

# ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO DE GESTIÓN PARA BANCOS DE GERMOPLASMA DE ESPECIES LEÑOSAS DE ARGENTINA CON SEMILLAS ORTODOXAS. EL PROTOCOLO DEL BANCO NACIONAL DE GERMOPLASMA DE *PROSOPIS* (BNGP). PRIMERA PARTE.

Verzino, G.E.<sup>1</sup>; Joseau, M.J.<sup>1</sup>; Frassoni, J.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Silvicultura, Córdoba, Argentina

gverzino@agro.unc.edu.ar

## RESUMEN

El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis* de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba (BNGP-FCA-UNC) es el primer reservorio de semillas de especies arbóreas nativas de Argentina. Para llevar adelante su función diseñó sus propias planillas de campo y laboratorio, a la vez que definió los procedimientos para la exploración, colecta, procesamiento, acondicionamiento, conservación, documentación y evaluación del germoplasma. Se generó así una importante información que puede ser muy útil para bancos de germoplasma de similar función. El objetivo de este trabajo fue presentar las pautas para la elaboración de un Protocolo de Gestión de un banco de germoplasma de especies leñosas de Argentina con semillas ortodoxas tomando como base el Protocolo desarrollado para el BNGP-FCA-UNC. En esta instancia se describirán las relacionadas a exploración, colecta, procesamiento y acondicionamiento de germoplasma.

Palabras clave: *conservación ex situ – Algarrobos – diversidad genética – recursos genéticos forestales*

## INTRODUCCIÓN

Los bancos de germoplasma desempeñan un rol esencial en la conservación, la disponibilidad y el uso de los recursos fitogenéticos. No obstante, la sola creación de un banco de germoplasma no garantiza la conservación y la disponibilidad de recursos fitogenéticos si no se gestiona adecuadamente.

La gestión dependerá, primordialmente, de la infraestructura y los recursos financieros disponibles. Estos dos factores suelen ser serios condicionantes en los países en vías de desarrollo. Otros condicionantes igualmente importantes son la capacitación del personal operativo, la falta de conocimientos sobre las especies conservadas y, en estrecha vinculación con aquellos, la carencia de normas para la gestión. Las normas son herramientas que pueden ayudar a lograr un equilibrio entre los objetivos científicos, los recursos disponibles (frecuentemente escasos) y las condiciones objetivas en las que trabajan (FAO 2014).

El BNGP-FCA-UNC es el primer reservorio de semillas de especies arbóreas nativas de Argentina. A lo largo de treinta y cinco años de labor, el BNGP-FCA-UNC ha cumplido sus funciones de acuerdo a las Normas Internacionales para Bancos de Genes (FAO/IPGRI 1994), para ello debió diseñar sus propias planillas de campo y laboratorio y ajustar los procedimientos para la exploración, colecta, procesamiento,

acondicionamiento, conservación, caracterización, documentación y evaluación del germoplasma.

El objetivo general de este trabajo fue elaborar un Protocolo de Gestión de un banco de germoplasma de especies leñosas de Argentina con semillas ortodoxas tomando como base el Protocolo desarrollado para el BNGP-FCA-UNC.

Dado lo extenso que resulta la descripción de todas las actividades, el Protocolo se presentará en dos etapas. En este número de Nexo Agropecuario se describirán la adquisición, el procesamiento y el acondicionamiento del germoplasma, abordándose el resto de las actividades en el próximo número.

## MARCO GENERAL

Los principios fundamentales que constituyen el núcleo de las actividades de un banco de germoplasma son la preservación de la identidad del germoplasma, el mantenimiento de la viabilidad y la integridad genética, y el fomento del acceso. Esto incluye la información correspondiente para facilitar el uso del material vegetal almacenado de conformidad con los instrumentos normativos nacionales e internacionales (FAO 2014).

### Breve descripción funcional de las especies

El BNGP-FCA-UNC conserva, principalmente, nueve de las 27 especies del género *Prosopis* que crecen en Argentina. Estas son: *Prosopis alba* Grisebach,

“algarrobo blanco”, *P. nigra* (Grisebach) Hieronymus “algarrobo negro”, *P. flexuosa* DC., “algarrobo negro o dulce”, *P. chilensis* (Mol.) Stuntz, “algarrobo blanco o de Chile”, *P. caldenia* Burkart, “caldén”, *P. ferox* Grisebach “churqui jujeño”, *P. hassleri* Harms “algarrobo paraguayo”, *P. kuntzei* Harms “itín”, “palo mataco” y *P. affinis* Grisebach Sprengel, “ñandubay”.

Son especies monoicas. La polinización es entomófila y la dispersión es zoócora y endozoica; el ganado y especies de la fauna silvestre actúan como importantes diseminadores (Karlin *et al.*, 1997). Los frutos son vainas indehiscentes (Burkart 1943).

Las semillas son ortodoxas, de cubierta dura. Poseen una excelente viabilidad y presentan latencia impuesta por su tegumento duro (Joseau, 2005).

Algunas especies de la Sección *Algarobia* (*P. alba*, *P. nigra*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*) tienen capacidad de hibridarse en forma frecuente u ocasional, generando individuos de características intermedias difíciles de identificar (Verga, 2014). Por ser aún especies “silvestres”, poseen una variación genética demasiado amplia para el cultivo. Estas variaciones existen a nivel de procedencia, familia e individuo, por lo que la cosecha de frutos sin criterios genéticos da lugar a materiales segregantes (Verga, 1995). Aparentemente esta capacidad que poseen los algarrobos de intercambiar información genética constituiría una estrategia evolutiva del complejo, generando alta diversidad en múltiples puntos de contacto entre especies taxonómicas.

## PROTOCOLO DE GESTION DEL BNGP-FCA-UNC

La conservación *ex situ* de germoplasma comprende una serie de actividades o etapas que incluyen:

1. Adquisición
2. Procesamiento de Frutos
3. Acondicionamiento de Semillas
4. Almacenamiento en Banco Activo y Pasivo.
5. Caracterización
6. Evaluación
7. Documentación y manejo de la información
8. Intercambio – Donación
9. Difusión de las Actividades del BNGP-FCA-UNC

Se describen a continuación las etapas de adquisición de germoplasma, procesamiento de frutos y acondicionamiento de semillas.

### 1. Adquisición

La forma más frecuente de adquirir germoplasma es mediante la **colecta**. Se denomina así al procedimiento por el cual se cosechan frutos maduros para la obtención

de semillas que serán destinadas a diversos fines (conservación, investigación, educación, producción comercial, etc.).

Durante la colecta se ponen en juego muchos recursos (biológicos, físicos, económicos y humanos) y, por tanto, requiere una correcta planificación y un conocimiento profundo de la especie a coleccionar, que incluye distribución geográfica, taxonomía, fenología, características morfológicas, estrategia reproductiva y su comportamiento genético.

### Planificación de la colecta

En el caso de nuevos individuos o poblaciones, previo a la recolección se realizan estudios exploratorios, los cuales constan, generalmente, de dos instancias: la recopilación de antecedentes y los viajes de exploración (Karlin *et al.*, 2005).

*Recopilación de antecedentes:* Para disponer de información sobre los rodales, grupos y ejemplares aislados de las especies deseadas, su ubicación, accesibilidad, características y fecha de disponibilidad de frutos maduros.

*Viajes exploratorios:* A los efectos de corroborar *in situ* la información relevada. Para optimizar el trabajo y hacer un uso eficiente de los recursos disponibles es recomendable que los viajes exploratorios coincidan con la época de maduración de los frutos y, por tanto, con la cosecha de los mismos

En estos viajes se realiza la caracterización preliminar de los individuos, grupos o rodales de interés incluyendo la identificación taxonómica del ejemplar y descripción del sitio.

*Época de cosecha por especie:* Las semillas cosechadas totalmente maduras conservan su viabilidad por más tiempo que aquellas cosechadas antes de la madurez (USDA, 1974). Por eso es importante contar con un cronograma de cosecha ajustado al momento de madurez fisiológica de las semillas. El BNGP-FCA-UNC cosecha frutos de nueve especies arbóreas del género, con una amplia distribución geográfica en nuestro país; por tal razón, se debe tener en cuenta la fecha de maduración de los frutos de cada especie, en cada región, a los efectos de la planificación del viaje de cosecha. Los períodos más probables de cosecha de cada especie dependen de la latitud y altitud donde se encuentra el árbol o rodal, de las condiciones ambientales durante la formación de las yemas florales y la floración propiamente dicha y de la variación propia de cada individuo o rodal.

La **Tabla 1** describe los períodos más probables de cosecha de las nueve especies.

**Tabla 1:** Época probable de colecta de nueve especies arbóreas de *Prosopis* en Argentina

Período* / Especie	COMIENZO	FIN
<i>Prosopis affinis</i>	Enero	Marzo
<i>Prosopis alba</i>	Fines de Noviembre	Fines de Febrero
<i>Prosopis caldenia</i>	Febrero	Mayo
<i>Prosopis chilensis</i>	Fines de Diciembre	Marzo
<i>Prosopis ferox</i>	Marzo	Abril
<i>Prosopis flexuosa</i>	Diciembre	Febrero
<i>Prosopis hassleri</i>	Noviembre	Diciembre
<i>Prosopis kuntzei</i>	Enero	Fines de Marzo
<i>Prosopis nigra</i>	Diciembre	Febrero

\*Referencias: El comienzo de la cosecha se produce en zonas más al norte y/o de menor altitud, el fin de la cosecha coincide con zonas al sur de la distribución o a mayores altitudes. Fuente: Karlin et al., 2005 y registros del BNGP-FCA-UNC.

**Sitios de cosecha.** La **Figura 1** muestra la distribución natural en la República Argentina de las especies de *Prosopis* que son cosechadas por el BNGP-FCA-UNC con permisos de las provincias. Actualmente, dentro de su rango de distribución, se cosechan árboles en Áreas Productoras de Semillas (APS - Área Productora de Semillas: bosques naturales o plantaciones proveedores de semillas que no fueron sometidos a ninguna medida de manejo para el mejoramiento genético) o en Rodales Semilleros (RS - Rodal Semillero: Grupo de árboles de una sola especie, de base genética amplia, lo suficientemente aislado para reducir los efectos de polen foráneo, y que por la forma, crecimiento y sanidad de los árboles es manejado para producir semilla. Los individuos de baja calidad se eliminan y solamente se conservan los mejores progenitores que son seleccionados solamente por sus cualidades fenotípicas y rara vez son sometidos a pruebas de progenies). En distintas regiones se cuenta con referentes o informantes que brindan información precisa sobre presencia de frutos y fechas de cosecha. En algunos casos, los mismos referentes gestionan la cosecha de frutos y el envío a la sede del BNGP-FCA-UNC.

**Solicitud de permisos.** Dada la amplia distribución natural de las especies conservadas en el BNGP-FCA-UNC, en las actividades relacionadas con la adquisición, intercambio y distribución de germoplasma es importante respetar los marcos jurídicos provinciales, nacionales e internacionales.

Para llevar adelante la colecta y uso de germoplasma, ya sea con fines de conservación o comercialización, el BNGP-FCA-UNC debe contar con la autorización de la provincia correspondiente. De igual forma, el INASE exige ser informado del viaje con anticipación. Las normas vigentes al respecto son la Resolución N° 256/99 y Anexos; la Resolución 318/18 y la Resolución 410/19.

**Equipamiento.** Los viajes de cosecha de frutos con fines

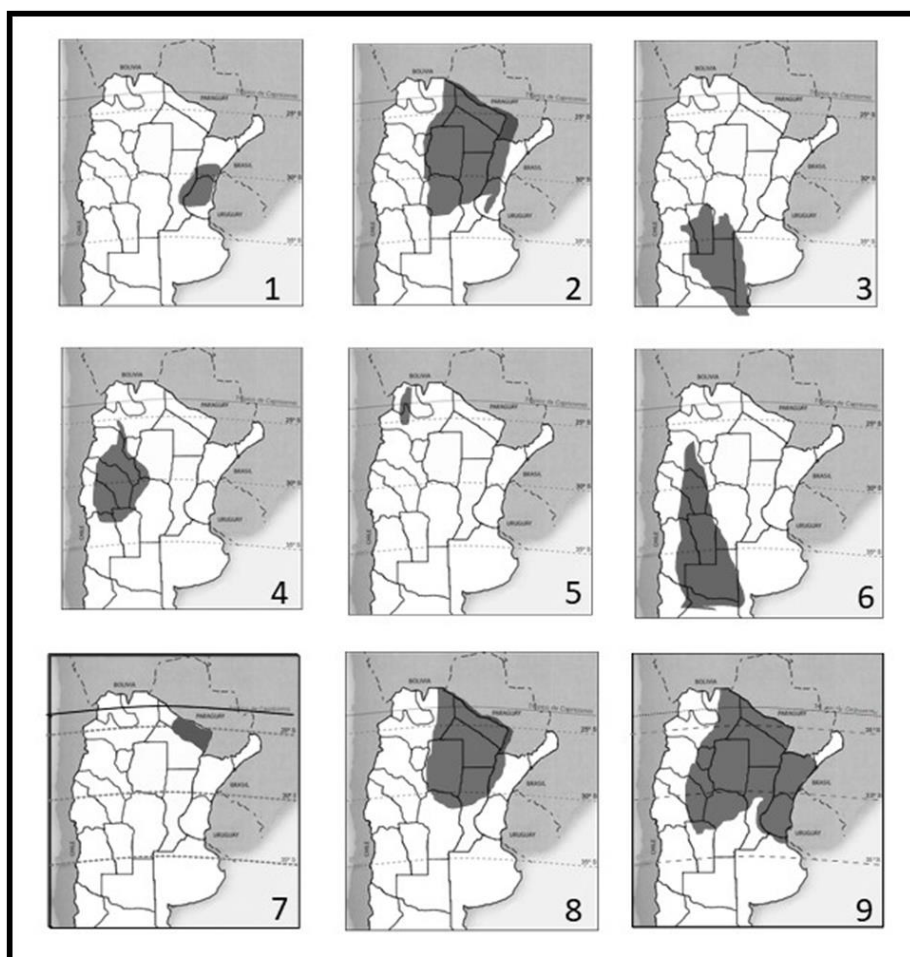
de conservación deben incluir el siguiente equipamiento: GPS, para localizar geográficamente los árboles cosechados; bolsas de plastillera (arpillera plástica), para embolsar los frutos; etiquetas tipo Manila y marcadores para identificar cada bolsa con frutos; tapas de herbarios, diarios y marcadores para acondicionar el material vegetativo recolectado; aerosol de pintura blanca, para marcar los árboles cosechados, planillas de campo donde se consignarán los datos alométricos y ambientales del árbol/rodal cosechado. Esta planilla puede ser en formato papel o bien en formato digital, para lo cual se recomienda contar con una tablet.

Es conveniente, además, llevar cámara fotográfica para fotografiar cada árbol cosechado, lona o plástico y rastrillo para recoger frutos que caigan, y podón con pértiga para colectar frutos y material vegetativo no accesibles directamente desde el suelo.

A los fines científicos podrá recolectarse material vegetativo cada vez que se coseche el mismo árbol e incorporarlo, conjuntamente con una muestra de frutos, a la colección del BNGP-FCA-UNC, asentado en el herbario ACOR (de la FCA, UNC), como una nueva accesión (Accesión: Una muestra distinta, singularmente identificable de semillas que representa un árbol o una población y que se mantiene almacenada para su conservación y uso).

### **La Colecta**

**Definición de la estrategia de muestreo.** El objetivo principal de la colecta de recursos fitogenéticos es captar la máxima variabilidad genética útil en el menor número de muestras (Marshal y Brown 1975). Para ello será necesario definir la intensidad de muestreo (cantidad de árboles a cosechar por unidad de superficie o población) y establecer la cantidad mínima de semillas a cosechar por árbol.



**Figura 1.** Mapas de distribución de *Prosopis*: 1. *P. affinis*; 2. *P. alba*; 3. *P. caldenia*; 4. *P. Chilensis*; 5. *P. Ferox*; 6. *P. Flexuosa*; 7. *P. hassleri*; 8. *P. kuntzei* y 9. *P. nigra* (Karlin et al., 2005).

Según Marshall y Brown (1975) la muestra recolectada deberá ser suficiente para incluir al menos una copia del 95 % de los alelos existentes en la población objetivo con una frecuencia superior al 0,05.

En especies leñosas alógamas, con semilla abundante, el muestreo de 100 semillas por árbol de 15 árboles, bien distribuidos en la población y sin parentesco entre ellos, asegura que la mayoría de los alelos, con una frecuencia de por lo menos 0,05, estén incluidos en la muestra (Loo, 2011). Estudios en *Prosopis* de la sección Algarobia, realizados por Vilardi et al. (1988) indicaron que el tamaño mínimo de la muestra podría ser de 10 árboles dentro de cada población, siempre que los árboles se distancien al menos 50 m entre sí.

**Procedimientos para la colecta.** Para árboles individuales cosechados por primera vez el procedimiento es el siguiente: a) asignar un número de BNGP, b) numerar con pintura visible o chapa grabada, c) georeferenciar (con GPS), d) fotografiar, e) medir y completar Planilla de Campo (**Figura 2**) (La Planilla de Campo puede ser en formato papel, pero ahorrará tiempo usar planillas virtuales, cargadas en una tablet, desde donde los datos ingresados pueden ser descargados directamente en la

computadora al regreso del viaje), f) herborizar material vegetativo (hojas y ramas) y g) cosechar frutos del suelo, en buen estado de conservación, o del árbol. Guardar los frutos en bolsas de lienzo o plastillera (arpillera plástica), material que permite el intercambio gaseoso retrasando el posible ataque de hongos. Atar bien las bolsas etiquetándolas por dentro y por fuera (**Figura 3**).

La cantidad de frutos por árbol depende del objetivo de la colecta. Si es sólo para conservación a largo plazo (Banco Base o Pasivo) alcanza con 2 kg de frutos de algarrobos blancos (equivalentes a 200 g de semilla) y 4 kg de frutos de algarrobos negros (equivalentes a 200 g de semilla). Si es para Banco Activo (conservación a mediano y corto plazo para donaciones o venta) cosechar todos los frutos accesibles. Si la colecta es en un APS o RS (sin mantener la individualidad de los árboles), por primera vez, será suficiente completar una Planilla de Campo por cada APS o RS, dejando vacías las secciones D1 y D2. Se asignará un número identificador al APS o RS en su conjunto. Si los árboles individuales, APS o RS ya fueron registrados en la base de datos, se completará una Planilla de Campo resumida y se realizarán sólo las actividades f) y g).

	Recorrido _____ Fecha de recolección: ___/___/___ Responsable: _____
<b>A. Identificación de la accesión</b>	
A.1. Identificador único	
A.2. Especie	<i>Prosopis</i>
A.3. Cosecha de frutos	g kg Nº de frutos En pie Del suelo
A.4. Materiales que acompañan la accesión	no si Especifique
<b>B. Datos del área de obtención de la muestra</b>	
B.1. Latitud	Norte Sur B.2. Longitud Este Oeste
B.3. Altura	m snm B.4. Temp. MaxAbs MinAbs, Media
B.5. Precipitación media anual	mm Distribución
B.6. Suelo	compacto suelto Cobertura herbácea Alta Media Baja
B.7. Textura	Arcilloso Limoso Franco Arenoso Pedregoso B.8. % Pendiente >10 3-10 <10
B.9. Paisaje	Llano Ondulado Escarpado B.10. Relieve Cañada Depresión Ladera N S E O Cima
B.11. Drenaje	Malo Moderado Bueno Excesivo
B.12. Salinidad	Fuerte Moderada Débil No salino pH
B.13. Aporte extra de agua	Sin aporte Aporte permanente temporario Tipo
B.14	Fuentes de consulta para el punto B
<b>C. Datos del rodal de extracción de la muestra</b>	
<b>C.1. Espontáneo</b>	
Ralo Denso	Metros al <i>Prosopis</i> más cercano Especie
Especies de <i>Prosopis</i> que conforman el rodal	
Coetáneo	Joven Adulto Añoso Disetáneo
Homogéneo	Heterogéneo Tipo de regeneración
<b>C.1. Cultivado</b>	
Edad	años Altura m Diámetro de copas m
Origen	Marco de plantación
Antecedentes de manejo	Estado General

Figura 2. Planilla de Campo, pp 1. Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*.

## D. Datos del ejemplar del cual se obtuvo la muestra

### D.1. Fuste

Cantidad	Tipo	Recto	Tortuoso	Torsionado	Largo		cm
	Tipo	Recto	Tortuoso	Torsionado			cm
	Tipo	Recto	Tortuoso	Torsionado			cm

DAP	cm	Altura del árbol	cm
	cm		
	cm		

### D.2. Copa

Forma	<i>Extendida</i>	<i>Comprimida</i>	Follaje	<i>Frondoso</i>	<i>Ralo</i>	Diámetro	N-S		m
							E-O		m
							Medio		m

Edad	<i>Joven</i>	<i>Adulto</i>	<i>Añoso</i>	Sanidad	
------	--------------	---------------	--------------	---------	--

### D.3. Frutos

Producción	<i>Escasa</i>	<i>Media</i>	<i>Abundante</i>	Largo		cm	Forma		Color	
------------	---------------	--------------	------------------	-------	--	----	-------	--	-------	--

### D.4. Espinas

Presencia	No	Si	Tamaño	Grandes	Medianas	Pequeñas	Cantidad	Alta	Media	Baja
-----------	----	----	--------	---------	----------	----------	----------	------	-------	------

### D.4. Especies acompañantes

Arbóreas	
Arbustivas	
Herbáceas	

### D.5. Ejemplar escogido por

Muestreo	Selección	Criterio de selección
----------	-----------	-----------------------

### Observaciones

--

## E. Ubicación detallada del sitio donde se encuentra el individuo/rodal cosechado

### E.1. Plano esquemático

Escala:									

### E.2. Descripción

Ruta más cercana: \_\_\_\_\_

Poblado más cercano: \_\_\_\_\_

Accesibilidad: \_\_\_\_\_

Referencias:

a) \_\_\_\_\_

b) \_\_\_\_\_

c) \_\_\_\_\_

Forma de llegada al punto de referencia más accesible:

\_\_\_\_\_

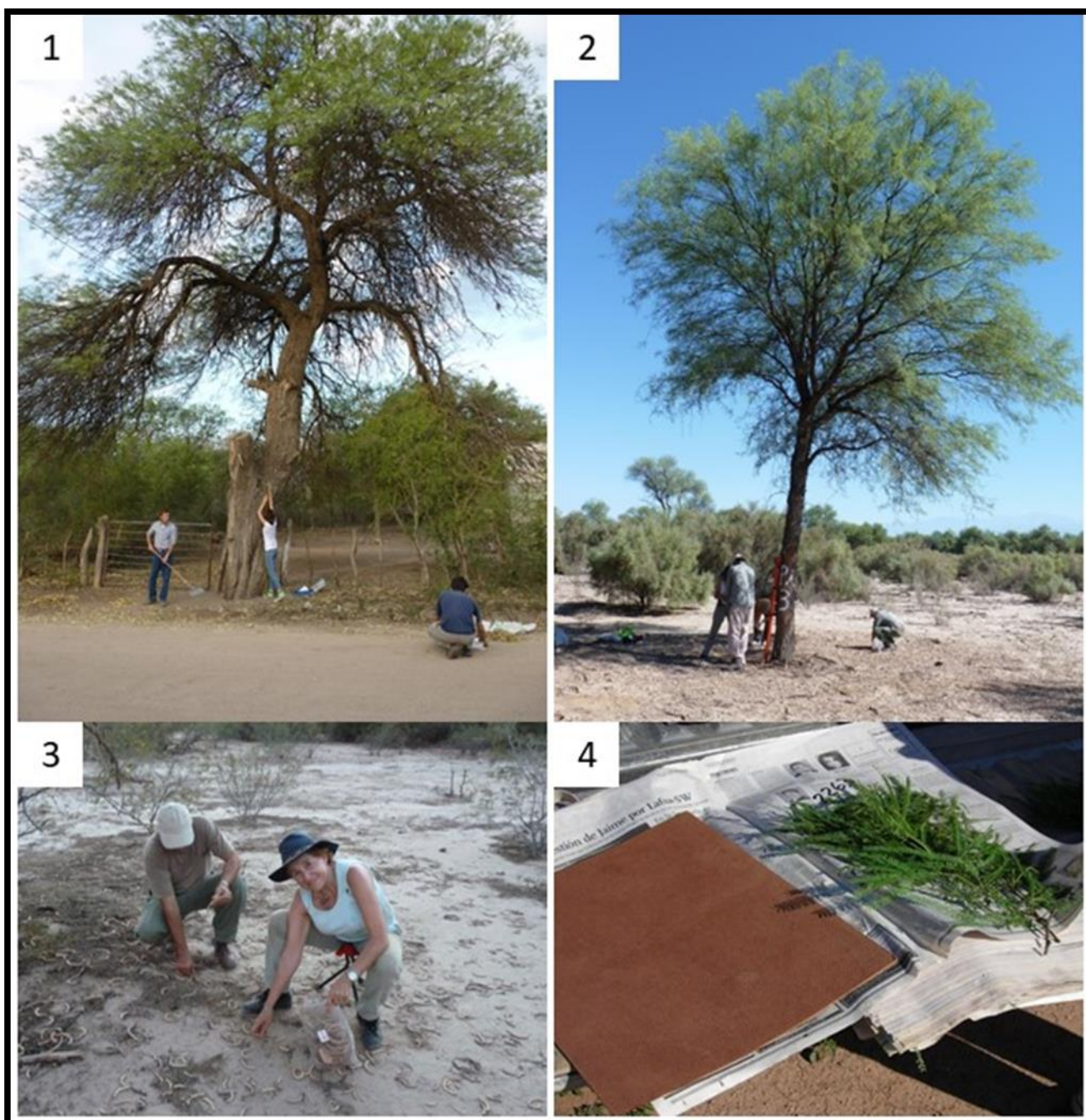
\_\_\_\_\_

Referencias: Sanidad: B: Buena, R: Regular, M: Mala

Forma de frutos: R: recta L: lenticular E: espiralada

Color de frutos: A: Amarillo ; Ma: Manchado; Mo: Morado; N: Negro

Figura 2. Planilla de Campo, pp 2. Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. (Continuación)



**Figura 3.** Fotos: **1.** Recolección de frutos del suelo y medición de árbol semillero. **2.** Árbol numerado con pintura blanca, recolección de frutos del suelo, vara para medir altura de los árboles (apoyada sobre el tronco). **3.** Cosecha de *Prosopis flexuosa* desde el suelo. Muestra para evaluación genética. **4.** Herborización de ramas de *P. alba*.

Es sumamente importante que se mantenga la identidad de las accesiones desde la adquisición hasta el almacenamiento y la distribución. Con ese objeto, en el momento de la colecta, además de la Planilla de Campo, se comenzará a llenar la Planilla de Trazabilidad del material (**Tabla 2**). Este documento deberá acompañar al germoplasma desde la colecta hasta el análisis de calidad, razón por la que deberá ser en formato papel.

*Acondicionamiento de frutos pos-cosecha.* Entre la colecta de frutos y el ingreso al Galpón de Procesamiento no debe transcurrir más de una semana, especialmente si los frutos se recolectaron en época

lluviosa.

Pueden ser conservados en las bolsas de cosecha, en un lugar fresco y seco, evitando el contacto con el suelo. Es indispensable la protección contra roedores, mediante repelentes. Si se estima un tiempo mayor a una semana hasta la llegada al Galpón de Procesamiento deberá aplicarse algún insecticida de control de los insectos más frecuentes que son los brúchidos.

En casos en que los frutos no estén completamente maduros o estén muy húmedos deberá evitarse la compactación en las bolsas, para prevenir el ataque de hongos.

Nombre del Recolector			Nombre del Receptor en el BNGP-FCA-UNC				Fecha de Recepción					
Colecta de Frutos				Procesamiento			Acondicionamiento			Calidad		
Id. del Árbol A	N° de BNGP B	Latitud C	Longitud D	Fecha de Cosecha E	Cantidad de Bolsas F	Kg de frutos G	Recepción (tilde) H	Trilla Kg de frutos I	Limpieza semillas J (tilde)	Peso sem. Limpia K	BP (tilde) L	PG [%] M

Esta planilla debe ser enviada con los frutos cosechados (mandar adentro de folio plástico)

En su ZONA DE ORIGEN completar Columnas A a G.  
 En GALPÓN DE RECEPCIÓN y TRILLA completar las Columnas H e I.  
 En ÁREA LIMPIEZA completar J a K. En ÁREA CALIDAD Completar L y M.

Tabla 2. Planilla de trazabilidad de frutos.

La forma en que los frutos se manipulan después de la recolección y antes de trasladar las semillas a entornos controlados es fundamental para la calidad de la semilla. Temperatura y humedad altas, así como ataques de hongos e insectos, o daños mecánicos, pueden incidir sobre la viabilidad y reducir la longevidad durante el almacenamiento.

Como se describió anteriormente, las especies de *Prosopis* conservadas en el BNGP-FCA-UNC presentan frutos semileñosos indehiscentes. El BNGP-FCA-UNC diseñó y desarrolló una máquina de trilla que permite obtener semillas (Cosiansi et al. 2005) (Figura 4).



Figura 4. Máquina trilladora con tolvas para introducir frutos (parte superior) y recipientes para semillas, artejos y harina (de color gris).

Para una trilla eficaz, con la mínima rotura de semillas, se deben tener en cuenta cuatro aspectos principales: acondicionamiento de los frutos, acondicionamiento de la máquina, acondicionamiento del lugar donde se desarrolla el proceso y seguridad e higiene del operario (Figura 5) (Cosiansi et al. 2005).

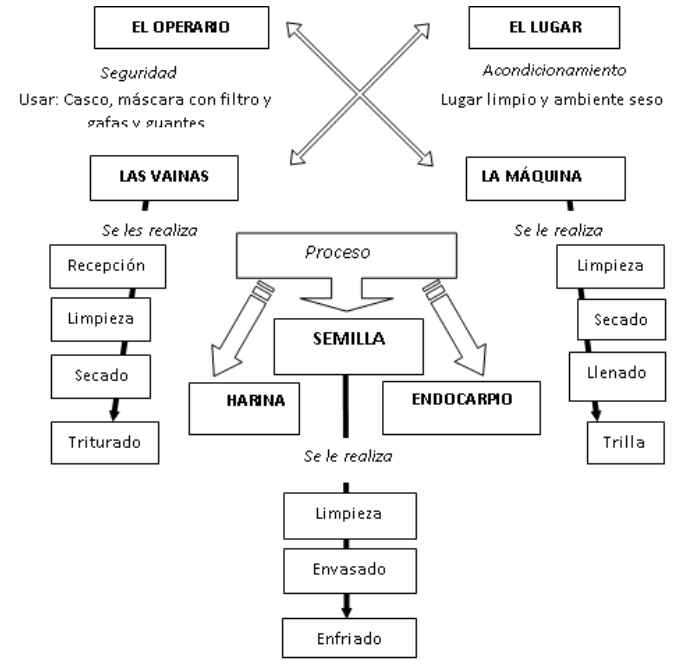


Figura 5. Esquema del proceso de obtención de semillas. Extraído de Cosiansi et al. (2005).



Los frutos que llegan a la sala de procesamiento son sometidos a las siguientes operaciones:

**Oreado:** Se colocan los frutos sobre bandejas de malla y se hace circular aire con ventiladores; de no ser así se produce rápidamente una fermentación alcohólica.

**Limpieza:** Se distribuyen los frutos sobre mesas en capas delgadas para visualizar los elementos extraños y extraerlos manualmente. Esta operación es denominada vulgarmente “picoteo”.

**Secado:** El secado se realiza en estufa a 50 °C y se dejan los frutos entre 24 a 72 h, hasta que queden quebradizos; aproximadamente con 10 % de humedad (**Figura 6**).



**Figura 6.** Secado de frutos en estufa

**Quebrado:** Se fragmentan las vainas, luego de extraídas de la estufa, colocándolas nuevamente en bolsas o tachos para pisarlas enérgicamente para facilitar el paso por la trilladora.

**Trilla de frutos:** En la máquina, el triturado y la trilla es un proceso cuyo tiempo no varía (250 kg/h) mientras que el tamizado depende de cuán fácil corren los restos de pericarpio sobre la zaranda de harinas y los artejos sobre la zaranda de semillas. La operación de trilla deberá efectuarse en días con baja HR (no mayor de 60%) para evitar el empaste de la trilladora.

## 2. Acondicionamiento de Semillas

**Limpieza de semillas:** En el BNGP-FCA-UNC, las semillas obtenidas de la trilladora son sometidas a limpieza por chorro de aire. Se usa un ventilador de alta potencia y un plano inclinado sobre el que se desliza el material para separar, manualmente, las semillas de los restos de frutos. Se debe obtener una Pureza mínima de 80%, que

es el valor exigido para su comercialización (Res. INASE 374/2014).

**Análisis de calidad.** La prueba inicial de viabilidad de las semillas se debe llevar a cabo después de la limpieza y el secado de la accesión (FAO 2014).

Todos los lotes de semillas que ingresan al BNGP-FCA-UNC son sometidos a análisis de Poder Germinativo (PG) colocándolas por 7 días en cámara de germinación con alternancia de luz y temperatura (oscuridad por 16 h con temperatura de 20 °C y luz por 8 h con temperatura de 30 °C) (**Figura 7**). Las reglas ISTA (2020) establecen que los ensayos deben constar de 4 repeticiones de 100 semillas tomadas al azar de la fracción de semillas puras. Las semillas poseen dormición física por tegumento duro por lo que se aplica escarificación con lija de grosor medio.



**Figura 7.** Cámara de germinación para test de PG

El valor inicial de germinación en el BNGP-FCA-UNC deberá ser igual o mayor a 70% para ser destinado a venta (banco activo) (Res. INASE 374/2014). No obstante, todas las accesiones recolectadas se conservan en banco pasivo, aunque su valor de PG sea bajo.

**Acondicionamiento para banco activo – Envases.** Antes de su almacenamiento, las muestras de semillas ortodoxas deben secarse hasta el contenido de humedad apropiado, de esta forma se conservará su longevidad (Schmidt, 2000).

Todas las muestras de semillas del BNGP-FCA-UNC salen de la trilla y posterior limpieza con una humedad aproximada de 9 %. Con esa humedad pueden ingresar al Banco Activo, donde serán conservadas a una temperatura -18 °C, en freezer. En esas condiciones, las semillas de *Prosopis* pueden mantenerse viables por más de 25 años (Verzino *et al.*, 2019).

La semilla limpia y libre de impurezas es colocada en envases plásticos, con tapa a rosca o a presión, tratando de ajustar el tamaño del envase a la cantidad de semilla

de la accesión (**Figura 8**). El uso de estos envases, que son algo permeables a la humedad (Gómez-Campos 2006) se justifica porque se prevé que las semillas permanezcan corto tiempo almacenadas, para ser destinadas a venta o donaciones.



**Figura 8.** Envasos con lotes pequeños de semillas para llevar a banco activo y a análisis de PG

**Acondicionamiento para banco pasivo – Envases.** En el banco pasivo del BNGP-FCA-UNC las accesiones se conservan en pouches trilaminados (Poliéster + Aluminio + Polietileno de 110 mm x 150 mm) con capacidad de 60 g (aproximadamente 1000 semillas). Estos envases han demostrado ser muy eficientes manteniendo bajos tenores de humedad (Gómez-Campos 2006). Previamente, las semillas se secan nuevamente hasta 6% de humedad en estufa de aire circulante, a 40 °C durante 48 h, de allí a deshumificador hasta que se enfrían totalmente, momento en que se cierran con una máquina selladora de pouches (**Figura 9 y 10**), se rotulan y finalmente son llevadas a freezer a -18 °C.



**Figura 9.** Pouches trilaminados, rotulados, en banco base.



**Figura 10.** Máquina selladora de pouches trilaminados

## CONSIDERACIONES PARCIALES

La captura de la diversidad genética a través de una exploración y colecta eficientes, así como la extracción y el acondicionamiento apropiados del germoplasma son los primeros pasos en el largo proceso de la conservación *ex situ* de un banco de germoplasma. En el próximo número de Nexo Agropecuario se completarán los restantes aspectos que conforman el Protocolo de Gestión del BNGP-FCA-UNC.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burkart, A., 1943. Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas. Ed. Acme Agency, Bs. As. 590 pp.
- Cosiansi J.F.; E. Milanesi; D.P. Da Riva; V.E. Alvarez; L.M. Rindertsma y Hayipanteli, S. 2005. Procesamiento de frutos. Obtención de semillas y subproductos. EN Verzino, G. y Joseau, M.J. (eds) El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. Conservación de recursos forestales nativos en Argentina. 1ª. ed. Córdoba, Argentina. Cap. IV (pp. 39-50).
- FAO, 1994. Código Internacional de Conducta para la recolección y transferencia de germoplasma vegetal. FAO, Italia. 22 pp.
- FAO. 2014. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Edición revisada. Roma.
- FAO/IPGRI. 1994. Genebank standards. Roma, FAO and IPGRI. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/015/aj680e.pdf>.
- Gómez-Campo, C. 2006. Erosion of genetic resources within seedbanks: the role of seed containers. Seed Sci. Res., 16: 291–294.
- ISTA. 2020. International Rules for Seed Testing. Disponible en <https://www.seedtest.org/en/>

- international-rules-for-seed-testing-\_content---1--1083.html
- Jaramillo, S. y Baena, M. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia, 210 pp.
- Joseau, M.J. 2005. Control de calidad de la semilla de *Prosopis*. EN Verzino, G. y Joseau, M.J. (eds) El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. Conservación de recursos forestales nativos en Argentina. 1ª. ed. Córdoba, Argentina. Cap.IV (pp.59-67)
- Karlin, U.; R. Coirini; L. Catalán y R. Zapata., 1997. Especies Arbóreas y Arbustivas para las Zonas Áridas y Semiáridas de América Latina. Serie: Zonas Áridas y Semiáridas, Nº12 pp 3-71. FAO-PNUMA. Chile.
- Karlin, O.U., Coirini, R.O. y Zapata, R.M. 2005. Recolección de germoplasma. EN: Verzino, G. y Joseau, M.J. (eds) El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. Conservación de recursos forestales nativos en Argentina. 1ª. ed. Córdoba, Argentina. Cap.III (pp. 25-37).
- Loo, J. 2011. Manual de Genética de la Conservación. Principios aplicados de genética para la conservación de la diversidad biológica. Disponible en [https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/MANUAL\\_DE\\_GENETICA\\_DE\\_LA\\_CONSERVACION.PDF](https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/MANUAL_DE_GENETICA_DE_LA_CONSERVACION.PDF)
- Marshall, D.R. and Brown, A.H.D. 1975. Optimum Sampling Strategy in Genetic Conservation. In: Frankel, O.H. and Hawkes, J.G., Eds., Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow, Cambridge University Press, London, 53-80.
- Schmidt, L., 2000. Guide to handling of tropical and subtropical forest seeds. Danida Forest Seed Center, Denmark (ed. Olesen K.), 511 pp.
- U.S.D.A., 1974. Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handbook N° 450. Forest Service USDA.USA. (ed. Schopmeyer C.S.), 883 pp.
- Verga, A. 1995, "Genetische Untersuchungen an *Prosopis chilensis* und *P. flexuosa* (Mimosaceae) im trockenen Chaco Argentinens. Göttingen Research Notes in Forest Genetics. Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen ISSN 0940-7103, Nro. 19, 96 pp.
- Verga, A. 2014. Rodales semilleros de *Prosopis* a partir del bosque nativo. Revista de Ciencias Forestales. Quebracho Vol. 22 (1,2):125-138. UNSE. Santiago del Estero.
- Verzino,G.; M.Sagadín and P.Díaz 1995. Effect of mechanical threshing and storage temperature on viability of *Prosopis chilensis* seeds. Proceedings of the Symposium on Innovations in Tropical Tree Seed Technology, Tanzania, pp. 260-267.
- Verzino, G. E., Frassoni, J. E. , Joseau, M. J. , Clausen, G., Navarro, C. 2019. Conservación *ex situ*, *circa situ* e *in situ* realizada por el Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*, Córdoba, Argentina. Revista Nexo Agropecuario, Vol. 7, Num. 1 Disponible en <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/nexoagro/issue/view/1935>
- Vilardi, J.C., B.O. Saidman, and R.A. Palacios. 1988. Muestreo según variabilidad. En *Prosopis* en Argentina, 19–124. Documento preliminar elaborado para el I Taller Internacional sobre Recurso Genético y Conservación de Germoplasma de *Prosopis*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina (inédito).