

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

DETERMINACIÓN DE UNA METODOLOGÍA BASE PARA LA CONSERVACIÓN A LARGO PLAZO CON DIEZ ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) DEL BANCO NACIONAL DE GERMOPLASMA DE GRANOS ALTOANDINOS

Rilmar León Gutierrez

La Paz, Bolivia

2009

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

DETERMINACIÓN DE UNA METODOLOGÍA BASE PARA LA CONSERVACIÓN A LARGO PLAZO CON DIEZ ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) DEL BANCO NACIONAL DE GERMOPLASMA DE GRANOS ALTOANDINOS

**Tesis de grado presentado como requisito
parcial para optar el título de Ingeniero
Agrónomo**

RILMAR LEÓN GUTIERREZ

ASESORES:

Ing. Ms.C. Wilfredo Rojas

Ing. Milton Pinto Porcel

REVISORES:

Ing. David Morales Velásquez

Ph. D. Magali García Cárdenas

Ing. Nicolás Monasterios

APROBADA

PRESIDENTE TRIBUNAL EXAMINADOR

.....

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y a todos mis hermanos, por el apoyo incondicional que me han brindado en los malos y buenos momentos.

A mis Asesores, quienes me han guiado y apoyado en todo el desarrollo del trabajo de investigación.

A la Fundación PROINPA, que me dio la oportunidad de realizar el trabajo de investigación en beneficio de la sociedad.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con el más entrañable cariño a mis padres Simón y Santusa, y a mis hermanos quienes me apoyaron en los malos y buenos momentos.

A mi abuelo Braulio quien estuvo siempre conmigo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria -----	i		ii
Agradecimiento -----			iii
Índice de contenidos -----			vi
Cuadros -----			vii
Figuras -----			viii
Resumen-----			x
Abstract-----			x
			Pág.
			1
I. INTRODUCCION -----			2
1.1 Objetivos general -----			2
1.1.1 Objetivos específicos -----			3
1.2 Hipótesis -----			4
II. REVISION BIBILOGRAFICA -----			4
2.1 Los recursos fitogenéticos -----			4
2.2 Conservación de los recursos fitogeneticos -----			6
2.2.1 Métodos de conservación -----			6
2.2.1.1 Conservación In situ -----			7
2.2.1.2 Conservación Ex situ -----			9
2.2.2 Estrategias de conservación de semillas-----			10
2.3 Factores que afectan la conservación de las semillas a largo plazo-----			10
2.3.1 Características de la semilla.-----			10
2.3.2 Factor del ambiente de conservación -----			12
2.4 Almacenamiento y conservación del germoplasma -----			12
2.4.1 Acondicionamiento de la semilla -----			13
2.4.2 Contenido de humedad de las semillas previo al almacenamiento -----			14
2.4.3. Métodos de determinación de contenido de humedad de las semillas -----			16
2.4.4 Deseccación de semillas -----			17
2.4.4.1 Fundamentos del secado de las semillas-----			18
2.4.4.2 Sensibilidad de las semillas al secado -----			19
2.4.4.3 Contenido de humedad óptimo para el almacenamiento-----			19
2.4.4.4 Pronóstico del tiempo del secado -----			20
2.4.4.5 Tolerancia al desecamiento de semillas ortodoxas -----			21
2.4.4.6 Métodos de desecación -----			23
2.4.5 Empaque -----			23
2.4.5.1 Envases y materiales de almacenamiento -----			24
2.4.5.2 Tipos de envases o recipientes -----			25
2.4.5.3 Número de semillas a almacenar -----			25
2.4.6 Almacenamiento de germoplasma -----			26
2.4.6.1 Tipos de almacenamiento -----			27
2.4.6.2 Tipos de instalación para el almacenamiento -----			27
2.4.7 Manejo posterior al almacenamiento -----			27
2.4.7.1 Evaluación de la calidad de la semilla -----			28
2.4.7.2 Calidad y la cantidad de semillas almacenadas -----			29
2.4.7.3 Monitoreo de la viabilidad de las semillas almacenadas -----			29

2.4.7.4 Métodos de evaluación de la germinación -----	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS -----	34
3.1 Localización -----	34
3.2 Materiales -----	34
3.2.1 Materiales de gabinete y laboratorio -----	34
3.2.2 Equipos de laboratorio -----	34
3.2.3 Material biológico -----	35
3.3 Métodos -----	36
3.3.1 Procedimiento experimental -----	36
3.3.1.1 Selección de accesiones -----	36
3.3.1.2 Pruebas de calidad fisiológica -----	37
3.3.1.3 Determinación del contenido de humedad inicial -----	38
3.3.1.4 Estandarización del tiempo de desecación del horno extractor de humedad -----	39
3.3.1.5 Desecación de las semillas bajo diseño experimental-----	40
3.3.1.6 Verificación del descenso de la humedad de las semillas durante el proceso de desecación -----	41
3.3.1.6 Sellado al vacío -----	42
3.3.1.7 Almacenamiento -----	43
3.3.1.8 Monitoreo del porcentaje de germinación -----	44
3.4 Variables estudiadas -----	46
3.4.1 Calidad fisiológica -----	46
3.4.1.1 Porcentaje de pureza -----	46
3.4.1.2 Porcentaje de germinación -----	46
3.4.2 Contenido de humedad inicial -----	47
3.5 Análisis estadístico -----	47
3.5.1 Modelo aditivo lineal -----	48
3.5.2 Métodos estadísticos para el análisis de datos -----	48
3.5.2.1 Análisis estadístico Descriptivo -----	48
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	49
4.1 Calidad fisiológica -----	49
4.1.1 Análisis de porcentaje de pureza -----	49
4.1.2 Análisis de porcentaje de germinación -----	51
4.2 Humedad inicial de semillas -----	52
4.3 Resultados de la estandarización del tiempo de secado -----	54
4.4 Respuesta de las semillas de 10 accesiones de quinua a tres temperaturas de desecación -----	55
4.5 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento -----	58
4.5.1 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 20 °C -----	58
4.5.2 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 25 °C -----	60
4.5.3 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 30 °C -----	62

4.6 Análisis estadístico de la germinación a tres tratamientos de desecación en seis meses de almacenamiento -----	67
V. CONCLUSIONES -----	69
VI. RECOMENDACIONES -----	72
VII. BIBLIOGRAFÍA -----	73
ANEXOS -----	77

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Rangos de humedad de siete grupos identificados por color de grano de 247 accesiones de quinua -----	15
Cuadro 2. Reducción de humedad de las semillas de 247 accesiones de quinua divididos en siete grupos por color de grano -----	22
Cuadro 3. Descripción detallada de equipos de laboratorio -----	36
Cuadro 4. Procedencia y características de grano de 10 accesiones de quinua -----	37
Cuadro 5. Porcentaje de pureza e Impurezas de 10 accesiones de quinua -----	51
Cuadro 6. Estadística descriptiva de porcentaje de pureza e impurezas de 10 accesiones de quinua -----	52
Cuadro 7. Estadística descriptiva de porcentaje de germinación de 10 accesiones de quinua -----	54
Cuadro 8. Porcentaje de humedad inicial de 10 accesiones de quinua -----	55
Cuadro 9. Contenido de humedad de la semilla después de aplicar el tratamiento Térmico -----	58
Cuadro 10. Estadística descriptiva del tratamiento de desecación de diez accesiones de quinua -----	59
Cuadro 11. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 20 °C -----	61
Cuadro 12. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 25 °C. -----	63
Cuadro 13. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 30 °C -----	65
Cuadro 14. Estadística descriptiva de los promedios de la germinación inicial y de los tratamientos de desecación, en un año de almacenamiento -----	67
Cuadro 15. Descenso de viabilidad bajo tres tratamientos térmicos de desecación de 10 accesiones de quinua -----	68
Cuadro 16. Descenso de viabilidad promedio de la germinación de los tratamientos térmicos de desecación, según el color de grano de 10 accesiones de quinua -----	68
Cuadro 17. Análisis de varianza de porcentaje de germinación promedio de un año de almacenamiento -----	70
Cuadro 18. Promedios de porcentaje de germinación de 10 accesiones de quinua desecados a tres temperaturas y la prueba de Tukey -----	70

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Porcentaje de accesiones de quinua por departamento -----	36
Figura 2: Semillas limpias y puras -----	37
Figura 3: Registro de pesos de semillas -----	37
Figura 4: Germinador de granos en condiciones controladas -----	38
Figura 5: Semillas germinadas de quinua -----	38
Figura 6: Registro de semillas germinadas -----	38
Figura 7: Deshumidificador MB35 HALOGEN -----	39
Figura 8: Determinación de la humedad -----	39
Figura 9: Horno desecador de semillas -----	40
Figura 10: Accesiones de quinua a desecar -----	41
Figura 11: Programación de la temperatura de trabajo del horno -----	41
Figura 12: Monitoreo del contenido de humedad de las semillas -----	42
Figura 13: Determinación del contenido de humedad de las semillas de quinua -----	42
Figura 14: Vaciado de las semillas desecadas en los sobres de aluminio trilaminado -----	43
Figura 15: Sellado al vacío de los sobres de aluminio trilaminado con semillas -----	43
Figura 16: Almacenamiento de los sobres en cámaras de refrigeración -----	44
Figura 17: Cámaras de refrigeración, donde se almacenan los sobres con semillas -----	44
Figura 18: Apertura de sobres para la rehidratación de las semillas -----	45
Figura 19: Rehidratación de las semillas en baño María -----	45
Figura 20: Porcentaje de pureza (%P) de 10 accesiones de quinua -----	50
Figura 21: Porcentaje de semillas germinadas normales 10 accesiones de quinua -----	51
Figura 22: Contenido humedad inicial de 10 accesiones de quinua -----	53
Figura 23: Estandarización del tiempo de desecación de semillas de quinua a 20 °C, 25 °C y 30 °C en el horno extractor de humedad -----	54
Figura 24: Contenidos de humedad inicial y final de 10 accesiones de quinua -----	57
Figura 25: Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T1 20 °C -----	59
Figura 26: Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T2 25 °C -----	61
Figura 27: Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T3 30 °C -----	63

Resumen

Con el presente trabajo se busca establecer un método base que permita conservar a largo plazo el germoplasma de quinua del Banco Nacional de Granos Altoandinos (BNGA), sin que pierdan su viabilidad y estructura genética en el tiempo. Para el estudio se seleccionó 10 accesiones representativas de quinua en base a lugar de procedencia, color tamaño y forma del grano, de las cuales cuatro fueron del altiplano norte, dos del altiplano central, dos del altiplano sur y dos de valles.

Inicialmente se realizó la prueba de calidad fisiológica de las accesiones seleccionadas que consiste en el análisis de pureza y germinación, determinándose porcentajes de pureza entre 88.67 - 97.33% y con una media de 92.4%, material genético aceptable para el estudio. También se determinó el porcentaje de germinación entre 95.8 – 99.2% y una media de 97.44%, superando el valor mínimo de 85% que exige la Norma de Bancos de Genes (1994).

Se determinó el contenido de humedad inicial de las semillas entre 10.05 – 12.55% y una media de 11.43%, variando de acuerdo al lugar de procedencia, color y tamaño del grano.

Posteriormente se determinó los tiempos de desecación para reducir el contenido de humedad de las semillas hasta niveles del 3 al 7%, tal como recomienda la Norma para Bancos de Genes (1994): registrándose un tiempo de 24 horas para una temperatura de 20 °C, 15 horas para 25 °C, y 12 horas para 30°C.

El almacenamiento se realizó según la exigencia de la Norma de Bancos de Genes, en sobres de aluminio trilaminado y conservados en cámaras de refrigeración a -20 °C; luego se realizó el monitoreo de la germinación durante los primeros seis meses y luego durante un año, registrándose los siguientes resultados:

Para el tratamiento de 20 °C de temperatura de desecación se determinó un porcentaje de germinación promedio de 97.1 %, con una máxima de 99.2% y una mínima de 95.4%; para 25 °C un promedio de 96.42%, una máxima de 98.6% y una mínima de

93.8% y para el tratamiento de 30 °C un promedio de 96.18%, una máxima de 97.4% y una mínima de 93.8%. Mostrando menores descensos de la germinación el tratamiento de 20 °C, durante un año de almacenamiento respecto a la germinación inicial registrada.

El análisis de varianza de porcentaje de germinación de las 10 accesiones de quinua evaluados a un año de almacenamiento, ha mostrado que existen diferencias altamente significativas para el tratamiento de temperatura, para las accesiones y para la interacción entre las temperaturas y las accesiones ($P > 0.0001$). Estadísticamente la temperatura de desecación de 20 °C ha mostrado un porcentaje de germinación promedio de 97.1%, resultado que es superior a los otros tratamientos de temperatura con un promedio de 96.37% para 25 °C y 96.33% para 30 °C.

Analizando los resultados y antecedentes se tiene que el tratamiento de desecación de 20°C, ha mostrado los mejores resultados de porcentaje de germinación durante un año de almacenamiento, registrando pocas variaciones y menores descensos de la germinación, concluyendo que el tratamiento de desecación a 20°C (en horno extractor de humedad) sería la temperatura mas adecuada y recomendable, para reducir la humedad de las semillas de quinua para la conservación a largo plazo.

Summary

Herewith I work himself, search to establish a host method that it allow preserving in the long run the germoplasma of quinoa of Granos Altoandinos's National Bank (BNGA), unless they lose his viability and genetic structure in the time. 10 representative accessions of quinoa on the basis of birthplace, a colour, size were selected for the study and form of the grain, of the ones that four were of the altiplan north, two of the central high plateau, two of the altiplan south and two of valleys.

Initially came true the test of physiological quality of the selected accessions that consists in the analysis of purity and germination, determining percentages of purity between 88.67 – 97.33 % and with 92.4%'s mean, material genetic passable for the study. Also the percentage of germination was determined between 95.8– 99.2 % and a mean of 97.44 %, overcoming the minimal value of 85 % that demands Bank of Genes Norms (1994).

The initial humidity content of the seeds was determined between 10.05– 12.55 % and a mean of 11.43 %, varying according to the birthplace, colour and size of the grain.

At a later time himself I determine the times of desiccation to reduce the humidity content of the seeds to levels of 3 to the 7 %, just as you recommend the Norm for Bank of Genes (1994): Getting registered a time of 24 hours for a temperature of 20 C, 15 hours for 25 C, and 12 hours for 30 C.

The storing came true according to the requirement of Bank of Genes Norm, in envelopes of tri-laminate aluminium and preserved at refrigeration chambers to - 20 C; next the monitoring of the germination during the first was held six months and next during a year, getting registered the next results: 97,1 %'s percentage of germination average, with 99,2 %'s maxim and a minim of 95,4 % were determined for the treatment of 20°C of temperature of desiccation; For 25°C 96,42 %'s average, 98,6 %'s maxim and a minim of 93,8 % and for the treatment of 30°C 96,18 %'s average, 97,4 %'s maxim and a minim of 93,8 %. Showing minor descents of the germination the treatment of 20°C, during a year of storage in relation to the initial registered germination.

The analysis of variance of the percentage of germination of the 10 accessions of quinoa evaluated to a year of storage, you have shown that highly significant differences for the treatment of temperature, for the accessions for the interaction between temperatures and the accessions exist ($P > 0,0001$). Statistically the temperature of desiccation for 20°C has shown 97,1 %'s percentage of germination average, proven to be that you are superior to the other treatments of temperature average with 96,37%'s for 25 C and 96,33 % for 30°C.

Examining results and one has antecedents than the treatment of desiccation for 20°C, you have shown the best results of percentage of germination during a year of storage, registering few variations and minor descents of the germination, coming to an end than the treatment of desiccation for 20°C (in oven humidity extractor) would be the best-suited and commendable temperature, in order to shorten the humidity of the seeds of quinoa for the long-term conservation.

I. INTRODUCCIÓN

Los recursos genéticos vegetales son el resultado de todas las combinaciones de genes producidos durante el proceso de evolución de las plantas y se denominan recursos porque implican que el material tiene o puede tener valor económico o utilitario actual o futuro. Bajo esta definición se incluyen normalmente las categorías siguientes: variedades de especies cultivadas, tanto tradicionales como comerciales; especies silvestres o asilvestradas afines a las cultivadas o con un valor actual o potencial, y materiales obtenidos en trabajos de mejora genética (Mayor y Escudero, 2002).

En el marco de la Política de Seguridad y Soberanía Alimentaria del Plan Nacional de Desarrollo (PND), se ha priorizado la revalorización y la conservación de germoplasma de varios cultivos originarios de nuestro país, entre los cuales se encuentra la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), con una importante variabilidad genética en cuanto a contenido de nutrientes y características agro-morfológicas. Esta variabilidad genética se encuentra conservada ex situ en el Banco Nacional de Germoplasma de Granos Altoandinos (BNGA) de Bolivia.

El manejo de la conservación ex situ de los recursos fitogenéticos se realiza fuera de su centro de origen o diversidad y consiste en diversos procedimientos como: la recolección, almacenamiento, caracterización y evaluación, regeneración, multiplicación y documentación, el almacenamiento puede ser a corto, a mediano y a largo plazo.

El almacenamiento a largo plazo esta asociado a una colección base de germoplasma, cuya integridad genética tiene que ser lo más parecido posible a la muestra suministrada originalmente. La conservación a largo plazo consta de los siguientes procedimientos: acondicionamiento del germoplasma, desecación, empaque o envasado al vacío, almacenamiento en cámaras de refrigeración; donde su finalidad es mantener la estructura genética, para recuperar accesiones perdidas y no para distribuir directamente a los usuarios.

El Banco Nacional de Germoplasma de Granos Altoandinos (BNGA) ha desarrollado una experiencia piloto con la colección núcleo de quinua, llegando a reducir el contenido de humedad a un rango de 5 a 6%, exponiendo las semillas a una mufla extractor de

humedad a 40°C de temperatura durante 18 horas (Rojas y Camargo, 2003), sin embargo, para garantizar la menor afección de las semillas durante la reducción de la humedad, se recomienda usar temperaturas menores, por tanto se plantea este trabajo de investigación con el fin de estandarizar un método que permita implementar la conservación a largo plazo de toda la colección de germoplasma de quinua.

Por la amplia variabilidad genética de quinua que se conserva en el (BNGA), y como nuestro país es considerado centro de origen y distribución de esta especie, es imprescindible implementar la colección base en el germoplasma de quinua, lo cual será estratégica para el país, porque responderá por la supervivencia del germoplasma, además que permitirá ampliar el tiempo del almacenamiento por un lapso de 60 a 80 años.

Además permitirá mantener la integridad genética de la especie, puesto que la quinua, como especie ginomonoica, tiene polinización cruzada natural que va del 10 al 30% de alogamia.

1.1 Objetivo general

- Determinar una metodología base para la conservación a largo plazo con diez accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) del Banco Nacional de Germoplasma de Granos Altoandinos

1.1.1 Objetivos específicos

- Estudiar la calidad fisiológica de la semilla de diez accesiones de quinua.
- Determinar el contenido de humedad inicial de la semilla de diez accesiones de quinua.
- Determinar la temperatura de desecación que permita alcanzar un contenido de humedad de 3 a 7% en la semilla de quinua en un periodo de tiempo.
- Evaluar el porcentaje de germinación de las semillas después de aplicar el tratamiento de la desecación.

1.2 Hipótesis

Hipótesis nula

- El contenido de humedad de las semillas desecadas a diferentes temperaturas (30, 25 y 20 °C) no es similar.
- Los porcentajes de germinación de las semillas de 10 accesiones de quinua desecadas a temperaturas de 20 °C, 25 °C y 30°C no son similares.

Hipótesis alterna

- El contenido de humedad de las semillas desecadas a diferentes temperaturas (30, 25 y 20 °C) es similar.
- Los porcentajes de germinación de las semillas de 10 accesiones de quinua desecadas a temperaturas de 20 °C, 25 °C y 30°C son similares.

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1 Los recursos fitogenéticos

La especie humana depende de las plantas. Estas constituyen la base de la alimentación, suplen la mayoría de necesidades (incluyendo el vestido y el refugio) y se utilizan en la industria para fabricar combustibles, medicinas, fibras, caucho y otros productos. Sin embargo, el número de plantas que el hombre utiliza en su alimentación es mínimo comparado con el número de especies existente en la naturaleza. Tan sólo treinta cultivos entre los cuales se destacan el arroz, el trigo y el maíz, proporcionan el 95% de las calorías presentes en la dieta humana (FAO 1998). La dependencia de un número tan limitado de cultivos amenaza la seguridad alimentaria de la humanidad (Valois 1996 Citado por Jaramillo y Baena, 2000).

Los recursos fitogenéticos son de gran interés en la actualidad por cuanto se relacionan con la satisfacción de necesidades básicas del hombre y con la solución de problemas severos como el hambre y la pobreza. Existen 800 millones de personas desnutridas, de las cuales 200 millones son niños menores de 5 años. Se estima que en los próximos 30 años la población mundial aumentará en más de 2500 millones de habitantes hasta llegar a los 8500 millones. Satisfacer la demanda de alimentos de toda esa población requerirá mejorar el rendimiento de los cultivos de manera eficiente y sostenible (FAO, 1996 Citado por Jaramillo y Baena, 2000).

El hombre necesita agregar a su dieta cultivos de alto rendimiento y calidad que se adapten a las condiciones ambientales y resistan las plagas y las enfermedades. Puede aprovechar las especies nativas, exóticas, con potencial nutricional o industrial o crear nuevas variedades para lo cual necesitará reservas de material genético cuya conservación, manejo y utilización apenas empiezan a recibir la atención que merecen (Jaramillo y Baena, 2000).

2.2 Conservación de los recursos filogenéticos

Las plantas se conservan dependiendo de su necesidad y/o utilidad actuales y futuras. Los recursos fitogenéticos se pueden conservar en su hábitat natural (in situ), en

condiciones diferentes a la de su hábitat natural (*ex situ*), o combinando los métodos *in situ* y *ex situ*, es decir, de manera complementaria. La selección de uno o varios métodos depende de las necesidades, las posibilidades y la especie objetivo (Jaramillo y Baena, 2000).

La conservación de los recursos fitogenéticos es una labor continua, de largo plazo, que implica inversiones importantes en tiempo, personal, instalaciones y operación, justificables en función de las necesidades no del deseo o conveniencia de conservar un material. Las razones para conservar y las especies objetivo se deben definir con base en criterios lógicos, científicos y económicos como la necesidad, el valor y uso de las especies, y la factibilidad de conservarlas (Maxted *et al.*, 1997).

Como cualquier proceso estratégico, la conservación de los recursos fitogenéticos implica planificar y tomar decisiones con base en información previa. La conservación requiere establecer prioridades en cuanto a: a) el tipo de material que se va a conservar (especies en peligro o de interés para la alimentación y la agricultura), b) las actividades que se van a realizar con él posteriormente, y c) los recursos disponibles para realizar esas actividades. Las prioridades pueden variar pero hay que tener presente que la conservación y el uso del germoplasma son los objetivos más importantes (Jaramillo y Baena, 2000).

La conservación debe disminuir al máximo posible los efectos del nuevo ambiente en las especies objetivo. Quienes conservan germoplasma deben conocer la taxonomía de las especies y las técnicas para representar su variabilidad genética y conservar estable el genotipo original. También se debe obtener información como datos de pasaporte, caracterización y evaluación (Cuevas, 1988).

Las instalaciones de conservación del material deben garantizar el aislamiento tanto de factores ambientales como contra plagas y enfermedades. Las instalaciones pueden variar en diseño y dimensiones dependiendo del número y el tamaño de las muestras que van a conservar pero deben contar con un suministro constante de energía eléctrica y equipos que permitan acondicionar, conservar y regenerar los materiales. Deben ser seguras para que protejan el material de incendios, inundaciones, robo, saqueo y disturbios de orden público (Jaramillo y Baena, 2000).

El manejo de las colecciones de recursos fitogenéticos debe estar a cargo de personal calificado, en lo posible de diversas disciplinas (fisiólogos, botánicos, mejoradores y agrónomos), que conozca los aspectos técnicos y los procedimientos de seguridad inherentes a sus labores. Conviene que la colección dependa de un grupo de personas laboralmente estables no exclusivamente del curador que puedan darle continuidad al trabajo de conservación, sin presiones políticas o de orden público (Jaramillo y Baena, 2000).

La sola creación de un banco de germoplasma no garantiza la conservación de los recursos genéticos de interés para un país. La conservación requiere apoyo institucional, es decir, proveer de manera sostenida los recursos económicos, humanos y técnicos necesarios para mantener las colecciones y realizar las actividades de conservación (Jaramillo y Baena, 2000).

2.2.1 Métodos de conservación

2.2.1.1 Conservación *In situ*

Conservar la biodiversidad *in situ* consiste en proteger los ecosistemas naturales manteniendo las poblaciones de las especies que los componen o recuperándolas si se han deteriorado. La conservación *in situ* de especies cultivadas se refiere a mantenerlas en los sitios en donde han desarrollado sus características (Jaramillo y Baena, 2000).

Las especies de vida silvestre se conservan *in situ* en ecosistemas naturales y las cultivadas en agro ecosistemas. Los primeros, conocidos como áreas protegidas, incluyen los santuarios, parques naturales y reservas genéticas o de la biosfera, y pueden estar intactos o haber sido ligeramente modificados por el hombre. Los segundos, conocidos como sistemas tradicionales de cultivo, comprenden las fincas y los huertos caseros o jardines de autoconsumo y son, por definición, modificados por el hombre con fines de producción (Jaramillo y Baena, 2000).

2.2.1.2 Conservación *Ex situ*

La conservación *ex situ* busca conservar fuera de su centro de origen o diversidad tanto las especies como la variabilidad producida durante el proceso evolutivo de domesticación. Este tipo de conservación se ha utilizado ampliamente durante las últimas décadas (Hidalgo 1991).

En teoría, todas las especies se pueden conservar *ex situ*, siempre que podamos multiplicarlas. Fuera de la naturaleza podemos conservar genotipos individuales pero no las relaciones entre ellas y su entorno ecológico. Tradicionalmente se han conservado *ex situ* recursos importantes para el hombre como las especies útiles en la alimentación y la agricultura, cuya conservación exige seguridad y disponibilidad inmediatas y futuras (Jaramillo y Baena, 2000).

Dentro de las especies de uso agrícola interesantes para la investigación y base del sustento humano, existe un amplio rango de materiales que se pueden conservar *ex situ*, que incluye:

- **Especies silvestres y formas regresivas** pertenecientes a algunos géneros cultivados, que constituyen un amplio y variado rango de materiales importantes para la investigación y el mejoramiento de los cultivos (Harlan 1976; Stalker 1980; Prescott-Allen 1988 citados por Frankel *et al.* 1995). Los parientes silvestres y las formas regresivas, comúnmente utilizados como fuentes de genes para el mejoramiento de caracteres de interés, pueden también proporcionar resistencia a enfermedades y plagas. Entre los muchos cultivos favorecidos por las especies silvestres emparentadas, un buen ejemplo es la caña de azúcar. La caña de azúcar moderna es un complejo derivado de híbridos artificiales, cuyo pedigrí incluye la especie silvestre *S. spontaneum*, que aporta al rendimiento, vigor y resistencia a enfermedades del cultivo. Otros ejemplos son el maíz, el arroz y el tomate.
- **Variedades de agricultura tradicional:** razas nativas, cultivares primitivos y especies de importancia cultural (*e.g.*, uso en ceremonias religiosas).
- **Productos de los programas científicos de mejoramiento:** cultivares modernos y obsoletos, líneas avanzadas, mutantes, materiales sintéticos, etc.

- **Productos de biotecnología e ingeniería genética** que incluyen, entre otros, plantas transgénicas, fragmentos de ADN, genes clonados, genes marcadores, nuevas combinaciones genéticas, genes silenciosos, genoma de cloroplastos y otros. Esto es posible gracias a que la biotecnología y la ingeniería genética permiten aislar y transferir genes de plantas con caracteres de interés agronómico al igual que genes de casi cualquier especie vegetal, animal o bacteriana a los que antes no se tenía acceso (Frankel *et al.* 1995; FAO 1996; Rao y Riley 1994 Citados por Jaramillo y Baena, 2000).

Según Aquilino Álvarez (2002) la conservación de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*) requiere de un almacenamiento adecuado en bancos de germoplasma, que deben ser locales con ambientes fríos, baja humedad relativa y protegidos del daño que puedan causar los insectos de almacén y los roedores. Esas condiciones se dan casi en forma natural en las regiones por encima de los 3000 msnm.

Una vez cosechadas las parcelas de refrescamiento o multiplicación y realizado el trillado de los granos, previo al almacenamiento definitivo, debe evaluarse el poder germinativo de las semillas. Esta información servirá de comparación con las evaluaciones posteriores de viabilidad.

En estos locales, se realiza periódicamente la evaluación del poder germinativo de la semilla, a fin de determinar la viabilidad de las mismas. Mediante múltiples ensayos de este tipo se ha podido determinar que existen diferencias notables entre accesiones, debido a situaciones genéticas y condiciones ambientales.

La información del poder germinativo de las semillas servirá para programar el refrescamiento de las mismas, que en el caso de la quinua debe realizarse cada dos años. En la mayoría de bancos de germoplasma existentes, el almacenamiento se realiza bajo condiciones naturales, no teniéndose cámaras frías para el almacenamiento, lo cual perjudica al genotipo. Almacenando las semillas bajo esta modalidad pueden preservarse por decenas o centenas de años. Sin embargo, los genotipos no evolucionarán conjuntamente con su ambiente, y cuando se realice el refrescamiento, estos genotipos estarán desadaptados al medio en el cual esto se realiza.

El actual refrescamiento cada dos años, es costoso y al mismo tiempo conlleva el riesgo de contaminación genética, puesto que la quinua, como especie ginomonoica, tiene polinización cruzada natural que va del 10 al 30% de alogamia, lo cual varía de acuerdo a las entradas y al espaciamiento que se le dé en los campos de refrescamiento. Los campos que se vienen utilizando para refrescamiento de granos, incluida la quinua, son parcelas de 6 m de longitud y cuatro surcos distanciados a 0,80 m con separaciones de maíz-tarwi-kiwicha y haba entre parcelas, con las mismas dimensiones citadas. Sin embargo, el espaciamiento no es garantía para un aislamiento absoluto de la polinización cruzada natural, aunque en proporciones muy bajas es preferible, puesto que si se guardara las semillas por períodos prolongados, no se les estaría dando a estos genotipos la oportunidad de evolucionar conjuntamente con sus plagas, enfermedades y condiciones ambientales (www.rlc.fao.org.)

2.2.2 Estrategias de conservación de semillas

Según Engle (1992) las semillas se pueden almacenar en cámaras durante diferentes períodos largo, mediano y corto plazos. Las condiciones de almacenamiento para mantener las muestras viables se determinan de acuerdo con la especie, el objetivo de conservarla y el tiempo de almacenamiento proyectado.

- **Corto plazo:** Si el germoplasma se va a utilizar a corto plazo, la semilla se puede almacenar en cuartos con aire acondicionado y disponer la semilla.
- **Mediano plazo:** Si el germoplasma se va a conservar a mediano plazo (10-20 años, máximo 30), se las puede mantener a temperaturas entre 0 y 15°C (generalmente 1-4°C), con contenidos de humedad entre 3 y 7% y una viabilidad no inferior al 65%.
- **Largo plazo:** Si el germoplasma se va a conservar a largo plazo las temperaturas de conservación deben oscilar entre -10 y -20°C, con un contenido de humedad de 3-7% y una viabilidad no inferior al 85%. Las semillas conservadas en estas condiciones se pueden mantener durante 70-100 años aproximadamente.

2.3 Factores que afectan la conservación de las semillas a largo plazo

2.3.1 Características de la semilla.

Según Holle (2004) las semillas destinadas para la conservación a largo plazo deben tener las siguientes características:

a) Estructura de la semilla.- Semillas almacenadas con lema y palea en el caso de semillas de gramínea y muchas especies de forrajeras, se conservan mejor que aquellas en las cuales no están cubiertas.

b) Tamaño de la semilla.- Las semillas pequeñas son menos propensas al daño mecánico durante la trilla y limpieza que las semillas grandes.

c) Localización del embrión.- Semillas en embrión en la periferia como frijol, pallar, soya o quinua, son más propensas al daño mecánico que las que tienen el embrión en el interior, como la higuera.

d) Composición química.- Las semillas que almacenan principalmente carbohidratos se conservan mejor que aquellas que almacenan lípidos; las gramíneas se conservan mejor que las oleaginosas.

e) Daños mecánicos.- Semillas dañadas, rotas, peladas, etc., se conservan con mucha dificultad, y se pudren con facilidad. Algunas semillas como las de las leguminosas se pueden dañar cuando se separan de la vaina o de la espiguilla como en el caso de los cereales.

f) Vigor.- Semilla nueva y fresca se conserva mejor que la semilla vieja y guardada.

g) Sanidad de la semilla.- Insectos y otros organismos patógenos matan a las semillas, o reducen drásticamente su capacidad de germinación. Las enfermedades transmitidas por semilla reducen la longevidad durante el almacenamiento.

h) Humedad de la semilla.- Semillas secas se conservan mejor que semillas húmedas.

2.3.2 Factor del ambiente de conservación

a) Temperatura.- A altas temperaturas se produce un aumento en la actividad metabólica, sobre todo en la respiración, tanto de la semilla como de los microorganismos que la parasitan. La respiración genera calor y agua y consecuentemente se eleva la temperatura y humedad acelerando la actividad biológica hasta dañar completamente la semilla. Por cada 5°C de disminución de temperatura de

conservación, se dobla el periodo de vida de la semilla (no es valido por debajo de los 0°C y por encima de los 50°C (Holle, 2004).

b) Humedad relativa.- La humedad es la cantidad de vapor de agua presente en un volumen dado de aire bajo determinadas condiciones de temperatura y presión atmosférica. La humedad relativa se expresa como porcentaje de la cantidad de vapor de agua presente en el mismo volumen de aire cuando esta saturado, a las mismas condiciones de temperatura y presión (Holle, 2003).

Para Jacobsen y Mujica (1998) los principales factores ambientales que afectan al almacenamiento de la semilla son la temperatura y la humedad. Generalmente el contenido de humedad de la semilla y la temperatura de almacenamiento determinan la vida de la semilla almacenada, por lo que las dos reglas generales descritas por Harrington y Douglas (1970) se aplican con frecuencia para demostrar el potencial de almacenamiento. Estas son:

- Por cada disminución del 1% en el contenido de humedad de semilla, la vida de ésta se duplica;
- Por cada disminución de 5° C en la temperatura de almacenamiento la vida de la semilla se duplica.

Estas reglas se aplican cuando el contenido de humedad de la semilla esta entre 5 y 14% y dentro del rango de 0 a 50° C de temperatura. Generalmente, las reservas de semilla comercial tienen que almacenarse de una estación a otra, lo cual significa un tiempo de seis a doce meses, dependiendo de si la semilla va a ser usada localmente o se va a exportar a otra región. La mayoría de especies de cultivos mantiene una viabilidad satisfactoria por si son almacenadas con un contenido de humedad entre el 10 y 14% durante este periodo. La humedad debe reducirse por debajo del 10% cuando la semilla tiene que almacenarse por un período más largo, y deberá guardarse en envases a prueba de vapor para evitar que el contenido de humedad de la semilla esté en equilibrio con el de la atmósfera. Las reservas de gran valor, como semilla básica y semilla de mejoradores, deben ser almacenadas en estos tipos de envase o en cuartos de atmósfera controlada, en donde la humedad relativa pueda mantenerse a niveles óptimos para mejorar la vida de la semilla almacenada. El almacenamiento de

germoplasma a largo plazo generalmente se logra utilizando envases a prueba de vapor y baja temperatura en edificios especialmente diseñados para este fin (Cromarty et al., 1982).

2.4 Almacenamiento y conservación del germoplasma

La conservación de los recursos fitogenéticos no se limita a la consecución y posesión física de los materiales (recolección y almacenamiento) sino que quiere asegurar la existencia de estos en condiciones viables y con sus características genéticas originales. Esto se logra en el caso de las semillas o material conservado *in vitro*, controlando las condiciones de almacenamiento para que inhiban o reduzcan el metabolismo de las muestras y del material vegetativo manteniendo, en condiciones óptimas de cultivo (Jaramillo y Baena, 2000).

El almacenamiento de semillas ortodoxas se realiza en tres etapas: a) acondicionamiento, b) empaque, c) almacenamiento de las muestras en cámaras con ambiente controlado. El acondicionamiento cuyo objetivo es producir una muestra limpia y con un contenido de humedad que garantice su longevidad en almacenamiento, consta de limpieza física y sanitaria y desecación (Jaramillo y Baena, 2000).

La limpieza física y sanitaria consiste en eliminar cualquier contaminante de la muestra como impurezas físicas, semillas infectadas o extrañas a la muestra e insectos. La desecación consiste en reducir el contenido de humedad de las semillas a un nivel mínimo de actividad metabólica, sin que pierdan viabilidad. Antes de desecar, es necesario determinar el contenido de humedad inicial de la muestra (Jaramillo y Baena, 2000).

2.4.1 Acondicionamiento de la semilla

Según Bioversity International (2007), antes de la limpieza, las semillas pueden estar mezcladas con desechos, material inerte, semillas dañadas, infestadas o infectadas, o con semillas de otra especie, pero realizando la limpieza apropiada es posible eliminar

el material que no es semilla y mejorar la calidad de las muestras. La limpieza de las semillas también ayuda a optimizar el espacio del almacenamiento.

Al limpiar accesiones genéticamente heterogéneas, se debe tener mucho cuidado de devolver las semillas pequeñas al lote de la accesión.

Para examinar las semillas por daño, se las debe dispersar en una superficie plana, bien iluminada, de un color contrastante (o, si es posible, sobre una mesa iluminada o sobre un tablero para determinar pureza) y observe:

- si hay signos visibles de infección;
- si hay daño físico o semillas vacías;
- si hay semillas de otra especie.

Las semillas dañadas o vacías, o las semillas de otras especies se deben separar y desechar. Separar las muestras infestadas o con moho y secarlas a un contenido de humedad bajo para evitar mayor diseminación de hongos e insectos. Luego realizar el análisis de porcentaje de pureza (Bioversity International, 2007).

2.4.2 Contenido de humedad de las semillas previo al almacenamiento

En las semillas ortodoxas el deterioro de la semilla esta principalmente en función de la temperatura y contenido de humedad de las semillas. Se puede alargar la vida de la semilla controlando esos factores. A menor temperatura y menor humedad de la semilla, mayor la longevidad.

En las semillas ortodoxas el deterioro de las mismas esta principalmente en función de la temperatura y contenido de humedad de las semillas se puede alargar. El contenido de humedad de las semillas se puede determinar cuantificando directa o indirectamente el agua que contienen, las determinaciones directas se pueden hacer mediante métodos gravimétricos, de cromatografía, y de espectrofotometría, y de las indirectas mediante métodos higrometricos, de espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear y reacciones químicas de las semillas (Grabe, 1989).

En la actualidad existen en el mercado analizadores electrónicos (humidímetros) que permiten cuantificar con rapidez y exactitud el contenido de humedad de la semilla (Hong y Ellis, 1996).

Estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) determinaron contenidos de humedad inicial muy variada de acuerdo a color del grano de las semillas de la colección núcleo de quinua (247 accesiones) evaluados en siete grupos diferenciados como se muestra en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Rangos de humedad de siete grupos identificados por color de grano de 247 accesiones de quinua

Colores de grano		Promedio humedad Inicial (%)	Número de accesiones
Blanco	1	12.03	188
Negro	2	12.15	16
Café	3	12.33	12
Rojo	4	11.92	12
Cenizo	5	11.83	8
Vítreo	6	12.13	6
Anaranjado	7	12.43	5
TOTAL			247

Fuente: Rojas y Camargo (2002)

2.4.3. Métodos de determinación de contenido de humedad de las semillas

a) Método del secado en horno

Es el método mas exacto para determinar el contenido de humedad de las semillas, donde se elimina el agua de las semillas por medio del calor, en condiciones controladas de manera precisa (Bioversity International, 2007).

Este método es destructivo ya que mata las semillas. También existen métodos no destructivos para determinar el contenido de humedad, pero puede que no sean tan exactos.

La ISTA (Internacional Seed Testing Asociation, 2005 a, b) ha recomendado dos métodos de secado en horno con base en la composición química de las semillas

- El método del horno a temperatura baja constante para semillas oleaginosas como el girasol, la soya y el maní forrajero, y

- El método del horno a temperatura alta constante para semillas no oleaginosas como los cereales y las leguminosas.

b) Método de termo balanzas

También es posible emplear termo balanzas para obtener un análisis de humedad más rápido y preciso.

Utilizando el principio de pérdida de peso en el secado la termo balanza pesa automáticamente una muestra, la seca, le mide su pérdida de peso por el secado y calcula y despliega en la pantalla el contenido de humedad de las semillas.

Los métodos de secado en horno y el del termo balanza son los más exactos, pero presentan dos desventajas importantes:

- Son destructivos para las semillas, y
- Toman mucho tiempo.

c) Métodos no destructivos para determinar la humedad

Existen una variedad de medidores rápidos de humedad, que miden las propiedades eléctricas de la humedad de las semillas bien sea a través de la conductividad (una medida de resistencia eléctrica del material de las semillas) o mediante la capacitancia (la capacidad de las semillas para almacenar carga eléctrica).

Estos medidores son más exactos para contenidos de humedad entre el 6% y el 25% dependiendo del tipo de medidor de humedad que se utilice, pero son menos confiables por encima y por debajo de este rango. Los medidores de humedad son muy útiles para hacer una determinación aproximada del contenido de humedad, en especial para evaluar la necesidad de secado.

Otros métodos para determinar el contenido de humedad se basan en sensores digitales de humedad y parten del hecho de que las semillas ganan o pierden humedad dependiendo de su entorno. Se dice que las semillas se encuentran en equilibrio cuando no existe movimiento de humedad entre ellas y el aire que las circunda.

Los sensores digitales de humedad miden la cantidad de vapor de agua en el aire en equilibrio con una muestra de semillas guardada en una cámara sellada. La lectura en general se expresa como humedad relativa en equilibrio, y se puede correlacionar con el porcentaje convencional de contenido de humedad (Bioversity Internacional, 2007).

2.4.4 Desección de semillas

El proceso de secado de la semilla es el factor más determinante para su posterior conservación. La longevidad de las semillas depende de la forma como se ha cosechado. En las semillas ortodoxas el periodo de viabilidad se incrementa de manera logarítmica al disminuir el contenido de humedad de las semillas (Holle, 2004).

La desección debe iniciarse en el campo, inmediatamente después de la colecta y/o de la extracción de las semillas. Las semillas se pueden secar con la ayuda de equipos que permiten la circulación del aire a diferentes temperaturas o con gen de sílice, un método fácil y efectivo (Hong y Ellis, 1996).

Existen secadores electrónicos que permiten programar los ciclos de secado, la temperatura, el flujo y la velocidad del aire de secado.

Terminado el secado de las semillas se vuelve a medir con contenido de humedad para verificar si se ha alcanzado el nivel requerido (8-12%) y determinar si hay que someter las muestras a un nuevo ciclo de desección o rehidratación. Es importante establecer con exactitud las temperaturas y tiempos de desección para no poner en peligro las muestras puesto que repetir los procedimientos puede reducir la viabilidad (Jaramillo y Baena, 2000).

Según Holle (2004), varios desecantes se han recomendado para el secado de semillas con resultados variados; solo el sílica gel ha mostrado ser útil para el secado de muestras pequeñas.

Hay un considerable aumento en la longevidad secando a baja humedad, o sea menor de 5%. La semilla botánica de papa puede secarse a 2.5% de humedad lo que mejora la longevidad 10 veces comparando con 5%. Cuando se seco a 2%, aumento la

longevidad por un factor de 40. El mismo aumento en longevidad se gana cuando se cambia la temperatura de +20 a menos de 20 °C. O sea los costos de refrigeración se pueden reducir manteniendo la semilla a mas de 20 °C y 2% de humedad, en lugar de – 20 °C y mas de 5% de humedad en el grano.

Según Bioversity International (2007) las semillas recién cosechadas pueden tener un alto contenido de humedad que promueve la respiración y el crecimiento de insectos y hongos, que a su vez las deterioran.

Por tanto, una vez que llegan al banco de germoplasma, las semillas se deben secar lo más pronto posible hasta alcanzar niveles seguros de humedad para evitar la pérdida de germinación, el calentamiento y la infestación durante el almacenamiento.

2.4.4.1 Fundamentos del secado de las semillas

Antes de pensar en cómo secar las semillas, es importante recordar un principio: las semillas absorben o pierden humedad dependiendo de la humedad relativa del aire que las rodea hasta que su contenido de humedad se equilibra con el del aire circundante. Esto se conoce como contenido de humedad en equilibrio.

- Si la presión de vapor de agua de las semillas es mayor que el aire circundante éstas perderán humedad (desorción).
- Si la presión de vapor de agua de las semillas es menor que los aires circundantes estos ganarán humedad (absorción).
- Si el contenido de agua de las semillas es igual al del aire circundante éstas han alcanzado el contenido de humedad en equilibrio.

La relación de equilibrio entre el contenido de humedad de las semillas y la humedad relativa se expresa mediante una isoterma de humedad.

Los isotermas de humedad son muy útiles para calcular el contenido de humedad al cual una muestra se puede secar en un ambiente con una determinada humedad relativa (K.J. Brandford, 2004)

Las isotermas de humedad varían según la especie. Las semillas de una misma especie, en diferentes niveles de desarrollo, pueden presentar isotermas diferentes

debido a diferencias en la composición química de las semillas. Al mismo nivel de humedad relativa, las semillas con un alto contenido de almidón y proteínas tienen un alto contenido de humedad, en comparación con las especies que tienen un alto contenido de aceites (Bioversity International, 2007).

2.4.4.2 Sensibilidad de las semillas al secado

Bioversity International, 2007 menciona que para seleccionar el régimen de secado apropiado para una semilla, es necesario conocer qué tan sensible es esa semilla al secado. Existen tres categorías de semilla dependiendo de esta característica:

- Semillas ortodoxas: son aquellas que resisten la desecación hasta contenido de humedad bajos (sin registrar pérdida de viabilidad) y se pueden almacenar a temperaturas muy bajas (ejemplo: arroz, trigo, maíz).
- Semillas recalcitrantes: son semillas que no sobreviven la desecación y no pueden tolerar temperaturas bajas y, por lo tanto, no son fáciles de almacenar (mango, coco, litchi).
- Semillas con comportamiento intermedio: son aquellas que toleran alguna combinación de desecación y temperaturas bajas (café, cítricos) y, por lo tanto, no son ni ortodoxas ni recalcitrantes.

La sensibilidad de una semilla al secado se puede determinar calculando el porcentaje de germinación a intervalos diferentes de secado o a diferentes contenidos de humedad.

Las semillas que toleran la desecación hasta un contenido de humedad del 5% o menos (valores en equilibrio con 10-15% de HR a 20 °C) es posible que se comporten en almacenamiento como semillas ortodoxas.

Las semillas que no toleran la desecación hasta un contenido de humedad de 15-20% (valores en equilibrio con 70% de HR a 20 °C) es posible que sean recalcitrantes.

Las semillas que toleran la desecación hasta un contenido de humedad de 10-12% (valores en equilibrio con 40-50% de HR a 20 °C), pero cuya viabilidad se reduce cuando se someten a mayor desecación hasta obtener contenidos de humedad inferiores, es posible que se comporten en almacenamiento como semillas intermedias (Bioversity International, 2007).

2.4.4.3 Contenido de humedad óptimo para el almacenamiento

Al secar las semillas, el primer paso es determinar el contenido de humedad y verificar si este se encuentra por encima del límite recomendado para un almacenamiento seguro. Si es así, hay que secarlas. El contenido óptimo depende del periodo de almacenamiento que se pretende y de la especie. Cada especie tiene un contenido de humedad crítico, que de reducirse, no aumentaría la longevidad de las semillas almacenadas herméticamente.

El contenido de humedad de las semillas almacenadas en una colección base (para conservación a largo plazo) debe estar entre el 3% y 7% dependiendo de la especie.

El contenido de humedad de las semillas almacenadas en colecciones activas (para conservación a mediano plazo) debe ser lo suficientemente bajo para mantener la viabilidad por encima del 65% durante 10 ó 20 años. Se pueden utilizar contenido de humedad similar a los utilizados para las colecciones base. (Bioversity International, 2007).

2.4.4.4 Pronostico del tiempo del secado

Cuando las semillas se secan, resulta útil pronosticar cuanto tiempo tardarán en secarse hasta alcanzar el contenido de humedad requerido. Esto evita tener que determinar frecuentemente el contenido de humedad y, por lo tanto, ahorra tiempo y valiosas semillas. La duración del periodo de secado se puede calcular mediante la pérdida de peso de las semillas o utilizando curvas de secado promedio (Bioversity International, 2007).

a) Uso de la pérdida de peso para monitorear los índices de secado

Según Bioversity International, 2007 menciona que la pérdida de peso de las semillas durante el secado se monitorea periódicamente pesando la muestra hasta obtener el peso final, que corresponde al contenido de humedad objetivo. Este peso final se calcula empleando la siguiente ecuación:

Ecuación N° 1

$$PFS = PIS * (100 - CHI) / (100 - CHO)$$

Donde:

PFS= peso final de las semillas

PIS= peso inicial de las semillas

CHI= contenido de humedad inicial

CHO= contenido de humedad objetivo

b) Pronostico del tiempo del secado empleando las curvas de secado promedio

Utilización de una curva de secado (Según Bioversity International, 2007)

- Determinar el contenido de humedad inicial de la muestra que se va a secar utilizando el método apropiado de secado en horno para esa especie.
- Seleccionar el contenido de humedad final requerido para el almacenamiento de la especie.
- Trazar una línea horizontal desde cada contenido de humedad inicial y humedad deseada sobre el eje vertical Y, atravesando la curva de secado.
- Para cada contenido de humedad, registrar el día en el eje X desde el punto de intersección de la curva de secado.

La diferencia entre los dos puntos indica el tiempo de secado requerido para lograr el contenido de humedad deseado.

2.4.4.5 Tolerancia al desecamiento de semillas ortodoxas

Es importante señalar que la tolerancia del desecamiento al grado hidrométrico muy bajo y potencial puede afectar, reduciendo la longevidad (emergencia de la radícula) por los tratamientos de imbibición de corta-duración (Hong y Ellis 1992b).

En semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) almacenado en condiciones húmedas a 15°C, en 14 días perdieron 20% viabilidad, desecados anteriormente hasta 3.6% de grado hidrométrico (Hong y Ellis, 1992b citados por Hong y R.H. Ellis, 1996).

Carpintero y Boucher (1991) informaron que reduciendo el grado hidrométrico de semillas ortodoxas de 10.5 a 5.8% no se causaron daños en la germinación, pero la germinación de algunas semillas se mostró afectada, cuando se secaron a los niveles

de grado hidrométrico por debajo de 10%, e incluso más cuando se secaron a 5.8% de grado hidrométrico, por ello se sugiere que para el almacenamiento a largo plazo, con contenidos de humedad baja y a temperaturas bajas y frescas, (hasta lograr la inactividad), no deben usarse los tratamientos de rehidratación o imbibición a menos que se hayan probado anteriormente, sin que afecten la longevidad de las semillas.

Estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) redujeron los contenidos de humedad de las semillas de la colección núcleo de quinua (247 accesiones) en un horno extractor de humedad hasta niveles requeridos para conservar a largo plazo 3 al 7%, tal como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Reducción de humedad de las semillas de 247 accesiones de quinua divididos en siete grupos por color de grano.

Colores de grano		Promedio humedad Inicial (%)	Promedio humedad Final (%)	Número de accesiones
Blanco	1	12.03	5.71	188
Negro	2	12.15	5.75	16
Café	3	12.33	5.71	12
Rojo	4	11.92	5.38	12
Cenizo	5	11.83	5.96	8
Vítreo	6	12.13	5.09	6
Anaranjado	7	12.43	5.75	5
TOTAL				247

Fuente: Rojas y Camargo (2002)

2.4.4.6 Métodos de desecación

Bioversity International (2007) recomienda el secado de las semillas a una temperatura entre 10 a 25 °C, con el fin de evitar el deterioro de la viabilidad de las semillas durante el secado.

a) Secado mediante la deshumidificación

Consiste en secar las semillas en un ambiente cuya humedad relativa se mantiene baja por acción de deshumidificadores.

Las Normas para Bancos de Genes publicadas por la FAO y el IPGRI (1994) recomiendan secar las semillas a una humedad relativa (HR) de 10-15% y a una temperatura de 10-25 °C. Para bancos de germoplasma pequeños, existen cabinas de secado de semillas diseñadas para proporcionar estas condiciones de temperatura y humedad. Los bancos más grandes pueden necesitar cámaras modulares.

b) Secado con gel de silicio

El gel de silicio es un desecante efectivo que se puede utilizar para secar pequeñas cantidades de semillas. Este gel absorbe la humedad del aire, y a medida que lo hace, cambia de color azul intenso a rosado. En general, para secar semillas, el gel de sílice se coloca en el fondo del desecador o en un frasco hermético y las semillas se ponen encima, en bolsas porosas. Las semillas pierden humedad que el gel de sílice absorbe. El gel de sílice se puede usar para secar semillas hasta el contenido de humedad deseado del 3-7%.

c) Secado con cloruro de calcio

Este procedimiento es muy similar al que utiliza el gel de sílice.

Colocar gránulos de cloruro de calcio anhidro en un desecador o en un frasco de vidrio hermético manteniendo a una temperatura fresca con una rejilla de alambre por encima del compuesto químico.

Colocar las semillas en bolsas porosas sobre la rejilla de alambre. Cuando la capa superior del cloruro de calcio se vuelva dura y brillante, dar la vuelta de manera que la parte inferior quede hacia arriba.

Dejar las semillas en el recipiente, cambiando varias veces el cloruro de calcio, hasta que el contenido de humedad llegue al rango requerido para almacenamiento, de la misma manera que se sigue en el método de gel de sílice (Bioversity Internacional, 2007)

d) Soluciones salinas saturadas

Las semillas también se pueden preparar para el almacenamiento secándolas en recipientes herméticos, sobre plataformas perforadas colocadas por encima de soluciones saturadas de sales minerales como el cloruro de calcio y el cloruro de litio. Las semillas no deben entrar en contacto directo con la solución salina saturada. El

cloruro de calcio mantiene una humedad relativa de 30% a 25% y se puede utilizar para secar semillas que se van a conservar a mediano plazo.

De igual manera, el cloruro de litio proporciona un 13% y el bromuro de calcio un 18% de HR, respectivamente, a una temperatura de 20 °C. Estas soluciones salinas se pueden utilizar para secar semillas que se van a conservar a largo plazo.

Una mezcla de cloruro de calcio y cloruro de litio permite alcanzar contenidos inferiores de humedad en las semillas, a menor costo, en comparación con el uso de cloruro de litio únicamente.

2.4.5 Empaque

Terminado el acondicionamiento, el material esta listo para empacar y llevar al sitio de almacenamiento. Tanto el envase en el que se empaque como el sitio en el que se almacene deben responder a los requerimientos de la especie y garantizar la supervivencia de las muestras (Jaramillo y Baena, 2000).

Realizado el acondicionamiento para el almacenamiento y si se ha comprobado que la calidad óptima de las semillas garantizará una conservación exitosa (contenido de humedad adecuado, viabilidad alta, etc.), se procede a empacarlas (Bioversity International, 2007).

Empacar las semillas evita:

- Que absorban agua de la atmósfera después del secado.
- Que se mezclen las accesiones
- Que las semillas se contaminen con insectos y enfermedades.

2.4.5.1 Envases y materiales de almacenamiento

Existen una amplia gama de recipientes para empacar semillas, de variadas formas y materiales, desde sobres de papel y aluminio hasta frascos de vidrio y latas de diferentes metales. Mas que la forma o el material, lo que importa del material es la hermeticidad, es decir que aislé el germoplasma para evitar que absorba humedad y/o se contamine. La selección del envase dependerá de las características de la semilla y

del término al cual se espera conservarlas. En la práctica también está determinada por los recursos del banco, puesto que así como los envases varían en forma y materiales, también varían en costos.

Los envases herméticos, por ejemplo, son óptimos pero costosos. La inversión dependerá de lo que se desee hacer con el material (Jaramillo y Baena, 2000).

2.4.5.2 Tipos de envases o recipientes

Bioversity International (2007) señala que existen diferentes tipos de recipiente para empacar las semillas. Todos los recipientes tienen ventajas y desventajas, la elección dependerá de las condiciones de almacenamiento y de la especie como se describe a continuación.

a) Frascos de vidrio

Los frascos de vidrio son buenos para almacenar semillas porque permiten verlas desde afuera. Si bien el vidrio puede ser pesado y romperse con facilidad, estos recipientes son útiles para las colecciones activas y el almacenamiento a corto plazo, por que se quieren observar el contenido, y siempre y cuando haya poca probabilidad de que se rompan durante un terremoto u otro desastre.

b) Recipientes de aluminio

Las latas de aluminio son difíciles de sellar una vez se han abierto. Aunque son útiles para las colecciones base que no requieren abrir los recipientes con frecuencia, reemplazarlas resulta costoso.

c) Bolsas o sobres de aluminio

Las bolsas de papel aluminio son relativamente económicas, se pueden sellar y ocupan menos espacio en el cuarto de almacenamiento que otros recipientes. Sin embargo, para cerrarlas se requiere una máquina eléctrica especial de sellado al calor y se pueden dañar con facilidad con las semillas que tienen puntas afiladas. Si este es el caso, se debe utilizar con precaución. Estas bolsas son útiles para las colecciones base cuando el espacio es limitado, y para las activas cuando las semillas se distribuyen con frecuencia.

d) Recipientes de plástico

Los envases de plástico y los recipientes de aluminio con tapa son resistentes a la humedad, pero no son a prueba de humedad a menos que tengan un sistema de cierre de caucho ajustado. Se deben utilizar con precaución si la humedad relativa del cuarto de almacenamiento no está controlada. No todos los envases plásticos son resistentes a temperaturas bajo cero y se pueden romper. Si se va a usar en colecciones base, hay que seleccionar aquellos que toleran el congelamiento. Estos envases son útiles en las colecciones activas donde la humedad esta controlada, puesto que permiten un acceso fácil a las semillas.

2.4.5.3 Número de semillas a almacenar

El número de semillas que se empacará para almacenamiento dependerá de la especie que se vaya a conservar y de la frecuencia con que se retiren semillas para el monitoreo, distribución o regeneración (Bioversity International, 2007).

Las Normas para Bancos de Genes publicadas por la FAO y el IPGRI (1994) recomiendan:

- Para accesiones genéticamente homogéneas, empacar por lo menos 3000 a 4000 semillas.
- Para accesiones genéticamente heterogéneas, empacar por lo menos 4000 a 12.000 semillas preferiblemente.

2.4.6 Almacenamiento de germoplasma

Las condiciones de almacenamiento deben ser tales que la semilla se debe mantener viable el tiempo más largo posible. Existe una considerable variación entre especies en la longitud del periodo de almacenamiento. Las semillas de los cereales son las que tienen en general mayores periodos de longevidad; también algunas semillas de leguminosas, pero estas se pueden considerar de longevidad intermedia. Las especies hortícola tienen periodos cortos de longevidad, pero el tomate es una notable excepción de esa generalización (Holle, 2004).

Las condiciones de refrigeración ideales son: humedad relativa baja, entre 15 y 20%; temperatura de almacenamiento de -20°C; ausencia de luz y radiación y atmósfera baja en contenido de oxígeno (Holle, 2004).

2.4.6.1 Tipos de almacenamiento

Las semillas empacadas en recipientes a prueba de humedad se guardan en condiciones ambientales controladas para que mantengan la viabilidad durante periodos prolongados (Bioversity International, 2007).

Las semillas ortodoxas se conservan en dos tipos de colección:

Colección base: Colección de germoplasma que se conserva a largo plazo, en condiciones de almacenamiento seguro, y que no se utiliza como fuente rutinaria de distribución. La semillas por lo general se almacena a temperaturas bajo cero y a un contenido de humedad bajo (Bioversity International, 2007).

Colección activa: Accesiones de germoplasma que se utilizan para regeneración, multiplicación, distribución, caracterización y evaluación. Las colecciones activas se mantienen en almacenamiento de corto a mediano plazos y, en general, se duplican en una colección base que se mantiene en almacenamiento de mediando a largos plazos (Bioversity International, 2007).

a) Almacenamiento de colecciones base

Una colección base es aquella conformada por accesiones con características únicas y los más cercana posible a la muestra original en términos de integridad genética. Las semillas de una colección base se usan para regenerar una colección activa, no para distribución directa a los usuarios (Bioversity International, 2007).

Para mantener la viabilidad de las semillas durante periodos prolongados, las semillas de una colección se secan hasta obtener un contenido de humedad bajo y se conservan a una temperatura de almacenamiento entre cero y -18° a -20° °C. (Bioversity International, 2007).

El término de muestra más original (MMO) se introdujo en el 2002 para calificar las muestras de una colección base. Una MMO está compuesta por semillas de una determinada accesión que se han pasado por la menor cantidad de regeneraciones desde que el banco de germoplasma las adquirió (Bioversity International, 2007).

b) Almacenamiento de colecciones activa

Una colección activa es el conjunto de accesiones con disponibilidad inmediata para distribución directa a los usuarios. Estas accesiones se usan con frecuencia, y por lo tanto, se mantienen en condiciones que garanticen una viabilidad de por lo menos 60%

durante 10-20 años. La temperatura de almacenamiento y el contenido de humedad pueden variar según la especie (Bioversity International, 2007).

2.4.6.2 Tipos de instalación para el almacenamiento

Para almacenar accesiones, los bancos de germoplasma pueden escoger entre: Cuartos fríos con acceso para desplazarse dentro de ellos y congeladores horizontales o verticales (Bioversity International, 2007).

Si el banco de germoplasma cuenta con un cuarto frío, la mejor opción para el almacenamiento son los estantes móviles con divisiones. La distancia entre cada entrepaño dependerá del tamaño de los recipientes. Los recipientes pequeños y las bolsas de aluminio se pueden conservar en cajas o bandejas que se colocan entre los entrepaños de los estantes.

Para los bancos de germoplasma que usan congeladores horizontales o verticales, se pueden utilizar recipientes que quepan en los entrepaños o cajas que contengan recipientes pequeños.

2.4.7 Manejo posterior al almacenamiento

2.4.7.1 Evaluación de la calidad de la semilla

Durante el almacenamiento las semillas pueden sufrir cambios fisiológicos o genéticos. Hay muy pocas evidencias críticas de los cambios genéticos. Los cambios fisiológicos son muy evidentes; la consecuencia más notable es la pérdida de la capacidad de germinar.

La prueba más eficiente para evaluar la calidad de la semilla es la prueba de germinación. Hay ecuaciones de predicción del porcentaje de semillas vivas después de haber sido almacenadas por muchos años, que toman en cuenta el tiempo de almacenamiento, el contenido de humedad de la semilla, la temperatura de almacenamiento, y una serie de factores constantes correspondientes a la especie. Sin

embargo las variaciones en la temperatura de almacenamiento hacen poco práctica la aplicación de la fórmula. La predicción es muy precisa cuando la temperatura de almacenamiento es estable en todo el tiempo de conservación (Holle, 2004).

2.4.7.2 Calidad y la cantidad de semillas almacenadas

Las accesiones de los bancos de germoplasma se deben monitorear de manera regular para verificar su calidad (viabilidad) y cantidad (número o peso de semillas.)

La viabilidad de las semillas de un banco de germoplasma disminuye durante el almacenamiento. El retiro semillas para distribución y las pruebas de germinación disminuyen aún más la cantidad de semillas en el tiempo. Por esta razón, es importante monitorear las accesiones para evitar, deteriorar la calidad de las semillas y reducir sustancialmente la cantidad de semillas (perdida de accesiones) (Bioversity International, 2007).

De acuerdo con las Normas para Bancos de Genes publicadas por la FAO y el IPGRI (1994), la primera prueba de monitoreo se debe hacer:

A los 10 años, para las semillas almacenadas en colecciones base, en condiciones óptimas (-20 °C) y con una viabilidad inicial alta (mas de 90% de germinación).

A los 5 años, para las especies con una vida útil corta en almacenamiento (la mayoría de cultivos oleaginosos y gramíneas forrajeras) o para accesiones con viabilidad inicial relativamente baja (menos de 85% de germinación), almacenadas en colecciones base; y para todas las semillas almacenadas en colecciones activas, en condiciones de preferencia.

El intervalo entre pruebas posteriores se debe en la longevidad de la especie en las actuales condiciones de almacenamiento, y se puede ajustar para que sea mayor o menor dependiendo del grado de pérdida de viabilidad observado en el primer monitoreo.

2.4.7.3 Monitoreo de la viabilidad de las semillas almacenadas

La viabilidad de las semillas es un indicador de cuantas semillas de un lote están vivas y podrían convertirse en plantas que se reproduzcan en el campo en condiciones adecuadas (Bioversity International, 2007).

Es muy importante que las semillas mantenidas en un banco de germoplasma tengan alta viabilidad en el momento en el que se almacenan, y la mantengan durante el almacenamiento de manera que produzcan plantas cuando se las siembre de nuevo en el campo.

Las semillas con una alta viabilidad inicial también sobrevivirán más tiempo en almacenamiento. La viabilidad de las semillas disminuye lentamente al principio y luego más rápido, a medida que las semillas envejecen. Por lo tanto, es importante saber cuando ocurre esta disminución para comenzar a regenerar las accesiones.

Las pruebas de viabilidad pueden tardar de unos días hasta semanas, dependiendo de la especie. Si es posible, los resultados de las pruebas de viabilidad se deben dar a conocer antes de empacar las semillas y llevarlos al banco de germoplasma, de modo que las semillas de mala calidad se puedan identificar y regenerar antes de almacenarlas (Bioversity International, 2007).

El método más confiable para determinar la viabilidad de las semillas es la prueba de germinación. También existen pruebas bioquímicas, que sí bien son más rápidas, no son tan exactas como prueba de germinación (Bioversity International, 2007).

Las Normas de Bancos de Genes publicados por la FAO y el IPGRI (1994) recomiendan para las pruebas de germinación un mínimo de dos repeticiones, con 100 semillas por repetición. Si la germinación es inferior al 90%, hay que evaluar un lote adicional de 200 semillas utilizando el mismo método. La viabilidad total de las semillas se toma como el promedio de las dos pruebas. Si la cantidad de semilla es limitada, se puede realizar la prueba con 50 o 15 semillas, en dos repeticiones (Bioversity International, 2007).

Para realizar las pruebas de germinación trate de proporcionar las condiciones (agua, temperatura, iluminación y cualquier otro tratamiento especial que requiera) necesarias para obtener la germinación más regular, rápida y completa para cada especie.

Asegúrese de que las semillas no estén demasiado secas (contenido de humedad inferior a 8%) ni vayan a sufrir daño por imbibición (Bioversity International, 2007).

Si las semillas están muy secas, puede ser necesario elevarles el contenido de humedad (mediante la humidificación) hasta 15 – 17% para evitar que se dañen con la absorción rápida de agua.

Las semillas de especies silvestres con testas duras pueden requerir escarificación (romper testa con una cuchilla de afeitar o un escalpelo) para que la humedad entre a las semillas antes de la humidificación (Bioversity International, 2007).

Es muy común la presencia de hongos durante las pruebas de germinación pero para minimizar la contaminación se debe asegurar de: (Bioversity International, 2007).

- Limpiar los medios y recipientes utilizados en la prueba de germinación, con alcohol al 70-95% o sumergiéndolas en blanqueador domestico al 20% o en agua caliente a 55 °C durante 10-15 minutos;
- Esterilizar el equipo de laboratorio y desinfectar periódicamente las cabinas de germinación y otros aparatos.
- Dejar un espacio adecuado entre las semillas para evitar que se diseminen los hongos.
- Además crear condiciones óptimas para la germinación, un régimen de temperatura apropiado y un ambiente bien ventilado;
- Eliminar las estructuras que recubren las semillas cuando detecte que son fuentes de infección, al igual que las semillas germinadas que también pueden ser fuentes de infección.

Concluidos los operativos, se procede a realizar las pruebas de germinación. Aunque existen varios métodos, se sugieren los cuatro que se enuncian a continuación:

- Método sobre papel, para especies de semillas pequeñas (generalmente menor a 2 mm de diámetro).
- Método entre papel, para especies de semilla mediana y grande (hasta 1 cm de diámetro).

- Germinación en arena para especies de semilla grande (mayor a 1 cm de diámetro).
- Método de agar para especies de semilla pequeña y mediana o para semillas que tardan mucho tiempo en germinar.

2.4.7.4 Métodos de evaluación de la germinación

a) Método de germinación sobre papel

Según Bioversity International (2007) las semillas germinan en la parte superior de un papel absorbente húmedo, en recipientes con tapas de cierre ajustado para evitar la pérdida de humedad.

Los recipientes comúnmente utilizados son las cajas de plástico o las de cristal de 9 cm.

El método de germinación sobre papel consiste en:

1. Cortar el papel absorbente del tamaño y forma del recipiente, el cual debe ser colocado en la base del recipiente o caja de petri.
2. Colocar un rótulo en el recipiente que indique el número de la accesión, el número de la repetición y la fecha de la prueba.
3. Agregar la cantidad de agua destilada que se requiera, si no se dispone de agua destilada puede usarse agua corriente, hervido y enfriado.
4. Dispersar las semillas uniformemente en la superficie del papel, separándolas para que no se toquen.
5. Cubrir los recipientes y llevarlas a una germinadora o incubadora, con un régimen de temperatura recomendado para germinar la especie.

Una vez dispuesto recipientes en la germinadora, revisar regularmente el nivel de humedad del sustrato, especialmente cuando la humedad dentro de las cabinas no este controlado o cuando las temperaturas estén a 25 – 30 °C.

Se debe mojar el papel absorbente varias veces durante la prueba. Otra alternativa es mantener los recipientes en una bolsa de plástico delgado con el fin de evitar que el sustrato se seque.

Realizar la prueba durante el tiempo recomendado. Al finalizar la prueba, contar y registrar el número de semillas germinadas.

Es importante evaluar regularmente las pruebas de germinación para retirar las plántulas que lucen normales al igual que las que presentan germinación anormal.

Se aconseja hacer un primer conteo de la germinación a los 3 ó 7 días, seguido de un conteo final a los 7 ó 14 días, dependiendo de la especie.

Algunas especies requieren un periodo de prueba más prolongado (gramíneas) de hasta 21 ó 28 días, por lo cual se aconseja efectuar un conteo provisional a los 14 días.

Las plántulas que se retiran durante el curso de una prueba de germinación se clasifican de dos maneras:

- **Plántulas normales**, que poseen estructuras adecuadas de raíces y brotes, esenciales para el desarrollo posterior de las plántulas en plantas, en condiciones favorables.
- **Plántulas anormales**, que no son capaces de sobrevivir y sufren deficiencias, descomposición o debilidad en sus sistemas de raíces o brotes.

Durante cada conteo, se debe registrar semillas anormales, blandas y muertas, al igual que cualquier semillas firme, pero sin germinar. Las semillas anormales y muertas constituyen un indicador de deterioro de las semillas.

Las semillas firmes indican dormancia, y un porcentaje alta de estas indica que se debe hacer un tratamiento previo para estimular la germinación o que las condiciones de germinación no son las óptimas.

Al terminar la prueba de germinación, calcular el porcentaje promedio de germinación del lote de semillas, partiendo del número de plántulas normales germinadas de todas las repeticiones. Repetir la prueba de germinación si la diferencia entre las dos repeticiones excede el 10%.

También se deben determinar si las semillas se encuentran muertas o dormantes, examinar las semillas sin germinar oprimiéndolas con unas pinzas para determinar si están blandas o firmes.

Las semillas muertas se pueden identificar por que en general, se ablandan y se pudren durante la prueba.

Las semillas sin germinar que están firmes y no presentan daño se consideran potencialmente viables y se definen como dormantes.

Existen dos tipos de dormancia de semillas:

- a) La dormancia de la testa de la semilla debido a condiciones físicas, químicas o mecánicas que impiden que la semilla absorba la humedad.
- b) La dormancia del embrión debida a la presencia de sustancias inhibidoras en el embrión o en los tejidos circundantes que impiden la germinación.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Banco Nacional de Germoplasma de Granos Altoandinos (BNGA), establecido en el Centro de Investigación Quipaquipani de la Fundación PROINPA, que se encuentra ubicado a 4 kilómetros al suroeste de la población de Viacha, en la provincia Ingavi del departamento de La Paz. Geográficamente está situado a 16°40'23.3" de Latitud Sur, 68°17'52" de Longitud Oeste y a una altitud de 3867 m.s.n.m. (Ver Anexo 1).

3.2 Materiales

3.2.1 Materiales de gabinete y laboratorio

Los materiales de laboratorio que se utilizaron para este trabajo son: cajas petri, papel secante, buretas, pinzas, agua, tijeras, sobres de aluminio trilaminado, estufa eléctrica, un recipiente metálico (olla) para realizar la rehidratación, vasos de plástico, sujetadores de alambre inoxidable, guantes, guardapolvo, libro de datos, bolsas plásticas, planillas de germinación, cámara fotográfica, computadora.

3.2.2 Equipos de laboratorio

Los equipos de laboratorio utilizados fueron: Balanza analítica, Contador de granos eléctrico, Germinador, Deshumidificador, Horno reductor de humedad, Sellador al vacío, Cámara de refrigeración para el almacenamiento.

Cuadro 3. Descripción detallada de equipos de laboratorio

Equipo	Función
Balanza analítica	Pesar el material genético (semillas).
Contador de granos eléctrico	Conteo de número de granos para las pruebas de germinación.
Germinador	Germinación de semillas a una humedad y temperatura constante.
Deshumidificador	Determinar la humedad de las semillas.
Horno reductor de humedad	Reducir la humedad de las semillas, hasta parámetros planteados.
Sellador al vacío	Sellar al vacío los sobres de aluminio.
Cámara de refrigeración	Mantener las semillas bajo refrigeración, durante periodos largos de tiempo.

Fuente: Elaboración propia

3.2.3 Material biológico

El material de estudio estuvo conformado por diez accesiones de germoplasma de quinua del BNGA, con características diferentes tanto de grano como procedencia, con el fin de estudiar las variaciones inherentes a la variabilidad genética disponible.

Cuadro 4. Procedencia y características de grano de 10 accesiones de quinua

Nº	Acc.	Procedencia			Color		Tamaño (mm)		Quinua
		Dep.	Provincia	Localidad	Pericarpio	Episperma	Diam	Esp.	
1	2350	L.P.	Aroma	Patacamaya	Habano	Café oscuro	2.02	1.24	Cultivada
2	2857	L.P.	Camacho	P. Acosta	Crema suave	Transparente	1.75	1.04	Cultivada
3	0577	L.P.	Omasuyos	Achacachi	Rojo	Transparente	1.81	1.13	Cultivada
4	2374	L.P.	Aroma	Patacamaya	Negro	Negro	1.65	1.41	Silvestre
5	1462	Oru.	Cercado	Oruro	Rojo	Transparente	1.68	1.08	Cultivada
6	1289	Oru.	Sajama	Turco	Crema suave	Transparente	1.84	1.16	Cultivada
7	2511	Pot.	D. Campos	Uyuni	Negro	Café oscuro	2.23	1.34	Cultivada
8	2940	Pot.	Bustillos	C. Colorado	Amarillo	Transparente	1.87	1.2	Cultivada
9	1608	Tar.	Méndez	Iscayachi	Habano	Café	1.86	1.02	Cultivada
10	1600	Tar.	Méndez	San Antonio	Crema suave	Transparente	1.78	1.06	Cultivada

Fuente: Catálogo de colección de quinua conservada en el BNGA, 2001

El Cuadro 4, muestra a detalle las 10 accesiones de quinua seleccionadas, de las cuales 9 son cultivadas y 1 silvestre, Del total de accesiones seleccionadas cuatro (40%) pertenecen al altiplano norte (2350, 0577, 2374, 2857), dos al altiplano central (20%) (1462, 1289), dos al altiplano sur (20%) (2511, 2940) y dos de valles (Tarija) (20%) (1600, 1608); la selección se realizó con el objeto de representar a los diferentes departamentos y regiones donde se cultiva la quinua.

3.3 Métodos

3.3.1 Procedimiento experimental

3.3.1.1 Selección de accesiones

Se seleccionaron diez accesiones de quinua, de la colección del BNGA considerando las siguientes características: lugar de procedencia, color, tamaño de la semilla y la cantidad de semilla disponible (Cuadro N° 4).

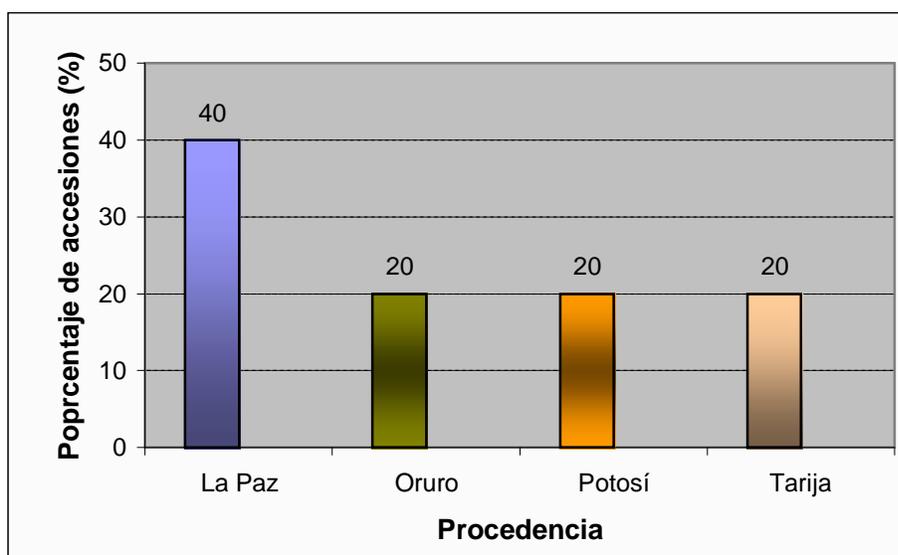


Figura 1. Porcentaje de accesiones de quinua por departamento

Los granos de las 10 accesiones seleccionadas presentan diferentes colores, dos accesiones (2350,1608) presentan color de grano o pericarpio habano, dos accesiones (2511 y 2374) presentan color de grano negro, tres accesiones (2857, 1289, 1600) presentan color de grano cremas suaves, una accesión (2940) con color de grano amarillo y dos accesiones (0577 y 1462) color de granos rojos. Esta selección se realizó con el objeto de representar a la variabilidad de colores de grano de quinua que se tiene en la colección de germoplasma de quinua del BNGA.

En cuanto al tamaño del grano 8 accesiones son de tamaños pequeño-medianos comprendidos entre 1.65 a 1.87 mm y 2 accesiones son grandes mayores a 2 mm. De

las diez accesiones 9 son cultivadas y solo una accesión es silvestre, tal como se muestra en el Cuadro 4.

Seleccionadas las accesiones se prepararon muestras de semilla en cantidades que variaron entre 600 a 1000 g los cuales se colocaron en contenedores de plástico. Tal como recomienda la Norma de Manejo de Bancos de Germoplasma.

3.3.1.2 Pruebas de calidad fisiológica

Las pruebas de calidad fisiológica de las semillas consistieron en: el porcentaje de pureza de las semillas y las pruebas de germinación en condiciones controladas de luz y temperatura.

a) Porcentaje de pureza

Para el porcentaje de pureza se ha tomado una muestra de 5 g de semilla por accesión con tres repeticiones, muestra que se purificó eliminando todo el material impuro (semillas rotas, restos de tallo, broza, semillas extrañas, etc.). Luego se pesó la semilla pura y la muestra de impurezas para determinar el dato final, con la siguiente fórmula:

Ecuación N° 2

$$P\% = \text{Peso de semillas limpias} / \text{Peso de semillas con impurezas} * 100$$



Figura 2: Semillas limpias y puras



Figura 3: Registro de pesos de semillas

b) Porcentaje de germinación

Para el porcentaje de germinación se usó una muestra de 100 semillas por accesión con cinco repeticiones, haciendo el uso del contador de granos del BNGA. Luego se sembraron en cajas petri preparadas con papel secante y agua, posteriormente se llevó al germinador a una temperatura constante de 22°C. y fueron evaluadas a los 5 a 6 días. El cálculo de porcentaje de germinación se realizó con la siguiente formula:

Ecuación N° 3

$$G\% = N^{\circ} \text{ semillas germinadas} / N^{\circ} \text{ semillas totales} * 100$$



Figura 4: Germinador de granos en condiciones controladas

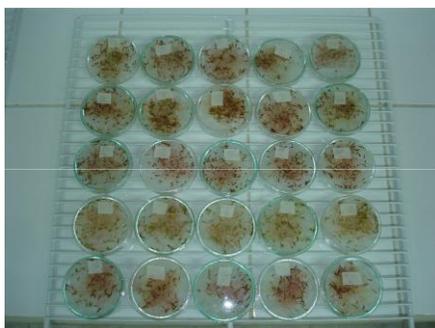


Figura 5: Semillas germinadas de quinua



Figura 6: Registro de semillas germinadas

3.3.1.3 Determinación del contenido de humedad inicial

Esta variable se ha registrado con la ayuda de equipo deshumidificador el cual, tiene la capacidad de eliminar la humedad interna de las semillas hasta secarlas totalmente.

Luego, mediante la diferencia de pesos (inicial y el final) se obtuvo la humedad inicial de las semillas usando la siguiente fórmula:

Ecuación N° 4

$$H\% = \frac{P. \text{ húmedo} - P. \text{ seco}}{P. \text{ húmedo}} * 100$$

Para esta fase de ensayo se utilizó una muestra de 5 gramos de semilla por accesión.



Figura 7: Deshumidificador MB35 HALOGEN



Figura 8: Determinación de la humedad

3.3.1.4 Estandarización del tiempo de desecación del horno extractor de humedad

a) Preparación de muestras

La estandarización del horno extractor de humedad de las semillas inició con la preparación de 6 gramos de semilla de las 10 accesiones para cada tratamiento térmico.

b) Determinación de tiempos de desecación.

Se estandarizaron los tiempos de secado del horno extractor de humedad para ver el funcionamiento y los tiempos de reducción de humedad bajo las tres temperaturas planteados, para lo cual se utilizó 10 muestras de 6 g de semilla por accesión, las cuales fueron evaluados con el deshumidificador en tiempos predeterminados para las tres temperaturas, determinándose un tiempo de 24 horas para el T1 de 20 °C; 15 horas para el T2 de 25 °C y 12 horas para el T3 de 30 °C.

3.3.1.5 Desección de las semillas bajo diseño experimental

Con el fin de estudiar el método de reducción del contenido de humedad del grano de quinua se realizó un ensayo experimental en 'parcelas divididas' (Little y Hills, 1991). Se consideraron tres temperaturas como tratamientos ($T_1=20^{\circ}\text{C}$, $T_2=25^{\circ}\text{C}$, $T_3=30^{\circ}\text{C}$), y 10 accesiones como subtratamientos con 6 repeticiones.

Conocidos los datos de porcentaje de germinación y humedad iniciales de las semillas, se procedió a desecar con el horno extractor de humedad bajo los tres tratamientos de temperatura planteados hasta alcanzar los niveles de humedad interna de las semillas del 3 al 7%, tal como indica la Norma de Manejo de Bancos para la conservación a largo plazo (Jaramillo y Baena, 2000).

Para esta fase se utilizó una muestra de 6 g de semilla, con 6 repeticiones por accesión. Además se colocó una muestra extra a las repeticiones, con el fin de monitorear y verificar el descenso de humedad de las semillas dentro del horno extractor de humedad.



Figura 9: Horno desecador de semillas



Figura 10: Accesiones de quinua a desecar



Figura 11: Programación de la temperatura de trabajo del horno

3.3.1.6 Verificación del descenso de la humedad de las semillas durante el proceso de desecación

Se determinó el contenido de humedad durante la desecación, utilizando una muestra extra de semillas sometida al tratamiento térmico en periodos de tiempo de 2 a 3 horas para cada tratamiento de temperatura, con el objetivo de determinar si las semillas de las accesiones alcanzaron los niveles del 3 al 7% de humedad interna tal como señala la Norma de Manejo de Bancos de Genes (1994).



Figura 12: Monitoreo del contenido de humedad de las semillas



Figura 13: Determinación del contenido de humedad de las semillas de quinua

3.3.1.7 Sellado al vacío

Inmediatamente concluida la desecación todas las accesiones se sellaron al vacío, en sobres de aluminio trilaminado, con el objeto de mantener la hermeticidad de las semillas y evitar que las muestras estén en contacto con el ambiente.



Figura 14: Vaciado de las semillas desecadas en los sobres de aluminio trilaminado



Figura 15: Sellado al vacío de los sobres de aluminio trilaminado con semillas

3.3.1.8 Almacenamiento

Finalmente los sobres de las 10 accesiones más sus repeticiones se almacenaron en cámaras de refrigeración a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, como recomienda Holle (2004) el cual indica que a esta temperatura se reduce el proceso metabólico de las semillas. Los sobres se organizaron por tratamiento una columna de 60 sobres para el T1($20\text{ }^{\circ}\text{C}$), otra de 60 sobres para el T2 y otra columna de 60 sobres para el T3.



Figura 16: Almacenamiento de los sobres en cámaras de refrigeración



Figura 17: Cámaras de refrigeración, donde se almacenan los sobres con semillas

3.3.1.8 Monitoreo del porcentaje de germinación

Como se planifico inicialmente se realizo la apertura mensual de un sobre almacenado de los tres tratamientos, con el objeto de monitorear la germinabilidad de las semillas siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Apertura y sellado de los sobres.- Se abrieron los sobres para extraer las semillas de las accesiones en una cantidad aproximada de 600 semillas, luego inmediatamente los sobres se los sellaron al vacío.



Figura 18: Apertura de sobres para la rehidratación de las semillas

2. Rehidratación.- Cada muestra fue prehidratada en baño maría durante 50 a 60 minutos. (Rojas y Camargo. 2003).



Figura 19: Rehidratación de las semillas en baño María

3. Análisis de germinación.-Se sembraron 100 semillas en cajas petri, por accesión con 5 repeticiones, las cuales fueron evaluados a los cinco días registrándose semillas normalmente germinadas, duras, muertas y anormales.

3.4 Variables estudiadas

3.4.1 Calidad fisiológica

3.4.1.1 Porcentaje de pureza

Según Bioversity International (2007) para determinar la pureza de las semillas, se debe pesar una muestra de trabajo de un determinado peso del lote total de semillas, escogidas al azar, y dispersarla sobre la mesa.

Luego se debe separar todas las semillas puras, manualmente con pinzas, o eliminar las impurezas soplando las semillas.

Pesar la fracción de semillas puras y expresar la pureza como el porcentaje de peso de la fracción de semillas puras sobre el peso total de la muestra de trabajo:

Ecuación Nº 5

$$\text{Pureza (\%)} = \frac{\text{peso de semillas puras (g)} * 100}{\text{Peso total de la muestra de trabajo (g)}}$$

Es importante establecer estándares de hasta 95% para la proporción de semillas puras en las accesiones. Si una accesión no alcanza a cumplir este objetivo después de la limpieza inicial, se las debe someter de nuevo a limpieza tantas veces como sea necesario hasta obtener la pureza absoluta.

Finalmente revisar visualmente las muestras otra vez para verificar la pureza y la presencia de semillas dañadas. Verificar también con la muestra de referencia o con los datos de referencia que concuerden el color y forma de las semillas, si las muestras se recibieron después de la regeneración.

3.4.1.2 Porcentaje de germinación

Según Bioversity International (2007) la prueba de germinación se realiza para determinar la proporción de semillas de una accesión que producirá plántulas normales. Las formula es la siguiente:

Ecuación N ° 6

$$\text{Germ. (\%)} = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Semillas totales}} * 100$$

Las Normas de Bancos de Genes publicados por la FAO y el IPGRI (1994) recomiendan para las pruebas de germinación un mínimo de dos repeticiones, con 100 semillas por repetición. Si la germinación es inferior al 90%, hay que evaluar un lote adicional de 200 semillas utilizando el mismo método. La viabilidad total de las semillas se toma como el promedio de las dos pruebas. Si la cantidad de semilla es limitada, se puede realizar la prueba con 50 o 15 semillas, en dos repeticiones.

Para realizar las pruebas de germinación se debe proporcionar las condiciones (agua, temperatura, iluminación y cualquier otro tratamiento especial que requiera) necesarias para obtener la germinación más regular, rápida y completa para cada especie.

3.4.2 Contenido de humedad inicial

El contenido de humedad de las semillas (CHS) es una medida de la cantidad de agua que se encuentra en ellas y tiene un profundo impacto en el almacenamiento de las semillas en los bancos de germoplasma.

En general se expresa en base con el peso fresco, con el peso del agua como porcentaje del peso total de las semillas antes del secado.

Ecuación N ° 7

$$\text{CHS(\%)} = \frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{Peso fresco}} * 100$$

3.5 Análisis estadístico

El diseño experimental que se utilizó en el presente trabajo de investigación fue: el diseño completamente al azar (DCA) distribuidas en parcelas divididas, donde se tiene como parcela grande a las temperaturas (20 °C, 25 °C y 30 °C) y la parcela chica las 10 accesiones de quinua. Para tal caso se realizará en condiciones ambientales controladas.

3.5.1 Modelo aditivo lineal

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + E_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + E_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} = Una observación cualquiera.
 μ = Media
 α_i = Efecto de la i-ésima grado de temperatura
 E_i = Error experimental parcela principal (Error a)
 β_j = Efecto del j-ésimo accesión de quinua.
 $\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción del factor α por el Factor β
 E_{ij} = Error experimental (Error b) (Padrón C. Emilio, 1996)

3.5.2 Métodos estadísticos para el análisis de datos

El programa estadístico que se utilizó fue el SAS V8, con el objetivo de determinar las diferencias entre tratamientos y accesiones, en el que se realizó el análisis de varianza y las pruebas de Duncan.

3.5.2.1 Análisis estadístico descriptivo

Permiten estimar y describir el comportamiento de las diferentes accesiones evaluadas. Los más comunes son el promedio, la media aritmética, el rango de variación, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV), que se utilizan en el análisis de datos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Calidad fisiológica

Se evaluó la calidad filológica de la semilla de las 10 accesiones de quinua tomando en cuenta los parámetros de: análisis de porcentaje de pureza y el análisis de germinación.

4.1.1 Análisis de porcentaje de pureza

Los resultados de porcentaje de pureza e impurezas se muestran en detalle en el Cuadro 5, donde el 20% de accesiones muestran rangos de porcentaje de pureza de 96.7% a 97.3%, niveles satisfactorios para continuar el estudio. Según Bioversity International (2007) los niveles estándares de pureza deben alcanzar hasta el 95%, tal como señala la Norma de Manejo de Bancos de Genes, el 60% de las accesiones registraron purezas entre los rangos de 90% al 93.3%, niveles considerados como aceptables, y el 20% de las accesiones registraron niveles bajos entre el 88.7% y 89.3%, los cuales registraron mayor cantidad de impurezas (10.7 a 11.3%), accesiones que fueron sometidas al purificado.

Cuadro 5. Porcentaje de pureza e Impurezas de 10 accesiones de quinua.

Nº	Acc.	Porcentaje de Pureza (%)	Porcentaje de Impurezas (%)
1	2350	93,3	6,7
2	2857	96,7	3,3
3	0577	89,3	10,7
4	2374	92,0	8,0
5	1462	90,0	10,0
6	1289	88,7	11,3
7	2511	97,3	2,7
8	2940	91,3	8,7
9	1608	93,3	6,7
10	1600	92,0	8,0

Según Bioversity Internacional (2007), recomiendan realizar limpiezas de aquellas muestras impuras cuantas veces sea necesario, hasta alcanzar los niveles aceptables del 95%. Jaramillo y Baena (2000), también recomienda que para conservar

germoplasma a mediano y a largo plazo estas deben estar en lo posible puros y en buen estado.

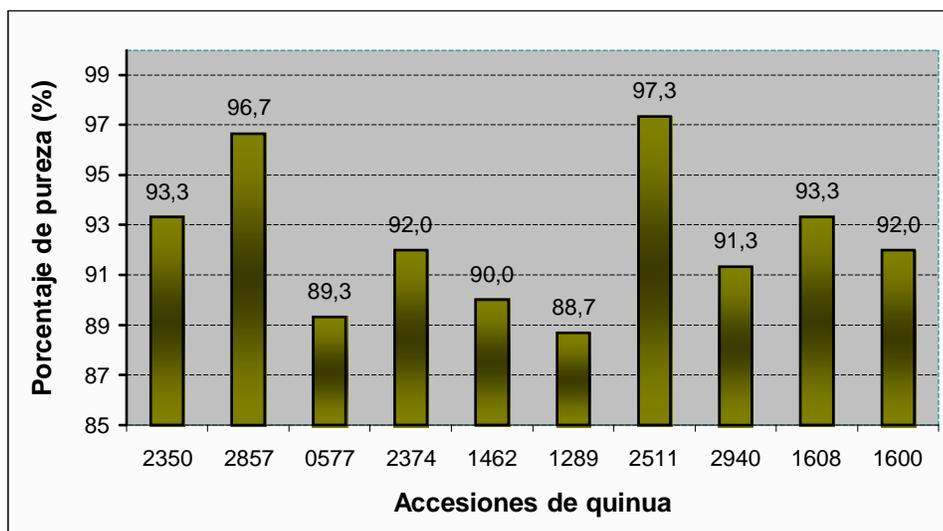


Figura 20. Porcentaje de pureza (%P) de diez accesiones de quinua.

Los resultados de este análisis se muestran mejor en la Figura 20, reportándose una variación de 88.7% a 97.3% de porcentaje de pureza en las 10 accesiones de quinua estudiadas. Las accesiones 1289, 0577, 1462, 2940, 1600, 2374, 2350 y 1608 son las que fueron sometidas a la limpieza y purificado por presentar mayores cantidades de impurezas.

Cuadro 6. Estadística descriptiva de porcentaje de pureza e impurezas de 10 accesiones de quinua.

Porcentaje de pureza		Porcentaje de impurezas	
Parámetro	Valor (%)	Parámetro	Valor (%)
Media	92,40	Media	7,60
Desviación estándar	2,88	Desviación estándar	2,88
Varianza de la muestra	8,32	Varianza de la muestra	8,32
Rango	8,67	Rango	8,67
Mínimo	88,67	Mínimo	2,67
Máximo	97,33	Máximo	11,33
Coefficiente de variación	3,11	Coefficiente de variación	37,80

El análisis descriptivo muestra que las semillas de las accesiones estudiadas tienen una pureza aceptable promedio de 92.40%, con una máxima de 97.33%, una mínima de 88.67%, con un desvío estándar promedio de 2.88% con relación a la media, y el 7.60%

de impurezas estuvo conformado por restos de tallos, broza, semillas rotas y piedras registradas durante el análisis.

Estos resultados muestran un material genético, con una pureza aceptable para la conservación a largo plazo, registrando un valor máximo de 97.33% la accesión 2511 y una mínima de 88.67% de pureza en la accesión 1289.

4.1.2 Análisis de porcentaje de germinación

Los resultados de este análisis se muestran en detalle en el Anexo 2, donde se evaluaron semillas germinadas normalmente, semillas muertas, semillas duras y semillas anormales, tal como señala la Norma de Manejo de Bancos de Germoplasma (1994). Reportándose valores que fluctúan entre 95.8 a 99.2% de porcentaje de germinación en las 10 accesiones estudiadas, valores que superan el nivel mínimo de 85% exigido por la Norma de Manejo de Bancos de Genes (1994). Los restantes 0.8 a 4.2% se debe a las semillas muertas, anormales y duras que no germinaron durante la evaluación, lo cual se atribuye a la variabilidad de accesiones en cuanto a lugar de procedencia, y color de grano y cosecha.

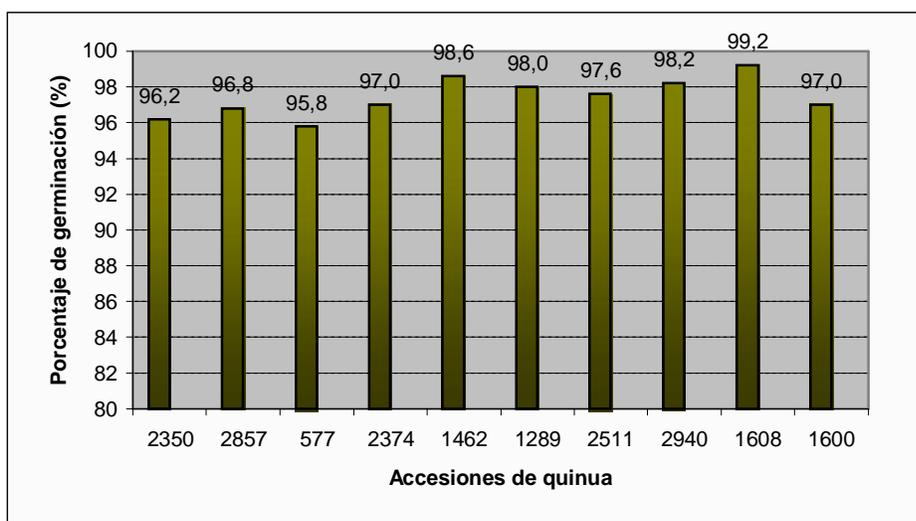


Figura 21. Porcentaje de semillas germinadas normales de 10 accesiones de quinua

Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 21, donde se registran niveles superiores al 95% de porcentaje de germinación con un promedio de 97.7% en semillas de color café habano, 97.27% en semillas de color crema suave, 97.2% en las semillas

de color rojo, 97.3% en semillas de color negro y 98.2% de porcentaje de germinación en semillas de color amarillo. Estos resultados se asemejan con el estudio efectuado por Rojas y Camargo (2002, 2003), quienes reportan porcentajes de germinación de 100% en semillas de color blanco, 80% en semillas de color negro, 98% en semillas de color café, 97% en semillas de color rojo y de 97% en semillas anaranjadas, por tanto las semillas de las 10 accesiones se encuentran en mejores condiciones para ser almacenadas.

Cuadro 7. Estadística descriptiva de porcentaje de germinación de 10 accesiones de quinua.

Porcentaje de germinación		Porcentaje de no germinados	
Parámetro	Valor (%)	Parámetro	Valor (%)
Media	97,44	Media	2,56
Desviación estándar	1,07	Desviación estándar	1,07
Varianza de la muestra	1,15	Varianza de la muestra	1,15
Rango	3,40	Rango	3,40
Mínimo	95,80	Mínimo	0,80
Máximo	99,20	Máximo	4,20
Coefficiente de variación	1,09	Coefficiente de variación	41,79

En el análisis descriptivo se muestra el porcentaje de germinación de las accesiones seleccionadas, los cuales oscilan alrededor de 97.44 % en promedio, con un desvío estándar promedio de 1.07% con relación a la media, registrando una máxima de 99.2% de porcentaje de germinación en la accesión 1608 que procede de Tarija y una mínima de 95.8% en la accesión 0577 procedente del altiplano norte. El 2.56% en promedio de las semillas no germinadas, se debe a que durante la evaluación de la germinación se registraron semillas muertas, anormales y duras, los cuales disminuyeron los porcentajes de germinación de cada accesión estudiada.

4.2 Humedad inicial de semillas

El Cuadro 8, muestra el contenido de humedad inicial registrado de cada accesión, oscilado entre 10.05% y 12.55%. Donde las accesiones del altiplano norte (La Paz) registraron un promedio de 10.05% de humedad inicial, del altiplano central (Oruro) 10.95%, del altiplano sur (Potosí) 11.65% y de valles (Tarija) un 12.18% en promedio.

Estos contenidos de humedad pueden deberse a las épocas de cosecha, características agro ecológicas del lugar de cosecha y del lugar de procedencia de las accesiones de quinua.

Cuadro 8. Porcentaje de humedad inicial de 10 accesiones de quinua

Nº	Accesión	Porcentaje de humedad inicial (%)
1	2350	12,40
2	2857	11,10
3	577	11,20
4	2374	10,05
5	1462	10,90
6	1289	11,00
7	2511	10,90
8	2940	12,40
9	1608	12,55
10	1600	11,80

Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 22, reportándose una media de 11.43% de contenido de humedad, con una máxima de 12.55% registrado en la 1608 (cultivada) y una mínima de 10.05% en la accesión 2374 (silvestre). Estos resultados se asemejan a los estudios efectuados por Rojas y Camargo (2002), quienes determinaron contenidos de humedad entre 9.0% a 14.83% de 247 accesiones de quinua.

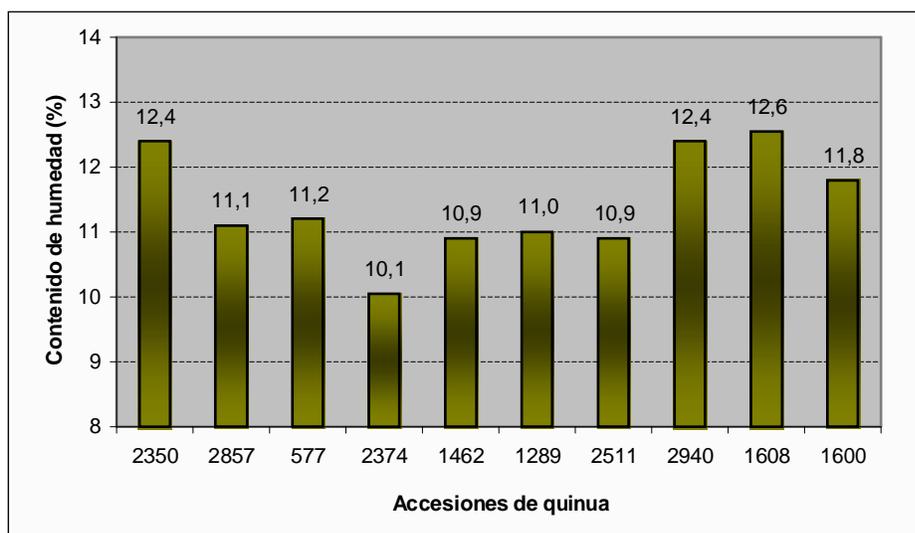


Figura 22. Contenido humedad inicial de 10 accesiones de quinua

Los contenidos de humedad de acuerdo al color variaron ampliamente, es así que semillas de color habano reportaron contenidos en promedio de 12.48%, semillas de color crema suave 11.03%, semillas de color rojo 11.05%, semillas de color negro 10.48% y semillas de color amarillo 12.40%. Estos valores difieren con estudios realizados por Rojas y Camargo (2003), quienes determinaron un contenido de humedad de 12.03% en semillas blancas, de 12.15% en semillas de color negro, de 12.33% en semillas de color café-habano, de 11.92% en semillas de color rojo y de 12.43% en semillas de color anaranjado.

Esta diferencia se puede deber a que en el estudio realizado por Rojas y Camargo se tomaron 247 accesiones (188 accesiones blancas, 16 accesiones negras, 12 accesiones café habanos, 12 accesiones rojas y 5 accesiones anaranjados), en cambio en el estudio realizado solo se seleccionó 10 accesiones representativas.

4.3 Resultados de la estandarización del tiempo de secado

Los resultados de la estandarización del tiempo de desecación del horno reductor de humedad se muestran en detalles en el Anexo 3.

Para una temperatura de 20 °C de desecación se demoró más tiempo (24 horas), seguido del tratamiento de 25 °C (15 horas) y finalmente a 30 °C, (12 horas), reportándose el descenso gradual de la humedad de la semillas en diferentes tiempos hasta los niveles requeridos.

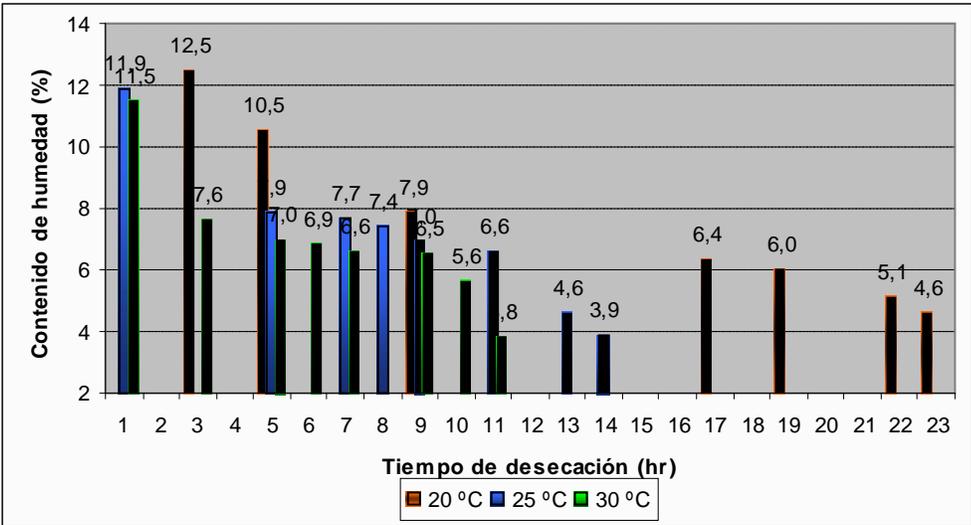


Figura 23. Estandarización del tiempo de desecación de semillas de quinua a 20 °C, 25 °C y 30 °C en el horno extractor de humedad.

En la Figura 23 se muestra claramente el descenso gradual de los niveles de contenido de humedad a las tres temperaturas de desecación expuestos, hasta alcanzar los niveles permitidos de 3 a 7% tal como señala la Norma de Manejo de Bancos de Genes (1994), llegando a reducir el contenido de humedad hasta 4.6% a 20 °C, en un tiempo de 24 horas; 3.9% a 25 °C, en un tiempo de 15 horas y hasta 3.8% a 30 °C en un tiempo de 12 horas.

Estos resultados fueron tomados como referencia para realizar la desecación sin ultra secar las semillas hasta niveles inferiores del 3% donde se causan daños en la fisiología de la semilla, tal como señala Hong y Ellis (1996) en la tolerancia al desecamiento de semillas ortodoxas, como es el caso de cereales que toleran hasta un contenido de humedad de 5.8%, por debajo de esta encontraron descensos en la germinación y efectos negativos en la fisiología.

4.4 Respuesta de las semillas de 10 accesiones de quinua a tres temperaturas de desecación.

El Cuadro 9, detalla los contenidos de humedad de las semillas de cada accesión obtenidos después de que estas fueron sometidas a tres temperaturas de desecación, así como también el tiempo que tardaron estas en alcanzar los rangos de humedad (3 - 7%) que exige la norma para manejo de bancos de genes.

Cuadro 9. Contenido de humedad de la semilla después de aplicar el tratamiento térmico.

Nº	Accesiones	T1 20 °C	T2 25 °C	T3 30 °C
		Tiempo 24 hr. (%)	Tiempo 15 hr. (%)	Tiempo 12 hr. (%)
1	2350	4,90	3,90	3,55
2	2857	3,65	4,40	3,80
3	577	4,20	3,85	3,30
4	2374	4,85	3,95	3,80
5	1462	4,65	4,10	3,55
6	1289	4,20	4,55	3,25
7	2511	4,65	4,10	3,55
8	2940	5,10	4,10	4,30
9	1608	5,30	4,05	3,90
10	1600	3,70	4,35	3,90

El tratamiento de 20 °C tardó un tiempo promedio de 24.5 horas y redujo el contenido de humedad de las semillas entre un rango de 3.65 a 5.30%, el tratamiento de 25 °C tardó 15.0 horas y redujo el contenido de humedad de las semillas en un rango de 3.85 a 4.55% y el tratamiento de 30 °C tardó un tiempo promedio de 12.0 horas reduciendo el contenido de humedad de las semillas entre 3.30 a 4.30%.

En general, la respuesta de las semillas al tratamiento térmico de desecación, muestra que a mayor temperatura se logra alcanzar en menor tiempo los rangos de humedad (3 – 7%) que exige la norma de manejo de bancos de genes, mientras que a menor temperatura el tiempo se prolonga. Asimismo, se observa un comportamiento inversamente proporcional entre la temperatura y los niveles de humedad alcanzados después de la desecación, mientras mayor es la temperatura de desecación se alcanza niveles más bajos en el contenido de humedad de las semillas.

Cuadro 10. Estadística descriptiva del tratamiento de desecación de diez accesiones de quinua.

Humedad final a 20 °C		Humedad final a 25 °C		Humedad final a 30 °C	
Parámetro	(%)	Parámetro	(%)	Parámetro	(%)
Media	4,52	Media	4,14	Media	3,69
Desviación estándar	0,56	Desviación estándar	0,23	Desviación estándar	0,31
Varianza de la muestra	0,32	Varianza de la muestra	0,05	Varianza de la muestra	0,10
Rango	1,65	Rango	0,70	Rango	1,05
Mínimo	3,65	Mínimo	3,85	Mínimo	3,25
Máximo	5,30	Máximo	4,55	Máximo	4,30
Coefficiente de variación	12,48	Coefficiente de variación	5,53	Coefficiente de variación	8,52

En el análisis descriptivo se muestra que a una temperatura de desecación de 20 °C y en un tiempo de 24 horas se ha llegado a reducir el contenido de humedad de las semillas hasta un 4.52% en promedio, con una desviación estándar de 0.56%, registrando una máxima de 5.3% en la accesión (1608) y una mínima de 3.65% en la accesión (2857). Para una temperatura de desecación de 25 °C y en un tiempo de 15,0 horas hasta un 4.14% de contenido de humedad, con una desviación estándar de 0.23% respecto a la media, registrando una máxima de 4.55% la accesión (1289) y una

mínima de 3.85% en la accesión (0577). Y a una temperatura de 30 °C y en un tiempo de 12.0 horas hasta un 3.69% en promedio con una desviación estándar de 0.31%, llegando a obtener una máxima de 4.3% en la accesión (2940) y una mínima de 3.25% en la accesión (2289).

En general el comportamiento de las 10 accesiones bajo las tres temperaturas de desecación son variadas, reportando menores contenidos de humedad de las semillas bajo el tratamiento de 30 °C y los mayores contenidos de humedad bajo el tratamiento de 20 °C.

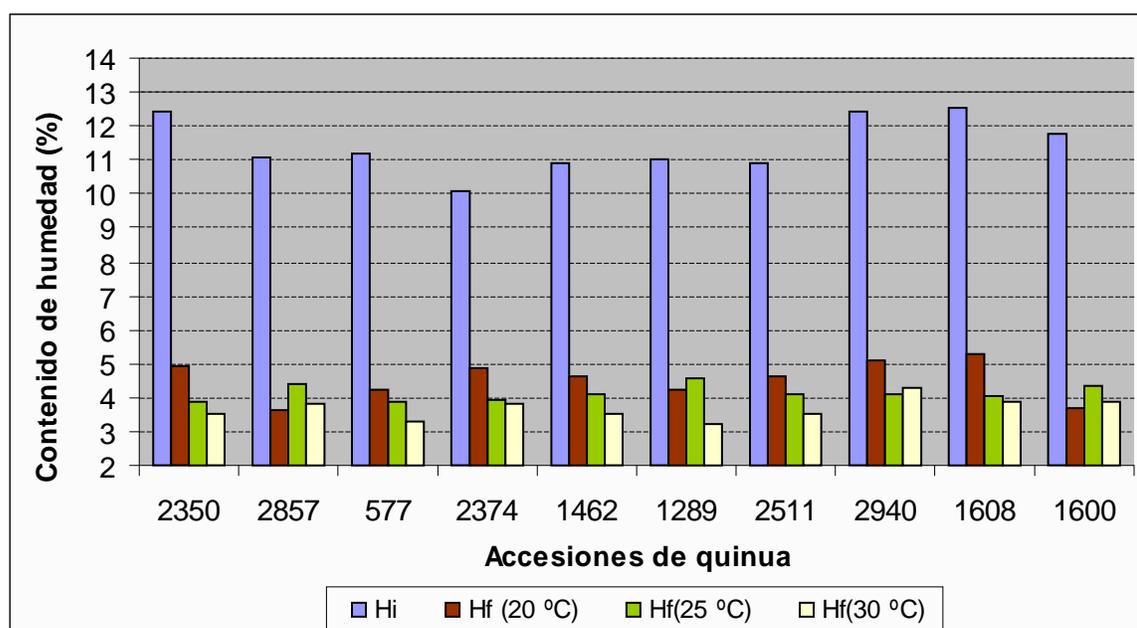


Figura 24. Contenidos de humedad inicial y final de 10 accesiones de quinua.

La Figura 24, muestra el comportamiento de los contenidos de humedad alcanzados después de la desecación en comparación con los contenidos de humedad inicial. En la figura se observa claramente que el tratamiento de 20 °C fue la que alcanzó los mayores niveles dentro del rango de 3 a 7%, opuestamente el tratamiento de 30 °C muestra los menores contenidos de humedad.

Una vez registrados los contenidos de humedad finales de cada accesión, la semilla se selló al vacío en sobres de trialuminio, el 10 de abril el T1, el 11 de abril el T2 y el 13 de abril el T3. Luego los sobres de cada accesión en 5 repeticiones, se almacenaron en cámaras de refrigeración a una temperatura de -20 °C, tal como nos indica la Norma de Manejo de Bancos de Genes (1994).

4.5 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento de 10 accesiones de quinua

Desde que se implementó el almacenamiento se programó realizar monitoreos mensuales hasta el sexto mes y luego a un año. Previo al análisis de germinación se realizó un tratamiento de rehidratación de semillas durante 40 a 50 minutos hasta alcanzar los niveles de humedad inicial, como señala Rojas y Camargo (2003).

La rehidratación se realizó con el objeto de no causar daños fisiológicos en las semillas por la imbibición (absorción rápida de agua de semillas secas), tal como recomienda Hong y Ellis (1996).

4.5.1 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 20 °C

En el Cuadro 11, se presentan los resultados de porcentaje de germinación de los seis meses evaluados del 2007 (Mayo, Junio, Julio, Agosto, Septiembre y Octubre), y Abril de 2008, desecados a una temperatura de 20 °C.

Cuadro 11. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 20 °C.

	2007						2008
Mes	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Abril
Acc.	%G						
2350	97,6	98,0	98,6	98,4	97,2	97,6	97,4
2511	95,6	93,8	94,0	95,8	94,0	95,2	95,4
2857	94,2	96,4	96,6	91,6	96,6	97,8	96,8
1608	97,4	97,0	97,4	98,6	98,0	97,6	98,0
2940	98,4	98,2	98,6	98,6	99,2	99,2	98,6
1600	98,0	97,4	98,0	98,2	97,2	97,0	96,8
1462	98,4	98,2	98,4	99,2	99,4	98,8	99,2
1289	97,8	97,6	97,6	97,6	97,4	98,0	97,6
577	96,8	94,8	94,0	97,6	95,8	96,6	95,8
2374	95,6	97,2	97,0	95,6	96,0	97,2	96,2

El Cuadro 11 detalla el monitoreo realizado del porcentaje de germinación en seis meses del 2007 y luego a un año de almacenamiento, registrando descensos de la germinación en cinco de las accesiones, ascensos en tres accesiones y sin cambios en dos de las accesiones estudiadas.

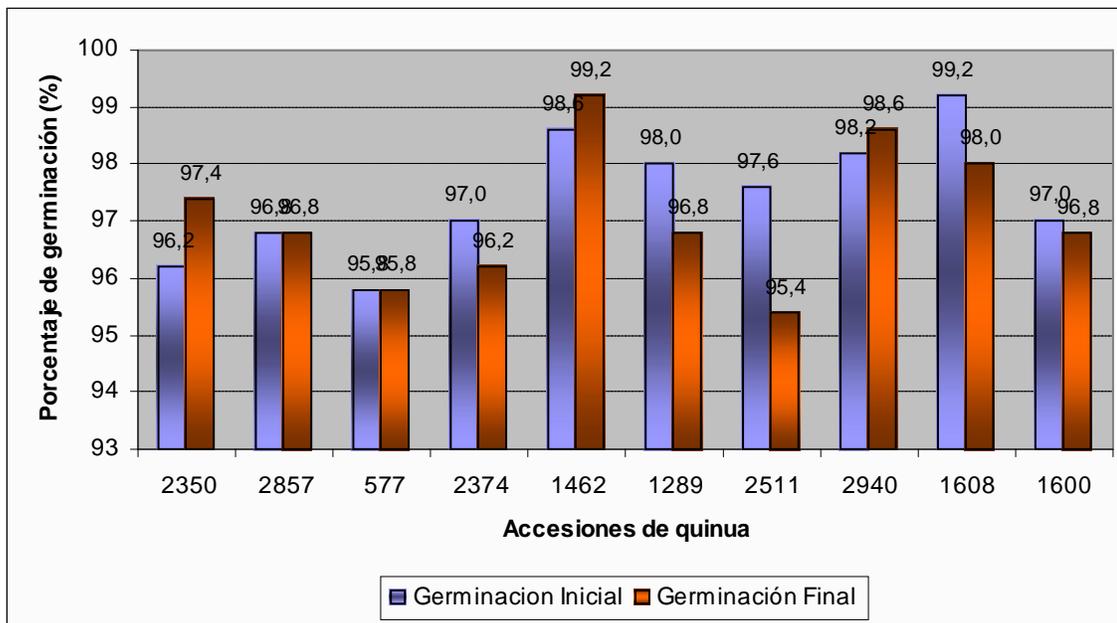


Figura 25. Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T1 20 °C

Según los resultados se determinó una media de 97.1% de porcentaje germinación para este tratamiento, con una variación de 1.47% respecto a la media, una máxima de 99.2% en la accesión 1462, y una mínima de 95.4% en la accesión 2511. En general las 10 accesiones tuvieron un comportamiento moderado con descensos y ascensos en su viabilidad sin muchos cambios significativos.

En la Figura 25 se muestra el comportamiento de la germinación monitoreado a un año de almacenamiento desecados bajo el tratamiento térmico de 20 °C, resultados de la prueba que se compararon con la germinación inicial para ver las variaciones existentes. En este caso tres accesiones (1462, 2940 y 2350) presentaron incrementos en sus porcentajes de germinación de 0.4 a 1.2% , incrementos de la germinación que pueden ser influenciados por la selección al azar de 500 semillas por accesión, que aquellas muestreadas para los datos iniciales. Bioversity International (2007) menciona

que la selección de germoplasma para el almacenamiento debe ser al azar por lo que la viabilidad de un lote de semillas puede variar a otra.

Los descensos de germinación se registraron en las accesiones 2374, 1289, 2511, 1608 y 1600 entre 0.2% a 2.2%, y la accesiones 2857 y 577 mantuvieron sin cambios durante el proceso de almacenamiento. Estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) reportan que a una temperatura de secado de 40 °C, los descensos de germinación variaron entre 1 y 3% en promedio de 247 accesiones evaluadas.

Analizando los resultados se tiene que el 50% de las accesiones han superado y mantenido su viabilidad inicial, y el 50% de las accesiones ha sufrido una leve variación entre 0.2 a 2.2%, desecados bajo el tratamiento termico de 20 °C. Resultados que se pueden comparar con estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) quienes determinaron un descenso del 3% en la colección núcleo de quinua.

4.5.2 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 25 °C

En el Cuadro 12, se presenta los resultados de porcentaje de germinación de los primeros seis meses del 2007 (Mayo, Junio, Julio, Agosto, Septiembre y Octubre) y Abril del 2008, desecados a una temperatura de 25 °C.

Cuadro 12. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 25 °C.

Mes	2007						2008
	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Abril
Acc.	%G						
2350	97,4	96,4	98,4	97,2	96,2	97,4	97,0
2511	93,4	91,6	94,0	94,8	94,4	93,8	93,8
2857	96,6	96,8	94,8	97,8	96,2	96,4	95,6
1608	97,6	98,8	98,8	96,8	97,6	97,6	97,2
2940	98,4	91,6	98,8	97,2	97,8	98,0	96,4
1600	97,4	96,4	97,0	96,6	97,4	96,8	97,2
1462	99,4	99,0	98,8	99,0	98,8	98,4	98,6
1289	96,8	85,0	93,0	97,6	98,2	97,0	96,6
577	96,0	95,4	95,4	97,2	96,0	96,2	96,4
2374	96,2	89,6	97,0	95,0	96,8	95,8	95,4

El Cuadro 12 detalla el monitoreo realizado del porcentaje de germinación a un año de almacenamiento, bajo el tratamiento térmico de 25 °C, registrando un descenso de la germinación en 6 de las accesiones, un incremento de la germinación en el 3 de las accesiones y sin cambios en una de las accesiones, respecto al porcentaje de germinación inicial.

Según los resultados se determinó una media de 96.42% de porcentaje germinación, con una variación de 1.65% respecto a la media, una máxima de 98.6% en la accesión 1462, y una mínima de 93.8% en la accesión 2511.

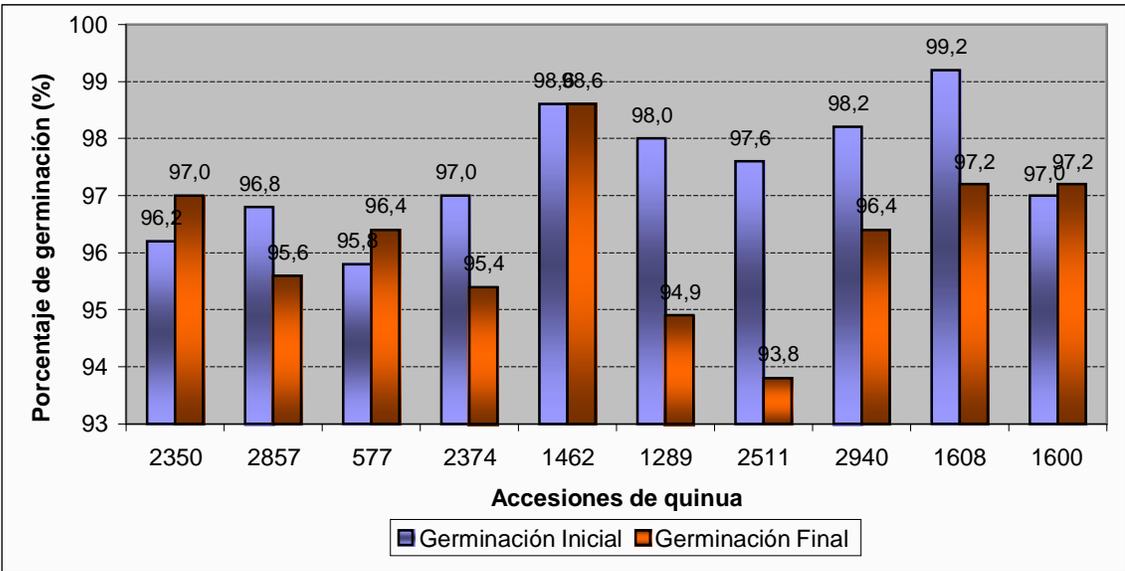


Figura 26. Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T2 25 °C

En la Figura 26, se muestra el comportamiento de la germinación monitoreado a un año de almacenamiento desecados bajo el tratamiento térmico de 25 °C. En este caso se determinó que tres accesiones (2350, 0577, 1600) presentaron incrementos en sus porcentajes de germinación de 0.2 a 0.8% , incrementos en la germinación que pueden deberse a la selección al azar de 500 semillas por accesión, que aquellas muestreadas para los datos iniciales. Bioversity International (2007) señala que la selección de germoplasma debe ser al azar por lo que viabilidad de un lote de semillas muestreadas puede variar respecto a la otra.

Los descensos de germinación se registraron en las accesiones 2857, 2374, 1289, 2511, 2940 y 1608 entre 1.2% a 3.8%, durante un año de almacenamiento. Estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) reportan que a una temperatura de desecación de 40 °C, los descensos de germinación variaron entre 1 y 3% en promedio de 247 accesiones evaluadas.

Analizando los resultados se tiene que a una temperatura de desecación de 25 °C se afectó considerablemente en seis de las accesiones de quinua estudiadas, pero aún mas en las accesiones 2857 y 1608 con descensos de hasta el 3%.

4.5.3 Respuesta del porcentaje de germinación al almacenamiento bajo el tratamiento térmico de 30 °C

En el Cuadro 13 se presenta los resultados de porcentaje de germinación de los seis meses del 2007 (Mayo, Junio, Julio, Agosto, Septiembre y Octubre), y abril 2008, desecados a una temperatura de 30 °C.

Cuadro 13. Respuesta de la germinación de 10 accesiones de quinua en un año de almacenamiento a una temperatura de desecación de 30 °C.

Mes	2007						2008
	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Abril
Acc.	%G						
2350	97,4	95,8	97,4	97,6	97,0	97,6	94,8
2511	92,0	92,2	95,6	95,8	93,8	94,4	93,8
2857	97,0	96,4	96,8	96,6	97,8	96,2	94,4
1608	97,6	95,4	96,6	97,8	96,8	97,4	97,2
2940	98,6	98,2	98,0	98,0	97,4	98,0	97,4
1600	97,2	90,0	97,8	96,8	97,0	96,4	96,0
1462	98,8	98,2	98,4	99,0	99,2	98,6	97,4
1289	96,8	91,8	96,6	98,2	96,8	98,0	97,0
577	93,6	93,0	96,4	96,2	96,0	95,8	96,4
2374	94,4	88,0	96,2	96,2	96,6	97,0	96,6

El Cuadro 13, detalla el monitoreo realizado del porcentaje de germinación en un año de almacenamiento, bajo el tratamiento térmico de 30 °C, registrando un descenso de

la germinación en 9 de las accesiones y un incremento en una de las accesiones respecto al porcentaje de germinación inicial.

Según los resultados se determinó una media de 96.18% de porcentaje de germinación, con una variación de 1.33% respecto a la media, registrando una máxima de 97.4% en las accesiones 1462 y 2940, y una mínima de 93.8% en la accesión 2511.

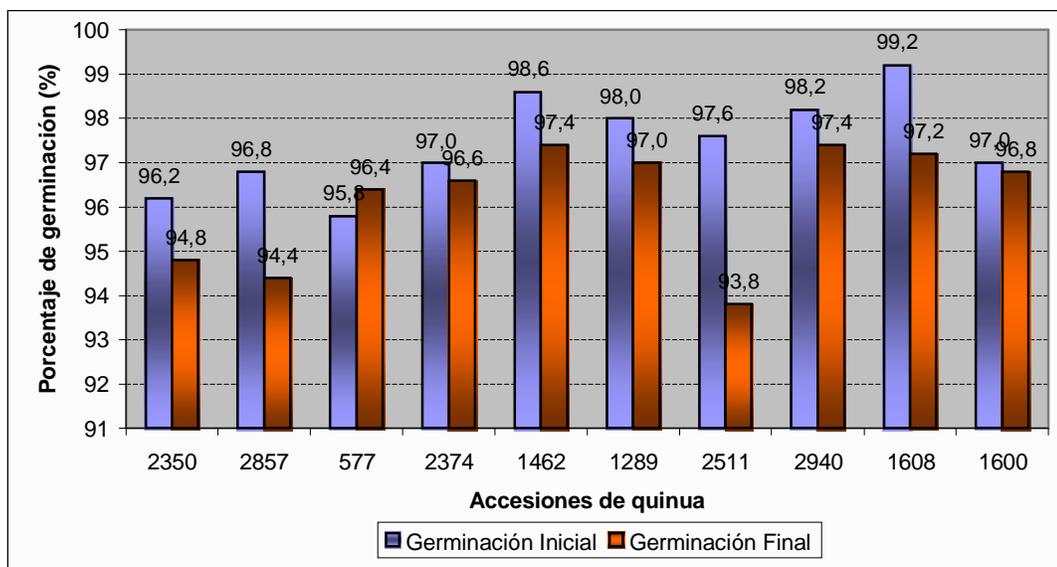


Figura 27. Comportamiento de la germinación en un año de almacenamiento de diez accesiones de quinua bajo el T3 30 °C

En general la mayoría de las accesiones presentaron descensos en su viabilidad. Lo cual puede deberse a la alta temperatura de desecación tal como señala Bioversity internacional (2007), que a altas temperaturas de desecación se afecta directamente a la fisiología de las semillas reduciendo su viabilidad.

En la Figura 27, se muestra el comportamiento de la germinación monitoreado a un año de almacenamiento desecados bajo el tratamiento térmico de 30 °C. En este caso se determinó que solo la accesión (0577) presentó un incremento de 0.6% en su porcentaje de germinación, incremento que puede deberse a la selección al azar de 500 semillas por accesión, que aquellas muestreadas para los datos iniciales. Bioversity International (2007) señala que la selección de germoplasma debe ser al azar para su

conservación, por lo que la viabilidad de un lote de semillas respecto a la otra puede variar.

Los descensos de germinación se registraron en las accesiones 2350, 2857, 2374, 1462, 1289, 2511, 2940, 1608 y 1600 entre 0.2% a 3.8%, durante un año de almacenamiento. Estudios realizados por Rojas y Camargo (2002) reportan que a una temperatura de desecación de 40 °C, los descensos de germinación variaron entre 1 y 3% en promedio de 247 accesiones evaluadas.

Comparando los resultados se tiene que a una temperatura de desecación de 30 °C se afectó considerablemente en nueve de las accesiones estudiadas, pero aún mas en las accesiones 2857 y 1608 con descensos de hasta el 2.4% y 3.4% respectivamente. Por lo que se determina que a esta temperatura no sería aconsejable realizar la desecación de las semillas de quinua.

Cuadro 14. Estadística descriptiva de los promedios de la germinación inicial y de los tratamientos de desecación, en un año de almacenamiento.

Germinación Inicial		Germinación bajo el T1 20 °C		Germinación bajo el T2 25 °C		Germinación bajo el T3 30 °C	
Parámetro	Valor (%)	Parámetro	Valor (%)	Parámetro	Valor (%)	Parámetro	Valor (%)
Media	97,4	Media	97,1	Media	96,42	Media	96.18
Desviación estándar	1,07	Desviación estándar	1,21	Desviación estándar	1.28	Desviación estándar	1.33
Varianza de la muestra	1,15	Varianza de la muestra	1,47	Varianza de la muestra	1.65	Varianza de la muestra	1.78
Mínimo	95,8	Mínimo	95.4	Mínimo	93.8	Mínimo	93,8
Máximo	99,2	Máximo	99.2	Máximo	98.6	Máximo	97.4
Coef. de variación	1,09	Coef. de variación	1.24	Coef. de variación	1,32	Coef. de variación	1,38

Comparando los tres tratamientos de desecación: se tiene los mejores resultados de la germinación para el tratamiento T1 de 20 °C, con una media de 97.1%, con relación a la media de la germinación inicial de 97.4%, seguido por el T2 de 25 °C con una media de 96.42% y finalmente por T3 de 30 °C con 96.18% de germinación. Encontrándose una mayor variación en el T3 de 1.38%, seguido por el T2 con 1.32 y una menor variación

de 1.24% en el T1, el cual se acerca más al coeficiente de variación de la germinación inicial de 1.09%. Por otro lado los resultados más altos de germinación se mantienen parejos para los tres tratamientos con mínimas variaciones, pero si varia mucho en las mínimas ya que los valores más bajos los reporta el T2 y T3 (93.8%) y finalmente del T1 (95.4%) el cual se asemeja más al resultado mínimo (95.8%) de la germinación inicial. Tal como se muestra en el Cuadro 14.

Según los resultados se determinaron que existen pocas variaciones de la germinación a una menor temperatura de desecación. Resultados que se respaldan con estudios realizados por Rojas y Camargo (2003) quienes señalan que a menores temperaturas de desecación existe un menor daño causado en la fisiología de las semillas.

Cuadro 15. Descenso de la germinación bajo tres tratamientos térmicos de desecación de 10 accesiones de quinua.

Acc.	T1 20 °C			T2 25 °C			T3 30 °C		
	G%I	G%F	Dif.	G%I	G%F	Dif.	G%I	G%F	Dif.
2350	96,2	97,4	-1,2	96,2	97,0	-0,8	96,2	94,8	1,4
2857	96,8	96,8	0,0	96,8	95,6	1,2	96,8	94,4	2,4
577	95,8	95,8	0,0	95,8	96,4	-0,6	95,8	96,4	-0,6
2374	97,0	96,2	0,8	97,0	95,4	1,6	97,0	96,6	0,4
1462	98,6	99,2	-0,6	98,6	98,6	0,0	98,6	97,4	1,2
1289	98,0	96,8	1,2	98,0	96,6	1,4	98,0	97,0	1,0
2511	97,6	95,4	2,2	97,6	93,8	3,8	97,6	93,8	3,8
2940	98,2	98,6	-0,4	98,2	96,4	1,8	98,2	97,4	0,8
1608	99,2	98,0	1,2	99,2	97,2	2,0	99,2	97,2	2,0
1600	97,0	96,8	0,2	97,0	97,2	-0,2	97,0	96,8	0,2

En cuanto a los descensos de la germinación, nueve de las accesiones sufrieron descensos bajo el T3 (30 °C), seis de las accesiones bajo el T2 (25 °C) y cinco de las accesiones sufrieron daños bajo el T1 de (20 °C). Por otro lado los mayores descensos se reportan en el T3 y T2 con 3.8%, y el menor por el T1 con 2.2%. Resultados que nos muestra un menor descenso de la germinación a menor temperatura de desecación y mayor descenso de la germinación a temperaturas altas de desecación.

Cuadro 16. Descenso de la germinación promedio, bajo los tratamientos térmicos de desecación, según el color de grano de 10 accesiones de quinua

Color grano	%G Inicial	T1 20 °C		T2 25 °C		T3 30 °C	
		%G final	Dif.	%G final	Dif.	%G final	Dif.
Habano	97,7	97,7	0,0	97,1	0,6	96,7	1,0
Crema	97,3	96,8	0,5	96,5	0,8	96,2	1,3
Negro	97,3	95,8	1,5	94,6	2,7	95,2	-0,7
Rojo	97,2	97,5	-0,3	97,5	-0,3	96,9	0,1
Amarillo	98,2	98,6	-0,4	96,4	1,8	97,4	0,2

En cuanto al porcentaje de germinación evaluado según el color de grano se tiene que los tratamientos T3 de 30 °C y T2 de 25 °C, son los que causaron mayores daños en la fisiología de las semillas, disminuyendo la germinación bajo el T3 en cuatro colores de grano: habano, crema suave, rojo y amarillo entre 0.1 y 1.3%, y bajo el T2 se afectaron a las accesiones con colores de grano Habano-café, crema suave, negro y amarillo entre 0.6 a 2.7%, seguido por el T1 con descensos de la germinación entre 0.5 a 1.5% en los colores de grano, crema suave y negro, tal como se muestra en el Cuadro 16. Determinándose menores daños causados en el color de las semillas por parte del T1 (20 °C), y por el contrario un mayor daño por parte del T3 (30 °C).

En cuanto al efecto en el tamaño de las semillas se determinó que a una temperatura de desecación de 20 °C se disminuyó la germinación en 0.5%, en las accesiones con granos de tamaño grandes y no así en aquellas accesiones con granos de tamaños medianos y pequeños que han mantenido y superado la germinación inicial. A una temperatura de 25 °C y 30 °C de desecación se afectó más en las accesiones con tamaños de grano medianos y pequeños con descensos entre 0.6 a 1.2% y no así en aquellas accesiones con tamaños de grano grande que han incrementado su germinación.

4.6 Análisis estadístico de la germinación a tres tratamientos de desecación en un año de almacenamiento

En el Cuadro 17 se observa el análisis de varianza de porcentaje de germinación de 10 accesiones de quinua evaluados en un año de almacenamiento, encontrando diferencias altamente significativas para el tratamiento de temperatura ($P > 0.0001$), de igual forma para los subtratamientos accesiones ($P > 0.0001$), y también para la interacción entre las temperaturas y las accesiones ($P > 0.0001$).

Cuadro 17. Análisis de varianza de porcentaje de germinación promedio de un año de almacenamiento

Fuentes de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F Cal	Pr>F
Temperatura	2	18.690	9.345	33.27	0.0001 **
Accesión	9	231.284	25.698	91.49	0.0001 **
Temp*accesión	18	35.145	1.952	6.95	0.0001 **
Error	120	33.708	-	-	-
total	149	318.828	-	-	-

GL= Grados de libertad; CM= Cuadrado medio; F Cal = F calculada; Pr F = Probabilidad de F;
 ** Altamente significativo; * = Significativo; ns= no significativo
 C.V. = 0.548%

Los resultados indican que existe una alta influencia por parte de los tratamientos que son las temperaturas y los subtratamientos accesiones en el porcentaje de germinación, como también la interacción entre ellas. Esto se atribuye a que se tiene una heterogeneidad de accesiones en el estudio, como la diferente procedencia de las accesiones, color, tamaño y forma de grano. Con un coeficiente de variación de 0.548%, lo que demuestra que los datos tienen una alta confiabilidad tal como afirma Calzada (1970).

Cuadro 18. Promedios de porcentaje de germinación de 10 accesiones de quinua desecados a tres temperaturas y la prueba de Tukey.

Temperatura (°C)	Promedios (%)	Tukey (5%)
20	97.1020	A
25	96.3740	B
30	96.3340	B

Los promedios de germinación para las temperaturas de desecación y la prueba de Tukey a (5%) se observan en el Cuadro 18, donde la primera temperatura con 97.1020% es superior a la segunda y tercera temperatura con 96.3740% y 96.3340% respectivamente. Esta diferencia de la germinación se puede atribuir a los daños causados en mayor o menor grado por la temperatura de desecación, en las semillas de las 10 accesiones, los cuales tienen características únicas en cuanto a lugar de procedencia, color, tamaño y forma de grano. Estadísticamente el tratamiento de 20 °C., es superior a los tratamientos de 25 °C. y 30 °C., que a la vez son iguales estadísticamente entre estos dos tratamientos.

Los resultados muestran que a menor temperatura de desecación la respuesta de la germinación es mayor y viceversa. Tal como señala Rojas y Camargo (2003) que a menores temperaturas de desecación existe un menor daño causado en la fisiología de las semillas. También la Norma para Bancos de Genes (1994), recomienda usar temperaturas de desecación de 10-20 °C., para mantener la viabilidad de las semillas en mejor estado, con alta viabilidad y larga duración en el almacenamiento.

V. CONCLUSIONES

Se estudió la calidad fisiológica de las 10 accesiones de quinua, obteniendo los resultados satisfactorios de porcentaje de pureza entre los rangos de (88,67 – 97,33%), con un porcentaje de impurezas aceptable para el estudio.

La germinación reporto, entre 95.8 a 99.2%, resultados que han superado los requerimientos mínimos para la conservación con una variación aceptable entre las accesiones de estudio.

El contenido de humedad inicial de las semillas de las diez accesiones varió entre 10.05 a 12.55%, reportando mayor contenido de humedad las semillas provenientes de valles y no así las semillas del altiplano.

La reducción de la humedad de las semillas fue satisfactoria bajo los tres tratamientos de temperatura, ya que se alcanzó los niveles del 3 al 7% que exige la Norma para Bancos de Genes. Aquí la reducción de humedad de las semillas a temperaturas bajas demoró más tiempo y para temperaturas altas la reducción de humedad se la realizó en menos tiempo.

El almacenamiento del germoplasma se realizó cumpliendo las normas exigidos por los Bancos de Genes, con monitoreos de germinación mensuales.

El monitoreo la germinación se realizó durante los primeros seis meses y luego a un año de almacenamiento, con un comportamiento variable de la germinación, entre las diez accesiones y bajo los tres tratamientos de desecación.

Se determinó una mejor respuesta de la germinación de las diez accesiones de quinua a bajas temperaturas de desecación y no así a altas temperaturas que causaron mayores daños en la viabilidad de las semillas, con mayores variaciones de la germinación entre las diez accesiones. Es así que se afectó el porcentaje de germinación en cinco de las accesiones bajo el tratamiento térmico de 20 °C, seis

accesiones bajo el tratamiento térmico de 25 °C y nueve accesiones bajo el tratamiento térmico de 30 °C.

Se determinó un menor descenso de la germinación de las accesiones estudiadas a bajas temperaturas (20 °C) de desecación y mayor descenso a temperaturas altas (25 y 30 °C).

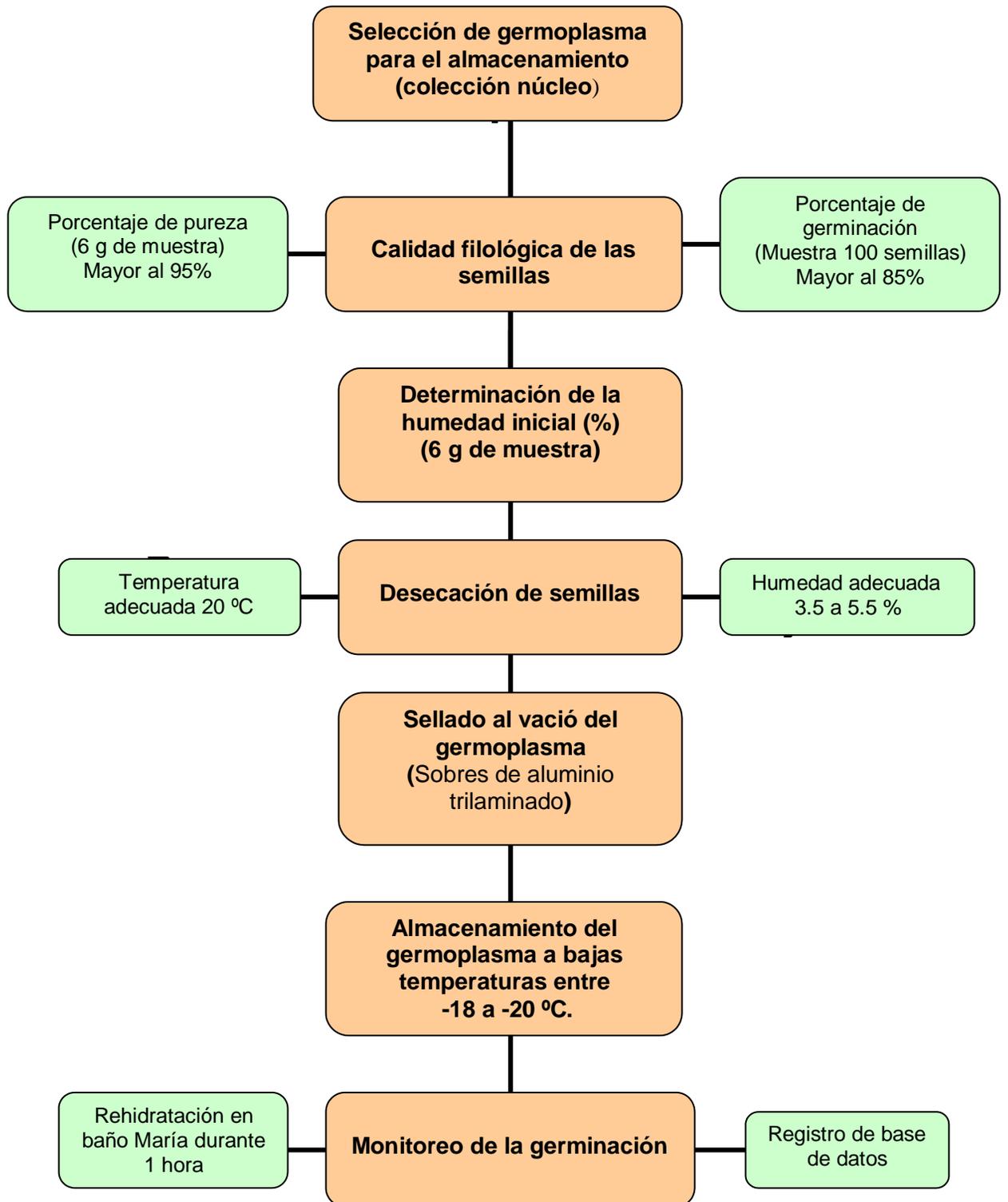
El porcentaje de germinación evaluado según el color de grano de las semillas reportó que a altas temperaturas de desecación el daño es mayor en la fisiología de las semillas, reduciendo el porcentaje de la germinación en la mayoría de las accesiones, en cambio a bajas temperaturas se tuvo menor daño causado en la germinación de las semillas.

Analizando los resultados y antecedentes se tiene que el tratamiento de desecación a 20°C, ha mostrado los mejores resultados a un año de almacenamiento, obteniendo pocas variaciones entre las accesiones y menores descensos en el porcentaje de la germinación, evaluados según el color y tamaño de grano de accesiones de quinua.

Estadísticamente se ha demostrado que la temperatura de desecación de 20 °C., registró una mejor respuesta de la germinación durante un año de almacenamiento respecto a los otros tratamientos.

Se concluye que el tratamiento de desecación en horno extractor de humedad a 20°C, sería la temperatura mas adecuada y recomendable, para la reducción de humedad de las semillas para la conservación a largo plazo de germoplasma de quinua.

Se determinó la metodología base para la conservación a largo plazo con los siguientes pasos y recomendaciones:



VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con los monitoreos de la germinación en intervalos de tiempo de cinco años o más.

Se debe controlar adecuadamente los tiempos de desecación de las semillas ya que estos pueden causar efectos negativos en la germinación.

Se aconseja no realizar la rehidratación por más de una hora ya que se causa daños en la fisiología de las semillas.

Tener cuidado en la siembra de las semillas en cajas petri, se aconseja poner semillas dispersas dentro las cajas petri, con el objeto de facilitar el conteo de las semillas al momento de la evaluación.

No agregar agua en exceso a las semillas sembradas ya que se pueden causar daños por imbibición o pueden llegar a morir.

Se debe tener mucho cuidado en la rehidratación de las semillas, en cuanto al tiempo y la forma en la que se realice.

Realizar un conteo estricto de semillas germinadas, muertas, duras, latentes y anormales, con el objeto de tener resultados precisos.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVAREZ A. 2002, Cultivos andinos FAO, Conservación de semillas; <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom>.
- BARTON, L.V. 1961. Experimental seed physiology at Boyce Thompson Institute for Plant Research, Inc., Yonkers, NY, USA 1924-1961. Proc. Int. Seed Testing Assoc. 26:561-596.
- CUEVAS, A.J. 1988. Recursos fitogenéticos: Bases conceptuales para su estudio y conservación. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 244p.
- DASGUPTA, J., J.D. BEWLWY and E.C. YEUNG. 1982. Desiccation-tolerant and desiccation-intolerant stages during the development and germination of *Phaseolus vulgaris* seeds. J. Exp. Bot. 33:1045-1057.
- DICKIE, J.B., M.J. BALICK and I.M. LININGTON. 1992. Experimental investigations into the feasibility of ex situ preservation of palm seeds; an alternative strategy for biological conservation of this economically important plant family. Biodiversity and Conservation 1:112-119.
- ENGLE, L.M. 1992. Introduction to concepts of germplasm conservation. En: Germplasm collection, evaluation, documentation and conservation (M.L. Chadna, A.M.K. Anzad Hossain y S.M. Monowar Hossain, comp.). Memorias del curso realizado en Bangladesh por el Asian Vegetable Research and Development Center, el Bangladesh Agricultural Research Council y el Bangladesh Agricultural Research Institute, mayo 4-6 de 1992. Asian Vegetable Research and Development Center, Taiwan. p. 11-17.
- ELLIS, R.H., T.D. HONG y E.H. ROBERTS. 1985. Seed technology for genebanks. Handbook for Genebanks N°2, Vol. 1. International Board for Plant Genetic Resources Institute, Italia. 210p.
- ELLIS, R.H. and E.H. ROBERTS. 1980a. Improved equations for the prediction of seed longevity. Ann. Bot. 45:13-30.
- EVANS, G., 1957. The viability over a period of fifteen years of severely dried ryegrass seed. Journal of the British Grassland Society 12, 286-9.

FAO/IPGRI. 1994. Normas para bancos de genes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación e Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Italia. 15p.

FAO. 1998. The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia. 510p.

HIDALGO, R. 1991. Conservación ex situ. En: Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales (R. Castillo, J. Estrella y C. Tapia, eds.). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Ecuador. p. 71-87.

HOLLE O. M. 2004. Recursos genéticos vegetales, La Molina, Lima, Perú, p. 445

HONG, T.D. and R.H. ELLIS. 1992b. The survival of germinating orthodox seeds after desiccation and hermetic storage. J. Exp. Bot. 43:239-247.

HONG, T.D., S. LININGTON y R.H. ELLIS. 1996. Seed storage behavior: A compendium. Handbook for Genebanks N° 4. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 656p.
<http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pubselect.asp>.

HONG, T.D. and R.H. ELLIS . 1996. A protocol to determine seed storage behavior. Technical Bulletin N° 1. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 64p.
<http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pubselect.asp>.

ISTA.2005a. International rules for seed testing. Seed Science and Technology Suplemento 21:1-86. ISTA. Bassersdorf, Suiza.

ISTA, International Seed Testing Association, 1985a International rules for seed testing. Rules 1985. Seed Science and Technology 13, 299-355.

ISTA, International Seed Testing Association, 1985b International rules for seed testing. Annexes 1985. Seed Science and Technology 13, 356-513.

JARAMILLO, S. Y M. BAENA. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos filogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Filogenéticos, Cali, Colombia. 122 p.

LITTLE, T. y HILLS, J. 1991. Métodos Estadísticos para la investigación en la agricultura, Editorial Trillas, México 268 p.

MAXTED, N., B.V. FORD-LLOYD y J.G. HAWKES (eds.). 1997. Plant genetic conservation: The in situ approach. Chapman and Hall, Reino Unido. 446p.

MAYOR, P., ESCUDERO, M. C., 2002, J. Conservación de Recursos Filogenéticos Agrícolas (I). Catalá, M. S. Y Costa.

NORMA PARA BANCOS DE GENES. 1994. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma.

PADRON C. EMILIO, 1996, Diseños experimentales, con la aplicación a la agricultura y la ganadería. Ed. Trillas México D. F., Primera edición.

RAO, R. y K.W. RILEY. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Genetic Resources Newsletter 97:3-20.

BIOVERSITY, 2007, RAO, N. K., HANSON J., DULLOO, M. E. y GOGDBERG, E., Manejo de semillas en bancos de germoplasma: Módulo de autoaprendizaje (CD-ROM). Bioversity Internacional, Roma Italia.

ROBERTS, E. H. y ABDALLA, F. H., 1968. The influence of temperature, moisture and oxygen on period of seed viability in barley, broad beans, and peas. Annals of botany 32, 97-117.

ROJAS, W. 2003. Colección núcleo de cañahua en base a caracteres agro morfológicos. Informe Anual 2002/2003. Proyecto IPGRI-IFAD. Fundación PROINPA. 8 p.

ROJAS, W. y CAMARGO A., 2003, Establecimiento de un método de reducción del contenido de la humedad del grano de la quinua, Informe Anual 2002/2003. Proyecto IPGRI-IFAD. Fundación PROINPA.

S.-E. JACOBSEN Y ANGEL MUJICA, 1988. Almacenamiento de las semillas de quinua, <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom>.

TOWIL, L.E. y E.E. ROOS. 1989. Techniques for preserving of plant germplasm. En: Biotic diversity and germplasm preservation, global imperatives (L. Knutson y A.K. Stoner, eds.). Kluwer Academic Publishers, Holanda. p. 379-403.

ANEXO 2

PORCENTAJE DE GERMINACION INICIAL

Acc.	Germinadas normales						Muertas						Duras						Anormales						Obs.	Eval.	
	R1	R2	R3	R4	R5	%G	R1	R2	R3	R4	R5	%M	R1	R2	R3	R4	R5	%D	R1	R2	R3	R4	R5	%A			%NG
																											03/01/07
2350	93	92	100	100	96	96,2	2	0	2	0	0	0,8	4	4	0	0	0	1,6	1	2	0	0	4	1,4	3,8		03/01/07
2857	95	96	97	100	96	96,8	5	2	0	0	0	1,4	0	3	0	3	0	1,2	0	2	0	0	1	0,6	3,2		03/01/07
577	95	96	96	95	97	95,8	1	1	1	2	1	1,2	4	2	0	1	2	1,8	0	1	3	2	0	1,2	4,2		03/01/07
2374	96	98	97	98	96	97,0	0	1	1	1	2	1,0	3	1	1	1	1	1,4	1	0	1	0	1	0,6	3,0		27/01/07
1462	99	99	98	99	98	98,6	1	1	2	1	0	1,0	0	0	0	0	1	0,2	0	0	0	0	1	0,2	1,4		03/01/07
1289	98	99	97	97	99	98,0	1	1	1	2	0	1,0	0	0	1	1	0	0,4	1	0	1	0	1	0,6	2,0		03/01/07
2511	97	100	98	96	97	97,6	0	0	0	0	0	0,0	2	0	0	4	3	1,8	1	0	2	0	0	0,6	2,4		03/01/07
2940	98	98	99	97	99	98,2	0	0	1	0	1	0,4	1	2	0	3	0	1,2	1	0	0	0	0	0,2	1,8		03/01/07
1608	100	99	99	98	100	99,2	0	1	1	0	0	0,4	0	0	0	2	0	0,4	0	0	0	0	0	0,0	0,8		03/01/07
1600	98	97	96	98	96	97,0	1	2	3	1	1	1,6	0	1	1	1	1	0,8	1	0	0	0	2	0,6	3,0		03/01/07

ANEXO 3

Resultados de la estandarización del tiempo de desecación del horno extractor de humedad

Reducción de humedad a 20 °C				Reducción de humedad a 25 °C				Reducción de humedad a 30 °C			
Nº Mo	Total horas	%H horno	%H semilla	Nº Mo	Total horas	%H horno	%H semilla	Nº Mo	Total horas	%H horno	%H semilla
Inicio	0	40	0,00	Inicio	0	19	0,00	Inicio	0	35	0,00
1	1	0	0,00	1	0	0	0,00	1	2	0	0,00
2	4	0	12,45	2	6	0	7,85	2	4	0	7,60
3	6	0	10,50	3	8	0	7,70	3	6	0	6,95
4	10	0	7,90	4	9	0	7,40	4	7	0	6,85
5	18	0	6,35	5	10	0	6,95	5	8	0	6,60
6	20	0	6,00	6	12	0	6,60	6	10	0	6,55
7	23	0	5,10	7	14	0	4,55	7	11	0	5,60
8	24	0	4,55	8	15	0	3,85	8	12	0	3,80