



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v6i3.1258>

Ciencias técnicas y aplicadas

Artículo de investigación

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

Germplasm banks to safeguard the Physical-Chemical and Biological conditions of native high Andean forage species

Bancos de germoplasma para salvar as condições físicas e químicas e biológicas de espécies forrajeras nativas altasandinas

Verónica de los Ángeles Bonifaz-Ramos ^I
vbonifaz@esepoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-1374-7440>

Fabrizio Armando Guzmán-Acan ^{II}
fabrizio.guzman@esepoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-4501-0232>

Ana del Rosario Paredes-Tapia ^{III}
ana.paredes@esepoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-7651-7458>

María Valeria Carrión-Latorre ^{IV}
mariacarrion@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5374-640X>

***Recibido:** 30 de abril de 2020 ***Aceptado:** 29 de mayo de 2020 * **Publicado:** 25 de junio de 2020

- I. Magíster en Producción Animal, Docente Investigador, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- II. Magíster en Procesamiento de Alimentos, Docente Investigador, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Riobamba, Ecuador.
- III. Magíster en Ecoturismo y Manejo de Áreas Naturales, Docente Investigador, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Orellana, Ecuador.
- IV. Magíster en Turismo Sostenible y Desarrollo Local, Investigadora Independiente, Riobamba, Ecuador

Resumen

Este artículo presenta parte de los resultados del proyecto “Establecimiento y manejo del banco de germoplasma de especies forrajeras altoandinas”. El Banco Activo del P. BIB-016, se encuentra ubicado en la Estación Experimental Tunshi de la facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Técnica de Chimborazo localizada en la Provincia de Chimborazo. Se ha caracterizado agro botánicamente el germoplasma de doce especies forrajeras altoandinas. Asimismo, se estudiaron las características Físico, Químicas y Biológicas de cada una de ellas y sus resultados fueron comparados por los datos obtenidos por Fiallos, L. y Jiménez, C, en el año 2000. Los resultados de la investigación determinaron un buen comportamiento de las especies: *Bouteloua curtipendua*, *Eragrostis curvula*, *Euchlaena mexicana*, *Oculus lanatus* en las mediciones experimentales a las que fueron sometidas, sin embargo se pudo evidenciar un deterioro del material genético en su mayoría como consecuencia a un mal manejo del banco activo.

Palabras Claves: Altoandinas; especies; forrajeras; germoplasma; salvaguardar; extinción.

Abstract

This article presents part of the results of the project “Establishment and management of the genebank of high Andean forage species”. The Active Bank of P. BIB-016, is located in the Tunshi Experimental Station of the Faculty of Livestock Sciences of the Superior Technical School of Chimborazo located in the Province of Chimborazo. The germplasm of twelve high Andean forage species has been agro botanically characterized. Likewise, the Physical, Chemical and Biological characteristics of each one of them were studied and their results were compared by the data obtained by Fiallos, L. and Jiménez, C, in the year 2000. The results of the investigation determined a good behavior of the species: *Bouteloua curtipendua*, *Eragrostis curvula*, *Euchlaena mexicana*, *Oculus lanatus* in the experimental measurements to which they were subjected, however, deterioration of the genetic material was evidenced, mostly as a consequence of poor management of the active bank.

Keywords: Altoandinas; species; forage; germplasm; safeguard; extinction.

Resumo

Este artigo apresenta parte dos resultados do projeto “Estabelecimento e manejo do banco de genes de espécies forrageiras andinas altas”. O Banco Ativo de P. BIB-016 está localizado na Estação Experimental de Tunshi da Faculdade de Ciências da Pecuária da Escola Técnica Superior de Chimborazo, localizada na província de Chimborazo. O germoplasma de doze espécies forrageiras andinas altas foi caracterizado botanicamente. Da mesma forma, foram estudadas as características físicas, químicas e biológicas de cada uma delas e seus resultados comparados pelos dados obtidos por Fiallos, L. e Jiménez, C, no ano 2000. Os resultados da investigação determinaram um bom comportamento de as espécies: *Bouteloua curtipendua*, *Eragrostis curvula*, *Euchlaena mexicana*, *Olcus lanatus* nas medições experimentais às quais foram submetidas, no entanto, foi evidenciada deterioração do material genético, principalmente como consequência do mau gerenciamento do banco ativo.

Palavras-Chave: Altoandinas; espécies; forragem; germoplasma; salvaguarda; extinção.

Introducción

Las plantas y los animales se extinguen debido a la degradación ambiental y las fuerzas de la evolución. Estas fuerzas evolutivas junto con las condiciones climáticas cambiantes crean condiciones desfavorables para que prosperen ciertas especies de plantas y animales (Gulati, 2018). Según la investigación, varias especies de plantas y animales pueden conservarse en bancos de germoplasma durante muchos años y permitir su reproducción. Por lo general, los países dependen de bancos de germoplasma, donde las plantas y las especies animales se conservan de manera técnica. Además, los bancos de germoplasma pueden soportar diferentes tipos de plantas y animales debido al avance de la tecnología (Gulati, 2018). La creación de un banco biológico altamente efectivo y eficiente para el genoma de plantas y animales puede ayudar en la producción de alimentos para mantener la autosuficiencia dentro de las regiones. Además, los países que han invertido en bancos biológicos tienen la capacidad de mantener su producción de alimentos; por lo tanto, aumentar su estado de seguridad alimentaria. Sin embargo, las naciones que no cuentan con la tecnología modernizada necesaria para diseñar y establecer bancos de germoplasma pueden sufrir extinción de plantas y animales (Franco-Duran, Crossa, Chen y Hearne, 2019). Según lo postulado por expertos biológicos, se pueden usar diferentes métodos para preservar el forraje en

los puntos críticos biológicos, como las especies forrajeras nativas altoandinas, entre otros tipos de flora y fauna. Típicamente, las especies forrajeras se vuelven raras debido a la falta de bancos suficientemente equipados, sin suficientes bancos de germoplasma, el nivel de extinción puede aumentar en el futuro. Por lo tanto, este ensayo explora las diversas técnicas utilizadas para preservar las especies forrajeras en los bancos de germoplasma.

Establecer un depósito de muestras biológicas de forraje es una de las estrategias que se pueden utilizar para conservar las plantas dentro de un banco de germoplasma. Idealmente, el banco puede estar diseñado para contener diferentes especies de plantas forrajeras que están disponibles en el medio ambiente (Höfer & Hanke, 2017). Cuando el forraje se deja en la naturaleza, está expuesto al riesgo de destrucción debido al cambio climático o la acción humana. Cuando los humanos se involucran en actividades como la excavación o la limpieza de hábitats naturales, la pérdida de plantas naturales es inevitable (Vilchez, Sotomayor y Zorrilla, 2019). Es común identificar las especies de forraje más vulnerables que deberían incluirse en el repositorio. Por lo general, los expertos en biología examinan las especies que están en peligro de extinción y toman las muestras del campo. Finalmente, las muestras se conservan cuidadosamente con el fin de reproducirlas para mantener cantidades suficientes en el futuro.

La recolección y muestreo de juegos de forraje para su conservación en el banco de germoplasma es una estrategia fundamental que se puede utilizar para conservar especies raras de plantas. Según Migicovsky, Warschefsky, Klein y Miller (2019), los expertos participan en la identificación de las muestras de forraje que requieren almacenamiento y conservación. Cuando se recogen, se proporcionan condiciones adecuadas dentro de los bancos donde se almacenan. Además, el almacenamiento puede durar muchos años (Muthoni, Shimelis y Melis, 2019). Cuando es necesario, los expertos recuperan los juegos del forraje para que se reproduzcan a través de la siembra o de germinación artificial (Lameira et al., 2018). Además, cuando se plantan en la naturaleza, pueden ser vulnerables a infecciones y enfermedades (Muthoni, Shimelis y Melis, 2019). Por lo tanto, los expertos deben garantizar que las condiciones fuera del banco sean favorables para que el crecimiento sostenga a las especies raras durante largos períodos. Además, dentro de los bancos, la tecnología se puede utilizar para crear un espacio más cómodo e inclusivo, donde se pueden almacenar diferentes especies de forraje a largo plazo (Acuña et al., 2019). En

general, sin el equipo adecuado, los gametos pueden desgastarse y no reproducirse cuando se plantan en el suelo.

La reproducción asistida es otra técnica que se puede utilizar para preservar especies forrajeras bajo amenaza de extinción. La reproducción asistida implica la mezcla del genoma de las plantas para crear especies más fuertes (Jourdan, 2017). Cuando una especie que ha sido identificada como en peligro de extinción se mantiene en el banco, puede cruzarse con otra para hacer una raza más fuerte (Höfer & Hanke, 2017). La raza resultante debe ser estable y resistente a las enfermedades para que puedan crecer por períodos más largos (Morrell y Mayer, 2017). Idealmente, cuando el nivel de producción es alto, una especie puede mantenerse durante siglos, ya que las condiciones proporcionadas dentro del banco de germoplasma son favorables para especies de plantas específicas. Sin embargo, los expertos deberían ser selectivos en la forma en que cruzan sus gametos forrajeros para producir patrones genéticos más fuertes.

Además, los tejidos somáticos de las plantas forrajeras se almacenan en bancos de germoplasma para asegurar que no se extingan con el tiempo. Según Jenderek y Reed (2017), los tejidos somáticos son responsables del crecimiento de las plantas. Cuando se recogen, los expertos se aseguran de crear condiciones propicias que promuevan la conservación de estos tejidos durante un largo período (Jenderek y Reed, 2017). Además, la tecnología ha hecho posible la preservación efectiva de los tejidos somáticos de las plantas forrajeras en peligro de extinción dentro de los puntos críticos biológicos, como los rangos andinos tropicales (Das et al., 2017). Con la ayuda de expertos altamente capacitados, la identificación de tejidos somáticos viables de las plantas será más rápida y efectiva a largo plazo.

En general, la preservación de las plantas forrajeras en peligro de extinción es fundamental para el mantenimiento de un equilibrio adecuado de la biodiversidad, en términos de flora y fauna dentro de la naturaleza. Los bancos de germoplasma están diseñados y equipados con materiales de alta calidad que pueden mantener los genomas del forraje en buenas condiciones. Cuando surge la necesidad, los expertos tienen el conocimiento y la experiencia para cruzar los gametos para producir especies más viables que pueden durar muchos años sin el riesgo de extinción. Con la ayuda de repositorios de genomas, producción asistida y preservación de tejidos somáticos, el genoma de las plantas forrajeras se puede reestructurar para proporcionar mejores especies en el futuro.

Metodología

Localización y Duración de la Investigación

La investigación se desarrolló en la Cámara de conservación del Banco de Germoplasma de semilla de especies de gramíneas forrajeras Altoandinas ubicada en la Estación Experimental Tunshi, a 12km de Riobamba en la vía a Licto, ubicada a 2747 msnm de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH con las siguientes condiciones meteorológicas:

Tabla 1. Condiciones meteorológicas de la Hacienda Experimental Tunshi

PARÁMETRO	PROMEDIO
Temperatura	13,1
Humedad Relativa	66,25
Precipitación mm/año	558,6
Fotoperiodo, Horas luz	12

Fuente: Estación Meteorológica Facultad de Recursos Naturales. ESPOCH (2003)

El experimento tuvo una duración de 120 días, distribuidos en: 30 días en el inventario de semillas alto-andinas almacenadas en el banco de germoplasma, 15 días para la actualización de la Base de Datos, 60 días para la prueba de características físico – químicas y biológicas de las 12 especies en estudio y 15 para la elaboración y presentación del informe final.

Unidades Experimentales

Las unidades experimentales fueron constituidas por cada una de las especies almacenadas en el banco, estudiándose a 12 especies de gramíneas promisorias declaradas como tales en el proyecto: “Establecimiento y manejo del banco de germoplasma de especies forrajeras alto-andinas”.

Materiales: Germoplasma Forrajero, Fundas de papel, fundas de aluminio, cápsulas Petri, sustrato esterilizado, bandejas tamiz

Equipo: estufa, lupa, equipo de computación, cámara fotográfica, balanza de precisión ,banco activo de germoplasma.

Tratamiento y Diseño Experimental

Se evaluó la calidad Físico, Química y Biológica de 12 especies forrajeras existentes en el Banco Activo de la FCP “ESPOCH”, según el modelo de distribución estadística “t-Student”, para muestras relacionadas y con igual número de observaciones por grupo.

Mediciones Experimentales

Evaluación de las características físicas, químicas y biológicas de las 12 especies en estudio.

$$t_{CAL} = \frac{\bar{d}}{S_{\bar{d}}}; \text{donde:}$$

t_{CAL} : Valor calculad del criterio “t- Student”

\bar{d} : Diferencia entre medidas

$S_{\bar{d}}$: Desviación típica de la diferencia entre medias

$$S_{\bar{d}} = \frac{S_d}{\sqrt{n}}$$
$$S_d = \sqrt{\frac{\Sigma(d-\bar{d})x^2}{n-1}}$$

$\Sigma(d - \bar{d})x^2 = \Sigma d^2 - \left[\frac{(\Sigma d)^2}{n} \right]$; equivalente a Suma de Cuadrado de las diferencias

Características Físicas: Análisis de pureza, peso de 100 semillas, color, forma, tamaño

Características Químicas: Porcentaje de humedad

Características Biológicas: Porcentaje de germinación, vigor

Análisis estadísticos y pruebas de significancia

Los datos fueron analizado a través de:

ADEVA para las diferencias entre dos grupos de comparación

Separación de medidas por deducción de la significancia de “t-Student”

Análisis de correlación y regresión lineal simple y/o múltiple

Nivel de significación $P \leq .05$ y $\leq .01$

Procedimiento Experimental

De cada una de las 12 especies evaluadas que se mantienen almacenadas se tomó una muestra representativa y se sometieron a cada una de las mediciones experimentales descritas anteriormente. Según corresponda.

Metodología de la Evaluación

Reinventariación *Del Germoplasma*: Se realizó la reinventariación de todas las especies existentes en el Banco de Germoplasma, en base al inventario proporcionado con la investigación de Fiallos y Jiménez en el año 2000, renovando la codificación del material genético almacenado.

Evaluación de las características físico, químico y biológicas de las 12 especies en estudio

Análisis de Pureza: Para esta determinación se consideró semilla pura, es decir las que cumplan con las características propias de una semilla en buen estado. Eliminándose aquellas que poseen un tamaño inferior a lo normal, arrugadas, enfermas o germinadas. Por donde todo el material extraño a la muestra que se incluye dentro del enunciado anterior se considera como impurezas.

La pureza se expresó en porcentaje utilizando la siguiente ecuación:

$$\%P = \frac{P1-P2}{P2} * 100$$

Donde:

P1= peso de la semilla

P2= peso de las impurezas

Peso: Se determinó el peso de 100 semillas en una balanza de precisión, dato que será importante para la determinación del número de semillas por kilogramo y el cálculo de la dosis de siembra.

Color, Forma y Tamaño: La evaluación de estos aspectos fue de carácter visual, para la identificación del germoplasma almacenado en comparación con los resultados obtenidos por Fiallos, L. y Jiménez, C. (2000)

Germinación: En un ensayo de laboratorio como el presente se define a la germinación como la emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla, de aquellas estructuras esenciales para la clase de semilla que se está ensayando indicó la capacidad futura para desarrollarse en planta normal.

Esta medición se efectuó en dos formas:

- En cápsulas Petri en sustrato de humedad en ambiente natural.
- En bandejas con sustrato de suelo esterilizado en ambiente natural.

La germinación se expresó en porcentaje, utilizándose la siguiente ecuación:

$$\%G = \frac{n}{N} * 100$$

N

Donde:

N= número total de semillas

n= número de semillas germinadas

Porcentaje de humedad: La determinación del contenido de humedad es de suprema importancia para garantizar su conservación en el Banco. En el presente caso se utilizó el método de la estufa a alta temperatura constante, para determinar la humedad de la semilla de especies forrajeras, valor que se expresan en porcentaje, bajo la siguiente ecuación:

$$P_i (100 - H_i) = P_f (100 - H_f)$$

Donde:

P_i= peso inicial del lote

P_f= peso final del lote

H_i= humedad inicial del lote

H_f= humedad final del lote

Vigor: Para la determinación del vigor se evaluó la morfología de las estructuras que emergieron en la germinación, conocimiento que a su vez permite evaluar la capacidad para su desarrollo hacia una planta normal, descontándose que creció en un suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables de agua, temperatura y luz.

Actualización de la base de datos: Se realizó en base a las especies existentes que encontré dentro del banco durante la reinventariación del germoplasma.

Resultados

Inventariación de las Especies Forrajeras existentes en el Banco de Germoplasma

De la revisión del material genético existente en el Banco de Germoplasma se identificó la existencia de una gran diversidad de semillas los cuales se clasificaron por género y especie ordenándolas alfabéticamente, como indica el Cuadro 2.

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

Cuadro 2: Identificación el germoplasma conservado en el banco activo, clasificado por género y especie

GÉNERO Y ESPECIE	COLOR	FORMA	TAMAÑO
<i>Agropyrum</i>	Amarilla	elipsoide	mediana
<i>Agropyrum attenuatum</i>	amarilla	elipsoide	grande
<i>Agropyrum desertorum</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Agrostis toluensis</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Agrostis exigua</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Agrostis humilis</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Agrostis semiverticillata</i>	violácea	ovoidea	mediana
<i>Agrostis tenuis</i>	violácea	ovoidea	mediana
<i>Anthonxanthum odoratum</i>	verde amarillenta	ovoidea	mediana
<i>Arrhenatherum eltius</i>	verde amarillenta	ovoidea	grande
<i>Bromus wildenowi</i>	verde amarillenta	elipsoide	grande
<i>Bromus altchense</i>	violácea	ovoidea	mediana
<i>Bromus sp</i>	violácea	ovoidea	mediana
<i>Bromus lanatus</i>	gris	elipsoide	grande
<i>Bromus inermis</i>	gris	elipsoide	grande
<i>Bromus caatharticus</i>	gris	elipsoide	mediana
<i>Bromus sitchensis</i>	gris	elipsoide	mediana
<i>Bromus unioloides</i>	gris	elipsoide	mediana
<i>Bromus inermis</i>	gris	elipsoide	mediana
<i>Bouteloua</i>	gris	elipsoide	pequeña
<i>Bouteloua gris</i>	gris	elipsoide	pequeña
<i>Bouteloua curtipendua</i>	gris	elipsoide	pequeña
<i>Calmagrostis macrophylo</i>	café amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Calmagrostis rentia</i>	café amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Calmagrostis heterophyllo</i>	café amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Calmagrostis sp</i>	café amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Calmagrostis balanderi</i>	café amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Calmagrostis tarmensis</i>	café amarillenta	elipsoide	grande
<i>Eragrostis curvula</i>	amarilla	ovoidea	pequeña
<i>Eragrostis albus</i>	amarilla	ovoidea	mediana
<i>Euchlaena mexicana</i>	café	trapezoide	grande
<i>Eragrostis glomerata</i>	amarilla	ovoidea	pequeña
<i>Festuca humillar</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca arundinacea</i>	verde amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca dolychophylla</i>	violácea	ovoidea	grande
<i>Festuca sp</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca weberbawen</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca humiliar</i>	amarillenta	ovoidea	grande

<i>Festuca rigencis</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca ovina</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Festuca elatiar</i>	amarillenta	ovoidea	grande
<i>Holcus repens</i>	verde	ovoidea	mediana
<i>Holcus lanatus</i>	verde	ovoidea	mediana
<i>Lolium multiforum</i>	amarilla	elipsoide	grande
<i>Melilotus albus</i>	amarilla	ovoidea	mediana
<i>Medicago sativa</i>	amarillenta	ovoidea	pequeña
<i>Mulumbergia angustata</i>	verde amarillenta	elipsoide	grande
<i>Paspalum libidum</i>	amarillenta	ovoidea	pequeña
<i>Paspalum sp</i>	gris	ovoidea	pequeña
<i>Paspalum vaginatum</i>	gris	ovoidea	pequeña
<i>Paspalum bomplandianum</i>	gris	ovoidea	pequeña
<i>Paspalum plicatum</i>	gris	ovoidea	pequeña
<i>Phalaris bulbosa</i>	verde amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Phalaris tuberosa</i>	verde amarillenta	elipsoide	mediana
<i>Polipogon interruptus</i>	amarillo verdoso	ovoidea	pequeña
<i>Polipogon sp</i>	amarillo verdoso	ovoidea	pequeña
<i>Polipogon labidoes</i>	amarillo verdoso	ovoidea	mediana
<i>Poa horridula</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Poa palustris</i>	amarilla	elipsoide	mediana
<i>Sorgum vulgare</i>	café claro	ovoidea	mediana
<i>Stipa plumeris</i>	blanca	elipsoide	mediana
<i>Stipa pilosa</i>	blanca	elipsoide	mediana

Fuente: Fiallos, L, Jiménez, C, (2000).

Características Físicas

Análisis de Pureza: Los resultados reportados en el Cuadro 3, deducen diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), en el porcentaje de Pureza de todas las especies evaluadas, con tendencia a un deterioro de esta condición en la mayoría de ellas con pérdidas que bajan de 87.67% hasta 16.67% condición que compromete a la calidad del material y deja divisar la imposibilidad de aprovechamiento dentro del banco de germoplasma. Es importante hacer prevalecer el comportamiento de la *Euchalaena mexicana* la cual tuvo ligera disminución de 1.33% de ($P < 0,05$), lo que permite determinar que el tamaño de la semilla favorece a una mejor selección y separación de impurezas al momento de su recolección, sin embargo serán las demás características de conducta las que definan su calidad, como indica el Gráfico 1, siendo de 87.67 – 16.67% respectivamente; aun cuando las perjuicios de pureza comprometen a casi todas las especies el *Eragrostis curvula* y *Holcus Lanatus* detonaron una pureza de 38.33 y 35.00% respectivamente. Es necesario mencionar que las semillas de las especies *Agrostis semiverticillata* y *Bouteloua curtipendula* como las especies que más deterioro presentaron en esta característica con valores

que redujeron desde 86.00% hasta 17.33% valores que podrían ser considerados para sustento como material genético del Banco Activo. (Gráfico 1).

El análisis de varianza para el porcentaje de pureza en la mayoría de las especies evaluadas registró valores estadísticos altamente significativos ($P < 0,01$), señalando que las semillas correspondientes a la especie *Agrostis semiverticillata* reportaron uno de los valores más bajos en cuanto a este parámetro se refiere con coeficiente de variación de 3,706% y una media general de 51,667%.

Tabla 3: Análisis comparativo para el porcentaje de pureza en doce especies promisorias evaluadas

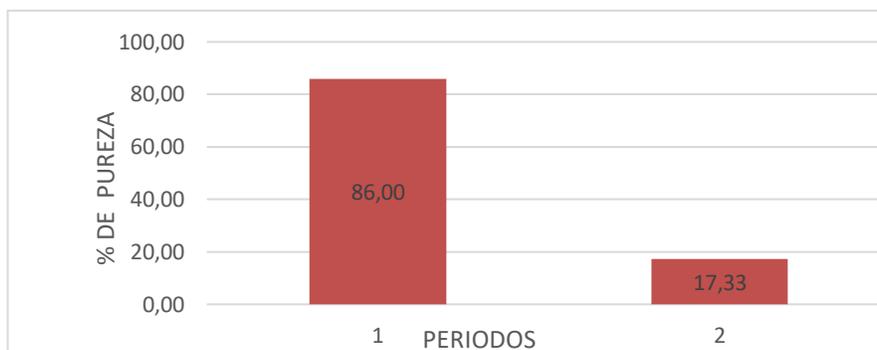
ESPECIES	PERIODOS		CV%	Media	Sx-	Sig.
	2000	2007				
<i>Agrostis semiverticillata</i>	86,00 a	17,33 b	3,706	51,667	1,111	**
<i>Arrhenathenum elatius</i>	79,33 a	19,00 b	4,152	49,167	1,176	**
<i>Bromus lanatus</i>	78,33 a	18,67 b	3,150	48,500	1,025	**
<i>Bouteloua curtipendula</i>	87,67 a	16,67 b	1,750	52,167	0,764	**
<i>Eragrostis curvula</i>	79,67 a	38,33 b	0,979	59,000	0,571	**
<i>Euchiena mexicana</i>	98,67 a	97,33 b	0,589	98,000	0,443	*
<i>Holcus lanatus</i>	74,00 a	35,00 b	3,670	54,500	1,106	**
<i>Poa horridula</i>	86,00 a	22,67 b	4,183	54,333	1,181	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	82,33 a	21,33 b	3,247	51,833	1,040	**
<i>Paspalum plicatulum</i>	83,67 a	20,00 b	3,694	51,833	1,110	**
<i>Stipa pilosa</i>	77,00 a	19,33 b	6,455	48,167	1,467	**

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

<i>Stipa plumeris</i>	76,33 a	19,67 b	11,662	48,000	1,972	**
-----------------------	---------	---------	--------	--------	-------	----

Fuente: Fiallos, L. Jiménez, C, (2000). y Bonifaz V. (2007)

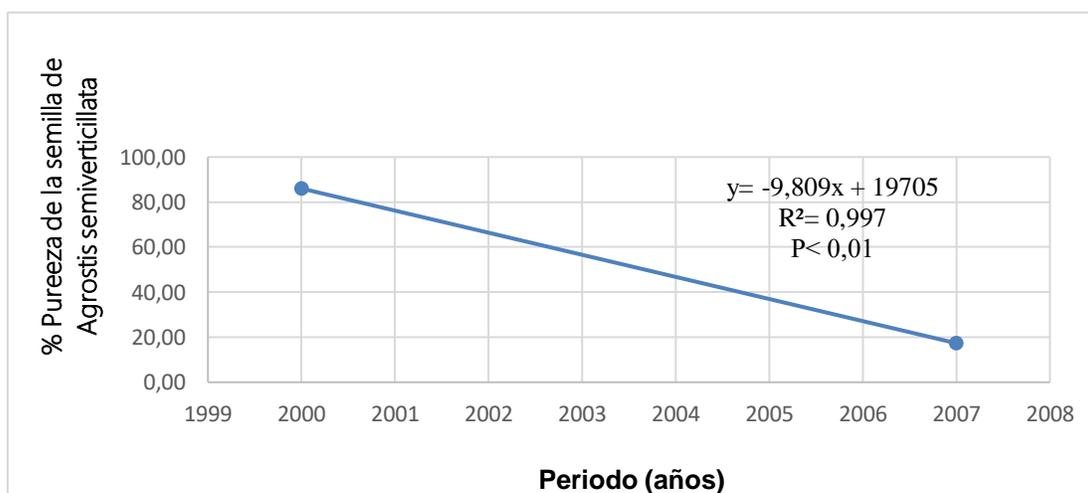
Gráfico 1: Variación del % de pureza para la especie *Agrostis semiverticillata*



Fuente: Elaboración propia

En la separación de medias, (Gráfico 2), se observó diferencias entre un periodo a otro difiriendo estadísticamente entre ellos y ratificándose la tendencia expresada que a mayor tiempo de almacenamiento el % de pureza se ve afectado demostrando así el deterioro de la semilla.

Gráfico 2: Porcentaje de Pureza del *Agrostis semiverticillata* en función del tiempo

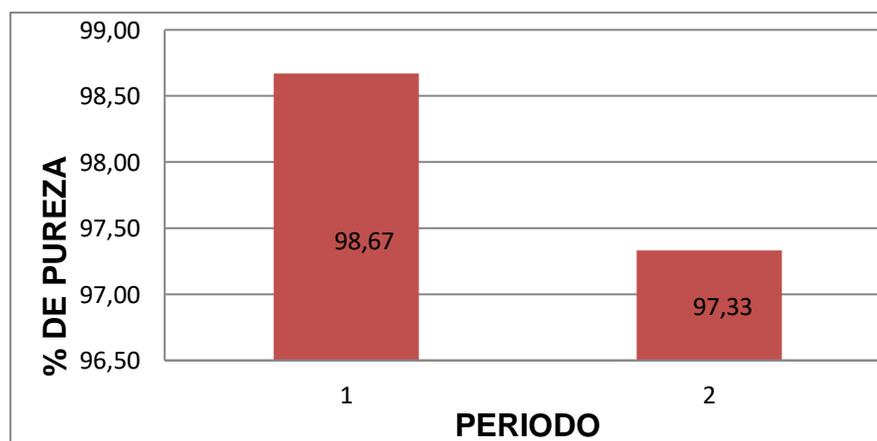


Fuente: Elaboración propia

Con una tendencia similar el pasto *Euchlaena mexicana* también reporto diferencias significativas ($P < 0.05$), con un coeficiente de variación de 0,589% y una media general de 98%, observando a su vez rangos estadísticamente diferentes en la separación de medias según t-Student (Gráfico 3). El análisis de regresión y correlación determino la existencia de un coeficiente de correlación simple de $r=0,764$ lo cual nos permite apreciar que la correlación existente entre el paso del tiempo y el % de pureza es inversamente proporcional pues a medida que el tiempo se incrementa el porcentaje de pureza disminuye; con un coeficiente de determinación de $R^2=0,583$ y una ecuación de regresión $y=-0,166 + 431,8$ (Gráfico 4).

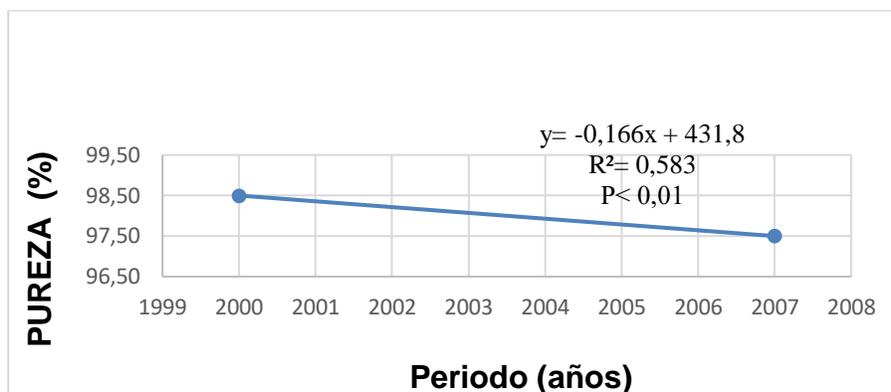
Aunque no existen investigaciones que respalde esta información se puede determinar que existe una asociación positiva es decir que a medida que se incrementó el paso del tiempo en el almacenamiento de las semillas de todas las especies evaluadas estas sufrirán un deterioro en su calidad, debiéndose a muchos factores uno de ellos sería el mal manejo que se dio al banco de germoplasma.

Gráfico 3: Variación del % de Pureza para la especie *Euchalaena mexicana*



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4: Porcentaje de Pureza de la *Euchaena mexicana* en función del tiempo



Fuente: Elaboración propia

Peso de 100 semillas

En el cuadro 4, se observa el paso de las 12 especies evaluadas encontrándose diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$) pues sus vales son irregulares y van demostrando en el material almacenado ha ido disipando pesos con el pasar del tiempo, (Gráfico 5), la especie *Agrostis semivercillata* registra pesos equivalentes a 0,22g a diferencia de los resultados obtenidos en investigación de Fiallos, L. y Jiménez, C. que fue de 0,27g resultados similares fueron encontrados por Balocchi et al., (1993), con valores que oscilan entre 0,26 y 030g.

Mientras que las especies *Arrhenatherum elatius* y *Bromus lanatus* reportaron valores intermedios que van de 0.44 - 0.38 y de 0.46 – 0.42 g equitativamente datos similares obtenidos por Balocchi et al. (1993) y Whyte et al. (1993), quienes señalan valores de 0.40g y 0.53 g y su orden.

Es necesario señalar que el peso del *Holcus lanatus* fue de 0.30g en el año 2000, la misma que redujo a 0,27g en la presente investigación variación que difiere estadísticamente ($P < 0,05$) debido a que disminuyó su peso de un periodo a otro en 0,03g.

Tabla 4: Análisis comparativo para el peso de 100 semillas de doce especies promisorias evaluadas

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

Periodos								
Especies	2000	A	2007	B	Cv %	Media	Sx	Sig.
<i>Agrostis semiverticillata</i>	0,27	A	0,22	B	3,726	0,25	1,11	**
<i>Arrhenathenum elatius</i>	0,44	A	0,38	B	1,397	0,41	0,68	**
<i>Bromus latanus</i>	0,46	A	0,42	B	2,624	0,44	0,94	**
<i>Bouteloua curtipendula</i>	0,30	A	0,27	B	1,424	0,29	0,69	**
<i>Eragrostis curvula</i>	0,27	A	0,24	B	2,264	0,26	0,87	**
<i>Euchiena mexicana</i>	7,98	A	7,88	B	0,199	7,93	0,26	**
<i>Holcus lanatus</i>	0,30	A	0,27	B	3,203	0,29	1,03	*
<i>Poa horridula</i>	0,29	A	0,23	B	3,161	0,26	1,03	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	0,30	A	0,28	B	1,416	0,29	0,69	**
<i>Paspalum plicatulum</i>	0,28	A	0,24	B	1,560	0,26	0,72	**
<i>Stipa pilosa</i>	0,34	A	0,30	B	1,269	0,322	0,650	**
<i>Stipa plumeris</i>	0,33	A	0,29	B	1,862	0,310	0,788	**

Fuente: Fiallos, L, Jiménez, (2000). y Bonifaz, V. (2007).

La determinación de esta característica ayuda a establecer el número de semillas por kilogramo y con esto la dosis de siembra por hectárea, para cada una de las especies en estudio.

El análisis de varianza para el peso de 100 semillas en la generalidad de las especies juzgadas registró valores estadísticos altamente significativos ($P < 0,01$), señalando que las semillas correspondientes a la especie *Agrostis semiverticillata* reportaron uno de los valores más bajos en cuanto a esta medida se refiere con coeficiente de variación de 3,726% y una media general de 0,245g.

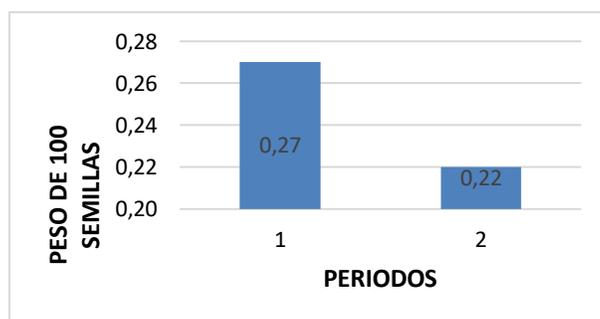
Mientras que en la separación de medias también se observó diferencias entre un periodo a otro confirmando la tendencia expresada que a mayor tiempo el parámetro peso de las semillas se ve afectado debido al deterioro que la semilla ha sufrido. (Gráfico 6).

El análisis de regresión y correlación del tiempo de almacenamiento y el peso de 100 semillas determina la existencia de un coeficiente de correlación simple igual a $r = 0,932$ un y la ecuación

de regresión $y = -0,006x + 12,17$. El coeficiente de determinación $R^2 = 0,868$. (Gráfico 7), lo cual demuestra que el transcurso del tiempo influye significativamente sobre el peso de las 100 semillas y que estas han sufrido un deterioro durante el tiempo de almacenamiento.

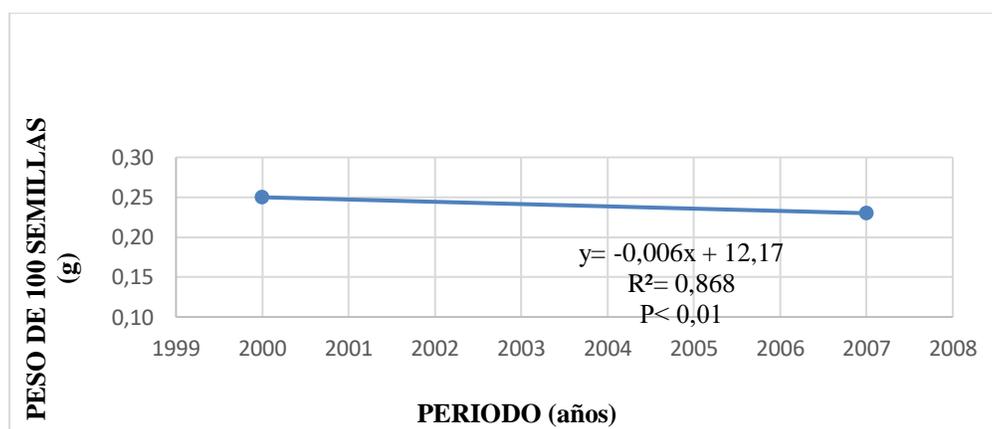
Con una directriz similar el pasto *Holcus lanatus* alcanzo diferencias significativas ($P < 0,05$), con un coeficiente de variación de 3,203% y una media general de 0,285g. (Anexo 19), con divergencias estadísticas en la separación de medias según t-student. (Gráfico 8). El análisis de regresión y correlación determino la existencia de un coeficiente de correlación simple de 0,800 un coeficiente de determinación $R^2 = 0,640$ y una ecuación de regresión $y = -0,003x + 6,485$

Gráfico 5: Variación para el peso de 100 semillas en la especie *Agrostis semiverticillate*



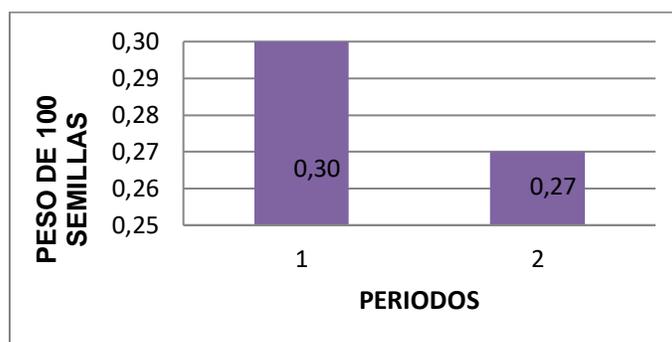
Fuente: Elaboración propia

Gráfico 6: Peso de 100 semillas para la especie *Agrostis semiverticillata*, en función del tiempo



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 7: Variación para el peso de 100 semillas para la especie *Holcus lanatus*



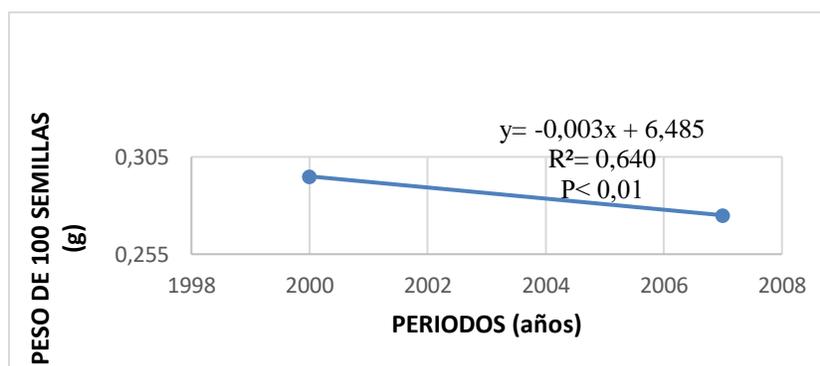
Fuente: Elaboración propia

Decir por cada año que transcurra en la variable tiempo existirá un descenso de 0,0003% en el peso de la semilla. (Gráfico 8).

Por cuanto $F_{cal} = 162,00 > F_{tal} = 7,71$ y $21,20$ en la especie *Arrthenatherum elatius* se deduce diferencias entre medias para los pesos de 100 semillas son altamente significativamente, (Gráfico 9).

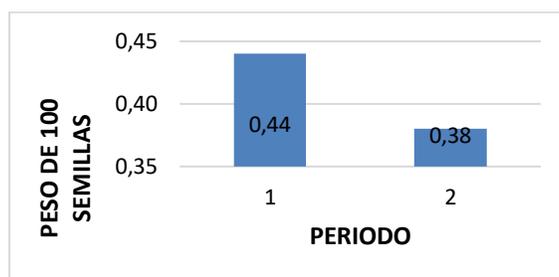
Un coeficiente de varianza 2,624 y un nivel de confianza mayor a 99% y menor al 1% de error, con una ecuación de regresión $y = -0,006X + 12,840$ un coeficiente de determinación $R^2 = 0,828$ y un coeficiente de correlación $r = 0,991$ dándonos a conocer que el grado de asociación que existe entre el tiempo de almacenamiento y el peso de las semillas es negativo es decir que a medida que transcurra el tiempo el peso de la semilla disminuye. (Gráfico 10).

Gráfico 8: Peso de 100 semillas para la especie *Holcus tanatus*, en función al tiempo



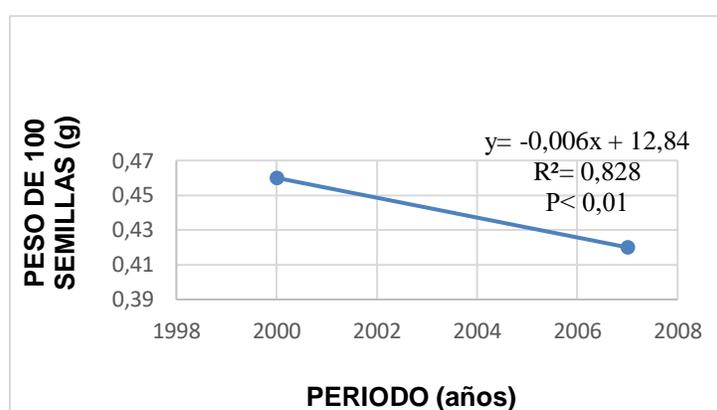
Fuente: Elaboración propia

Gráfico 9: Variación para el peso de 100 semillas en la especie *Arrhenatherum elatius*



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 10: Peso de 100 semillas para la especie *Arrhenatherum elatius*, en función al tiempo



Fuente: Elaboración propia

Color, Forma y Tamaño: En la siguiente tabla se resumen las características físicas de 12 especies promisorias evaluadas.

Tabla 5: Color, forma y tamaño de las doce especies promisorias evaluadas

ESPECIES	COLOR	FORMA	TAMAÑO
<i>Agrostis semiverticillata</i>	Violácea	ovoidea	mediana
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Verde Amarillenta	ovoidea	grande
<i>Bromus lanatus</i>	Ggris	elipsoide	grande
<i>Bouteloua curtipendua</i>	Gris	elipsoide	pequeña
<i>Eragrostis curvula</i>	Amarilla	Ovoidea	pequeña
<i>Euchlaena mexicana</i>	Café	trapezoidal	grande
<i>Holcus lanatus</i>	Verde	Ovoidea	mediana
<i>Poa horridula</i>	Amarilla	elipsoide	mediana
<i>Paspalum bomplandianum</i>	Gris	Ovoidea	pequeña
<i>Paspalum plicatulum</i>	Gris	Ovoidea	pequeña
<i>Stipa pilosa</i>	Blanca	elipsoide	mediana

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

<i>Stipa plumeris</i>	Blanca	elipsoide	mediana
-----------------------	--------	-----------	---------

Fuente: Fiallos, L, Jiménez, C,(2020)

Fiallos & Jiménez (2020), manifiestan que la información obtenida sobre color forma y tamaño representa la identidad propiamente dicha del germoplasma.

Características químicas

Porcentaje de humedad: La tabla 6, muestra las variaciones del contenido de humedad (CH), de las 12 especies promisorias evaluadas donde se muestra:

Tabla 6: Análisis de comparación en el porcentaje de humedad de doce especies promisorias evaluadas

PERIODOS								
ESPECIES	2000		2007		t cal	t(0,05)	t (0,01)	Sig
<i>Agrostis semiverticillata</i>	12,33	a	8,20	b	54,58	4,30	9,92	**
<i>Amehnatherum elatius</i>	11,67	a	7,55	b	163,84	4,30	9,92	**
<i>Bromus lanatus</i>	12,67	a	8,26	b	68,44	4,30	9,92	**
<i>Bouteloua curtipendua</i>	11,67	a	10,58	b	142,28	4,30	9,92	**
<i>Eragrostis curvula</i>	13,33	a	8,61	b	115,99	4,30	9,92	**
<i>Euchlaena mexicana</i>	11,33	a	9,04	b	7,71	4,30	9,92	ns
<i>Holcus lanatus</i>	12,67	a	8,23	b	353,12	4,30	9,92	**
<i>Poa horridula</i>	12	a	8,15	b	76,18	4,30	9,92	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	12	a	10,61	b	7,91	4,30	9,92	ns
<i>Paspalum plicatulum</i>	12,33	a	8,69	b	350,04	4,30	9,92	**
<i>Stipa pilosa</i>	12,67	a	11,05	b	80,00	4,30	9,92	**
<i>Stipa plumeris</i>	12	a	1,00	b	73,33	4,30	9,92	**

Fuente: Fiallos, L., Jimenez, C, (2000). y Bonifaz, V. (2007).

Valores altamente significativos ($P < 0,01$), en la mayoría de las especies. El análisis reporto porcentajes que oscilan entre el 1.00 y 10.58% para las especies *Stipa plumeris* y *Bouteloua curtipendura* respectivamente, sin embargo es preciso resaltar a las especies *Euchlaena mexicana* con el 9.04% y *Paspalum bomplandianum* con el 10.61%; valores no significativos en comparación con los reportados por la investigación desarrollada por Fiallos, L y Jiménez, C. (2000).

Moreira, N y Nakagawa, J (1988), manifiesta que la semilla, luego de su recolección deberá mantener una humedad que oscile entre 12 y 15% de humedad al momento de su almacenamiento, pues toda semilla presenta cierto contenido de humedad que afecta a los procesos fisiológicos que va a sufrir.

Así, si la humedad fuera superior a 40-60% se da la emergencia de la plántula por el fenómeno de la germinación; entre 18-20% de humedad de la semilla puede ocasionar la proliferación de microorganismos (hongos y bacterias) y de insectos, causando el calentamiento de las masas de las semillas y provocando la muerte de la semilla, que es probablemente lo que ocurrió con el material investigado en la presente investigación.

Sim embargo un contenido excesivamente bajo de humedad puede perjudicar el embrión. La deshidratación completa es indudable que destruya la vida del embrión, lo que estaría pasando con la especie *Stipa plumeris* que alcanzo valores del 1,00% de humedad.

Características biológicas

Porcentaje de Germinación: Los valores para el porcentaje de germinación de las semillas de las 12 especies evaluadas se muestran en el Cuadro 7, fijando diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$), para las especies *Agrostis semiverticillata*, *Amehnatherum elatius*, *Bromus lanatus*, *Bouteloua curtipendula*, *Poa horridula*, *Paspalum bomplandianum*, *Paspalum plicatulum*, *Papalum plicatulum*, *Stipa*.

Tabla 7: Análisis comparativo para el porcentaje de germinación en capsulas Petri con sustrato de humedad en ambiente natural de doce especies promisorias evaluadas

ESPECIES	PERÍODOS		t Cal	t(0,05)	t (0,05)	Sig
	2000	2007				
<i>Agrostis semiverticillata</i>	65,933 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Amehnatherum elatius</i>	76,133 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Bromus lanatus</i>	81 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Bouteloua curtipendua</i>	51,067 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Eragrostis curvula</i>	87,433 a	83,67 b	114367,12	4,30	9,92	**
<i>Euchlaena mexicana</i>	87,000 a	1,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Holcus lanatus</i>	77,600 a	10,67 b	134388,67	4,30	9,92	**
<i>Poa horridula</i>	69,933 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	31,000 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**

Bancos de Germoplasma para salvaguardar las condiciones Físico- Químicas y Biológicas de especies forrajeras nativas altoandinas

<i>Paspalum plicatulum</i>	27,000 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Stipa pilosa</i>	84,067 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**
<i>Stipa plumeris</i>	87,800 a	0,00 b	100,0	4,30	9,92	**

Fuente: Fiallos, L, Jiménez, C, (2000). Y Bonifaz, V. (2007)

Pilosa, *Stipa plumeris*, que denotaron germinación anual al comparar con el estudio realizado por Fiallos, L. y Jimenez, C. (2000), los cuales reportaron valores de: 65.933, 76.133, 81, 51.067, 87.000, 69.933, 31.000, 27.000, 84.067, 87.800% respectivamente demostrando que el poder germinativo se ha visto afectado en su totalidad, debido al mal manejo del banco y a que la mayoría de estas especies superan en su tiempo de almacenamiento como cita Kuhn y Jerchel (1993), quienes manifiestan que los Bancos de germoplasma aseguran la preservación de semillas por periodos más o menos prolongados (min 3 años y máx. 10 años), siempre y cuando se mantengan las condiciones adecuadas que debe mantener un Banco como es una cámara frigorífica a -5°C la colección de intercambio y a -20°C la reserva integral. Sin embargo, es significativo sobresalir a las especies *Eragrostis curvula*, *Euchlaena mexicana*, *Holcus lanatus* las mismas que alcanzaron porcentajes de 83,67; 1,00 y 10,67 en su orden.

El porcentaje de germinación evidencia valores similares a los reportados por Lewis (1991), con valores que oscilan entre 83,50 y 84,00 en cuanto al *Eragrostis curvula* se refiere. (Gráfico 14)

Por lo tanto, el deterioro de la mayoría de las especies se ha visto reflejado dentro de esta característica a diferencia de la especie anteriormente mencionada pudiendo considerarla como material genético de banco activo.

Mientras que los resultados para el porcentaje de germinación en arena difieren significativamente entre ambos periodos (Cuadro 8), debido a que se obtuvieron germinaciones únicamente de las especies: *Eragrostis curvula* *Holcus lanatus* cuyos valores fueron de 12 y 5% mutuamente ratificando con este resultado la conservación de estas especies dentro del banco activo, pero con un bajo poder germinativo.

Tabla 8: Análisis comparativo para el porcentaje de germinación en arena esterilizada en ambiente natural en doce especies promisorias evaluadas

ESPECIES	PERIODOS				t cal	t(0.05)	t(0.1)	Sig
	2000		2007					
<i>Agrotis semiverticillata</i>	65,467	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Arrhenatherum elatius</i>	76,133	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Bromus lanatus</i>	80,933	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Bouteloa curtipendua</i>	51,200	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Eragrotis curvula</i>	76,467	a	12.00	B	38227.5	4.30	9.92	**
<i>Euchlaena mexicana</i>	87,333	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Hulcus lanatus</i>	78,067	a	5.00	B	78062.00	4.30	9.92	**
<i>Poa horridula</i>	70,467	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	30,467	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Paspalum plicatulum</i>	27,467	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Stipa pilosa</i>	83,933	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**
<i>Stipa plumeris</i>	89,200	a	0.00	B	100.00	4.30	9.92	**

Fuente: Fiallos, L. Jiménez, C. (2000). Y Bonifaz, V. (2007)

Vigor: En la tabla 9 se establecen los porcentajes de vigor de las 12 especies en estudio estipulando discrepancias estadísticas altamente significativas ($P < 0,01$), para las especies *Agrotis semiverticillata*, *Arrehnatherum elatius*, *Bromus lenatus*, *Bouteloua curtipendua*, *Euchlaena mexicana*, *Poa horridula*, *Paspalum bomplandianum*, *Paspalum plicatulum*, *Paspalum plicatulum*, *Stipa pilosa*, *Stipa plumeris*, que reportaron valores de 0,00% es decir inexistentes al comparar con la investigación realizado por Fiallos, L. y Jiménez, C. (2000), los cuales reportaron valores de: 95, 96.33, 94.33, 91.67, 95.33, 93, 86.67, 90, 95, 96.67% respectivamente.

Es necesario recalcar que las especies *Eragrostis curvula* Y *Orcus lanatus* alcanzaron porcentajes de vigor de 82.67 y 80.67% respectivamente, al evaluar la morfología de las estructuras que emergieron en las germinaciones, conocimiento que a su vez permite evaluar la capacidad para continuar su desarrollo hacia a una planta normal. A mayor vigor, mayor potencialidad de permanecer almacenadas, de acuerdo a esto se puede determinar que las especies *Eragrostis curvula* Y *Orcus lanatus* aun alcanzan a mantenerse como material genético dentro del banco.

Sin lugar a duda los daños en las semillas son producto del uso excesivo y/o inadecuado del banco que ha producido un rápido descenso y pérdidas de vigor, dando origen a plántulas débiles y

anormales, vulnerables a infecciones secundarias por hongos e insectos, provocando un rápido deterioro del material criterio emitido por Fuentes, J. (1988).

Tabla 9: Análisis comparativo en el porcentaje de vigor en doce especies promisorias evaluadas

ESPECIES	PERIODOS					
	2000	2007	t cal	t(0.05)	t(0.1)	Sig
<i>Agrotis semiverticillata</i>	95	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Arrhenatherum elatius</i>	96.33	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Bromus lanatus</i>	94.33	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Bouteloa curtipendua</i>	91.67	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Eragrotis curvula</i>	96.67	82.67	12.13	4.30	9.92	**
<i>Euchlaena mexicana</i>	95.33	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Hulcus lanatus</i>	96.33	80.67	13.56	4.30	9.92	**
<i>Poa horridula</i>	93	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Paspalum bomplandianum</i>	86.67	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Paspalum plicatulum</i>	90	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Stipa pilosa</i>	95	0.00	100.00	4.30	9.92	**
<i>Stipa plumeris</i>	96.67	0.00	100.00	4.30	9.92	**

Fuente: Fiallos, L. Jiménez, C. (2000). Y Bonifaz, V. (2007)

Conclusiones

Transcurrido los 7 años de almacenamiento en el Banco activo de germoplasma de especies forrajeras alto andinas se evidencia:

Un bajo índice de calidad en todas las especies evaluadas.

El mayor porcentaje de pureza hallado en esta investigación fue de 97,33% que corresponde a la especie *Euchalaena mexicana* a diferencia del porcentaje de pureza que se obtuvo en la semilla *Bouteloua curtipendua* que arrojó valores de 16,67%.

El porcentaje de germinación en capsulas petri con sustrato de humedad y en bandejas con sustrato de suelo esterilizado ambos en ambiente natural registraron germinación nula en la mayoría de las especies, a excepción del *Eragrostis curvula* (83,67 en cajas petri y 12,00 en arena), y para el *Holcus lanatus* 10,67% de germinación en cajas petri y 5,00% en arena verificando la baja calidad de la semilla.

Las variaciones de humedad de las semillas siguiendo el método de secado en estufa determino que no existieron diferencias significativas entre las dos investigaciones desarrolladas a diferentes periodos en las especies *Euchlaena mexicana* y *Paspalum bomplandianum*, que reportaron valores de 9,04% y 10,61% correspondientemente.

La estimulación de vigor para las 12 especies evaluadas se desarrolló bajo el sometimiento de sus semillas a germinación; con porcentajes de cero en su mayoría a excepción de las especies *Eragrostis curvula* y *Holcus lanatus*, que reportaron valores de 82,67 % y 80,67 % respectivamente.

Referencias

1. Acuña, C. A., Martínez, E. J., Zilli, A. L., Brugnoli, E. A., Espinoza, F., Marcón, F., ... & Quarín, C. L. (2019). Reproductive systems in paspalum: Relevance for germplasm collection and conservation, breeding techniques, and adoption of released cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1377.
2. Das, A., Varma, A., Pandey, R., & Chaudhury, R. (2017). Ex Situ Conservation Strategies in Litchi Germplasm. In *The Lychee Biotechnology* (pp. 381-393). Springer.
3. Franco-Duran, J., Crossa, J., Chen, J., & Hearne, S. J. (2019). The impact of sample selection strategies on genetic diversity and representativeness in germplasm bank collections. *BMC Plant Biology*, 19(1), 520.
4. González-Arno, M. T., Dolce, N., González-Benito, M. E., Martínez, C. R. C., & Cruz-Cruz, C. A. (2017). Approaches for in vitro conservation of woody plants germplasm. In *Biodiversity and Conservation of Woody Plants* (pp. 355-419). Springer.
5. Gulati, R. (2018). Strategies for sustaining plant germplasm evaluation and conservation a review. *Life Sci. Inform*, 4, 313-320.
6. Höfer, M., & Hanke, M. V. (2017). Cryopreservation of fruit germplasm. *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 53(4), 372-381.
7. Jenderek, M. M., & Reed, B. M. (2017). Cryopreserved storage of clonal germplasm in the USDA National Plant Germplasm System. *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 53(4), 299-308.

8. Jourdan, P. (2017, April). Short-and medium-term in vitro conservation and management of germplasm within the USDA's National Plant Germplasm System. In VII International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1224 (pp. 31-38).
9. Lameira, O. A., Gimenes, M. A., Neves, R. L. P., de Oliveira, M. D. S. P., de Miranda Rodrigues, S., & Silva, L. F. (2018). Curauá genetic diversity in germplasm banks and natural populations. *J. Plant Breed. Crop Sci.*, 10(12), pp. 347-353.
<https://academicjournals.org/journal/JPBCS/article-full-text-pdf/5A0B7BC59449>
10. Migicovsky, Z., Warschefsky, E., Klein, L. L., & Miller, A. J. (2019). Using living germplasm collections to characterize, improve, and conserve woody perennials. *Crop Science*, 59(6), 2365-2380.
11. Morrell, J. M., & Mayer, I. (2017). Reproduction biotechnologies in germplasm banking of livestock species: A review. *Zygote*, 25(5), 545-557.
12. Muthoni, J., Shimelis, H., & Melis, R. (2019). Long-term conservation of potato genetic resources: Methods and status of conservation. *Australian Journal of Crop Science*, 13(5), 717.
13. Vilchez, D., Sotomayor, D. A., & Zorrilla, C. (2019). Ex situ conservation priorities for the Peruvian wild tomato species (*Solanum* L. SECT. *Lycopersicum* (MILL.) WETTST.). *Ecología Aplicada*, 18(2), 171-183.

©2020 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).