05): 10%

** Testigo guardado en sobres de papel

*** Sello de lata defectuoso

BIBLIOGRAFIA

- Goldbach, H. 1980. Instalaciones para almacenamiento de semillas a largo plazo. Unidad de Recursos Genéticos, CATIE, Turrialba, Costa Rica, Bol. Téc. No.1, 24pp.
- Harrington, J.F. 1963. Practical advice and instructions on seed storage. Proc. Int. Seed Test. Asso. 29: 989-994.
- Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. En: Kozlowski, T.T. (ed.) Seed Biology. Academic Press, New York and London, 1: 145-245.
- Holle, M. 1985. Almacenamiento de semillas ortodoxas. En: Lecturas sobre recursos fitogenéticos: 2 Conservación. CIRF/CIAT, Cali, Colombia. 40pp.
- Hawkes, J.G. 1980. Genetic conservation of recalcitrant species. An overview. En L.A. WeTers and J.T. Williams (eds.) Crop Genetic Resources. The conservation of Difficult Material. Proc. Int. Workshop, Univ. Reading U.K., p.83-92.
- International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR), 1976. Working Group of Engineering, Design and Cost Aspects of Seed Storage Construction. Rome, 18-20 August, 27pp.
- Justice, O.L. y Bass, L.N. 1978. Principles and practices of seed storage. USDA Agriculture Handbook No.506, Washington, D.C., 289pp.
- Roberts, E.H. 1972. Viability of seeds, Chapman and Hall, London. 448pp.