

Conservación *ex situ* de Recursos Fitogenéticos de especies nativas del Uruguay: Especies Medicinales y Aromáticas

INTRODUCCIÓN

Los objetivos de conservar recursos fitogenéticos *ex situ* son principalmente preservar la diversidad de las especies y obtener germoplasma para utilizar en mejoramientos genéticos. Recientemente se han conservado en el Banco de Germoplasma del Laboratorio de Botánica, entre otras, muestras de semillas (accesiones) de especies nativas de interés como aromáticas y medicinales.

Para cumplir con los objetivos de la conservación de germoplasma las accesiones deben mantenerse viables. El objetivo de este trabajo es informar sobre el estado de conservación en que se encuentran las accesiones correspondientes a especies con potencial aromático o medicinal.

De las 2858 accesiones conservadas, 52 corresponden a especies con potencial como aromáticas o medicinales colectadas entre los años 1997 a 2000, conservadas en condiciones controladas de humedad (contenido de humedad de la semilla entre 4-8%) y temperatura (a 4°C y/o -18°C). Son almacenadas únicamente especies que toleran la desecación (ortodoxas).

En estas 52 accesiones están representadas 19 especies de 6 familias como se detalla en el Cuadro 1.

Metodología

Siguiendo la rutina del Banco de Germoplasma, al ingresar al mismo se le adjudica a cada muestra un número de accesión para su identificación y se registran

Cuadro 1. Especies de interés como aromáticas o medicinales conservadas en el Banco de Germoplasma de la Facultad de Agronomía.

Familia	Especie	Accesiones conservadas
Apiaceae	<i>Apium leptophyllum</i>	1
Asteraceae	<i>Baccharis notoserghila</i>	2
	<i>Baccharis trimera</i>	1
	<i>Eupatorium buniifolium</i>	2
	<i>Solidago chilensis</i>	1
	<i>Stevia rebaudiana</i>	1
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7
	<i>Chenopodium retusum</i>	3
Lamiaceae	<i>Hedeoma multiflorum</i>	3
	<i>Hyptis floribunda</i>	4
	<i>Melissa officinalis</i>	1
	<i>Mentha pulegium</i>	3
	<i>Mentha rotundifolia</i>	1
	<i>Ocimum selloi</i>	6
	<i>Salvia guaranitica</i>	1
	<i>Salvia sclarea</i>	1
Poaceae	<i>Elionurus muticus</i>	2
Verbenaceae	<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	5
	<i>Aloysia gratissima</i>	7

todos los datos de utilidad (datos pasaporte) como:

- Nombre del colector
- Fecha de colecta
- Lugar de origen
- Lugar de colecta (en caso que no coincida con el origen)
- Observaciones ecológicas
- Observaciones de la planta

A las muestras de una misma población se les adjudica el mismo número de accesión. En los casos en que las muestras pertenecientes a una población tuvieran tratamientos diferentes se opta por agregar una letra o número seguido del número de accesión para indicar las diferencias como se detalla:

- (A)= diferentes fechas de cosecha
- (B)= fechas de secado diferidas
- (C)= conservadas a -18°C , sin desecar
- (D)= conservadas a -18°C , desecadas
- (1)= regeneración de la accesión original

Para evaluar el estado de las accesiones al ingresar al Banco de Germoplasma se toman los siguientes datos (datos de laboratorio):

- % de germinación
- peso de 1000 semillas
- % de semilla llena
- peso total de la accesión
- número de semillas viables por accesión

Luego se procede a bajar el contenido de humedad de las semillas para conservarlas a bajas temperaturas. La técnica de secado consiste en colocar, en cámaras herméticas, pesos equivalentes de desecante (Silica gel) y semilla por determinado número de días (dependiendo del tamaño y contenido de humedad inicial de las mismas). Una vez secas se envasan en sobres trilaminados de aluminio-poliéster-poliétileno. La conservación a corto plazo (hasta 10 años) se realiza en heladeras a 4°C , mientras que para plazos mayores se utilizan freezers a temperaturas de -18°C .

En los monitoreos posteriores para evaluar el estado de conservación se realizan pruebas de germinación con las que se estima la viabilidad de las semillas

Para algunas de las especies se encontró que la metodología para efectuar la prueba de germinación estaba estandarizada, es decir que la especie figuraba en la bibliografía especializada en la que se dan recomendaciones en cuanto a las condiciones óptimas para su germinación. Para realizar las pruebas de germinación de las especies que no figuran en la bibliografía se siguieron las recomendaciones indicadas para especies del mismo género o en su defecto de la misma familia. Los tratamientos previos a las pruebas de germinación (pre-tratamientos), indicados para superar posibles problemas de

dormancia, consistieron en aplicar Nitrato de Potasio (KNO_3) al inicio de la prueba o mantener a 4°C por una o dos semanas previas al inicio de la prueba con o sin aplicación de KNO_3 . En algunas especies se separaron sub-muestras para realizar ensayos con el fin de determinar las condiciones óptimas para la germinación, información que se presenta al final de este Capítulo.

Resultados

Todas las accesiones presentan los datos pasaporte referidos al origen, lugar de colecta, colectores y fecha de colecta, pero son pocas las que cuentan con observaciones ecológicas y de la planta.

Los resultados de laboratorio referentes a peso de 1000 semillas y % de germinación, obtenidos en monitoreos realizados entre 1999 y 2001 se presentan en el Cuadro 2.

Los resultados de los monitoreos realizados este año (2004) se indican en el Cuadro 3.

Las accesiones 7353 (*Hedeoma multiflorum*) y 7685 (*Elionurus muticus*) fueron conservadas sin que se les realizara prueba de germinación dada la escasa cantidad de semilla.

Se decidió no conservar las accesiones que se detallan a continuación, por presentar porcentajes de germinación inferiores a 1:

Baccharis trimera, 7374 B

Aloysia gratissima, 7401 B

Solidago chilensis, 7399 B

Stevia rebaudiana, 7582 B

Chenopodium retusum, 7377 B

Los resultados de las pruebas de germinación de las siete especies a las que se les aplicaron distintas condiciones previo o durante la prueba se presentan al final de este Capítulo. Determinado el mejor tratamiento, se graficó la velocidad de germinación para cada especie (Gráfica 1). *Chenopodium retusum* fue la única especie que requirió más de tres semanas para alcanzar su máxima germinación y el porcentaje de semillas germinadas fue bajo (29%). Algunas especies de éste género pueden presentar una dormancia considerable por lo cual estos resultados pueden responder a que ninguno de los tratamientos fue el adecuado para superar esta condición más que a una baja viabilidad de las semillas. Las

Cuadro 2: Resultados del peso de 1000 semillas y pruebas de germinación de monitoreos realizados entre 1999 y 2001.

ESPECIE	ACCESION	Colecta (mes/año)	Almacenamiento	Peso 1000 (grs)	% germinación
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402	5/1997	—	0,5	65
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402 B	5/1997	9/1999	0,5	15
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402 (1)	4/1998	9/1999	0,75	7
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402 (1) A	1/1999	9/1999	0,92	69
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7678	2/2000	8/2000		26
<i>Aloysia gratissima</i>	7585	4/1998	7/2000	0,25	17
<i>Aloysia gratissima</i>	7401	5/1997	—	0,22	47
<i>Aloysia gratissima</i>	7401 (1)	12/1998	9/1999	0,4	69
<i>Aloysia gratissima</i>	7401 (1) A	5/1998	9/1999	0,4	19
<i>Aloysia gratissima</i>	7590	4/1998	9/1999	0,22	29
<i>Aloysia gratissima</i>	7581	4/1998	9/1999	0,23	19
<i>Aloysia gratissima</i>	7677	2/2000	9/2000		29
<i>Apium leptophyllum</i>	7579	5/1998	9/1999	0,24	70
<i>Baccharis notoserigila</i>	7373	4/1997	—	0,14	18**
<i>Baccharis notoserigila</i>	7373 B	4/1997	9/1999	0,14	14
<i>Baccharis trimeria</i>	7374	4/1997	—	0,02	62*
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375	4/1997	—	0,17	100
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375 B	4/1997	9/1999	0,17	98
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375 C	4/1997	—	0,17	100
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375 D	4/1997	—	0,17	100
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7580	6/1998	9/1999	0,12	97 **
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7696	3/1999	3/2001	—	61
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7697	5y7/1999	3/2001	—	4
<i>Chenopodium retusum</i>	7377	4/1997	—	0,85	29*
<i>Chenopodium retusum</i>	7377 D	4/1997	—	0,85	10
<i>Chenopodium retusum</i>	7377 C	4/1997	—	0,85	14
<i>Elionurus muticus</i>	7589	12/98-1/99	9/1999	2,35	100
<i>Elionurus muticus</i>	7685	12/99-3/00	7/2000	—	—
<i>Eupatorium buniifolium</i>	7376	4/1997	—	0,24	95
<i>Eupatorium boniifolium</i>	7376 B	4/1997	10/1999	0,24	50
<i>Hedeoma multiflorum</i>	7353	1/1997	9/1999	0,3	—
<i>Hedeoma multiflorum</i>	7353 (1)	1/1998	9/1999	0,16	12
<i>Hedeoma multiflorum</i>	7587	2/1998	10/1999	0,16	70
<i>Hyptis floribunda</i>	7378	4/1997	—	0,45	94 *
<i>Hyptis floribunda</i>	7378 B	4/1997	9/1999	0,45	14*
<i>Hyptis floribunda</i>	7378 (1)	3/1998	9/1999	0,53	3
<i>Hyptis floribunda</i>	7684	12/1999	7/2000	—	31*
<i>Melissa officinalis</i>	7683	2/2000	9/2000	—	10**
<i>Mentha pulegium</i>	7362 (1)	2/1999	9/1999	0,09	81 **
<i>Mentha pulegium</i>	7680	2/2000	8/2000	—	84**
<i>Mentha pulegium</i>	7701	4/1999	5/2001	—	41**
<i>Mentha rotundifolia</i>	7403	4/1997	9/1999	0,05	74
<i>Ocimum selloi</i>	7352	1/1997	—	0,5	38
<i>Ocimum selloi</i>	7352 B	1/1997	9/1999	0,5	29
<i>Ocimum selloi</i>	7352 (1) A	3/1998	9/1999	0,99	87
<i>Ocimum selloi</i>	7352 (1)	1/1998	9/1999	0,75	42
<i>Ocimum selloi</i>	7699	4/1999	—	—	3
<i>Ocimum selloi</i>	7698	1/2000	—	—	93
<i>Salvia guaranitica</i>	7586	1/1998	9/1999	1,5	1
<i>Salvia sclarea</i>	7679	2/2000	7/2000	—	87
<i>Solidago chilensis</i>	7399	5y6/1999	9/1999	—	31***
<i>Stevia rebaudiana</i>	7700		5/2001	—	9*

*Pre-tratamiento con KNO3 - **Pre.tratamiento con KNO3 + 14 días pre-enfriamiento - *** Pre-tratamiento: pre-enfriamiento

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de germinación de las accesiones monitoreadas en 2004.

Especie	Accesión	% de germinación
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402 (1) A	44
<i>Aloysia gratissima</i>	7401 (1)	48
<i>Apium leptophyllum</i>	7579	45***
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375	96*
<i>Hedeoma multiflorum</i>	7587	69
<i>Melissa officinalis.</i>	7683	6***
<i>Mentha pulegium</i>	7362 (1)	36**
<i>Mentha pulegium</i>	7680	79 **
<i>Mentha rotundifolia</i>	7403	45**
<i>Salvia guaranitica</i>	7586	0***
<i>Salvia sclarea</i>	7679	56***

* Pre-tratamiento con KNO₃ - **Pre.tratamiento con KNO₃ + 7 días pre-enfriamiento - *** Pre-tratamiento: pre-enfriamiento

Cuadro 4: Viabilidad de las semillas monitoreadas en 2004 como % de su germinación inicial.

Especie	Accesión	% del valor de germinación inicial
<i>Aloysia chamaedryfolia</i>	7402 (1) A	64
<i>Aloysia gratissima</i>	7401 (1)	70
<i>Apium leptophyllum</i>	7579	64
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	7375	96
<i>Hedeoma multiflorum</i>	7587	99
<i>Melissa officinalis.</i>	7683	60
<i>Mentha pulegium</i>	7362 (1)	44
<i>Mentha pulegium</i>	7680	94
<i>Mentha rotundifolia</i>	7403	61
<i>Salvia guaranitica</i>	7586	0
<i>Salvia sclarea</i>	7679	64

Para facilitar la comparación entre los resultados de las pruebas de germinación obtenidos en los monitoreos al ingresar al Banco de Germoplasma y en el 2004 se presentan el Cuadro 4 y la Gráfica 2. Se puede observar que salvo en las accesiones 7375 (*Chenopodium ambrosioides*), 7587 (*Hedeoma multiflorum*) y 7680 (*Mentha pulegium*) el porcentaje de germinación fue inferior al 80% del valor inicial.

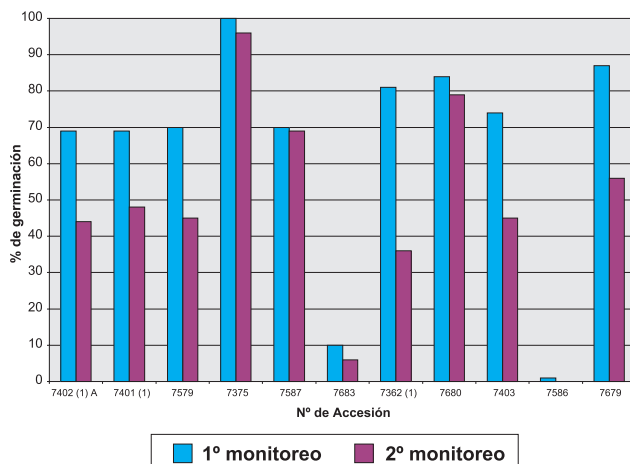
En la Gráfica 3 se presenta la información resumida de los resultados de las pruebas de germinación, de la cual se puede deducir que:

el 68% de las accesiones obtuvo una germinación menor al 50%

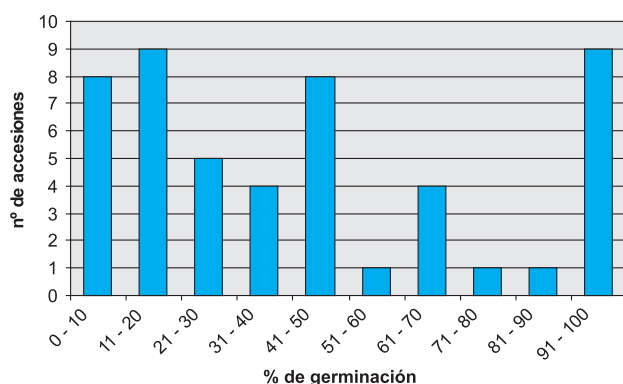
el 12% de las accesiones germinó entre un 50-80%

el 20% de las accesiones obtuvo una germinación superior al 80%

Gráfica 2. Comparación de los resultados de las pruebas de germinación de las accesiones con monitoreos en 1999-2001 (1º monitoreo) y 2004 (2º monitoreo).



Gráfica 3. Distribución de los resultados de las pruebas de germinación.



Comentarios finales

- En monitoreos realizados en 1999, la accesión 7586, *Salvia guaranitica*, se conservó a pesar de obtenerse sólo una germinación del 1% por considerarse que no fue tratada adecuadamente para levantar la dormancia. En los últimos monitoreos realizados este año esta accesión volvió a fracasar en la prueba de germinación, aún cuando se le realizó el pre-tratamiento de pre-enfriamiento reco-

mendado para otras especies del mismo género para superar la dormancia. Al final de la prueba la mayoría de las semillas se presentaron hinchadas, blandas y muy contaminadas por hongos, por lo cual es de suponer que las mismas están muertas.

- Aún en condiciones óptimas de conservación, las semillas envejecen y en consecuencia se reduce el porcentaje de semillas viables por accesión. Cuando la viabilidad desciende por debajo de un nivel crítico (80-85% del valor del resultado de la prueba de germinación inicial) es necesaria la regeneración es decir la renovación de la accesión mediante la siembra y posterior cosecha de semillas, tomando precauciones para mantener la integridad genética de la muestra. Once accesiones cuentan con datos de dos pruebas de germinación realizadas en distintos años y se comprobó que en la mayoría de los casos las pérdidas de viabilidad de las semillas fueron superiores al 20% del resultado inicial. Teniendo estos datos en cuenta y considerando que, salvo en 10 accesiones, se han obtenido bajos porcentajes de germinación (el 68% de las accesiones obtuvo valores inferiores a 50% en las pruebas) se deberá prever la regeneración de las mismas.

Ensayos para determinar las condiciones óptimas para la germinación.

Se describen a continuación los tratamientos y los resultados obtenidos en las correspondientes gráficas.

Tratamiento 1 =

Temperatura: 20°C/30°C
Pre-tratamiento: Pre-enfriamiento + KNO₃

Tratamiento 2 =

Temperatura: 25°C
Pre-tratamiento: Pre-enfriamiento + KNO₃

Tratamiento 3 =

Temperatura: 20°C/30°C
Pre-tratamiento: Pre-enfriamiento

Tratamiento 4 =

Temperatura: 25°C
Pre-tratamiento: Pre-enfriamiento

Tratamiento 5 =

Temperatura: 20°C/30°C
Pre-tratamiento: KNO₃

Tratamiento 6 =

Temperatura: 25°C
Pre-tratamiento: KNO₃

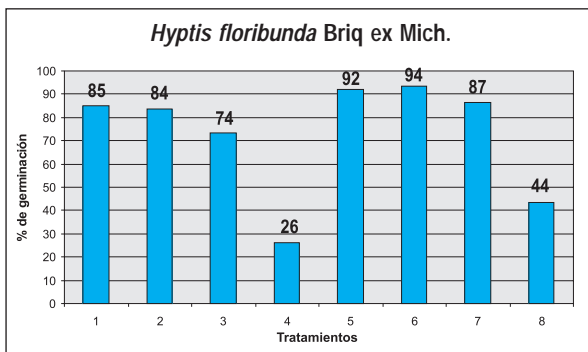
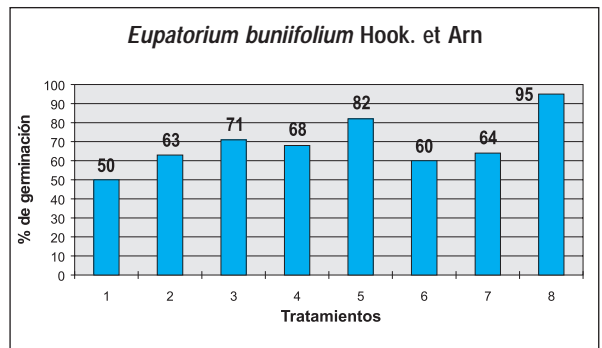
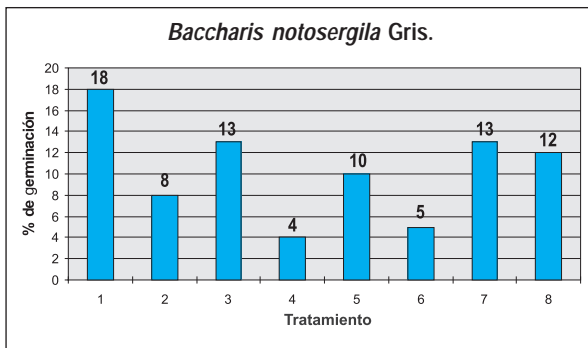
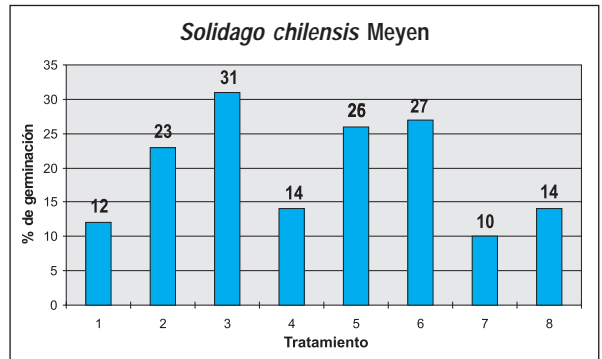
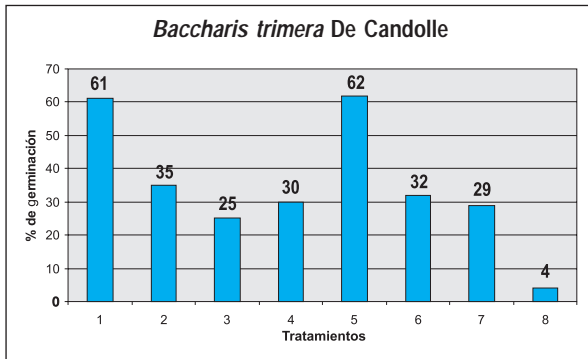
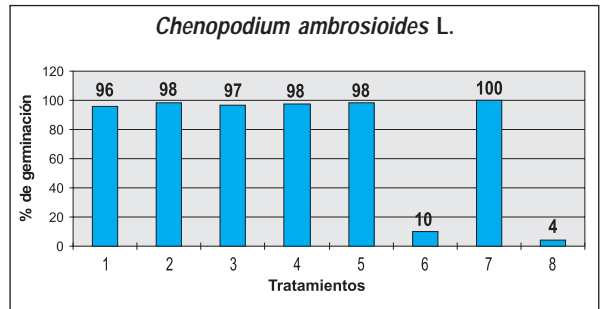
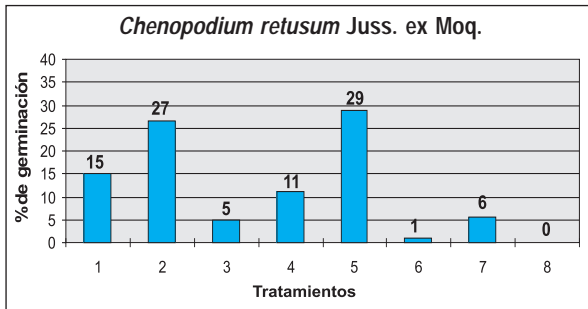
Tratamiento 7 =

Temperatura: 20°C/30°C
Pre-tratamiento: 0

Tratamiento 8 =

Temperatura: 25°C
Pre-tratamiento: 0

Resultados



Bibliografía

- Ellis, R. H.; Hong, T. D.; Roberts, E. H. 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Volume II. Compendium of Specific Germination Information and Test Recommendations. IBPGR, Roma.
- Hanson, J. 1985. Practical Manuals for Genebanks: N° 1. Procedures for Handling Seeds in Genebanks. IBPGR. Roma.
- Holle, M.; Sevilla, R. 1995. Recursos Genéticos Vegetales. Lima.