

## **METODOLOGIA PARA LA COLECTA, CONSERVACION Y CARACTERIZACION DE ESPECIES HERBACEAS, ARBOREAS Y ARBUSTIVAS UTILES PARA LA GANADERIA**

***R. Machado, R. Roche, Odalys Toral y E. González***

**Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"  
Matanzas, Cuba**

La metodología para la colecta, conservación y caracterización de especies herbáceas, arbóreas y arbustivas útiles para la ganadería recoge, de una forma resumida, los elementos imprescindibles que se deben tomar en consideración para llevar a cabo, de la forma más exitosa posible, las misiones encaminadas a la adquisición de germoplasma de potencial utilidad en el sector agropecuario. Estos elementos metodológicos tienen su origen en la experiencia cubana sobre esta importante actividad y en una exhaustiva revisión de la literatura más actual sobre la temática. En ella se esbozan importantes aspectos relacionados con: razones para la colecta de especies forrajeras; exploración y colecta; información general; muestreo; multiplicación; caracterización; misiones específicas; listas de descriptores; beneficio de la semilla y conservación del germoplasma. Se recomienda la consulta de este material a todos aquellos especialistas que, de una forma u otra, estén relacionados con las actividades de adquisición, caracterización y conservación de los recursos genéticos forrajeros y en particular a los que se dedican a su colecta y uso sostenido.

**Palabras clave: Colecta, especies herbáceas, arbóreas y arbustivas**

The methodology for collecting, conservation and characterization of grass, trees and shrubs species, useful for livestock, gathers in an abstracted way the essential elements to be considered at the moment of acquiring the germplasm of a potential utility for the agricultural sector. These methodological elements are originated from the cuban experience on this important activity and in an exhaustive revision of the most updated literature related to this theme. Important aspects related to: reasons for collecting forage species, scanning and collecting, general information, sampling, multiplication, characterization, specific missions, descriptors list, seed benefit and germplasm conservation as well. It is recommended the consultation of this material by those specialists who are involved, in one way or another, with the acquisition, characterization and conservation of forage plant genetic resources, particularly to those who collect them and give them a sustained use.

**Additional index words: Collecting, herbaceous species, trees and shrubs**

La diversidad genética de las plantas es un elemento clave para el desarrollo agrícola. Los mejoradores de plantas, biotecnólogos e investigadores relacionados con la evaluación de germoplasma primigenio confían en la variación genética de los cultivares locales, las razas primitivas y las formas silvestres para producir una nueva variedad cultivada, mejor adaptada y de rendimiento superior. Sin embargo, es de vital importancia que se adquiera y conserve un amplio rango de este germoplasma para su futura adaptación, en correspondencia con las condiciones de explotación, los cambios ambientales y el desarrollo de la agricultura sostenible a que se aspira.

Los recursos fitogenéticos están categorizados como una parte importante de la biodiversidad total, de actual y potencial relevancia en el mejoramiento de plantas útiles para el desarrollo socioeconómico de cualquier país. Según la clasificación desarrollada por la FAO, estos recursos se pueden agrupar en los siguientes tipos de materiales: variedades comerciales, variedades obsoletas y/o de desarrollo reciente, líneas mejoradas, cultivares criollos o locales (tradicionales), especies herbáceas y silvestres precursoras de plantas cultivadas, así como estirpes genéticas especiales. Todos estos materiales se pueden preservar en forma de plantas, semillas y cultivos de tejidos.

De los tipos antes mencionados, los cultivares criollos o locales y las especies silvestres son aquellos que poseen mejor adaptación a muchas variantes de interacción con el ambiente natural y cultural de una región, y constituyen, por este hecho, los recursos fitogenéticos más importantes para los fines de la mejora.

Los cultivares superiores/mejorados, junto con las estirpes genéticas (mutantes naturales, mutantes inducidos, líneas mejoradas con características específicas y accesiones con resistencia), también desempeñan un papel relevante en el futuro mejoramiento de las plantas económicamente importantes y por esta razón necesitan ser preservados y regenerados en el momento oportuno.

El trabajo desarrollado por Nikolai Vavilov entre 1920 y 1940 fue una piedra angular en el campo de los recursos fitogenéticos. Vavilov identificó lo que primeramente fueron llamados "centros de origen de las plantas y animales domésticos", considerados más tarde como los "centros de diversidad genética", los cuales junto con otros centros adicionales o secundarios, conforman la visión actual del problema relacionado con el rescate de estos fitorrecursos.

Esta problemática conlleva, como es de esperar, la identificación de los acervos genéticos de las plantas en los géneros adicionales (en términos de relaciones taxonómicas), las cuales son esenciales para la vida y la supervivencia humana. Estas plantas, distribuidas con arreglo a los hábitats silvestres donde crecen y se reproducen, necesitan ser rescatadas para su uso por los mejoradores, con vistas a obtener nuevas y subjetivas oportunidades en el desarrollo agrícola actual.

Las variaciones genéticas de las plantas en estos hábitats fueron consideradas como un recurso ilimitado. Sin embargo, se ha comprendido que una gran parte de la variación genética disponible en los centros de diversidad, tanto en los primarios como en los secundarios, se extinguirá rápidamente si no se toman las medidas pertinentes en este sentido.

Muchos factores, tales como la extensión y el cambio en el uso de la tierra, la introducción de técnicas modernas en la agricultura y el uso de fertilizantes químicos, pesticidas y fungicidas, hicieron obsoletos a los cultivos tradicionales y provocaron una alta necesidad de su rápido reemplazo con cultivares mejorados; por otra parte estos factores, junto con la introducción de los cultivares nuevos y uniformes, la deforestación, la puesta en marcha de grandes proyectos hidráulicos, el calor y la desertificación, la salinización del suelo, la construcción de carreteras y viales, así como la urbanización, pueden provocar una alta tasa de erosión en los recursos genéticos disponibles en un país para todos aquellos cultivos de relevante importancia económica y sus ancestros relacionados. Por ello, bajo estas circunstancias existe una necesidad urgente para tratar de reunir y conservar todo lo que sea diversidad genética aún disponible.

La gran diversidad genética, existente en los acervos de genes, mantiene un vasto potencial para el uso actual y futuro en beneficio de la humanidad. Los recursos genéticos son irremplazables y es esencial que se

lleve a cabo su colecta y conservación, a nivel de especies, e incluso a nivel de ecosistemas, como una de las vías insoslayables para la supervivencia humana actual y futura.

Esta metodología tiene como objetivo fundamental mostrar a los profesionales dedicados a la noble tarea de coleccionar, caracterizar y preservar los recursos fitogenéticos útiles al sector ganadero, aquellos elementos metodológicos necesarios e imprescindibles para encauzar este trabajo sobre bases científico-técnicas de alto rigor.

### ***I. Razones para la colecta de especies forrajeras tropicales***

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 imprescindible coleccionar, en la mayor brevedad, esta riqueza, particularmente aquellas que poseen mejores perspectivas. De ahí que existan tres razones importantes para continuar la colecta de germoplasma de pastos tropicales:

- a) La necesidad de obtener el máximo posible de variabilidad genética, con el fin de proceder a la selección del material más promisorio.
- b) La necesidad de garantizar la preservación de los recursos genéticos disponibles mientras estos existan. Una importante razón para ello es la clara evidencia de que los genes de las especies de pastos tropicales se están perdiendo. En más de una ocasión el retorno a un sitio de colecta de material genético promisorio ha demostrado que este ya no existe.
- c) Hasta la actualidad probablemente solo se ha coleccionado una pequeña parte de los genes potencialmente valiosos de leguminosas y gramíneas tropicales.

Para el caso particular de Cuba, se ha indicado que su flora comprende alrededor de 6 700 especies de plantas superiores, de las cuales cerca del 50 % son endémicas. Sobre la base de las listas de referencia, se ha estimado que más de 900 de estas especies se encuentran bajo cultivo, incluyendo las ornamentales.

Específicamente en la familia de las gramíneas, la flora de Cuba está conformada por 25 tribus, representadas por 96 géneros y 430 especies. Sin embargo, muy pocas tienen adecuado valor para la explotación de pastizales. A partir de la clasificación utilizada por Tzvelev, quien divide a *Gramineae* en dos subfamilias: *Bambusoideae* (Ness.) y *Pooideae* (A.Br.), se comprueba que en la primera, con 5 tribus (*Bambuseae*, *Chusqueae*, *Arthrostylideae*, *Phareeae* y *Olyreae*), 8 géneros y 17 especies (5 endémicas), ninguna resulta de importancia para su utilización en la producción de pastos o forrajes.

De las 20 tribus restantes (subfamilia *Pooideae*), solo suelen tener valor 4 de los 25 géneros de la tribu *Cynodonteae*, 7 de los 27 géneros de *Andropogoneae* y 13 de los 33 géneros de *Paniceae*.

En la tabla 1 se muestran los 22 géneros más importantes de los 24 indicados con anterioridad. De las 243 especies pertenecientes a estos géneros solo 30 poseen relativa importancia, ya que 17 tienen bajo valor forrajero, 8 un valor medio, solo 5 un valor alto y ninguna es endémica.

No obstante, en esta familia deben realizarse esfuerzos para rescatar algún material de acuerdo con los intereses actuales y futuros.

En el caso particular de la familia de las leguminosas, el material endémico o naturalizado presenta una riqueza potencialmente alta, que aún no ha sido del todo explotada a pesar del fuerte trabajo desarrollado en las labores de colecta en distintas regiones del país.

Tabla 1. Género y especies más importantes en Cuba y su valor forrajero.

Género	Especies	Especies importantes	Valor forrajero		
			Bajo	Medio	Alto
<i>Cynodon</i>	1	1	-	1	-
<i>Chloris</i>	13	1	-	-	1
<i>Eleusine</i>	1	1	1	-	-
<i>Andropogon</i>	27	-	-	-	-
<i>Bothriochloa</i>	2	2	2	-	-
<i>Capillipedium</i>	1	1	1	-	-
<i>Dichanthium</i>	2	1	-	1	-
<i>Hyparrhenia</i>	2	2	1	1	-
<i>Saccharum</i>	1	1	-	1	-
<i>Sorghum</i>	2	1	-	-	1
<i>Axonopus</i>	2	1	1	-	-
<i>Brachiaria</i>	3	1	-	-	1
<i>Cenchrus</i>	7	-	-	-	-
<i>Digitaria</i>	11	1	1	-	-
<i>Echinochloa</i>	5	2	1	1	-
<i>Eriochloa</i>	4	1	-	1	-
<i>Panicum</i>	71	4	3	-	1
<i>Paspalum</i>	61	4	2	2	-
<i>Pennisetum</i>	2	2	1	-	1
<i>Setaria</i>	16	-	-	-	-
<i>Stenotaphrum</i>	1	1	1	-	-
<i>Sporobolus</i>	8	2	2	-	-
Total	243	30	17	8	5

Cuba posee 433 especies de leguminosas. De estas, 305 son endémicas de la flora neotropical y 155 son autóctonas, además de 15 especies "endémicas cubanas" de los géneros *Belairia* (6), *Notodon* (4), *Behaimia* (2), *Bembicidium* (1), *Herpiza* (1) y *Sauvallella* (1). Por esta razón, en el caso de las leguminosas (tanto herbáceas como arbustivas y arbóreas) el esfuerzo debe ser mayor en relación con las gramíneas, debido al importante papel que desempeñan estas plantas en el volumen y la calidad de la dieta animal y en la mejora de otros factores físico-químicos y bióticos del ambiente (altamente conocidos), incluyendo el sombreado y la incorporación de MO en forma de hojarasca.

## II. Bases técnico-prácticas para la colecta de germoplasma

### A) Exploración y colecta

Las actividades relacionadas con la conservación y el uso de los recursos fitogenéticos incluyen: la exploración, la colecta, la caracterización, la evaluación, la conservación de la variación e identificación de genes útiles, el intercambio y el trabajo de mejora genética. De estos aspectos se desarrollarán los tres primeros en correspondencia con los fines de esta metodología.

1. La actividad de exploración es un recorrido preliminar del área donde se llevará a cabo la colecta de germoplasma. Sin embargo, debido a la escasez de recursos tanto la exploración como la colecta se deben realizar en forma simultánea. Para ello se debe llevar a cabo el siguiente trabajo precolecta:

- a) Estudio de las posibles áreas de colecta basado en la flora de Cuba, así como en documentos publicados relacionados con esta temática.
  - b) Estudio de las condiciones edafoclimáticas que caracterizan el área seleccionada para la colecta. Este se realizará tomando como base la información detallada que aparece en el Nuevo Atlas de Cuba y los mapas de suelo desarrollados por el Instituto de Suelos de la Academia de Ciencias de Cuba y/o los laboratorios provinciales de suelo.
  - c) Determinación de las fuentes de colecta. Este aspecto es de vital importancia, debido a que la fuente donde crece y se desarrolla un determinado material puede transferir una importante información acerca de la posible estructura genética de la muestra colectada. Por ejemplo, la estructura genética de una población en suelos disturbados a ambos lados de una carretera, puede que sea muy diferente de aquella población de la misma especie que crece en un hábitat natural relativamente no disturbado. Por ello se precisa muestrear en ambos casos.
2. La colecta se refiere a la obtención de semilla o propágulos de: razas locales, especies silvestres y cultivares (mejorados o no) mantenidos en empresas u otras entidades, jardines botánicos e instituciones científicas o docentes. El sitio de colecta se determinará sobre la base de las comunidades de plantas existentes para cada especie, las características del suelo y clima y la vulnerabilidad y el grado de amenaza de estas poblaciones.

La misión de colecta puede ser específica o amplia. En las misiones específicas el objetivo es coleccionar material con caracteres definidos, es decir, accesiones de una especie, de especies de un género en particular y de especies de muchos géneros para un hábito de crecimiento preestablecido, por ejemplo especies arbóreas o herbáceas. Las misiones amplias son las dirigidas a coleccionar material de muchas especies de diferentes géneros, independientemente del hábito de crecimiento y la utilidad, e incluso de distintas familias. Es importante, en la etapa de precolecta definir la misión y escoger los períodos del año más apropiados para su ejecución, de acuerdo con el tipo de material que se desee coleccionar y su propósito.

Basado en la experiencia de las colectas realizadas con anterioridad en el territorio cubano se sugiere:

- Colectar material de leguminosas, independientemente de su hábito, durante los últimos meses del período seco (febrero, marzo y abril), incluyendo entre las muestras tantas accesiones de especies herbáceas, arbustivas y arbóreas como sea posible. Dentro de estas especies se debe enfatizar en los géneros: *Aeschynomene*, *Albizia*, *Alysicarpus*, *Bauhinia*, *Caesalpinia*, *Cajanus*, *Calopogonium*, *Canavalia*, *Cassia*, *Senna*, *Centrosema*, *Crotalaria*, *Desmanthus*, *Desmodium*, *Erythrina*, *Galactia*, *Gliricidia*, *Guazuma*, *Indigofera*, *Lablab*, *Leucaena*, *Lysiloma*, *Macroptilium*, *Mucuna*, *Pithecellobium* (especies no espinosas), *Pueraria*, *Prosopis*, *Rhynchosia*, *Sesbania*, *Stylosanthes*, *Teramnus* y *Zornia*.
- Colectar en el período seco material de gramíneas promisorias que posean rasgos morfológicos favorables dentro de este período (vigorosas, verdes, poco afectadas por el estrés), particularmente en las zonas donde se aprecien graves efectos de la sequía. Colectar también tipos útiles dentro de las poblaciones, que aun cuando estén afectados, muestren características atípicas o rasgos diferenciales de interés en relación con los restantes. Se debe enfatizar en *Panicum maximum*, *Chloris gayana* y *Brachiaria purpurascens* (muy justificado en esta última). Se deben incluir *Cynodon dactylon*, *Axonopus spp.*, *Paspalum spp.*, *Brachiaria spp.*, *Bothriochloa pertusa*, *Dichanthium spp.* y *Stenotaphrum spp.* para su utilización como césped.

- Colectar material de gramíneas durante la etapa de mayores precipitaciones (época de lluvia), con el fin de seleccionar la máxima variabilidad posible, escogiendo tipos élitos e incluso formas que al parecer no son promisorias. En esta época es importante enfatizar en las especies antes mencionadas. Se debe escoger el material para los caracteres en los que estos expresan su mayor variación en ese período. Por ejemplo, tolerancia a las enfermedades y plagas, ahijamiento, dimensiones de las hojas y número de tallos generativos, entre otros.
  - Colectar material de arbóreas de otras familias de plantas que posean interés para diversos usos.
3. La caracterización se refiere a las observaciones que se deben realizar a nivel de macetas o en parcelas pequeñas, con el fin de determinar el nivel de similitud y/o diferenciación del material colectado para una especie dada. En esta se tomarán en consideración aquellas características que son altamente heredables, que pueden ser fácilmente visualizadas y que se expresen en todos los ambientes.

### **B) Información general**

La información general que se debe reunir al planificar un viaje de colección se refiere a los aspectos de la infraestructura y los servicios disponibles en la ruta de viaje. En esta se incluyen aspectos tales como la existencia y accesibilidad de carreteras y caminos, aspectos logísticos (pernoctación en instituciones, casas de visita u hoteles), así como la disponibilidad de agua, combustible y otros viáticos para el viaje.

- Para la descripción del sitio de colección e identificación del material colectado:
  - ◆ Mapas de carreteras y caminos (lo más detallados posible)
  - ◆ Brújula y altímetro
  - ◆ Bolígrafo, lápiz y planillas con los descriptores (Anexo 1)
  - ◆ Cámara fotográfica
  - ◆ Marcadores con tinta indeleble
  - ◆ Material para escribir información
  - ◆ Grabadora pequeña (con suficientes cintas magnetofónicas)
- Para coleccionar germoplasma:
  - ◆ **Semilla.** Suficientes cartuchos pequeños o medianos, sobres de papel o nailon de varios tamaños, ligas y tarjetas para numerar, en correspondencia con el número de la accesión según la planilla de descriptores.
  - ◆ **Material vegetativo.** Pico, tijeras, machetes, bolsas plásticas horadadas, papel periódico y sacos de yute para preservar los estolones y rizomas, los cuales deben mantenerse húmedos durante toda la etapa de colecta.

### **C) Muestreo**

#### ***Estrategia de muestreo***

Aunque la teoría de la estrategia de muestreo está basada en un conocimiento óptimo del patrón de variabilidad genética de las poblaciones, en la práctica este no se tiene en cuenta. Por ello, la estrategia debe ser perfilada como se explica a continuación:

- ❖ Conociendo que los factores ecológicos son los que más determinan la diversidad genética y que, consecuentemente, la distribución de esta variación influida por tales factores debe estar determinada por la topografía, la altitud, los cambios de vegetación, los cambios sucedidos en el suelo y en el uso de la tierra,

se debe muestrear cuando el colector se percate de dichos cambios a través de las observaciones que pueda hacer desde el vehículo o medio de traslado durante la colecta. En el caso de que la vegetación, la topografía y los demás elementos sean uniformes, lo apropiado es detenerse cada 30-50 km. Con el fin de percatarse de la existencia de poblaciones (más o menos amplias) o de especies aisladas de interés, la velocidad de traslado no debe exceder los 40-50 km/hora en las zonas de altas posibilidades y 70 km/hora en trayectos de menores posibilidades (homogéneos en suelos y vegetación).

- ❖ El área de colección (recorrido planificado en el período precolecta) debe ser correctamente fijada por las cotas de latitud, longitud y altitud (en correspondencia con los descriptores propuestos más adelante), así como caracterizada desde el punto de vista edafoclimático y topográfico.
- ❖ La semilla cosechada o los propágulos obtenidos deben estar libres de patógenos perceptibles. Las semillas deben estar maduras o en etapa de madurez fisiológica; estas serán depositadas en sobres o cartuchos correctamente señalizados con números (ver planilla de descriptores) y cerrados para evitar pérdidas y contaminación. Los sobres y cartuchos pueden ser depositados en contenedores (cajas, maletines u otros), los cuales deben estar habilitados con pequeñas cantidades de secante (silica gel).
- ❖ Los nombres botánicos deben ser citados acorde con la clasificación actual (planilla de descriptores) y, de ser posible, con su autor (clasificador). También pueden aparecer en la planilla los sinónimos más importantes, así como los nombres vernáculos utilizados por los pobladores de la zonas o aquellos conocidos por el colector. Si este no es capaz de reconocer el género, y por supuesto la especie, puede auxiliarse de los especialistas del Instituto de Ecología y Sistemática, previa herborización en la etapa de caracterización.
- ❖ Se debe coleccionar la mayor cantidad de semilla posible, tanto para la conservación como para la caracterización en campo o maceta, así como para evitar las dificultades del proceso de multiplicación. Sin embargo, este proceso es imprescindible cuando el tamaño de la muestra es muy pequeño, por lo que se sugiere aprovechar la etapa de caracterización para cosechar la semilla producida. Incluso es aconsejable cosechar toda la semilla cuando el tamaño de muestra es grande, ya que el objetivo final es la evaluación, cuyas necesidades de material deben ser cubiertas. También debe ser aprovechada la etapa de caracterización para la herborización del material genotípicamente diferente.
- ❖ Las colectas pueden realizarse en hábitats silvestres, al borde de carreteras y caminos, lugares adyacentes, en campos cultivados y en instituciones (docentes, de investigación y en jardines botánicos). En estas últimas debe contactarse con el personal que atiende el material, con el fin de dejar establecidas las posibles prioridades futuras y obtener informaciones relacionadas con otros posibles organismos nacionales o internacionales poseedores de accesiones de interés (posibles donantes).
- ❖ Al coleccionar material proveniente del patrimonio de conservación perteneciente a los jardines botánicos, se deben tener presente algunos principios.
  - a. Definición previa de los intereses en cuanto a las familias, géneros, especies y/o variedades que posee el lugar y que cuentan con características acordes con los propósitos de la colecta.
  - b. Determinar a partir del material presente las prioridades, atendiendo a: i) presencia o no en colectas efectuadas con antelación, ii) nivel de urgencia para la introducción en correspondencia con el flujo de investigación.

- c. Precisar el estadio fenológico de la planta en el momento de la visita, así como la vía de propagación más efectiva (por semilla o propágulos); debe mantenerse el contacto con la institución cuando no existe posibilidad de obtener un determinado material.
- ❖ Basado en el circuito de muestreo planificado en la etapa de precolecta, las muestras se colectarán al azar en las poblaciones silvestres; se escogerán, de existir, muestras preferenciales de uso potencial para su inmediata utilización en etapas más avanzadas del preflujo o del flujo varietal. Estas últimas se multiplicarán (si es necesario) y serán objeto de investigación acelerada, en correspondencia con los intereses institucionales.
  - ❖ A partir del hecho de que la utilidad de una colección de germoplasma depende de que esté representada la diversidad genética en un grado elevado, para una especie dada, los colectores deben cubrir un rango de condiciones agroecológicas lo más amplio posible, solo limitado por las necesidades de orden práctico (recursos, tiempo, etc.). Por ello, el número de muestras colectadas para cada especie a través del circuito de recorrido debe ser lo suficientemente grande como para permitir una menor frecuencia de alelos representados en el material colectado. De otro modo ese germoplasma podría suministrar genes útiles a los mejoradores de hoy, pero pudiera convertirse en inadecuado para las necesidades del mañana. El acceso a un amplio rango de variación genética es esencial en el mejoramiento y para investigar en la respuesta fisiológica y los estrés climáticos, la temperatura y el fotoperíodo.
  - ❖ Cuando se desconoce el origen de la población o su estado de mejora genética en plantas autógamas, se debe tomar una mezcla lo más representativa posible de la población colectada. Las semillas se pueden mezclar siempre y cuando puedan pertenecer fenotípicamente a un mismo ecotipo; de esta manera se evita la pérdida de genotipos útiles debido a la competencia intergenotípica en las plantas que tienen este tipo de reproducción. Posteriormente estos genotipos pueden ser separados en el proceso de caracterización. También pueden tomarse muestras, por separado, de poblaciones que contienen genotipos visualmente diferentes, con lo que se obtiene la máxima variabilidad en el muestreo.
  - ❖ En el caso de las plantas alógamas se debe tomar una muestra aleatoria de la población (no menor de 25 a 50 plantas) mezclando toda la semilla. Esta práctica se debe mantener en todas las generaciones de semilla obtenidas en los procesos de multiplicación y evaluación, para evitar la consanguinidad y la pérdida de la heterocigosis. De existir menos plantas también se procederá a colectar dicho material, tomando el mayor número posible de legumbres por individuo.

Por ejemplo, existen arbóreas como *Gliricidia sepium* que presentan fecundación cruzada (con una fuerte autoincompatibilidad) y necesitan una distancia suficiente entre árboles para poder minimizar la autofecundación de la especie; es por ello que la colecta de semilla de esta especie debe hacerse aproximadamente en 25 árboles seleccionados al azar; además, estos árboles deben estar a una distancia de 50 m entre sí y la selección no debe ser puramente fenotípica. No obstante, se puede colectar en poblaciones con pocos individuos y obtener la representatividad de la especie mediante esta semilla, ya que esta última es producto de una hibridación natural en el sitio en que se colecta. Es preciso enfatizar en que el número de semillas a cosechar debe ser grande para llevar a cabo los procesos que se describirán posteriormente en las fases de vivero y *arboretum*.

- ❖ La representación de la variación genética mediante la colecta en un rango amplio de medios ambientes, debe realizarse de forma tal que de las poblaciones muestreadas se pueda obtener adaptación ecotípica específica. La identificación de estos ecotipos se efectuará mediante la caracterización del material recientemente colectado, tan rápido como sea posible.
- ❖ Las expediciones deben organizarse como respuesta a los intereses de los programas y proyecciones realizadas en materia de investigación, según la misión del centro, en los cuales deben contribuir los mejoradores e investigadores capaces de obtener los atributos específicos que se necesitan.
- ❖ Las técnicas de colección son prefijadas: semillas y/o material vegetativo, evaluando la importancia del muestreo en lugares ecológicamente distintos, pero realizando este lo más frecuentemente posible en hábitats espacialmente cerrados ("barriando" el área).
- ❖ La estrategia de colección será: la identificación de entidades ecológicas discretas y el muestreo aleatorizado, preferiblemente, de un mínimo de 20 a 30 individuos separados idealmente como unidades vegetativas, con el fin de evitar la predisposición hacia individuos anormalmente fecundados, es decir, con gran cantidad de semilla.
- ❖ Se considera importante coleccionar lo más cerca posible la misma cantidad de semilla de cada individuo para evitar de nuevo la dominancia de unos pocos individuos altos productores de semillas, excepto cuando la población es pequeña o se trate de plantas aisladas o diferentes.
- ❖ Si las especies colectadas son fenotípicamente uniformes, se ligarán sus semillas. Sin embargo, si se sospecha que existen razas cromosómicas distintas, será ventajoso retener la identidad individual.
- ❖ Una considerable importancia se debe dar al registro de la localización, los rasgos ecológicos y los detalles del manejo pasado y presente del pasto, incluyendo el pastoreo, la intensidad de corte y la fertilización (Anexo I).
- ❖ Para los colectores es importante conocer el tamaño aproximado de la muestra en relación con el tamaño de la fuente original de la población (medida en número de individuos). Si esta es grande, pero solo se toma una muestra pequeña, puede existir más diversidad genética disponible que la presente en la muestra. Si la población original consta solo de algunas plantas y todas se muestrean, no será necesaria una nueva colecta en ese lugar.
- ❖ Las plantas a muestrear son seleccionadas al azar, sistemáticamente o de una manera selectiva o sesgada, a partir de la población; por esta razón ellas pueden tener un profundo efecto sobre la cantidad y el tipo de diversidad genética presente en la muestra.
- ❖ Entre las formas de colección simple recomendadas se encuentra el muestreo aleatorio/selectivo.
  - 1) Si el muestreo es a lo largo de un transecto, la técnica podría ser descrita como: a) 5 transectos a lo largo del campo; b) comenzar por un punto al azar a lo largo del contorno de una S; c) aleatorización en una dirección elegida; d) muestreo de 10 semillas por planta cada 5 m. Todos estos casos se refieren al muestreo en poblaciones más o menos grandes de una especie dada.
  - 2) Si las poblaciones son pequeñas o se trata de individuos aislados, se hará la localización a través de un área más o menos grande (0,5-1,0 ha), buscando todos aquellos individuos que resulten de interés.

- ❖ Se muestreará para todas y cada una de las especies existentes dentro de un género determinado, separando el material por especies e incluso por ecotipos (de existir formas diferentes) cuando se trate de material con una autopolinización fuerte.
- ❖ Aunque el banco de semilla del Royal Botanic Gardens (Kew, Reino Unido) ha establecido un mínimo ideal de 20 000 semillas/muestra, para los objetivos de conservación a largo plazo y su distribución se puede tomar una cantidad de semillas mucho menor en aquellas especies de interés especial, según las propias reglas de esta Institución.
- ❖ Se sugiere muestrear la mayor cantidad de plantas por población. Una población para los propósitos prácticos significa un campo cultivado o un área de tierra ocupada por especies silvestres. Sin embargo, en muchas circunstancias el tamaño de la muestra no puede exceder de 50 plantas por población; por esta razón se debe seguir el proceso de tomar de 10 a 50 semillas en 50-100 plantas en cada sitio de colección, e incluso el tamaño de la muestra puede ser más pequeño (<50). También la muestra puede ser tan pequeña como sea posible, sobre la base de la existencia, lo cual se equipara con el muestreo en muchos sitios diferentes para la misma especie. Ello pudiera mejorar la posibilidad de hallar una mayor variabilidad.
- ❖ Si existe uniformidad en las plantas que conforman la población, no se requiere caminar mucho por el sitio de colección; de lo contrario, se precisa un desplazamiento lógico. Por ello, es vital la delimitación espacial de la población, el número de plantas a muestrear y la obtención de muestras de semilla o material vegetativo.
- ❖ El tiempo de muestreo por planta puede ser reducido con efectividad, tomando muestras de todas las plantas en un lugar pequeño (si existe uniformidad para cada especie a muestrear).
- ❖ Es de vital importancia seleccionar y muestrear en las plantas que manifiesten mayores variaciones morfológicas, con el fin de incrementar el espectro genético de las poblaciones obtenidas. También es recomendable adquirir accesiones o clones élites donde no sea posible obtener muestras de semilla. En el caso de las leguminosas se sugiere extraer plántulas pequeñas y vigorosas y proporcionarles las condiciones de vida necesarias durante la etapa de expedición y su plantación posterior, y en las gramíneas se sugiere un proceso similar.
- ❖ ¿Qué tan valioso podría resultar un determinado material en términos de su aparente falta de vigor o de su similitud con un material previamente colectado? El colector generalmente tiene que tomar dos decisiones: 1) si se 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 al colectado en paradas anteriores del viaje.

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

Con relación a la segunda decisión, es aconsejable repetir el muestreo de germoplasma y mantenerlo separado, aunque morfológicamente parezca ser idéntico al colectado con anterioridad. Es posible que

existan diferencias con respecto a los caracteres fisiológicos. Por ello, es preferible correr el riesgo de coleccionar muestras idénticas o duplicadas (las cuales se pueden unificar en las parcelas de evaluación, previa caracterización), en lugar de perder germoplasma valioso.

- ❖ El colector debe asegurarse *in situ* que las muestras colectadas contienen realmente buenas semillas. En caso de que las semillas no estén completamente maduras, es preferible coleccionar semillas inmaduras que no coleccionar ninguna muestra. En ocasiones el material verde se encuentra fisiológicamente maduro y puede germinar (no se debe desechar la variante de coleccionar material vegetativo, como se describió en este material).
- ❖ En el caso de las leguminosas con frutos deshiscentes, los cuales aparentemente no contienen semillas, se justifica buscar y recoger las que hayan caído al suelo.
- ❖ Con respecto a las gramíneas, casi siempre es aconsejable coleccionar material vegetativo, ya que es extremadamente difícil estimar la calidad y la variabilidad de sus semillas en el campo. Para las especies de crecimiento estolonífero o rizomatoso, se deben coleccionar estolones o rizomas, con nudos que contengan raíces fuertes, y preservar este material entre periódicos o sacos de yute que permanezcan humedecidos durante el viaje. Para las especies macollosas es preferible sacar fracciones de macollas que tengan de 10 a 20 hijos, mantenerlas en bolsas de nailon horadadas (acompañadas de suelo) y humedecerlas diariamente durante este período.

#### **D) Multiplicación**

Cuando las facilidades de almacenamiento son inadecuadas, es esencial multiplicar y caracterizar las accesiones de herbáceas tan rápido como sea posible después de arribar al banco de genes. Si el almacenamiento es óptimo, el proceso de caracterización y multiplicación puede ser rápido o esperar momentos oportunos relacionados con la época. Después de caracterizadas las accesiones catalogadas con la clave de la institución correspondiente (distinta para una especie dada), continuarán el flujo normal de evaluación en correspondencia con lo señalado en la Metodología Agil para el Flujo de Germoplasma Forrajero de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey".

#### **E) Caracterización**

La caracterización de especies herbáceas (gramíneas y leguminosas) se llevará a cabo por los especialistas designados según los intereses de la investigación. En esta etapa deben trabajar, preferentemente, los evaluadores de germoplasma (en fases iniciales) y el especialista de germoplasma.

#### **F) Misiones específicas**

En el caso de las misiones específicas para coleccionar arbóreas y/o arbustivas (leguminosas o no) se utilizarán tres vías:

- I. Encuestas dirigidas a productores para indagar sobre las especies de leñosas que normalmente son apetecidas por los animales.
- II. Observación directa de los animales durante el pastoreo o ramoneo para determinar, mediante estudios de frecuencia, las especies más utilizadas.
- III. Uso de la literatura para la obtención de información secundaria sobre especies que ya han sido reportadas en otros estudios.

⇒ Además de la identificación botánica, se debe recopilar información sobre otros usos que se les da a estas especies en la finca y sobre las formas tradicionales de manejo agronómico. Muchas de las especies, además de producir forraje, se utilizan para la obtención de leña, como ornamentales, cercas vivas, para el consumo humano y como plantas medicinales. La información brindada por los productores también permitirá conocer técnicas de manejo agronómico sencillas y fáciles de implementar.

⇒ Con el propósito de obtener información preliminar sobre la capacidad de producción de biomasa de las especies identificadas, es aconsejable podar árboles que crezcan naturalmente o que estén presentes en las fincas. Con esto se puede determinar si las plantas sobreviven a la poda y también obtener una primera aproximación sobre su capacidad de producción, período de tiempo suficientemente largo que permita preseleccionar las mejores. No obstante, en los estudios posteriores que se lleven a cabo en el *arboretum* se reafirman estas posibilidades.

En sentido general, las especies arbóreas o arbustivas deben reunir un conjunto de características que deben ser tomadas en consideración durante su caracterización e incluso algunas durante la colecta:

- ♣ No pueden ser especies colonizadoras ni invasoras.
- ♣ Deben carecer de órganos dañinos (espinas) o mostrar pocos.
- ♣ Consumo y valor nutritivo adecuados
- ♣ Buena capacidad de rebrote.
- ♣ Buena producción de biomasa.
- ♣ Buen establecimiento y crecimiento rápido.
- ♣ Buena adaptación edafoclimática.
- ♣ Sistema radical profundo.
- ♣ Aceptable arquitectura del follaje.
- ♣ Que no sean plantas heliófilas y que toleren la competencia por la luz.
- ♣ Que produzcan postes con capacidad de rebrote a partir de tallos o ramas.
- ♣ Que oferten producciones complementarias.

⇒ La caracterización de las colecciones de especies arbóreas y arbustivas se llevará a cabo en la fase de vivero y en el *arboretum* (donde se determina la potencialidad para diversos usos). Sin embargo, es imprescindible que toda la información de los "datos pasaporte" de estas accesiones se registren en la base de datos del banco de germoplasma (libro de introducción, tarjetas, listados y programa computadorizado).

⇒ El proceso de caracterización de arbóreas y arbustivas se realizará tan rápido como sea posible. Es importante introducir un número amplio de semillas de cada accesión (según lo descrito con anterioridad para este tipo de planta), de forma tal que se obtenga el número de individuos necesarios para este proceso (vivero y *arboretum*).

⇒ El destino posterior del material potencialmente útil, en el caso de las arbóreas, se corresponderá con el flujo de trabajo para este tipo de planta. Por esta razón, debe consultarse la metodología descrita para arbóreas "Evaluación de arbóreas y arbustivas", señalada en la Metodología Agil para el Flujo de Germoplasma Forrajero de la EEPF "Indio Hatuey" (1997).

### G) Lista de descriptores

Es imprescindible que todos los recursos fitogenéticos de una colección *ex situ* mantengan, de forma manual o automatizada, los datos específicos para cada una de sus accesiones: datos pasaporte, de caracterización y de evaluación. A los fines de esta metodología, se definirán el primero y el segundo.

- a) **Datos pasaporte.** Son informaciones acerca de las muestras de germoplasma y el sitio de colección, registradas en el momento de la colecta. Ej.: nombre de los colectores, nombre de la institución, número de muestras, tipo de muestreo, estatus de la muestra (silvestre o cultivada, etc.), fecha de colecta, nombre botánico de las especies y algunos de sus nombres vernáculos, localización del sitio de colecta, etc. En el Anexo 1 se indican los descriptores de los datos pasaporte determinados para el caso de la colecta de pastos, forrajes y especies multipropósitos, los cuales deben formar parte de planillas individuales para cada accesión muestreada. Estas planillas se llenarán en el momento del muestreo o con posterioridad (datos similares para muchas muestras tomadas en el mismo sitio de colección) y luego se pasará esta información a las bases de datos de los recursos fitogenéticos existentes, los cuales formarán parte del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos, de existir esta posibilidad (computadorizada).
- b) **Datos de caracterización.** Son observaciones obtenidas sobre los rasgos altamente heredables, que pueden ser vistos a simple vista y expresados claramente en todos los ambientes. Ejemplos de tales caracteres son incluidos en la lista de descriptores para gramíneas y leguminosas publicada por el IBPGR (Anexo 2). Ej.: color de la flor, tamaño de la legumbre, forma de la hoja, etc. Esta caracterización debe hacerse en la institución en que sea sembrado o plantado el material colectado, a nivel de campo o en macetas, aprovechando esta etapa para la colecta de semilla con vistas a su futura multiplicación y evaluación (selección) en etapas más avanzadas, así como para el intercambio.

El sistema de descriptores adoptado para esta metodología se organizó según el formato de datos para colección de germoplasma desarrollado por el Programa de Recursos Genéticos/Ciencias de las Investigaciones de la Universidad de Colorado, Boulder, Estados Unidos (los cuales aparecen en el capítulo de "Descripción del sitio de colección" del Manual para la Colección, Preservación y Caracterización de Recursos Forrajeros Tropicales) y además en los formatos del IBPGR para la colecta de gramíneas (Descriptor list for forage grasses) y leguminosas (Descriptor list for forage legumes).

Cualquiera de estos descriptores se pueden incluir u omitir, a discreción del colector o de la institución responsable de hacer la colecta, es decir, aun cuando aparezcan en la planilla a llenar para cada accesión colectada (muestra), puede dejarse en blanco o incluir otro (con número secuencia). La numeración o código utilizado es internacional para cada uno de los descriptores específicos; por ello, es posible agregar descriptores con sus respectivos números de códigos en la medida que sea necesario, pero en correspondencia y acuerdo de todas las instituciones internacionales que colaboren con la red de colección de germoplasma.

Las instituciones responsables o el grupo dedicado a la colecta 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 utilizan hojas de papel delgadas con un diseño especial; este sistema permite reproducir la información (por duplicado, triplicado o más copias). Una de las copias se puede anexas a la muestra de semillas o de plantas, otra la puede utilizar el operador de la computadora, otra se le puede adjuntar

a la muestra de *Rhizobium* (en el caso de colectarse estos microorganismos), etc. Lo importante es que los descriptores tengan la misma definición y 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 planta o comunidad (autógama), se debe utilizar un formato o planilla. En el caso particular de la colecta de plantas forrajeras en las zonas prefijadas del país, se utilizará una planilla de campo para cada muestra. Esta planilla estará conformada por varias cuartillas donde se recogerá: a) información general y localización; b) hábitat natural y vegetación del área; c) descriptores para el sitio específico de colección; d) descriptores para las características del suelo y e) descriptores para insectos y enfermedades. El colector llenará las especificidades de cada descriptor (utilizando la letra correspondiente en los casos que se indica).

Concluida la misión de colecta las planillas servirán de base para la confección de la documentación (datos pasaporte) de los recursos colectados, utilizando para ello, en el caso de Cuba, el programa SISBAGER, creado en el Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), o de lo contrario se guardará manteniendo esta información de forma manual. Dicha documentación se utilizará para la inserción de estos recursos en la Red Nacional de Recursos Fitogenéticos. El programa SISBAGER es compatible con los utilizados por la Red Internacional de Recursos Fitogenéticos.

Al concluir la etapa de caracterización y nominar cada accesión diferenciada con la clave institucional, dicha clave (con la numeración asignada) pasará como otro número al descriptor correspondiente, en la planilla para esta accesión o en la base de datos del programa mencionado (Anexo 1).

#### **H) Beneficio de la semilla y conservación**

El beneficio de la semilla es un aspecto importante a tomar en consideración cuando se pretende conservar, en óptimas condiciones, el banco de germoplasma. De ahí que esta acción no se limite solo a su limpieza, sino que se debe comenzar desde el mismo instante en que se plantan las semillas para los procesos de regeneración y/o multiplicación de los recursos genéticos.

- ★ Una vez germinada la semilla en los campos utilizados para estos fines, es necesario mantener una esmerada atención cultural de las plantas, siguiendo las normas establecidas por sanidad vegetal para el control de malezas, insectos y enfermedades. También se debe utilizar la fertilización y el riego adecuado, de modo que se garanticen plantas sanas y de buen desarrollo para que produzcan semillas de buena calidad.
- ★ Es necesario controlar eficientemente la pureza varietal de cada accesión plantada.
- ★ La cosecha se debe realizar en el momento óptimo de maduración de los frutos. Para ello se tendrán presente las características específicas de las diferentes familias y especies y el comportamiento que siguen al madurar sus semillas. Entre estas características se encuentran: el grado de dehiscencia para un grupo de leguminosas, así como la cantidad de semillas caídas y el lugar de desarticulación de las espículas en el caso de las gramíneas. Estos aspectos deben ser conocidos y bien manejados por los técnicos y/o especialistas que atienden la actividad.
- ★ Los cortes se efectuarán con el cuidado necesario, para evitar el desgrane de las semillas en legumbres e inflorescencias.

- ★ Independientemente de que se mantenga la pureza varietal y las parcelas libres de malezas, estos aspectos también se deben tener en cuenta en la cosecha para asegurar la pureza y la calidad del material.
- ★ Las semillas de cada parcela, recogidas individualmente, se colocarán en sobres con su correspondiente tarjeta para identificar la accesión y la fecha de cosecha, cerrándolos bien para evitar que pueda caer alguna semilla de un sobre en otro y se produzca contaminación.
- ★ En el local de secado y beneficio, las legumbres o inflorescencias con las semillas se secarán en cajas con tapa de malla fina, que garanticen la aereación a una temperatura de aproximadamente 25-40<sup>0</sup>C, durante 3 ó 4 días, para evitar que un secado rápido a mayor temperatura dañe la viabilidad.
- ★ A las semillas de algunas gramíneas, que resultan muy trabajosas en el momento de efectuar el desgrane de las inflorescencias y quedan con muchos residuos, se les puede facilitar su desgrane mediante una labor de sudado. Esta consiste en mantenerlas 2 ó 3 días envueltas en una manta antes del secado, lo que provocará que las inflorescencias suelten las espículas con facilidad.
- ★ La tarjeta de identificación de cada accesión debe continuar junto a esta durante el proceso.
- ★ El trillado y la limpieza deben realizarse de manera tal que no se produzcan daños mecánicos que puedan facilitar la entrada de agentes causantes de enfermedades.
- ★ Es preciso separar bien todos los restos vegetales o cualquier impureza y las semillas dañadas o malformadas.
- ★ Una vez limpias, las semillas se secarán mediante las técnicas más apropiadas para lograr una reducción de la humedad hasta un 3-7 %, momento en que se consideran listas para el envasado y almacenaje. Entre estas técnicas se encuentran el uso de autodesecadores automáticos de semillas y el empleo de silica gel (activado), el cual se mantiene en campanas con tapas esmeriladas que provocan un cierre prácticamente hermético. Estas campanas deben permanecer en locales que mantengan temperaturas entre 10 y 25<sup>0</sup>C y una humedad relativa de 10-15 % (por medio del uso de deshumidificadores).
- ★ Antes de envasar y almacenar la semilla es necesario realizar las pruebas de viabilidad o de germinación correspondientes, con el fin de conocer si esta posee valores correctos de germinación (entre 75 y 95 % en las leguminosas y entre 20 y 50 % en las gramíneas).
- ★ Los resultados de la germinación inicial se anexarán a la tarjeta de identificación de la accesión, ya que son de gran utilidad para determinar el tiempo de viabilidad. También se anexarán a las bases de los datos pasaporte (manual o computadorizada). La germinación se efectuará mediante pruebas periódicas, de forma tal que se pueda determinar el momento en que se deben regenerar nuevamente, en dependencia de la especie y de las condiciones de conservación.

#### **I) Conservación del germoplasma**

- Las semillas que se reciben por cualquiera de las posibles vías (regeneración o refrescamiento, introducción del extranjero o colecta nacional) formarán parte de la colección de base y activa del germoplasma mantenida en la cámara o en el genofondo (colección en el campo de aquellas especies que no producen o producen poca o ninguna semilla viable). En este campo también debe conservarse material de gramíneas y de otras familias cuando las condiciones de la cámara son inadecuadas.

- Se considera indispensable que las partidas de entrada almacenadas en la colección de base consten, como mínimo, de 1 000 semillas viables. Aun así, no hay que ser demasiado estrictos: si se dispone de menos de 1 000 semillas, estas se pueden mantener en buenas condiciones de almacenamiento ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) en espera del momento de proceder a la regeneración. La colección activa puede estar formada por un número menor de semilla viable ( $<300$ ), pero cuando es muy poca ( $<100$ ) debe regenerarse y posteriormente mantenerse en la cámara ( $2-4^{\circ}\text{C}$ ). Si no se dispone de esta cámara, ambas colecciones deben mantenerse en condiciones de almacenamiento a mediano plazo ( $5-12^{\circ}\text{C}$ ) y hacer la regeneración cada vez que la germinación se haya reducido al 65 % del valor inicial. Este valor también será tomado para el caso de la colección de base cuando se mantiene en la cámara a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Si la semilla posee una alta germinación inicial, la primera prueba (en la colección de base mantenida a  $-18^{\circ}\text{C}$ ) se puede efectuar entre los 5 y 10 años de almacenamiento. Las pruebas posteriores se realizarán en función de la experiencia y de las condiciones existentes en el banco de germoplasma (temperatura y humedad): si las condiciones son óptimas, cada 5 a 10 años; si son malas, cada 2 ó 3 años.
- Para todas las semillas almacenadas en la cámara fría, es necesario cumplir con antelación determinados requisitos que garanticen una correcta conservación, con el fin de que estas extiendan lo más posible el tiempo de vida, en función de la estructura física, bioquímica o genética de longevidad de las distintas especies y accesiones (incluyendo cultivares, variedades obsoletas y/o de desarrollo reciente, líneas élites, líneas mejoradas y estirpes genéticas especiales obtenidas por cruzamiento o biotecnología).
- El envasado debe realizarse cuando se haya reducido la humedad de las semillas hasta aproximadamente 3-7 %, procediendo a introducirlas inmediatamente en el recipiente utilizado al efecto. Este último debe reunir la condición de hermeticidad perfecta para evitar la posible entrada de humedad. Para ello se considera mejor utilizar sobres de papel de aluminio laminado bien sellados, los cuales garantizan la conservación para cualquiera de las variantes (corto, mediano o largo plazo).
- Una vez sellados y con los datos correspondientes (nombre científico, nombre del cultivar o variedad o número de la accesión, clave de introducción, fecha de cosecha, por ciento de germinación y procedencia), los sobres se llevarán a la cámara de conservación colocándolos en su correspondiente colección (de base y activa), de forma organizada para su fácil localización.
- La cámara de conservación debe reunir las condiciones necesarias de temperatura en dependencia de las posibilidades o necesidades de conservación a mediano o largo plazo. Existen cámaras diferenciadas en función de los rangos de temperatura. La colección de base debe disponerse en aquellas que cubran un rango inferior a  $0^{\circ}\text{C}$  (preferentemente de  $-18$  a  $-20^{\circ}\text{C}$ ); la colección activa a una temperatura superior a  $0^{\circ}\text{C}$  e inferior a  $15^{\circ}\text{C}$ , preferentemente entre 4 y  $10^{\circ}\text{C}$ .
- Es requisito indispensable mantener un estricto control de todas las accesiones y colecciones mediante el libro de introducción de germoplasma. No obstante, esta información debe ser introducida en un programa computadorizado, donde se registren todos los datos de cada accesión con el fin de facilitar los trabajos de investigación y de aplicación posterior de cada una, así como su control dentro del banco. Este programa puede ser el SISBAGER u otro utilizado nacional o internacionalmente. Lo importante es que la información recogida (datos pasaporte) esté en correspondencia con los códigos utilizados internacionalmente, los cuales son: número de la accesión, nombre del donante, número utilizado por el donante, otro(s) número(s)

asociados a la muestra, nombre científico (género, especie, subespecie, variedad botánica, cultivar), fecha de adquisición, fecha de la última regeneración o multiplicación, tamaño de la partida de semilla (entrada) y número de regeneración. Cuando se trate de accesiones colectadas en el territorio nacional se tomarán los datos de colección más importantes que aparecen en el Anexo 1, en correspondencia con las muestras que han sido caracterizadas y pasan a las colecciones de base y activa con la clave de la institución (otro número).

- La colección de campo (genofondo) se debe mantener libre de otras plantas o mezclas varietales. Para ello se realizarán limpiezas periódicas y selección negativa cada vez que se considere necesario y se efectuarán cortes cuando los requerimientos de cada especie lo determinen. Para estos últimos deben tenerse en cuenta el ciclo biológico y el desarrollo de cada una de las accesiones; se aplicará fertilización, riego y tratamientos para el control de las plagas y enfermedades cuando se requieran.
- En la colección de campo se llevarán los mismos controles y datos que en la colección de semillas.
- En las parcelas de este campo es recomendable utilizar un área de 3 x 1 m, y calles de 2 m para evitar contaminaciones interespecíficas y satisfacer las necesidades de área vital, especialmente en cuanto a luz y nutrientes.
- Se recomienda sembrar juntas las accesiones de porte pequeño, después las medianas y seguidamente las de mayor altura, con lo cual se evitan los posibles efectos producidos por los diferentes portes de las plantas, principalmente en cuanto a la altura.
- Los datos pasaporte y de caracterización solo se mantendrán en la base de datos computadorizada, cuando se esté seguro de poseer semilla viable.

### **BIBLIOGRAFIA**

- ANDERSEN, S. & ELLIS, W.D. 1984. Descriptor list for forage legumes. IBPGR, Rome. 29 p.
- ANISHETTY, N.M. 1994. Conservation and sustainable use of plant genetic resources. In: Safeguarding the genetic basis of Africa's traditional crops. (Ed. A. Putter). CTA, The Netherlands/IPGRI, Rome. p. 49
- ANNICCHIARICO, P. 1991. Collecting Ladino white clover ecotypes in the Po Valley. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 85:25
- APPA RAO, S.; MONYO, E.S.; HOUSE, L.R.; MENGESHA, M.H. & NEGUMBO, E. 1992. Collecting germplasm in Namibia. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 90:42
- BALLINGTON, J.R.; LUTEYN, J.L.; THOMPSON, M.M.; ROMOLEROUX, KATYA & CASTILLO, R. 1993. Rubus and vacciniaceous germplasm resources in the Andes of Ecuador. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 93:9
- BENAVIDES, J.E. 1991. Integración de árboles y arbustos en los sistemas de alimentación para cabras en América Central: un enfoque agroforestal. ***El Chasqui***. 25:6
- BUIRCHELL, B. 1992. Collecting wild *Lupinus spp.* in Morocco. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 90:36
- CATASUS, L. 1997. Manual de Agrostología. Editorial Academia. La Habana, Cuba. 98 p.
- DIKSHIT, N. 1991. Collecting crop genetic resources in Santhal Parganas, Bihar, India. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 86:37

- ENGELS, J.M.M. & TAO, K.L. 1994. Genebank standards. Food and Agriculture Organization of the United Nations - International Plant Genetic Resources Institute, Rome. 13 p.
- GUTEVA, YANA; ANGELOVA, SIYKA & PEEVA, IVANKA. 1993. Conservation and use of wild forage legumes in Bulgaria. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 96:45
- HAMMER, K. 1991. Checklists and germplasm collecting. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 85:15
- HAMMER, K. & ESQUIVEL, M. 1991. Collecting around Havana, Cuba. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 86:28
- HAMMER, K.; FRITSCH, R.; HANELT, P.; KNÜPFER, H. & PISTRICK, K. 1995. Collecting by the Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) at Gatersleben. In: Collecting plant genetic diversity: technical guidelines. (Eds. L. Guarino, V. Ramanatha Rao and R. Reid). CAB International, UK-IPGRI, Rome. p. 713
- HAMMER, K. & MBEWE, D.N. 1994. The role of traditional knowledge in germplasm collecting. In: Safeguarding the genetic basis of Africa's traditional crops. (Ed. A. Putter). CTA, The Netherlands/IPGRI, Rome. p. 147
- HARDON, J.J. & BOEF DE, W.S. 1994. Local management and use of plant genetic resources. In: Safeguarding the genetic basis of Africa's traditional crops. (Ed. A. Putter). CTA, The Netherlands/IPGRI, Rome. p. 115
- KRANZ, A.R.; KIRCHHEIM, BRIGITTE & ZIMMERMANN, M.W. 1992. Mouse ear cress (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) - a useful crucifer weed and genetic resource for crop plants. *Plants Genetic Resources Newsletter*. 90:7
- MACHADO, R. & SEGUI, ESPERANZA. 1997. Introducción, mejoramiento y selección de variedades comerciales de pastos y forrajes. *Pastos y Forrajes*. 20:1
- MEDINA, J.M.; ROUYER, B.; TEJADA, M.; LAYUS, M. & BOIRON, B. 1991. Evaluación preliminar de producción de biomasa de nueve especies de árboles en plantaciones naturales. Memorias. Reunión anual del Programa de Cabras del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. El Zamorano, Honduras). p. 188
- MOSS, H. & GUARINO, L. 1995. Gathering and recording data in the field. In: Collecting plant genetic diversity: technical guidelines. (Eds. L. Guarino, V. Ramanatha Rao and R. Reid). CAB International, UK-IPGRI, Rome. p. 367
- MOTT, G.O. & HUTTON, E.M. 1979. Estrategias para la colección y el mejoramiento de plantas forrajeras. En: Manual para la colección, preservación y caracterización de recursos forrajeros tropicales. CIAT. Cali, Colombia. p. 1
- NKHOMA, C.N. & MWILA, G.P. 1993. Sorghum and millet germplasm collecting in Zambia. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 96:55
- NUEZ, F.; FERNANDEZ DE CORDOVA, P. & DIEZ, M.J. 1992. Collecting vegetable seeds in the Canary Island. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 90:34
- OLIVA, G.E.; MONTES, L. & MASCO, ELSA DE LAS M. 1993. Collecting native forage germplasm in Patagonia. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 93:34
- PECETTI, L.; DAMANIA, A.B. & JANA, S. 1992. Practical problems in large-scale germplasm evaluation: a case study in durum wheat. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 88/89:5

- PERRY, M.C. & BETTENCOURT, E. 1995. Sources of information on existing germplasm collections. In: Collecting plant genetic diversity: technical guidelines. (Eds. L. Guarino, V. Ramanatha Rao and R. Reid). CAB International, UK-IPGRI, Rome. p. 121
- RAJARAM, N. & JANARDHANAN, K. 1992. *Ex situ* conservation of genetic resources of tribal pulses and their wild related species. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 91/92:29
- RAMANATHA RAO, V. & RILEY, K.W. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 97:3
- RHEENEN, H.A. VAN; BHATTI, S. & RAO, K.V.S. 1993. The sustainable preservation of biodiversity in self-pollinating plant species: sample size and collection methodology. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 96:1
- RUIZ, R.F. 1992. Manejo de leñosas con potencial forrajero en el departamento de San Marcos, Guatemala. Memorias. Primer Seminario Centroamericano de Agroforestería y Rumiantes Menores. Chiquimulas, Guatemala
- SCHULTZE-KRAFT, R. 1979. Colección del germoplasma en el campo. En: Manual para la colección, preservación y caracterización de recursos forrajeros tropicales. CIAT. Cali, Colombia. p. 9
- SCHULTZE-KRAFT, R. 1979. Preparación para el viaje de colección. En: Manual para la colección, preservación y caracterización de recursos forrajeros tropicales. CIAT. Cali, Colombia. p. 5
- TYLER, B.F.; CHORLTON, K.H. & THOMAS, I.D. 1987. Collection and field-sampling techniques for forages. In: Collection, characterization and utilization of genetic resources of temperate forage grass and clover. (Ed. B.F. Tyler). IBPGR, Rome. p. 1
- TYLER, B.F.; CHORLTON, K.H. & THOMAS, I.D. 1992. Activities in forage grass genetic resources at the Welsh Plant Breeding Station, Aberystwyth. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 88/89:37
- TYLER, B.F.; HAYES, J.D. & ELLIS, W.D. 1985. Descriptor list for forage grasses. IBPGR, Rome. 30 p.
- WELTZIEN, E.R. & BHATTI, M.S. 1991. Pearl millet collecting in central Pakistan. ***Plant Genetic Resources Newsletter***. 85:28

**Anexo 1. Lista de descriptores para la colecta de germoplasma**

Estos descriptores formarán parte de una planilla (ficha) individual para cada una de las accesiones colectadas, la cual puede imprimirse a dos columnas independientemente del tipo de material. A continuación se muestra el formato propuesto con la ejemplificación para una accesión colectada (hipotética) de *Centrosema pubescens*.

**Ficha para la colecta de germoplasma**

No.	Descriptor	No.	Descriptor
<b><u>Información general y localización</u></b>		Sí (S) No (N)	
2.	Institución colectora: EEPF "IH"	26.	Nódulos colectados: N
3.	Nombre del colector/equipo: RR, RM (iniciales)	Sí (S) No (N)	
4.	País: Cuba	29.	Presencia de insectos: S
5.	Fuente de depósito: EEPF "IH"	Sí (S) No (N)	
6.	Número del colector: RRRM 0001	31.	Presencia de enfermedades: N
7.	Número de la accesión: 0001	Sí (S) No (N)	
8.	Otro número: "IH" 0343	33.	Muestra de herbario colectada: N
9.	Fecha (día, mes, año): 3-2-98	Sí (S) No (N)	
10.	Género: <i>Centrosema</i>	34.	Fotografías: N
11.	Especie: <i>pubescens</i>	Sí (S) No (N)	
12.	Nombre local: bejuco culebra	36.	Estatus de la muestra: S
13.	Fuente: C	♣ Silvestre (S)	
♣	Campo (C)	♣ Cultivada (C)	
♣	Institución (I)	♣ Maleza (M)	
♣	Jardín (J)	♣ Otros (O), especificar	
♣	Patio (P)	39.	Abundancia: Ai
♣	Otra (O), especificar	♣ Algunos individuos (Ai)	
14.	Localidad. Dirección (km desde/hasta): A 5 km de Sto. Domingo/Amaro	♣ Muy escasos, <1 % cubierta (Me)	
15.	Poblado más cercano: Sto. Domingo	♣ Escasos, 1-5 % cubierta (E)	
17.	Provincia: Villa Clara	♣ Alta, 5-25 % cubierta (Al)	
19.	Latitud (N o S):	♣ Muy alta, >25 % cubierta (Ma)	
20.	Longitud (E o O):		
24.	Plantas colectadas: S	<b><u>Hábitat natural y vegetación</u></b>	
♣	Semilla (S)	43.	Topografía: Tp
♣	Propágulos (P)	♣ Terreno pantanoso (Tp)	
25.	Presencia de nódulos: N	♣ Terreno plano (Tpl)	
		♣ Colinas (C)	
		♣ Areas montañosas (Am)	
		♣ Otras (O), especificar	

44. Tipo de vegetación: M

- ♣ Bosque (B)
- ♣ Pradera (P)
- ♣ Desierto (D)
- ♣ Manigua (M)
- ♣ Matorrales (Ma)

46. Uso de la tierra: P

- ♣ Potreros (P)
- ♣ Areas removidas (Ar)
- ♣ Pastos naturales (Pn)
- ♣ Pastos mejorados (Pm)
- ♣ Areas cultivadas (Ac)
- ♣ Borde de carretera (Bc)
- ♣ Borde de ríos (Br)
- ♣ Cerca de edificaciones (Ce)
- ♣ Otros (O), especificar

47. Manejo: Pb

- ♣ En desmonte (D)
- ♣ Pastoreo de bovinos (Pb)
- ♣ Pastoreo de ganado menor (Pgm)
- ♣ En roturación (R)
- ♣ Arado (A)

48. Hábitat específico: Mm

- ♣ Seto vivo (Sv)
- ♣ Claro (Cl)
- ♣ Cercas (C)
- ♣ Mezclada con manigua (Mm)
- ♣ Mezclada con pastos (Mp)
- ♣ Mezclada con arbustos o árboles (Ma)

**Descriptorios para el sitio específico de colección**

60. Posición en el paisaje: B

- ♣ Baja (B)
- ♣ Media (M)
- ♣ Alta (A)

61. Pendiente: P

- ♣ Plano o casi plano, 0-1° (P)
- ♣ Inclinado, 3-7° (I)
- ♣ Moderado, 7-14° (M)
- ♣ Pendiente, >14° (Pn)

63. Cubierta del suelo: A

- ♣ Descubierta (D)
- ♣ Muy ligera, 0-19 % (Ml)
- ♣ Ligera, 20-39 % (L)
- ♣ Moderada, 40-59 % (M)
- ♣ Abundante, 60-79 % (A)
- ♣ Muy abundante, >80 % (Ma)

64. Grado de sombra que recibe: Ms

- ♣ Sin sombra (Sn)
- ♣ Muy suave (Ms)
- ♣ Suave (S)
- ♣ Moderada (M)
- ♣ Fuerte (F)
- ♣ Completa (C)

65. Provista de sombra por: M

- ♣ Malezas (M)
- ♣ Pastos (P)
- ♣ Arbustos (A)
- ♣ Árboles (Ar)

66. Forma de vida: Hie

- ♣ Árboles: >30 m, 10-30 m, 5-10 m (Ar)
- ♣ Arbusto, 2-8 m (Arb)
- ♣ Semiarbusto, -2 m (Sa)
- ♣ Hierba, >1 m (Hi)
- ♣ Hierba, 0-1 m (Hie)

67. Hábito de crecimiento: T

- ♣ Postrado (P)
- ♣ Sarmentoso (S)
- ♣ Decumbente (D)
- ♣ Cespitoso (C)
- ♣ Erecto (E)
- ♣ Rizomatoso (R)
- ♣ Trepador (T)
- ♣ Estolonífero (Es)

71. Especies asociadas:

**Descriptorios del suelo en el lugar de colecta**

80. Textura del suelo: Ar

- ♣ Arenoso (A)
- ♣ Limoso (L)
- ♣ Arcilloso (Ar)
- ♣ Orgánico (O)
- ♣ Rocoso (R)

81. Color de la superficie: N

- ♣ Púrpura (Pu)
- ♣ Rojo (R)
- ♣ Amarillo (A)
- ♣ Pardo (P)
- ♣ Gris (G)
- ♣ Negro (N)
- ♣ Otro (O), especificar

82. Drenaje: M

- ♣ Muy deficiente (Md)
- ♣ Deficiente (D)
- ♣ Moderado (M)
- ♣ Bueno (B)
- ♣ Excesivo (E)

**Descriptores para insectos y enfermedades**

200. Insectos, tipo: M

- ♣ Chupador (Ch)
- ♣ Masticador (M)
- ♣ Perforador (P)
- ♣ Desconocido (D)

201. Parte que ataca: H

- ♣ Hojas (H)

♣ Tallos (T)

♣ Inflorescencias (I)

♣ Frutos (F)

202. Tolerancia de la planta: T

♣ Regular (R)

♣ Moderada (M)

♣ Tolerante (T)

250. Enfermedades, tipo: V

♣ Hongos (H)

♣ Bacterias (B)

♣ Virus (V)

♣ Nemátodos (N)

♣ Daños desconocidos (Dd)

251. Enfermedades, partes de la planta: H

♣ Hojas (H)

♣ Tallos (T)

♣ Inflorescencias (I)

♣ Frutos (F)

252. Tolerancia de la planta: T

♣ Regular (R)

♣ Moderada (M)

♣ Tolerante (T)

**Nota:** El diccionario para cada descriptor aparece detallado en el Apéndice 2 del Manual para la colección, preservación y caracterización de recursos forrajeros tropicales (CIAT, 1979).

## Anexo 2. Datos de caracterización y evaluación preliminar

3. Datos del lugar	7 = largo
3.1 País de caracterización y evaluación primaria	9 = muy largo
3.2 Sitio (ej.: Estación de investigación)	4.1.6 Grosor del peciolo
3.3 Nombre de la persona encargada de la caracterización	1 = muy fino
3.4 Fecha de siembra	3 = fino
3.4.1 Día	5 = medio
3.4.2 Mes	7 = grueso
3.4.3 Año	9 = muy grueso
3.5 Fecha de plantación	4.2 Tallos vegetativos
3.5.1 Día	4.2.1 Hábito de crecimiento vegetativo
3.5.2 Mes	1 = muy erecto
3.5.3 Año	3 = erecto
3.6 Ambiente de evaluación	5 = decumbente
1 Campo	7 = postrado
2 Casa de cristal	9 = muy postrado
3 Gabinete controlado	4.2.2 Longitud de la floración
4 Otro	1 = muy corta
3.7 Tipo de plantación	3 = corta
1 Plantas individuales espaciadas	5 = media
2 Surcos	7 = larga
3 Parcelas	9 = muy larga
4 Otro (especificar)	4.2.3 Grosor de los estolones
3.8 Variedad control	3 = fino
3.9 Número de réplicas	5 = medio
3.10 Número total de plantas bajo observación	9 = grueso
4. Datos de la planta	4.2.4 Longitud de los entrenudos
4.1 Hoja vegetativa	1 = muy corto
4.1.1 Longitud del foliolo central en la floración	3 = corto
1 = muy corto	5 = medio
3 = corto	7 = largo
5 = medio	9 = muy largo
7 = largo	4.3 Inflorescencia y fruto
9 = muy largo	4.3.1 Tendencia a formar inflorescencias en el año de siembra
4.1.2 Ancho del foliolo central en la floración	1 = muy temprana
1 = muy angosto	3 = temprana
3 = angosto	5 = media
5 = medio	7 = tarde
7 = ancho	9 = muy tarde
9 = muy ancho	4.3.2 Fecha en que el 50 % de las plantas muestran los pétalos coloreados
4.1.3 Forma de la hoja	4.3.3 Color de las flores
3 = elongada	4.3.6 Color de la cubierta de las semillas
5 = aovada	4.4 Evaluación preliminar
7 = redonda	4.4.1 Daños provocados por la seca
4.1.5 Longitud del peciolo	0 = 0 %
1 = muy corto	1 = 1 %
3 = corto	2 = 5 %
5 = medio	

3 = 10 %

4 = 25 %

5 = 50 %

6 = 100 %

4.4.2 Rendimiento (MS) por planta o en 0,25 m<sup>2</sup>

♣ en la época de seca

♣ en la época de lluvia

4.4.3 Profusión de la floración, resultados en floración plena

1 = muy rala

3 = rala

5 = media

7 = profusa

9 = muy profusa

**Recibido el 15 de enero de 1999**

**Aceptado el 6 de abril de 1999**