

Colecciones Núcleo de Recursos Fitogenéticos

Th.J.L. van Hintum, A.H.D. Brown, C. Spillane y T. Hodgkin

Los Boletines Técnicos son una publicación del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) y tienen la intención de proponer recomendaciones definitivas sobre técnicas empleadas en el manejo de los recursos genéticos. Están dirigidos específicamente a personal de programas nacionales y bancos de germoplasma.

Colecciones Núcleo de Recursos Fitogenéticos

Th.J.L. van Hintum¹, A.H.D. Brown²,
C. Spillane³ y T. Hodgkin⁴

1. Centre for Genetic Resources, CGN, The Netherlands
2. CSIRO Division of Plant Industry, Canberra, Australia
3. Institut für Pflanzenbiologie, Universität Zürich, Swiss
4. IPGRI, Rome Italy

El Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) es una organización internacional autónoma de carácter científico, apoyada por el Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional (GCAI).

El IPGRI ha recibido el **mandato** de fomentar la conservación y el uso de la diversidad genética para el bienestar de las generaciones actuales y futuras. El IPGRI tiene su sede en Roma, Italia, y oficinas en 19 países del mundo. Opera a través de tres programas: (1) el Programa de Recursos Fitogenéticos, (2) el Programa de Apoyo en Recursos Genéticos del GCAI y (3) la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano (INIBAP).

El carácter de **instituto internacional** se le ha conferido al IPGRI mediante un Convenio de Establecimiento que, a enero de 2003 había sido ratificado por los gobiernos de Argelia, Australia, Bélgica, Benin, Bolivia, Brasil, Burkina Faso, Camerún, Chile, China, Chipre, Congo, Costa Rica, Costa de Marfil, Dinamarca, Ecuador, Egipto, Eslovaquia, Grecia, Guinea, Hungría, India, Indonesia, Irán, Israel, Italia, Jordania, Kenia, Malaysia, Marruecos, Mauritania, Noruega, Pakistán, Panamá, Perú, Polonia, Portugal, la República Checa, Rumania, Rusia, Senegal, Siria, Sudán, Suiza, Túnez, Turquía, Uganda y Ucrania.

Los nombres geográficos empleados en esta publicación y la presentación del material no expresan, en modo alguno, una opinión del IPGRI o del GCAI sobre la situación jurídica de los países, territorios, ciudades o zonas, ni sobre sus autoridades o la definición de sus fronteras o límites. De igual manera, las opiniones aquí expresadas pertenecen a los autores y no necesariamente reflejan las de estas organizaciones.

Cita: van Hintum, Th. J. L.; Brown, A. H. D.; Spillane, C.; Hodgkin, T. 2003. Colecciones núcleo de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico No. 3 del IPGRI. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia.

Cubierta: Ilustración de Paul Neate, IPGRI.

IPGRI
Via dei Tre Denari 472/a
00057 Maccarese
Roma
Italia

© Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, 2003

Introducción a la Serie

La serie denominada **Boletín Técnico** está dirigida a los científicos y técnicos que manejan colecciones de recursos genéticos. Cada número busca servir de guía sobre alternativas disponibles para implementar técnicas y procedimientos de conservación, y orientar la experimentación que se requiere para adaptar unas y otros a las condiciones locales de funcionamiento y a las especies objetivo. En los boletines se discuten técnicas y, cuando sea pertinente, se presentan opciones y se hacen sugerencias para desarrollar experimentos. Los Boletines Técnicos son escritos por investigadores científicos que trabajan en el campo de los recursos genéticos. El IPGRI recibe complacido sugerencias sobre temas para los próximos números, a la vez que promueve y está dispuesto a respaldar el intercambio de resultados de investigación obtenidos en los diversos laboratorios y bancos de germoplasma.

Índice

Agradecimientos 7

1 Introducción 8

- 1.1 ¿Qué razones justifican establecer una colección núcleo? 8
- 1.2 ¿Qué es una colección núcleo? 9

2 Establecimiento de una colección núcleo 11

- 2.1 Identificación del material que estará representado en la colección núcleo 12
- 2.2 Tamaño de la colección núcleo 13
- 2.3 División en grupos diferenciados genéticamente 14
- 2.4 Número de entradas por grupo 17
 - 2.4.1 *Procedimientos basados en el tamaño del grupo* 18
 - 2.4.2 *Procedimientos basados en la diversidad de marcadores* 19
 - 2.4.3 *Procedimientos basados en el conocimiento informal* 20
- 2.5 Elección de las entradas 21
 - 2.5.1 *Procedimientos al azar y procedimientos programados* 21
 - 2.5.2 *Procedimientos analíticos* 21
 - 2.5.3 *Procedimientos pragmáticos* 22

3 Manejo de la colección núcleo 23

- 3.1 Mantenimiento de la colección núcleo 23
- 3.2 Distribución de accesiones de la colección núcleo 24
- 3.3 Manejo de la información 25
- 3.4 Validación de la colección núcleo 26
- 3.5 Modificación de la colección núcleo 28

4 Utilización de la colección núcleo 29

- 4.1 Mejoramiento de las operaciones de los bancos de germoplasma 29
- 4.2 Acciones para incrementar el uso de los recursos fitogenéticos 31
 - 4.2.1 *Investigación aplicada: Selección respecto a caracteres útiles* 32
 - 4.2.2 *Investigación básica y capacitación* 33
- 4.3 Incremento del uso de las colecciones núcleo 33

5 Perspectivas de desarrollo futuro 38

Referencias 40

Agradecimientos

Los autores de este boletín técnico desean agradecer la valiosa ayuda recibida de varios administradores de bancos de germoplasma y personal del IPGRI en la preparación del boletín, especialmente su estímulo y comentarios oportunos. Asimismo, agradecen la ayuda recibida del CSIRO Plant Industry, Canberra, Australia, del Centre for Genetic Resources (CGN) y del Plant Research International, Wageningen, Holanda. Un reconocimiento especial a Imke Thormann, Silvana Bonas y Carole Salas por su colaboración en el trabajo de preparación del boletín.

1 Introducción

Los bancos de germoplasma del mundo contienen colecciones de recursos genéticos presentes en las especies cultivadas, para conservación a largo plazo y para facilitar que los fitomejoradores, investigadores y otros usuarios accedan a ellos con facilidad. En los últimos 25 años ha habido enormes progresos en la colecta y conservación de estos recursos, tanto así que muchos bancos de germoplasma vegetal enfrentan hoy grandes problemas de tamaño y organización. Algunas colecciones han crecido tanto que resulta difícil conservar y usar la diversidad genética que contienen, yendo así en contra de los objetivos para los cuales se establecieron.

Cuando Frankel (1984) comprendió que el gran tamaño de algunas colecciones podría desalentar el uso, propuso establecer una colección limitada o “núcleo” a partir de una colección existente. La colección núcleo, dada la semejanza mínima que hay entre una y otra de sus entradas¹, es de tamaño reducido y representa la diversidad genética de una colección de mayor tamaño, de una especie cultivada, de una especie silvestre o de un grupo de especies. La colección núcleo no reemplaza la colección o el material del cual se obtiene.

Desde que Frankel expuso su propuesta, ha aparecido una bibliografía considerable sobre la teoría y la práctica de las colecciones núcleo y en ella se encuentran muchos ejemplos de este enfoque. Las colecciones núcleo han sido aceptadas como herramientas eficaces para mejorar la conservación y el uso de las colecciones de recursos genéticos. El Plan de Acción Mundial para la Conservación y Utilización Sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO 1996) recomienda el establecimiento de colecciones núcleo como una actividad necesaria para mejorar el uso de los recursos fitogenéticos. Este Boletín Técnico plantea los procedimientos que se pueden utilizar para establecer, manejar y utilizar una colección núcleo, partiendo de la experiencia acumulada hasta ahora.

1.1 ¿Qué razones justifican establecer una colección núcleo?

Para iniciar la discusión conviene preguntarse cuáles son los principales aspectos y problemas inherentes al manejo de un banco de germoplasma, tanto en lo referente al trabajo de conservación, regeneración, duplicación, documentación y evaluación de los recursos fitogenéticos que mantiene como en el uso que se les da. A continuación se enumeran algunas preguntas que a menudo debe responder el curador o administrador de un banco de germoplasma:

- ¿Se dificultan algunas actividades del banco de germoplasma porque la colección es de gran tamaño?
- ¿Las actividades del banco de germoplasma y el uso de la colección se ven limitados por el desconocimiento de la forma en que está distribuida la diversidad genética en la colección?
- ¿Resulta difícil establecer prioridades, detectar si hay vacíos en la colección o decidir cuándo agregar nuevo material a la colección?
- ¿El tamaño de la colección sugiere que los usuarios desconocen la variación que hay en ella, e ignoran que esa variación podría desarrollarse bien en sus ambientes o beneficiar sus programas de mejoramiento o enriquecer sus proyectos de investigación?

Si la respuesta a cualquiera de estas preguntas es “sí”, entonces formar una colección núcleo surge como una opción interesante para afrontar los retos descritos. Una colección núcleo es una muestra estructurada de una colección completa pero de un tamaño más manejable. Está estructurada de tal manera que representa la diversidad de la colección

¹ Conviene aclarar que, en este boletín, se utilizará el término *accesión* para referirse a una muestra mantenida en la colección completa y el término *entrada* para referirse a cualquier *accesión* o submuestra elegida para formar parte de la colección núcleo.

completa; además, constituye un conjunto de referencia que destaca automáticamente prioridades que requieren atención para la toma de decisiones.

1.2 ¿Qué es una colección núcleo?

Desde su inicio, la colección núcleo ha sido interpretada y llevada a la práctica de diversas maneras. En el Recuadro 1 aparecen tres definiciones. Para simplificar, en este boletín se adopta la que se inclina por una colección específica de especies cultivadas en un banco de germoplasma. Esta definición se extiende fácilmente a una colección que contenga un grupo de especies relacionadas entre sí, o a una que sea la agregación de varias colecciones de los mismos grupos taxonómicos mantenida por una red de bancos de germoplasma que cooperan entre sí.

La palabra “núcleo” indica la parte central o más interna, el corazón y la parte más importante. La idea adquiere más sentido cuando ese núcleo básico se presenta como un punto de referencia para un conjunto de material ya identificado como lo es una colección. Así, el vínculo entre la colección núcleo y la colección completa queda bien establecido de manera que la colección núcleo ofrezca un acceso eficaz a los recursos de la colección completa. La idea de colección núcleo implica también la intención de que el conjunto de entradas que ésta posee tienen una función independiente. Lo ideal es que la colección núcleo se constituya también como un punto de referencia para la evaluación, de manera que se pueda obtener y evaluar información sobre un conjunto cada vez más grande de variables a partir de un conjunto estructurado y limitado de accesiones. Así, los estudios que se hagan sobre la colección núcleo proporcionarán una visión general de las características de la colección completa.

Una colección núcleo siempre será sustancialmente más pequeña que la colección de la cual se deriva. Brown (1989b) sugirió que la colección núcleo no debe ser mayor que el 10% de la colección completa y que deberá tener menos de 2000 entradas. En la práctica, la mayoría de las colecciones núcleo constan de entre 5% y 20% del tamaño de las colecciones de las cuales se extrajeron, siendo la más grande hasta la fecha de cerca de 2000 accesiones.

El objetivo final de una colección núcleo es lograr que la colección de la cual se deriva se conserve mejor y se utilice más eficazmente. Sería contraproducente tener una colección núcleo tan grande que trajera consigo los mismos problemas de la colección completa. Por

Recuadro 1. Definiciones de colección núcleo

Definición original:

- Una colección núcleo es un conjunto limitado de accesiones que, empleando un mínimo de repeticiones, representa la diversidad genética de una especie cultivada y de sus parientes silvestres (Frankel 1984).

A partir de esta definición se han derivado dos definiciones operativas:

- En el caso de un banco de germoplasma, una colección núcleo consta de un número limitado de las accesiones de una colección, que se escogen para representar el espectro genético de dicha colección. Debe incluir el máximo de diversidad genética presente en la colección completa (Brown 1995).

Este conjunto, conformado por un conjunto de accesiones, se ha denominado también "subconjunto núcleo" de la colección completa.

- En el caso de una especie cultivada, una colección núcleo consiste en un número limitado de entradas seleccionadas para representar la diversidad genética de toda la especie cultivada y de sus parientes silvestres. Es una colección núcleo sintética e integral, reunida en cooperación con bancos de germoplasma nacionales e internacionales y complementada, cuando se requiere llenar vacíos, con muestras frescas de poblaciones silvestres o cultivadas. El mejor ejemplo de este tipo de colección es la Colección Núcleo Internacional de Cebada.

otra parte, una colección núcleo que no logre contener una fracción significativa de la diversidad de la colección completa no cumpliría su finalidad.

La propuesta sobre colecciones núcleo que hizo Frankel hace unos 15 años desató una discusión sobre qué es una colección núcleo, qué ventajas y desventajas tendría, y qué posibilidades habría de modificarla y utilizarla de maneras diferentes (Brown 1995). Este boletín adopta el enfoque más sencillo y directo para formar una colección núcleo y deja en libertad a los administradores de los bancos de germoplasma para que elijan la forma de modificar, transformar o repetir los pasos que requiere esa formación. La Sección 2 de este boletín describe los métodos empleados para conformar una colección núcleo como una muestra estructurada, y la Sección 3 trata las preguntas que surgen cuando se maneja una colección núcleo. La Sección 4 se concentra en los usos de la colección núcleo, tanto para manejar la colección completa, como en lo referente a cómo los usuarios del banco de germoplasma la pueden utilizar para mejorar sus programas. Por último, en la Sección 5 se presentarán algunos hechos cuyo desarrollo influirá probablemente en el establecimiento y uso de una colección núcleo.

2 Establecimiento de una colección núcleo

Establecer una colección núcleo puede ser algo muy sencillo, al alcance de cualquier banco de germoplasma. No requiere documentación completa ni datos plenamente confiables. Tampoco requiere tener información sobre marcadores genéticos o conocimientos especializados en matemáticas. Todo lo que se necesita es una colección de germoplasma, alguien que tenga conocimientos básicos acerca de la colección y de las especies que contiene, y tiempo para seleccionar el material que constituirá el núcleo.

Recuadro 2. Métodos sencillos para muestrear colecciones

Hasta una selección al azar de una colección de germoplasma se puede utilizar como colección núcleo. El proceso de muestreo más simple –pero quizás el menos eficaz– consistiría en escoger un conjunto consecutivo de accesiones como el que se formaría con las accesiones enumeradas del 8201 al 8485. Este proceso no representaría la diversidad genética pero se podría mejorar fácilmente haciendo un muestreo corriente o sistemático por número de accesión (p. ej., una colección núcleo de 10% obtenida incluyendo todas las accesiones cuyos números de accesión terminen en cero). Ahora bien, estos procesos no son satisfactorios porque no usan información sobre las accesiones. El uso de dicha información siempre mejora la representatividad de una colección núcleo.

El Recuadro 2 presenta enfoques sencillos para muestrear una colección, que ilustran la simplicidad del proceso. Sin embargo, ya sea sencillo o complejo el procedimiento adoptado, siempre conviene consultar a administradores de bancos de germoplasma, fitomejoradores y otros investigadores interesados en la especie cultivada y en el uso que se hará de su diversidad genética.

Un procedimiento general para seleccionar una colección núcleo se puede dividir en cinco pasos, que se describen en las siguientes secciones (ver también Figura 1).

1. Identificar el material (la colección) que estará representado².
2. Decidir el tamaño que tendrá la colección núcleo.
3. Dividir el conjunto de material empleado en grupos diferenciados.
4. Decidir el número de entradas por grupo.
5. Elegir qué entradas de cada grupo se incluirán en la colección núcleo.

Cada paso puede ser más o menos complejo dependiendo de la información disponible y de los procedimientos empleados. A veces se adopta un proceso iterativo en el cual se repiten algunos o todos los pasos con el fin de reducir el tamaño de la colección núcleo. Así, un primer ciclo puede dar origen a un núcleo preliminar que tenga, aproximadamente, dos veces el tamaño final que se desea para la colección núcleo. Luego, el material de esta selección se caracteriza un poco más y, con ayuda de información adicional, la colección núcleo preliminar se reduce a su tamaño final.

² Van Hintum (1998, 1999) describe como “dominio” la colección o el conjunto de material utilizado para conformar una colección núcleo.

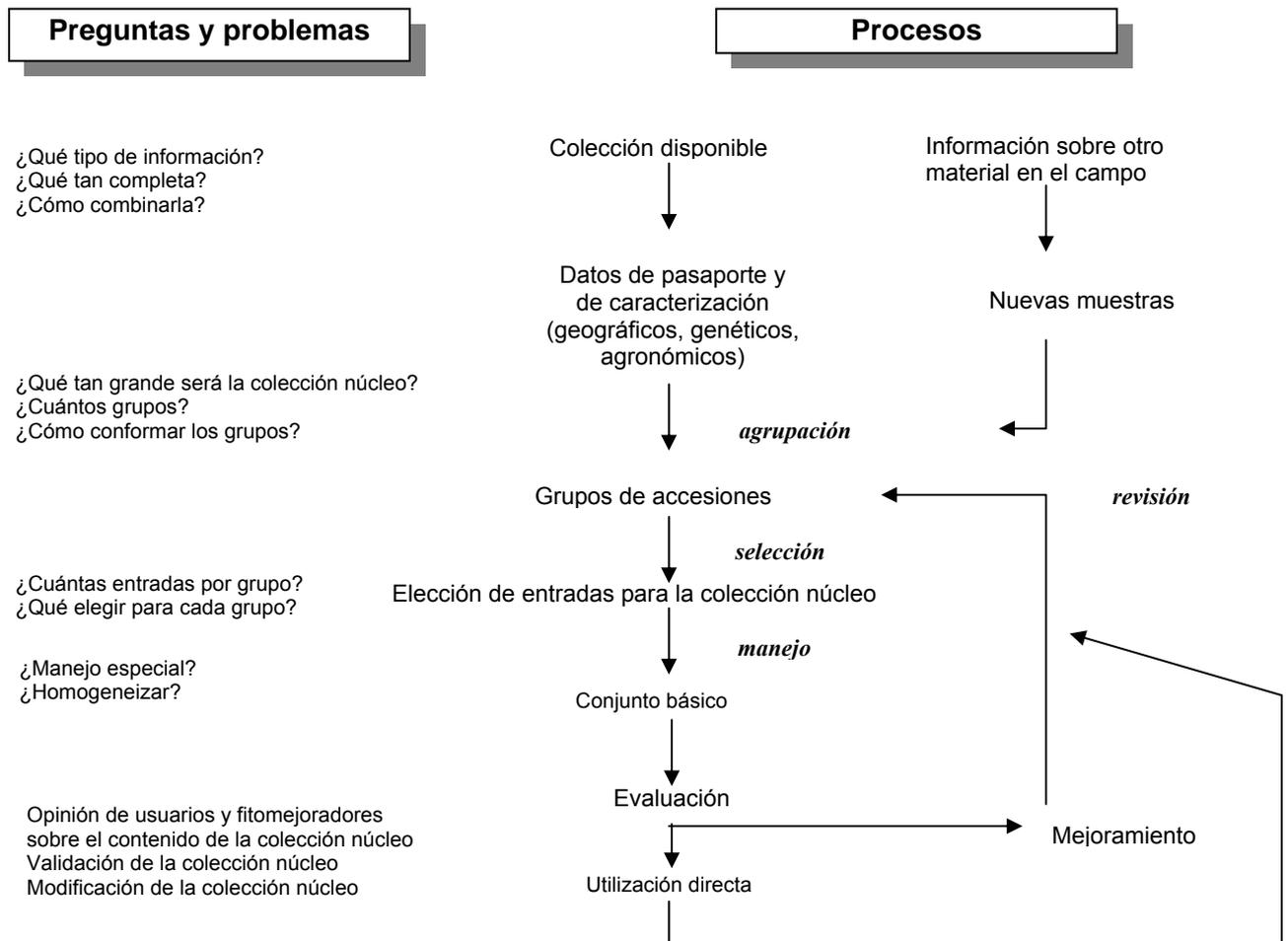


Figura 1. Flujoograma que ilustra los pasos para conformar una colección núcleo.

2.1 Identificación del material que estaría representado en la colección núcleo

Obviamente, el material o la colección que estarán representados por la colección núcleo será diferente en cada caso, dependiendo del material disponible, de lo que constituye un conjunto prudente de material para el establecimiento de la colección núcleo, y de los objetivos para los cuales se establece la colección núcleo.

Con mucha frecuencia, una colección núcleo busca representar todo el material de cierta especie cultivada presente en un banco de germoplasma. Ejemplos de este caso son las colecciones núcleo de *Glycine perenne* (Brown *et al.* 1987) del CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australia), la colección completa de germoplasma de maní de los Estados Unidos (Holbrook *et al.* 1993) y la colección peruana de quinua (Ortiz *et al.* 1998). También se han establecido colecciones núcleo para que reciban el material de determinada especie cultivada que está en varias colecciones, como es el caso de la colección núcleo de *Brassica oleracea* contenida en las colecciones europeas (Boukema *et al.* 1997). El objetivo puede extenderse a todas las accesiones de una especie cultivada y de sus parientes silvestres que se encuentren en cualquier colección, como ocurre con la Colección Núcleo Internacional de Cebada (Knüpffer y van Hintum 1995).

En determinados casos se han constituido colecciones núcleo que representan sólo una parte de una colección, como es el caso de la colección núcleo de razas nativas de ajonjolí de la India (Bisht *et al.* 1998) o la de las accesiones de lenteja de Chile, Grecia y Turquía (Erskine y Muehlbauer 1991). En otro caso, Diwan *et al.* (1994) desarrollaron una colección núcleo a partir de una muestra representativa del 40% de la colección³ estadounidense de especies anuales de *Medicago*.

Este boletín trata ampliamente cómo formar colecciones núcleo a partir de colecciones individuales mantenidas en bancos de germoplasma. Sin embargo, cuando el objetivo es representar la diversidad, los métodos descritos se pueden extender fácilmente a cualquier conjunto de accesiones de germoplasma.

2.2 Tamaño de la colección núcleo

Después de definir el material que estará representado en la colección núcleo, el paso siguiente es decidir el tamaño de ésta, es decir, el número de entradas que contendrá. Dados los objetivos de una colección núcleo, su tamaño será mucho menor que el de la colección de origen. La mayoría de las colecciones núcleo descritas hasta el momento son mucho más pequeñas que la colección de donde provinieron. Esto explica que la mayor parte de las colecciones núcleo revisadas por Spillane *et al.* (inédito) tuvieran de 5% a 20% del tamaño de la colección que les dio origen (Figura 2).

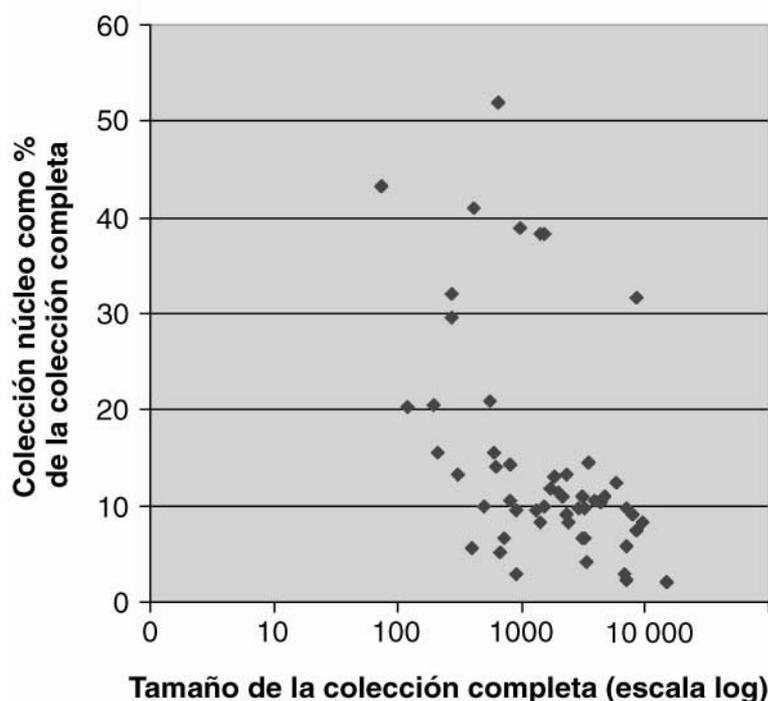


Figura 2. Porcentaje de colección núcleo versus tamaño de la colección completa para 37 colecciones núcleo de cultivos propagados por semilla (Spillane *et al.*, inédito).

Cuando la colección a partir de la cual se desarrolla una colección núcleo es muy grande, el tamaño porcentual puede ser mucho menor que 5%. La Colección Núcleo Internacional de Cebada (1600 accesiones) tiene menos de 0.3% de las accesiones de cebada conservadas en el mundo, y la colección núcleo de sorgo del ICRISAT (International Crops

³ Se han descrito algunas colecciones o conjuntos "núcleo" restringidos a materiales con determinadas características, como las poblaciones locales de maíz de buena capacidad de combinación (Radovic y Jelovac 1994) o el germoplasma de *Pisum sativum* resistente a enfermedades (Matthews y Ambrose 1994). Estos conjuntos se pueden describir mejor como núcleos de caracteres, ya que la representación de la diversidad se restringe a unos caracteres en particular. En estos casos, los conjuntos se obtuvieron de colecciones completas de bancos de germoplasma.

Research Institute for the Semi-Arid Tropics, India), que tiene aproximadamente 600 accesiones, se formó a partir de una colección de 40,000 accesiones (siendo pues de 1.5%). En números absolutos, la colección núcleo más grande, que comprende cerca de 2500 accesiones, es una colección multiespecie de especies silvestres y cultivadas de *Solanum*, que contiene alrededor de 31% de la colección a partir de la cual se formó (Spillane *et al.*, inédito).

Es obvio que no hay un tamaño o una relación proporcional fijos y apropiados para todos los casos de colección núcleo. Diversos estudios han establecido normas generales que pueden ser de utilidad. Brown (1989b), por ejemplo, estudió las consecuencias del muestreo sencillo al azar realizado a partir de perfiles teóricos de la frecuencia genética o de ejemplos empíricos. Estos análisis indican que es probable que una colección núcleo, que equivalga a cerca de 10% de la colección completa, tenga al menos 70% de la variación contenida en dicha colección. En la práctica, es probable que la cantidad de variación captada en una colección núcleo de 10% sea mayor que este porcentaje, puesto que la colección se divide en grupos genéticamente significativos (ver Sección 2.3, a continuación). Por ejemplo, la colección núcleo de sorgo desarrollada en el ICRISAT contiene menos del 3% de la colección completa, pero más del 90% de la variación genética de la colección completa (Paula Bramel, comunicación personal).

Yonezawa *et al.* (1995) concluyeron que la fracción para una muestra óptima depende, en gran parte, del grado de redundancia genética existente entre las accesiones, de los recursos disponibles para mantener las entradas de la colección núcleo, y de la frecuencia de regeneración de las entradas. Aunque no se pudo precisar un único valor óptimo, se consideró adecuada una relación proporcional de 20% a 30%, en determinadas circunstancias. Charmet y Balfourier (1995) y Bisht *et al.* (1998) analizaron el tamaño y las estrategias de agrupamiento (ver Secciones 2.3 y 2.4) y encontraron que los tamaños de 5% a 10% eran los óptimos porque captaban entre el 75 % y el 90% de la diversidad. Noirot *et al.* (1996), en cambio, han sugerido que se necesitan porcentajes mayores (20% a 30%), especialmente cuando el objetivo es captar la diversidad genética de caracteres heredados cuantitativamente.

Además de los aspectos genéticos ya descritos, otras consideraciones ayudarán a orientar al curador cuando deba tomar decisiones sobre el tamaño de la colección núcleo. Cuando haya muchos grupos pequeños, y particularmente en el caso de las colecciones núcleo multiespecie, podrá tomar de cada grupo un porcentaje mayor de entradas. El caso más frecuente se presenta cuando hay que incluir todos los grupos y muchos de ellos apenas cuentan con una o dos accesiones.

Los recursos disponibles para mantener la colección serán tan importantes como el método que se emplee para mantenerla. Por ejemplo, el área del campo disponible para un banco de germoplasma clonal puede fijar un límite absolutamente estricto al tamaño. En otro caso, una colección núcleo mantenida en condiciones *in vitro* de crecimiento lento necesitará instalaciones apropiadas para el cultivo de tejidos y la incubación, afectando así el tamaño del núcleo que se escoja. También habrá que tener en cuenta las necesidades de los usuarios. Es poco probable que una colección núcleo demasiado grande para los usuarios a quienes se destina alcance los objetivos para los cuales se estableció. En estos casos, es preferible tener un núcleo más pequeño y mejor utilizado que uno de mayor tamaño que rara vez se consulte.

2.3 División en grupos diferenciados genéticamente

Una colección núcleo puede representar eficazmente la diversidad genética de la colección completa si las accesiones se separan primero en grupos con alguna significación. Este procedimiento casi siempre se denomina estratificación. Los grupos deben conformarse de tal manera que se maximice la variación entre uno y otro, y se reduzca al mínimo la variación dentro de ellos. La manera de llevar a cabo este procedimiento es un aspecto

clave para desarrollar una buena colección núcleo. Existen diferentes enfoques que se han evaluado solos o en combinación. Elegir el mejor dependerá no sólo de la información disponible sino de la forma en que varía la diversidad genética dentro de los acervos de genes de la especie cultivada y dentro de las colecciones con las que se esté trabajando.

Para definir los grupos se sigue, en general, un procedimiento gradual y jerárquico: primero se hacen las divisiones principales y luego se dividen estos subgrupos en fracciones más pequeñas (van Hintum 1994). Con frecuencia, las primeras divisiones se basan en la taxonomía, que separa en ellas las especies silvestres de las cultivadas, y luego, dentro de estos grupos, separa las especies y luego las subespecies, en orden de gradación. Empleando la taxonomía y los conocimientos adquiridos acerca de la domesticación, la distribución, el historial de mejoramiento, el patrón de cultivo y la utilización de los materiales, puede desarrollarse una jerarquía estructurada que dé origen a un árbol de diversidad como el que aparece en la Figura 3.

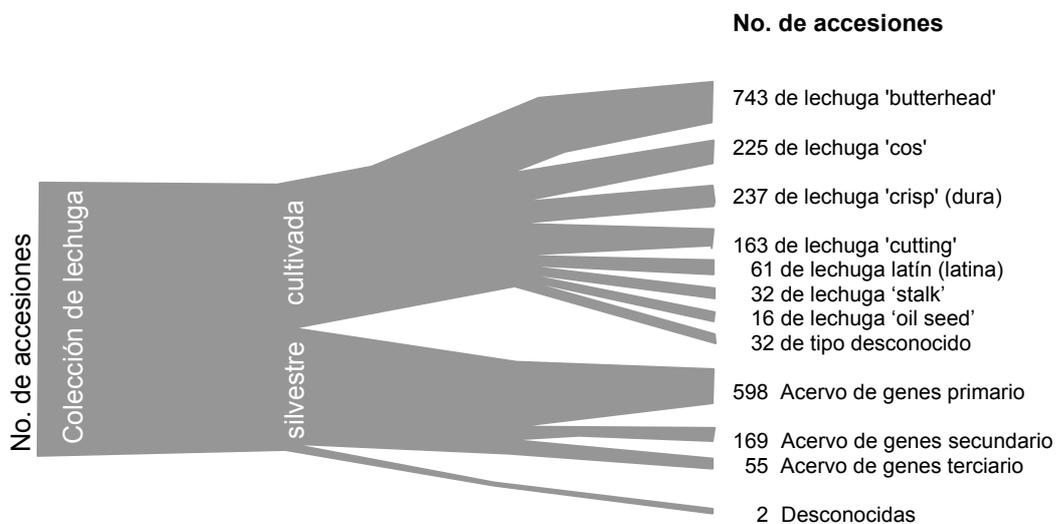


Figura 3. Primera parte del árbol de diversidad de la colección de *Lactuca* del CGN (Centre for Genetic Resources, Holanda). La amplitud de las ramas corresponde al número de accesiones de los respectivos grupos.

En cada etapa del proceso de estratificación hay que identificar subgrupos significativos que se espera sean genéticamente diferentes. Es importante también estar seguros de que todo el material de un grupo encuentre un lugar en un subgrupo, por lo que resulta práctico agregar grupos denominados "otros" o "sin clasificar".

Muchas veces, el proceso de estratificación se puede desarrollar con relativa facilidad, dividiendo los grupos taxonómicos en tipos de cultivo o en grupos ecogeográficos bien establecidos y con una larga historia. Una clasificación relativamente sencilla de este tipo es la de la cebada de primavera e invierno (Knüpffer y van Hintum 1995) y la del ajonjolí de diferentes regiones productoras de China (Zhang *et al.* 2000). Procesos de estratificación más complejos se detallan en el Recuadro 3.

Este proceso de dividir en grupos termina cuando ya no es prudente ni posible dividir más los subgrupos, porque no se dispone de información adicional confiable que permita separar grupos genéticamente diferentes, o porque los grupos son genéticamente homogéneos.

La estratificación puede concluir, como en el ejemplo anterior, con grupos como "frijol de zonas secas, de fotoperíodo corto, de baja altitud de México" (Tohme *et al.* 1995). En otros casos, menos refinados, la estratificación arroja grupos como "repollo blanco de Francia" (Boukema y van Hintum 1994) o la especie silvestre "*Medicago arabica*" (Diwan *et al.* 1994, 1995).

Otro enfoque para establecer grupos de accesiones similares consiste en utilizar el análisis de variables múltiples o análisis multivariado (para una discusión de las técnicas, remitirse a Crossa *et al.* 1995). Si se dispone de datos sobre marcadores genéticos, o de caracteres agromorfológicos o de otro tipo, es posible construir un dendrograma y agrupar las accesiones usando un conjunto de diferentes métodos analíticos incluyendo el de conglomerados, el de discriminantes o el de componentes principales (ejemplos en la Figura 4 y el

Recuadro 4). Este enfoque puede emplearse junto con los procedimientos de clasificación descritos anteriormente, como se hizo con una colección núcleo de ajonjolí de China (Zhang *et al.* 2000) en donde se establecieron 14 grupos diferentes con base en la geografía, el tipo de variedad (moderna o raza nativa) y la zona agroecológica de producción. Luego se empleó el análisis de conglomerados de 14 caracteres agromorfológicos aplicando el procedimiento de Ward, para identificar los conjuntos finales de grupos que formaron la colección núcleo.

En algunos casos, no es posible incluir todas las accesiones en el análisis de conglomerados. Esta dificultad puede provenir de que los conjuntos de datos están incompletos o de que la capacidad de los programas estadísticos (software) tiene un límite. En estos casos, el siguiente paso será asignar las accesiones remanentes a los conglomerados ya formados. Bisht *et al.* (1998) desarrollaron un procedimiento para llevar a cabo este proceso cuando la capacidad del programa era una limitante, y lo emplearon para asignar 4000 accesiones de ajonjolí a conglomerados desarrollados a partir de un análisis de conglomerados que se había hecho para un conjunto de prueba de 100 accesiones. Es necesario hacer más investigaciones para evaluar este tipo de procedimiento y determinar su idoneidad. En especial, se debe tener cuidado de que la información que se use produzca grupos genéticamente coherentes; los datos (y los caracteres empleados) deben ser genéticamente significativos. Cuando se trabaje con datos de caracteres cuantitativos, se puede presentar un problema dado que hay interacciones de la clase genotipo x ambiente de y variación debida a errores experimentales.

Recuadro 3. Clasificación jerárquica utilizada en la colección núcleo de *Phaseolus* del CIAT

Tohme *et al.* (1995) emplearon una clasificación compleja para desarrollar su colección núcleo de *Phaseolus*. Dividieron la colección de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) del CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Colombia) en grupos, así: “cultivado en centros primarios de diversidad”, “cultivado en centros no primarios de diversidad” y “silvestre”. Dentro del primer grupo se hizo una división según el país de origen, que arrojó 11 subgrupos. Cada subgrupo se subdividió según la similitud de adaptación del material, separándose las zonas con una historia prolongada de producción de frijol de aquellas donde el frijol se había introducido recientemente. Estas zonas de adaptación se dividieron aún más en clases agroecológicas, con base en la combinación de tipo de suelo, altitud, estrés por sequía y fotoperíodo de cada zona. Esto arrojó un conjunto de 54 entornos posibles, clasificándose luego las accesiones de frijol según el entorno en donde se habían recolectado.

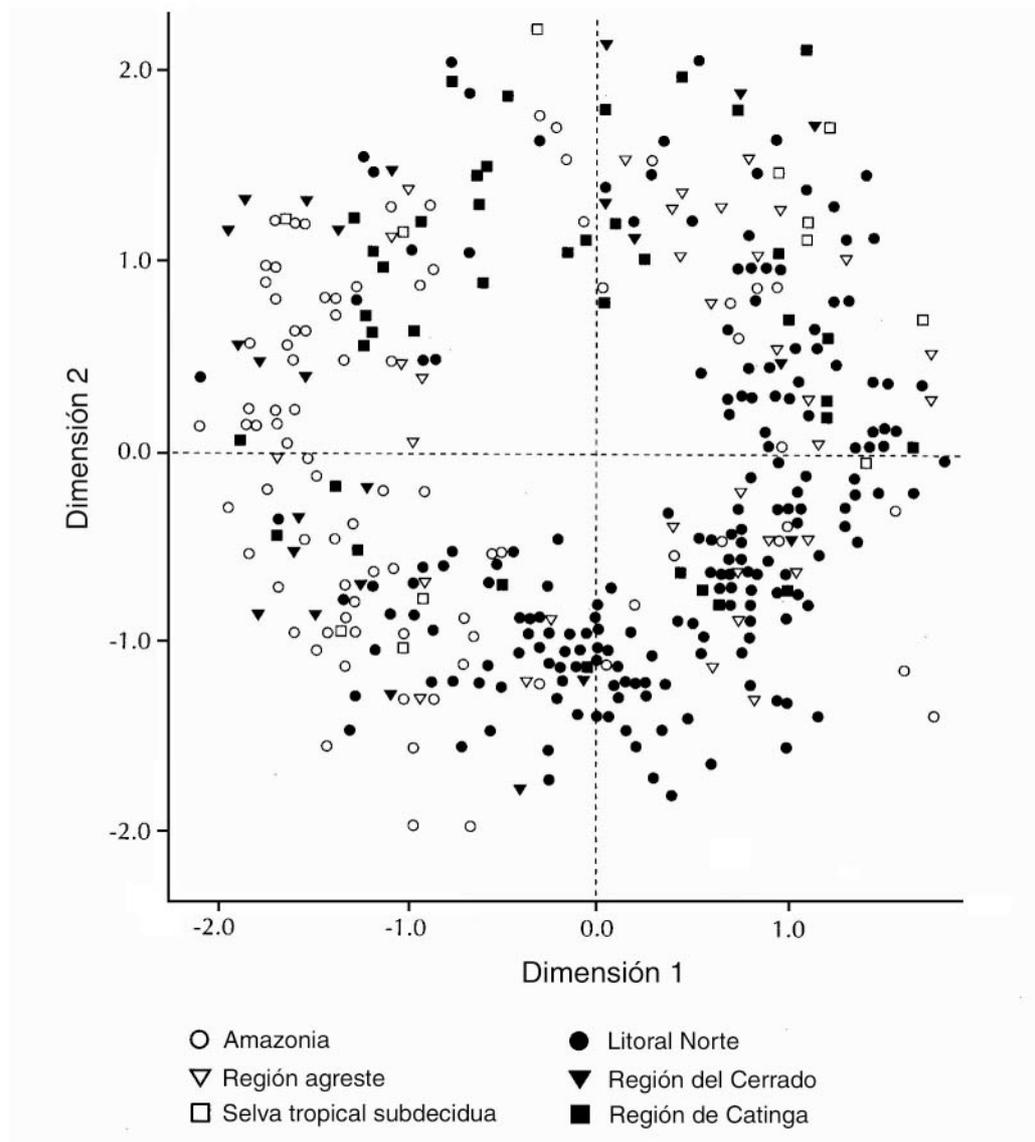


Figura 4. Primeras dos dimensiones de una proyección multidimensional de 389 accesiones de yuca de Brasil, que muestra una estrecha relación entre caracteres agromorfológicos y clasificación ecológica (Cordeiro *et al.*, 1995).

2.4 Número de entradas por grupo

Una vez definidos los grupos, hay que decidir el número de entradas que se incluirá en cada uno. Esta operación se hace paso a paso, a medida que se desarrolla el proceso de estratificación. Cumplido el primer paso en la estratificación, se determina el número de entradas asignadas a cada grupo principal, repitiendo el proceso con las siguientes divisiones. Esta operación también puede ejecutarse como una actividad independiente al final del proceso de agrupación.

Existen varias formas para decidir el número de entradas que deberá tener cada grupo; éstas se describirán detalladamente en los párrafos que siguen. En términos generales, se han aplicado tres enfoques. Uno consiste en asignar entradas al grupo según el número de accesiones que se presenten dentro de éste. Cuando se ha caracterizado con marcadores genéticos material suficiente en los grupos, otra alternativa consiste en comparar la diversidad de estos marcadores dentro de los grupos y fundamentar la asignación de

entradas en esta comparación. Hay finalmente un enfoque subjetivo que consiste en tomar en cuenta para la asignación las necesidades de los usuarios u otros datos al alcance del curador.

La decisión de seguir uno u otro de estos enfoques debe tomarla, principalmente, el curador; casi siempre, lo más apropiado será mezclar diferentes estrategias. Por ejemplo, se puede emplear información sobre la diversidad de marcadores para determinar el número de entradas asignadas a unos grupos, mientras que en otros grupos se podría aplicar una estrategia de asignación diferente. De igual manera, una decisión sobre el número de entradas de materiales silvestres y cultivados que deban figurar en una colección núcleo puede responder a la capacidad de los usuarios para utilizarlas o a la necesidad que tengan de algunos materiales. Ahora bien, puede aplicarse una estrategia diferente de asignación de entradas dentro de cada uno de estos grupos partiendo ya sea de su diversidad o de lo numerosas que sean. Otra decisión que toman comúnmente los curadores es incluir por lo menos una accesión de cada grupo, aun cuando se trate de grupos tan pequeños que una asignación proporcional los omitiría del núcleo.

Recuadro 4. El procedimiento de agrupar en conglomerados que se empleó en el desarrollo de una colección núcleo de ryegrass en Francia

Charmet *et al.* (1993) y Balfourier *et al.* (1999) dan un ejemplo interesante del uso del análisis de variable múltiple. Emplearon un algoritmo de agrupación en conglomerados, en el cual las poblaciones silvestres de ryegrass recolectadas en Francia fueron agrupadas partiendo de caracteres agronómicos. La limitación que presentaba el procedimiento de agrupar en conglomerados era que dos poblaciones sólo podían agruparse juntas si sus sitios de recolección estaban a menos de 60 km uno de otro. Esta condición impidió que las poblaciones que crecían en diferentes partes del país aparecieran en el mismo grupo cuando, sencillamente, tenían entre sí semejanzas agronómicas.

2.4.1 Procedimientos basados en el tamaño del grupo

Existen procedimientos para determinar el número de entradas por grupo, con base en el número de accesiones presente en cada grupo. El número de accesiones en los diversos grupos de una colección suele ser un buen indicador general de la utilidad de los grupos o de la diversidad que hay en ellos (o de ambos aspectos). Ese número reflejará el resultado de las misiones de colecta, del trabajo de investigación, de las necesidades históricas y del interés de los usuarios. No será, desde luego, un indicador infalible por lo cual casi siempre se aconseja hacer algún ajuste subjetivo como se indica en la sección 2.4.3, a continuación.

Brown (1989a) propuso, basándose en el tamaño del grupo, tres procedimientos que generalmente se conocen como la estrategia constante (C), la proporcional (P) y la logarítmica (L). El mismo recomendó que, cualquiera sea la estrategia adoptada, se incluya en el núcleo por lo menos una accesión de cada grupo por pequeño que sea éste.

- La **estrategia constante (C)** asigna, simplemente, un número igual de entradas a cada grupo, sin tener en cuenta el número de accesiones del grupo.
- La **estrategia proporcional (P)** asigna las entradas a un grupo manteniendo una relación proporcional con el número de accesiones de cada grupo. En este caso, el número de entradas de los subgrupos también debe ser un número entero, por lo cual hay que usar una función matemática apropiada para redondear las cifras.
- La **estrategia logarítmica (L)** asigna las entradas a cada grupo manteniendo una relación proporcional con el logaritmo del número de accesiones del grupo. El número de entradas de cada grupo se redondea hasta el número entero más cercano, lo que garantiza que el número total de entradas asignado equivalga al número de entradas disponibles.

Cada estrategia dará un número diferente de entradas en diferentes grupos (Cuadro 1) y su eficiencia ya ha sido comparada por varios investigadores (como Brown 1989a; van Hintum *et al.* 1995; Mahajan y Bisht 1999). Aunque las diferencias entre las estrategias han sido por lo general leves, la estrategia constante no ha funcionado tan bien como las otras dos. Como la evidencia favorece el uso de las estrategias proporcional o logarítmica, éstas son las más utilizadas. La regla general es tener primero en cuenta el algoritmo logarítmico puesto que da resultados intermedios.

Cuadro 1. Asignación de entradas a diferentes grupos de una colección núcleo según la estrategia constante (C), la proporcional (P) y la logarítmica (L), en el supuesto de que se escojan 30 entradas de una colección de 205 accesiones.

Grupo	No. de accesiones en la colección	No. de entradas asignadas empleando la estrategia		
		Constante	Logarítmica	Proporcional
1	120	8	10	18
2	50	8	8	7
3	25	7	7	4
4	10	7	5	1
Total	205	30	30	30

2.4.2 Procedimientos basados en la diversidad de marcadores

El siguiente grupo de procedimientos implica el uso de datos que indican ya sea la magnitud de la diversidad que hay dentro de los grupos o las divergencias que los separan (Brown y Schoen 1994; Schoen y Brown 1995).

- En la **estrategia H**, genes marcadores, como las aloenzimas o los marcadores de ADN, dan una aproximación de la frecuencia de los alelos en loci polimorfos, con la cual se calcula un índice de diversidad genética (h). Este índice equivale al grado de heterocigosis esperado en una población totalmente alogámica. Una teoría que se base en la maximización estricta de la riqueza alélica de toda la colección núcleo (o sea, en el número total de alelos de una muestra combinada) indica que el aporte relativo de cada grupo a la colección núcleo debe ser directamente proporcional a su diversidad, medida ésta por la función $\{h/(1-h)\}$.

Este enfoque se puede extender al uso de datos cuantitativos. Valores de la variación genética aditiva se pueden emplear como factores de ponderación, en vez de los resultados de $\{h/(1-h)\}$. Si se puede presumir que la variación ambiental es constante, esa misma teoría justifica el empleo de variaciones fenotípicas como factores de ponderación en la contribución que hace el grupo a la colección núcleo. Otras opciones incluyen el índice de diversidad de Shannon-Weaver, que se basa en información sobre caracteres morfológicos cualitativos (un ejemplo de este índice se encuentra en Mahajan y Bisht 1999).

- La **estrategia M** es un enfoque alternativo que utiliza la información recibida de los marcadores, y se centra en los distintos tipos de alelos que están presentes para un rango de loci marcadores en cada accesión. La estrategia emplea los datos obtenidos de los marcadores con criterio determinístico y no en forma estadística. Aplicando un programa lineal, ella busca la combinación de accesiones que maximice el número de alelos observados en los loci marcadores del núcleo, a la vez que mantiene el número total de muestras dentro de un límite específico y asegura un número mínimo de muestras de cada grupo. La estrategia M garantiza, por tanto, la inclusión de la máxima riqueza alélica para los loci marcadores empleados y toma en cuenta directamente, en esos loci, la magnitud de la variación y la divergencia respecto al modelo o patrón. Vale la pena anotar que la estrategia M no sólo define el número de accesiones que debe provenir de grupos diferentes, sino que identifica también las accesiones que se deben incluir.

Ambas estrategias suponen que todos los elementos de información sobre la diversidad que se utilicen (que son los alelos en la estrategia M) tienen un valor equivalente como indicadores de toda la diversidad que hay dentro de los grupos. Podrían concebirse sistemas de valor más complejos que agreguen factores específicos de ponderación a la variación relacionada con loci específicos, si se creyera que dicha variación fuera más importante que la variación encontrada en otros loci.

Vale la pena recalcar que la eficacia de estas diferentes estrategias depende de una clasificación acertada, es decir, de que produzca grupos genéticamente significativos. El procedimiento de agrupación asegura que los principales componentes de la adaptación a través de todos los hábitat o en zonas separadas están adecuadamente representados, de modo que una zona genéticamente rica no desalojará totalmente las muestras provenientes de zonas que tengan menos polimorfismo pero diferentes características de adaptación.

2.4.3 Procedimientos basados en el conocimiento informal

Se pueden usar procedimientos subjetivos, basados en el conocimiento informal, para determinar el número de entradas de un grupo y también para ajustarlo cuando se ha obtenido mediante otro procedimiento. Como se indicó anteriormente, aunque el tamaño del grupo por lo general constituye un indicador razonable de la diversidad o utilidad del grupo, esto no siempre ocurre pues es frecuente que las accesiones de las colecciones reflejen prioridades del pasado que ya no son aplicables, o incidentes históricos (como una donación de materiales de otros centros) o proyectos específicos de investigación, que pueden aumentar el número de accesiones de ciertos grupos. Cualquiera sea la estrategia utilizada, el curador podrá ajustar el tamaño de ciertos grupos, aumentándolos o reduciéndolos (Cuadro 2).

Los ajustes que los curadores con más frecuencia harían son:

- aumentar el tamaño de un grupo que se espera sea particularmente importante para la comunidad de usuarios;
- reducir el tamaño de un grupo que despierta poco interés en la comunidad de usuarios a pesar de su gran diversidad (un caso común en las colecciones para los parientes silvestres de especies cultivadas);
- reducir el tamaño de un grupo con gran número de accesiones pero considerado depositario de poca diversidad;
- aumentar el tamaño de un grupo que se considera poseedor de niveles altos de una diversidad cuya representación es escasa en la colección completa, aun cuando no se dispone de un cálculo formal de su diversidad (como en el caso de los parientes silvestres de especies cultivadas).

Cuadro 2. Ejemplo teórico de la asignación de entradas a unos grupos siguiendo el ajuste de la estrategia L para dar cuenta del nivel de diversidad que se espera tener en los grupos.

Grupo	No. de accesiones en la colección	Asignación mediante la estrategia L	Diversidad esperada en el grupo	Asignación ajustada (No.)
1	120	10	Moderada	10
2	50	8	Baja	6
3	25	7	Moderada	7
4	10	5	Alta	7
Total	205	30	30	30

2.5 Elección de las entradas

El último paso para establecer una colección núcleo consiste en elegir las entradas que realmente la conformarán. A estas alturas del procedimiento, la colección se ha dividido en muchos grupos pequeños con accesiones similares y se ha definido cuántas entradas se van a elegir en cada grupo. El siguiente paso es determinar cuáles entradas se van a escoger de cada grupo.

Las entradas seleccionadas deben ser las que mejor representen el grupo y las que cumplan mejor la función y los objetivos de la colección núcleo. Estos requisitos son válidos no sólo respecto a la diversidad genética del grupo sino también en lo referente a otras consideraciones, como la calidad de la documentación de las entradas, la disponibilidad de semillas o la función de algunas entradas como estándar o como progenitores importantes en un programa de mejoramiento. Como se indica más adelante, se pueden usar otros enfoques. La elección puede hacerse más o menos al azar o con base en un procedimiento analítico formal o en consideraciones de tipo práctico. El método empleado puede variar entre un grupo y otro, ya que la información disponible también puede diferir. Cuando se elige entre cultivares muy conocidos de un grupo, casi siempre se toma una decisión bien documentada porque se dispone de información sobre ellos. Por el contrario, cuando hay que elegir entre accesiones de un grupo de materiales silvestres de la misma región, es posible que no haya ninguna información adicional por lo que sólo podrán aplicarse procedimientos aleatorios.

2.5.1 Procedimientos al azar y procedimientos programados

La manera más rápida y más fácil de elegir las entradas es hacer un muestreo al azar de las accesiones del grupo. Una alternativa al muestreo sencillo al azar es la selección programada o sistemática, aunque debe tenerse cuidado de no seleccionar un conjunto de números sucesivos de accesiones para no sesgar el procedimiento. Es frecuente que ingrese un bloque de accesiones de origen similar y que se les asignen a éstas números sucesivos de accesión por lo que sería más aconsejable elegir números de accesión espaciados. Por ejemplo, si las accesiones cuyos números son 23, 24, 25, 53, 65, 66, 67, 68 y 69 conforman un grupo y deben elegirse entre ellas tres entradas, es mejor tomar los números 24, 53 y 67 en vez del 23, el 24 y el 25.

2.5.2 Procedimientos analíticos

Existen varias maneras de usar la información adicional sobre las accesiones de un grupo para elegir las entradas. Por ejemplo:

- Si se dispone de información adicional sobre marcadores o de datos de pasaporte, caracterización o evaluación, se puede asegurar que todas las variantes posibles están representadas en la colección núcleo. Por ejemplo, si hay que seleccionar dos entradas de un grupo y se dispone de datos sobre el color de la flor, se pueden incluir accesiones con flores de diferente color.
- Si se dispone de información abundante de marcadores o de datos de caracterización o evaluación se puede hacer un análisis multivariado de las accesiones (Crossa *et al.* 1995) como el de componentes principales o el de conglomerados. Lo ideal es que su resultado sea un número de conglomerados igual al número de entradas asignadas al grupo. Cada conglomerado se puede representar entonces por una accesión tomada al azar, por la accesión más representativa del conglomerado, o por una accesión que se ajuste a los criterios pragmáticos enumerados más abajo.
- Noirot *et al.* (1996) han desarrollado un procedimiento formal para elegir las entradas. Este método (Calificación de Componentes Principales) maximiza la diversidad de las muestras de un grupo de accesiones seleccionadas, empleando datos cuantitativos y un

análisis de componentes principales; además, se puede emplear para elegir accesiones en un grupo ya identificado.

- Si se conoce el árbol genealógico de las accesiones de un determinado grupo, esta información se puede utilizar para maximizar la diversidad de las entradas seleccionadas, evitando así incluir accesiones con un parentesco común (van Hintum y Haalman 1994).

2.5.3 Procedimientos pragmáticos

En la elección de las entradas de un grupo siempre habrá espacio para tener en cuenta aspectos de tipo práctico como los siguientes:

- **Confiabilidad de la clasificación.** Por regla general, las entradas de una colección núcleo deben tener datos confiables; en lo posible no se deben elegir accesiones cuya clasificación en grupos sea incierta.
- **Cantidad de información adicional.** La cantidad de información disponible sobre una entrada aumenta su utilidad potencial en una colección núcleo; en cuanto sea posible, debe darse preferencia a entradas que tengan información adicional, como datos de evaluación o de su árbol genealógico.
- **Reputación.** Debe favorecerse la elección (para la colección núcleo) de accesiones que tengan una gran reputación, como aquellas que han desempeñado un papel importante en la historia del mejoramiento o que son actualmente un modelo o estándar en la investigación.
- **Disponibilidad del material.** Como es probable que a futuro se necesite disponer de cantidades relativamente grandes de material de las entradas de la colección núcleo, se dará preferencia a las accesiones de las cuales hay suficiente cantidad.
- **Política.** Deben excluirse de la colección núcleo aquellas accesiones para las que haya restricciones de distribución. Por ejemplo, un aspecto importante de una accesión sería la fecha en que se colectó en tanto la distribución de todo material colectado después de la entrada en vigor del Convenio sobre la Diversidad Biológica, en 1992, está regulada por procedimientos diferentes a los que aplican a material colectado antes de esa fecha.

Terminada esta etapa, la colección núcleo ya queda establecida. En las siguientes secciones trataremos los temas relacionados con el manejo y el uso que se le dará a esta colección.

3 Manejo de la colección núcleo

Una vez identificadas las entradas que irán a la colección núcleo, el administrador del banco de germoplasma tiene que tomar varias decisiones acerca del manejo de dicha colección. Debe decidir, por ejemplo, en qué forma se almacenarán las entradas, cómo se van a regenerar y multiplicar, y qué manejo le dará a la documentación. Tan pronto como se establezca la colección núcleo, el administrador querrá también evaluar hasta qué punto se logró incluir en ella la diversidad presente en la colección completa sin caer en redundancias innecesarias. Este proceso se ha denominado validación. Por último, será necesario establecer procedimientos para modificar las entradas de la colección núcleo, teniendo en cuenta conocimientos recientes sobre el tema o la llegada de nuevas accesiones a la colección completa puesto que algunas de ellas podrían incluirse en la colección núcleo.

3.1 Mantenimiento de la colección núcleo

Hay que preguntarse, en primer lugar, si algunos conjuntos de entradas de la colección núcleo deben mantenerse separados de las demás accesiones del banco de germoplasma o si, aunque se conserven como parte de la colección completa, necesitan tratamiento especial. En un banco de germoplasma que tenga instalaciones adecuadas y una gran capacidad de almacenamiento o de mantenimiento, parecería innecesario mantener las entradas de la colección núcleo separadas del resto de la colección. No obstante, aun en situaciones como la descrita, es probable que se requieran cantidades adicionales de semilla o de material de propagación de las entradas de la colección núcleo, lo que haría necesaria la asignación de más espacio y de nuevas instalaciones.

Si la colección que ha servido para desarrollar la colección núcleo se conserva como una colección base⁴, se requerirá sin duda un conjunto aparte de las entradas elegidas para la primera. Donde ya exista una colección activa que se use para proveer de entradas a la colección núcleo, entonces el administrador del banco de germoplasma decidirá si es de alguna utilidad tener un conjunto de la colección núcleo físicamente aparte. Varias razones pueden hacer aconsejable esta decisión:

- Reducir al mínimo la posibilidad de cometer errores, porque se garantiza el uso de una sola fuente estándar que se mantiene en el mismo lugar en que está la colección núcleo
- Simplificar la distribución y el uso de los materiales porque se retiene toda la colección núcleo en una misma ubicación física.
- Simplificar el trabajo adicional de monitoreo deseable para una colección núcleo como supervisar la cantidad y calidad de las entradas.
- Mantener la colección núcleo en un sitio más seguro; por ejemplo, cuando el material se mantiene en campo se puede hacer una supervisión estrecha pues se está cerca de las instalaciones apropiadas.
- Responder a la necesidad de aumentar la cantidad de entradas de la colección núcleo.

En algunos casos, el número reducido de accesiones permitirá que se mantenga la colección núcleo aplicando métodos alternos (pero mejorados) de conservación. El banco puede contar con instalaciones de baja temperatura (como un gabinete de congelación rápida) para las entradas de una colección núcleo pero no para almacenar la colección completa. También se pueden usar métodos de almacenamiento *in vitro* para las entradas de una colección núcleo, como ocurre en la colección núcleo de café desarrollada por el IRD⁵ (Institut de Recherche pour le Développement), donde las accesiones se mantienen en condiciones de crecimiento lento como cultivo de brotes (Dussert *et al.*1997).

⁴ Una colección base es una colección de muestras del recurso genético que se mantiene para conservar el material seguro y a largo plazo y no se emplea como fuente habitual de distribución. Los materiales de una colección base sólo se retiran ocasionalmente, para regenerarlos (IBPGR 1991).

⁵ Anteriormente ORSTOM (Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération).

Por lo general, las entradas que se seleccionan para las colecciones núcleo no sufren ninguna modificación cuando se convierten en parte de éstas. Aunque es posible que se requiera más semilla u otro material de propagación, en la mayoría de los casos el administrador del banco de germoplasma querrá garantizar que las propiedades y características de las entradas de la colección núcleo no se alteren. Esta posición tiene la ventaja de que permitirá garantizar que una entrada de la colección núcleo siempre sea igual a la accesión de la colección base (o colección activa) de donde se obtuvo. Sin embargo, puede haber excepciones. En la Colección Núcleo Internacional de Cebada (Recuadro 5), cada entrada se convierte en una línea pura por descendencia de una sola semilla proveniente de una

planta individual con las características típicas de la entrada en cuestión (Knüpffer y van Hintum 1995). Los argumentos en favor de esta práctica fueron que la entrada de la colección núcleo permanecería siempre idéntica e inalterada, y que podría usarse en cualquier lugar del mundo para cualquier finalidad, con la certeza de que el material que se estaba usando era genéticamente idéntico. Por otra parte, la ventaja de conservar las entradas tan heterogéneas como lo eran originalmente significa que se podrá estudiar y utilizar la variación que existe al interior de una población.

Otra sugerencia consiste en determinar las entradas de una colección núcleo combinando o agregando accesiones dentro de un grupo. Una vez identificado un grupo final de accesiones, se tomarían muestras de cada una y se mezclarían unas con otras para formar la entrada de colección núcleo. Este procedimiento, aplicable a especies cultivadas que se propagan por semilla, podría retener, en la colección núcleo, la riqueza alélica que posee la colección completa. Ahora bien, el procedimiento rompe la conexión de equivalencia entre la entrada que está en la colección núcleo y la que está contenida en la colección original. Parte de la información sobre las accesiones originales, como los datos de pasaporte, ya no tendría relevancia. Este procedimiento fue sugerido para una colección núcleo de ryegrass perenne que se está desarrollando en Francia (Balfourier *et al.* 1994) y de él se dan más pormenores en la Sección 5.

Recuadro 5. La Colección Núcleo Internacional de Cebada

La Colección Núcleo Internacional de Cebada (CNIC) es un ejemplo de una colección núcleo que no hace parte de otra colección o de una combinación de colecciones (Knüpffer y van Hintum 1995). Es, en efecto, 'un conjunto seleccionado y limitado de accesiones, que representan, en grado óptimo, la diversidad genética de la cebada cultivada (*H. vulgare* s. lat.) y de las especies silvestres de *Hordeum*, y que proporciona estándares genéticos bien conocidos'. Los objetivos de la CNIC son 'aumentar la eficiencia de la evaluación y, por ello, de la utilización de las colecciones existentes; ofrecer una selección manejable y representativa del germoplasma disponible de cebada que pueda usarse en la investigación y en el fitomejoramiento; y proveer material adecuado para la necesaria normalización (o estandarización) del trabajo científico que se realiza con la cebada'. La CNIC fue conformada por un comité internacional que se basó en conocimientos y experiencias sobre la diversidad de la cebada en regiones específicas o en determinados grupos taxonómicos silvestres de *Hordeum*. Su tamaño se ha restringido siempre para que no sobrepase las 2000 entradas. Su mantenimiento y su distribución corren por cuenta de varios bancos de germoplasma del mundo; algunos de estos bancos son responsables de partes específicas de la colección núcleo. En lo posible, las accesiones que conforman la CNIC son líneas homocigóticas que permiten multiplicar individuos idénticos de un material a través de generaciones y en diversas localidades, y a su vez evaden el cambio genético debido a la selección natural o a la deriva genética al azar.

3.2 Distribución de accesiones de la colección núcleo

Es probable que la demanda que tengan las entradas de la colección núcleo sea mucho mayor que la ejercida sobre otras accesiones de la colección completa. El administrador del banco de germoplasma querrá tener a la mano mayores cantidades de semilla o de material

de siembra de las entradas de la colección núcleo. Por consiguiente, es aconsejable emplear los mejores procedimientos de que se disponga para regenerar y multiplicar las entradas de la colección núcleo. Así pues, las especies alogámicas propagadas por semilla deberán multiplicarse empleando poblaciones de plantas suficientemente grandes y aplicando prácticas óptimas de aislamiento, para reducir al mínimo la deriva genética y evitar el flujo de genes entre las accesiones (Breese 1989). También será necesario tomar las debidas precauciones con las especies propagadas vegetativamente. En el caso de que la especie se conserve *in vitro*, deberá mantenerse un mayor número de muestras *in vitro*; si no es posible hacerlo, las entradas tendrán que ser multiplicadas casi siempre "a solicitud".

Un aspecto del manejo de un banco de germoplasma que cobra cada vez más importancia es la distribución de material libre de plagas y patógenos. Muchos países imponen restricciones severas a la introducción de germoplasma por razones de sanidad vegetal. Además, el administrador del banco de germoplasma querrá estar seguro de que las entradas de la colección núcleo cumplan con normas apropiadas de sanidad vegetal, porque estas accesiones son las que tienen mayor probabilidad de ser distribuidas y porque es aconsejable que se adopten los más altos estándares de mantenimiento para este tipo de materiales (ver Guías Técnicas de FAO/IPGRI para el Movimiento Seguro de Germoplasma). De otro lado, el número relativamente pequeño de entradas de una colección núcleo permite que las actividades de prueba, cuarentena y eliminación de agentes patógenos se hagan con relativa frecuencia, ya que su ejecución en una colección completa es casi impracticable.

3.3 Manejo de la información

A medida que la colección núcleo se desarrolla y utiliza, habrá cada vez más información acerca de sus entradas. Puede suceder que no se requieran procedimientos especiales para recoger esa información y que resulten entonces apropiados los sistemas corrientes de documentación del banco de germoplasma. Lo normal es que la colección núcleo esté totalmente caracterizada y que, en lo posible, estos materiales sean los primeros que se tomen para evaluar caracteres nuevos (como marcadores bioquímicos o moleculares). Por ello, la información disponible sobre las entradas de una colección núcleo pronto será más completa que la que se pueda suministrar sobre otras accesiones. Este será probablemente el caso de la información sobre los caracteres de importancia agronómica que constituyen los datos de evaluación.

El proceso mismo de establecer una colección núcleo y seleccionar sus entradas debe documentarse. Es necesario que la información sobre los procedimientos que se siguieron y sobre los datos que se utilizaron esté disponible, para que pueda usarse en la validación, la sustitución, la enmienda o la investigación de las propiedades de accesiones provenientes del núcleo básico. Publicar los procedimientos empleados para establecer la colección núcleo es una parte importante de este proceso.

La información sobre las entradas de la colección núcleo puede proporcionar datos adicionales muy valiosos sobre la colección completa. Los procedimientos de estratificación empleados para establecer la colección núcleo se pueden usar, correlativamente, para proveer información acerca de otras accesiones del grupo desde el cual se obtuvo una determinada entrada. Existen, desde luego, limitaciones para este proceso que dependen del procedimiento de agrupación aplicado y de las características en cuestión.

Cuando una colección núcleo se desarrolle mediante trabajo colaborativo entre diferentes bancos de germoplasma habrá que discutir algunos aspectos relacionados con el manejo de la información. Tal es el caso de la Colección Núcleo Internacional de Cebada o de la colección núcleo de *Beta*. Es necesario establecer convenios que garanticen a todos los socios participantes tanto el acceso a las accesiones de la colección núcleo como la capacidad de dar igual información sobre cada accesión. A medida que una colección núcleo se distribuye y utiliza, habrá más información disponible de diversas fuentes. La

forma en que esa información se incorpore y se ofrezca requerirá ajustes especiales por parte de administradores de bases de datos.

3.4 Validación de la colección núcleo

Una vez establecida la colección núcleo, el administrador del banco de germoplasma deberá preguntarse hasta qué punto la colección ha logrado sus objetivos originales de representar la diversidad y de evitar la repetición. Este proceso de validación de la colección núcleo incluye por lo general compararla, mediante algún método apropiado, con la colección original a partir de la cual se desarrolló. La validación no debe obstaculizar el uso de la colección núcleo; antes bien, debe integrarse con él en cuanto sea posible. La comparación entre la colección núcleo y la colección completa se puede hacer empleando las características que intervinieron en el desarrollo de la colección núcleo o aquellas que no se emplearon en ese proceso. Lo aconsejable es emplear ambos tipos de comparación en la validación. También es útil hacer un análisis crítico que indique si una entrada cumple con los objetivos de su colección núcleo (Ortiz *et al.* 1999).

Se puede hacer una evaluación preliminar comparando los promedios, los rangos, las frecuencias y las varianzas de algunos caracteres presentes en los diferentes grupos de la colección núcleo, con aquellos pertenecientes a los grupos de donde se derivaron los básicos. Los rangos deben permanecer similares mientras que los promedios deben acercarse a la mediana; las varianzas podrán aumentar en la colección núcleo en comparación con la colección completa (Figuras 5 y 6). Ahora bien, ciertos métodos empleados en la selección con que se constituye la colección núcleo pueden conducir a otro resultado. La estrategia de **calificación de componentes principales**, desarrollada por Noirot *et al.* (1996), tiende a seleccionar entradas cuyos estados en los caracteres empleados tienen una expresión extrema. Este método hace que las entradas cuyas expresiones sean de grado intermedio tengan una representación más baja.

Se ha sugerido que los marcadores bioquímicos y moleculares son adecuados cuando evalúan el éxito que tiene una colección núcleo para lograr sus objetivos de representar la diversidad genética. Por ejemplo, las colecciones núcleo de 10%, aproximadamente, deben poseer un 70% de los alelos presentes en la colección completa. Es muy poco práctico, sin duda (e innecesario), evaluar una muestra de una colección núcleo contra la colección completa que le sirvió de punto de partida. No obstante, pueden compararse muestras de la colección núcleo y de la colección completa para determinar si, en términos generales, tienen alelos similares de marcadores bioquímicos o moleculares. Por eso, Skroch *et al.* (1998) emplearon los RAPD para evaluar las entradas de la colección núcleo de *Phaseolus* mexicano y compararlas con un conjunto tomado al azar de la colección completa de donde se sacaron. Lo interesante es que en este caso no se encontró ninguna diferencia entre las dos muestras. Esto indicó, de una parte, que la colección núcleo no tuvo más éxito que un conjunto al azar de accesiones cuando trató de captar la diversidad del polimorfismo de RAPD y, de otra, que todos los polimorfismos que se encontraron en el conjunto al azar también estaban presentes en la colección núcleo.

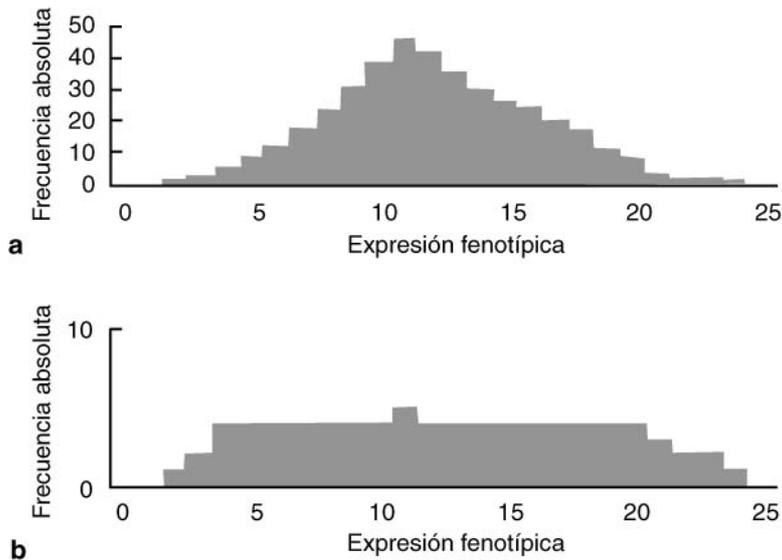


Figura 5. Distribución de un carácter cuantitativo tanto en la colección completa como en una colección núcleo. (a) Colección completa: número de accesiones = 400; promedio = 11.3; desviación estándar = 3.9; valor mínimo = 1; valor máximo = 24. (b) Colección núcleo: número de entradas = 80; promedio = 12.4; desviación estándar = 5.9; valor mínimo = 1; valor máximo = 24.

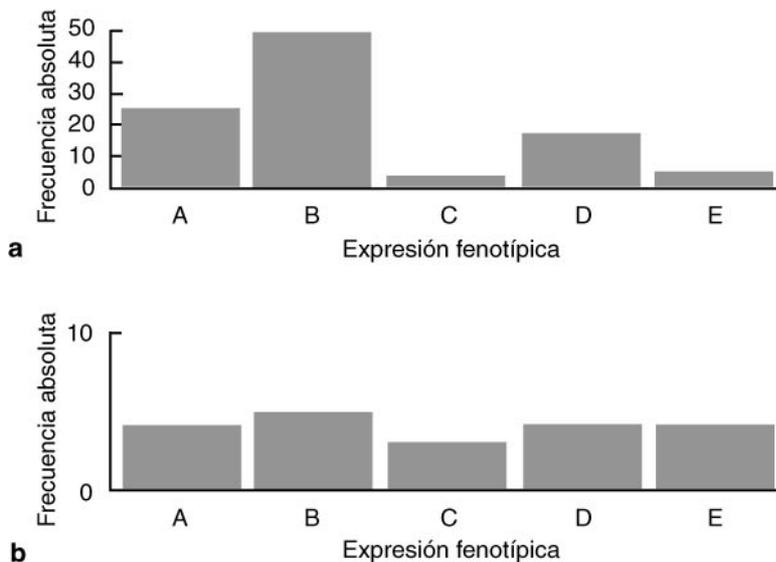


Figura 6. Distribución de un carácter cualitativo tanto en la colección completa como en una colección núcleo. (a) Colección completa: número de accesiones = 100; número de clases = 5. (b) Colección núcleo: número de entradas = 20; número de clases = 5.

Las pruebas que detectan la redundancia son más difíciles y dependen, en gran medida, de la experiencia que tenga el administrador del banco de germoplasma. Cuando los costos de mantenimiento sean elevados, puede ser útil emplear marcadores moleculares y bioquímicos en esas pruebas (van Hintum *et al.*1996; Phippen *et al.*1997). En todo caso, siempre será importante considerar todas las características sobre las que hay datos disponibles, y no depender de unos pocos caracteres para detectar supuestas duplicaciones o redundancias.

3.5 Modificación de la colección núcleo

Una vez constituida la colección núcleo, ésta debe ser bastante estable. Su manejo se dificultará más si su conformación cambia continuamente y su uso se verá restringido si las entradas están expuestas constantemente al cambio. Es necesario que la colección núcleo se mantenga estable en el tiempo para poder comparar las evaluaciones que se le hagan en diferentes momentos; de ahí que el grueso de las entradas deba permanecer constante. El administrador del banco de germoplasma también querrá cambiar, de vez en cuando, el número y la identidad de las entradas de una colección núcleo. Estos cambios pueden ser leves (sustituir, por ejemplo, una entrada por otra en un grupo específico), pero pueden ser más serios (como alterar el equilibrio entre los grupos). A continuación se enumeran algunos factores que los administradores de los bancos de germoplasma deberán considerar cuando decidan cambiar la conformación de una colección núcleo:

- Identificar las accesiones que, por sus caracteres específicos deseables, deban incluirse en la colección núcleo; ejemplos de dichos caracteres son nuevas formas de resistencia tanto a enfermedades específicas como a determinadas causas de estrés.
- Atender solicitudes de los usuarios de incluir accesiones específicas porque tienen características importantes para la comunidad de usuarios; por ejemplo, cultivares estándar para pruebas específicas o genotipos fijos de apoyo que se emplean para elaborar mapas genéticos moleculares o para descifrar secuencias de un genoma.
- Adquirir otras accesiones cuya nueva diversidad deba estar representada en la colección núcleo.
- Aumentar los conocimientos sobre el alcance y la distribución de la diversidad genética en el material del cual fue extraída la colección núcleo. El hallazgo de que unos grupos tienen mucha más diversidad que otros haría pensar en la posibilidad de alterar el número de entradas tomadas de los grupos en cuestión.
- Tener en cuenta nuevos métodos de mejoramiento o conocimientos que puedan cambiar el valor de un grupo para los usuarios. Por eso, la detección de QTL (loci para caracteres cuantitativos) relacionados con el rendimiento en los parientes silvestres puede elevar el valor de algunas especies silvestres para los usuarios.

Cualesquiera sean las razones del cambio, el proceso debe planificarse y organizarse de manera que no comprometa la integridad de la colección núcleo o cause problemas a los usuarios. Lo ideal es que los usuarios estén informados sobre cualquier cambio significativo que se haga en la colección núcleo y sobre las razones que lo motivaron. La calidad del material que se introduce en la colección núcleo y los datos que haya sobre ese material deben ser del mismo nivel que los del resto de la colección núcleo; de lo contrario, deben adquirir rápidamente ese estándar. Puesto que un aspecto sobresaliente de una colección núcleo es su tamaño limitado, el objetivo del administrador de ésta debe ser remplazar materiales en vez de agregar otros nuevos.

4 Utilización de la colección núcleo

Las colecciones núcleo se establecen para mejorar la conservación y el uso de los recursos genéticos. Pueden ayudar en el manejo de los bancos de germoplasma, en las decisiones que conviene adoptar respecto a lo que se debe conservar, y en dar un mejor uso al material mantenido en los bancos de germoplasma (Cuadro 3). En esta sección se describe la forma en que se pueden utilizar las colecciones núcleo y se sugieren métodos para lograr que su uso aumente.

En el Cuadro 3 se observa que las colecciones núcleo se pueden utilizar de diferente manera:

- Como un conjunto **limitado**, en tareas (o actividades) en que se necesite un número pequeño de accesiones (como las tareas 12 y 15 en el Cuadro 3).
- Como una lista de las entradas que tendrán **prioridad** para ser atendidas (como las tareas 3, 4 y 6 en el Cuadro 3)
- Como un conjunto de **referencia**, cuando se necesita un indicador para algunas secciones de la colección completa (como las tareas 1, 5 y 10 en el Cuadro 3)
- Como un conjunto óptimo de material **experimental**, para evaluaciones de la colección o para desarrollar métodos (como las tareas 2, 7, 9, 11 y 16 en el Cuadro 3).

Es frecuente que la colección núcleo funcione de varias maneras en relación con una tarea específica. En consecuencia, toda la colección núcleo o parte de ella puede funcionar como un conjunto experimental y como un conjunto de referencia para desarrollar un método óptimo para probar un carácter complejo, evaluar la respuesta de la colección núcleo a ese carácter, y usar parte de (o toda) la colección núcleo para hacer estudios genéticos que determinen la herencia de los caracteres. Cuando se discute el uso de una colección núcleo, resulta útil diferenciar entre la forma en que las colecciones núcleo pueden ayudar a los administradores de los bancos de germoplasma a conservar mejor el material, de un lado, y la manera en que una colección núcleo puede contribuir a que se utilicen mejor esas colecciones, del otro.

4.1 Mejoramiento de las operaciones de los bancos de germoplasma

La labor de consolidar una colección núcleo suele estimular un crecimiento importante de los conocimientos sobre el alcance y la distribución de la diversidad genética dentro de una colección. Una vez establecida la colección, ésta se convierte en un marco de referencia para otros estudios. Es posible esperar que los modelos de diversidad reflejen estructuras de la colección núcleo sobre las relaciones entre los grupos (relación intergrupala) y sobre las relaciones dentro de cada grupo (relación intragrupal). Pueden probarse hipótesis específicas relativas a la distribución de la diversidad en ciertos grupos o conjuntos de grupos (Tohme *et al.* 1999); por ejemplo, definir si las muestras tomadas en los centros de origen tienen más diversidad que las que provienen de zonas alejadas del patrón de distribución de la especie. Los datos que no logren confirmar esta hipótesis pueden indicar un gran vacío en la colección.

Cuadro 3. Ejemplos de las diferentes formas en que se puede utilizar una colección núcleo.

Tarea	Función de la colección núcleo
Características de la colección	
1 Definir dónde asignar nuevo material	Proporcionar un conjunto de referencia para determinar el grupo de accesiones con las que se debe comparar el material nuevo
2 Detectar vacíos o fallas en la colecta	Permitir la identificación de lagunas o vacíos en la variación, que indican ausencias de material o conjuntos donde una gran cantidad de variación está asociada con unas pocas accesiones
Manejo de la colección	
3 Desarrollar cronogramas para la regeneración	Las entradas de la colección núcleo tienen prioridad, especialmente cuando se está perfeccionando una colección
4 Asignar prioridades para el manejo	Proveer un conjunto para atender prioridades cuando sea necesario
5 Monitorear la viabilidad	Proveer un conjunto apropiado de accesiones para monitorear la colección completa
6 Duplicar por seguridad	Actuar como un grupo prioritario para duplicación de seguridad, para distribución a los bancos de germoplasma regionales o internacionales, o para mantener en diferentes condiciones (p. ej., como genotecas de ADN, en bancos de campo, o en condiciones <i>in vitro</i>)
7 Desarrollar y aplicar nuevos métodos de conservación	Suministrar el material de prueba escogido para la posible llegada de procedimientos mejorados de mantenimiento (como semillas ultrasecas, técnicas <i>in vitro</i> y de crioconservación)
Manejo de la información	
8 Organizar bases de datos	Suministrar puntos de referencia estándar para la documentación y permitir que se grabe la estratificación de la colección completa
Estudio y uso de las colecciones	
9 Desarrollar listas de descriptores	Entradas apropiadas para probar la capacidad de los descriptores para discriminar accesiones
10 Probar caracteres costosos y complejos (como la respuesta al fotoperíodo)	Permitir el desarrollo de un procedimiento eficiente de muestreo en dos pasos –primero entre un grupo y otro, y luego dentro de cada grupo
11 Desarrollar métodos	Proporcionar un conjunto de materiales que tenga probabilidad de abarcar una gama completa de expresión de características
12 Establecer relaciones entre diferentes caracteres	Proporcionar un conjunto restringido con probabilidad de abarcar una gama completa de expresión de diferentes caracteres, para maximizar la eficiencia de los estudios de correlación
13 Realizar estudios de genética	Permitir la selección de material óptimo para los estudios de herencia de caracteres y para el cálculo de la capacidad general de combinación
14 Premejoramiento	Suministrar grupos disímiles con probabilidad de contribuir a la identificación de la heterosis o de reunir entre todos nuevas combinaciones de genes
Distribución desde las colecciones	
15 Tener a mano un suministro adecuado de semilla	Pueden producirse mayores cantidades de semilla a partir del conjunto limitado de entradas de la colección núcleo
16 Distribuir diversas muestras representativas	Proporcionar la máxima diversidad en conjuntos limitados de accesiones para evaluaciones de los usuarios

Más específicamente, la colección núcleo aporta pruebas de la existencia de vacíos en las colecciones (es decir, grupos con un número muy pequeño de accesiones o lagunas considerables entre un grupo y otro) que mostrarían la necesidad de hacer más colectas. Las accesiones de la colección núcleo suministran también un conjunto de referencia idóneo para el material nuevo que ingresa a un banco de germoplasma; este material se puede asignar a un grupo específico y se puede probar con un conjunto de accesiones que, se supone, mostrarán propiedades similares.

Los bancos de germoplasma se interesan, generalmente, en aplicar y mejorar diversas actividades de conservación (como los métodos de conservación *in vitro*, los métodos para analizar la pureza, los protocolos de regeneración, el desarrollo de listas de descriptores y las pruebas que éstas requieren). Dichos métodos deben ser aplicables y confiables en todo el espectro de variación genética que manejan; la colección núcleo proporciona entonces el grupo más apropiado para esos estudios (Dussert *et al.* 1997). Esa colección suministra el material ideal para tal propósito al igual que material adecuado para diversas actividades rutinarias de monitoreo que tienen que realizar los bancos de germoplasma, como los ensayos de viabilidad de las semillas.

La colección núcleo nunca pretende reemplazar la colección completa pero puede haber situaciones en las que funcionaría como un conjunto prioritario por razones de seguridad. Se le puede dar prioridad si los recursos para la regeneración son limitados o si hay que obtener, en etapas, una copia de seguridad de una colección. Puede suministrar también un conjunto óptimo de materiales en situaciones de emergencia, como las guerras civiles o los desastres naturales, en las que sólo se puede asegurar una parte de la colección.

Una vez establecida una colección núcleo, se abre para ella un campo continuo de desarrollo en la conservación del vínculo que la une a la colección completa. La pregunta acerca de toda la colección es qué tan confiables son las inferencias basadas en las entradas de la colección núcleo para predecir el desempeño de otras accesiones del mismo grupo. Una estrategia ideal para los curadores de colecciones sería recoger las historias de casos y la experiencia relacionadas con esta pregunta y usarlas como un método para evaluar y mejorar sus colecciones núcleo.

4.2 Acciones para incrementar el uso de los recursos fitogenéticos

Cuanto más amplio sea el espectro de usuarios de la colección núcleo, mayor será la diversidad de usos que tendrá. Aunque los fitogenetistas y otros investigadores serían el pilar en que se apoye la comunidad de usuarios, es útil identificar otros usuarios potenciales cuyo trabajo requeriría el uso de una colección núcleo. Entre los posibles usuarios de toda la colección núcleo o de parte de ella están los educadores, los agrónomos, los extensionistas, las ONG (organizaciones no gubernamentales), las organizaciones de agricultores y los propios cultivadores.

Se debe estimular a los usuarios de los recursos fitogenéticos a que utilicen la colección núcleo cuando sea pertinente. Ellos podrán así utilizar la diversidad genética de un cultivo, de manera más eficaz e integradora, para detectar las características o propiedades en las que estén interesados. Esta acción mejorará la calidad de su trabajo y permitirá garantizar que la información sobre la colección núcleo mejore continuamente. Deben recalcarse en todo momento las ventajas que trae a los usuarios la colección núcleo en lo que respecta tanto a la calidad como a la eficiencia de su trabajo.

Los administradores de los bancos de germoplasma deberán mantener una actitud flexible respecto al uso de la colección núcleo para atender necesidades específicas de los diferentes usuarios. Es posible que éstos no siempre requieran toda la colección núcleo. Para abordar solicitudes específicas, pueden utilizarse subconjuntos de la colección núcleo, los cuales se maximizan respecto a la variación genética de ciertos caracteres o en relación con determinados tipos de material. Por ejemplo, pueden suministrarse subconjuntos extraídos de un subconjunto de la colección núcleo, los cuales contienen sólo los parientes

silvestres de una especie cultivada, como parte de una búsqueda de nuevos genes que aumenten el rendimiento (Tanksley y McCouch 1997).

Un propósito importante de muchos usuarios interesados en investigación aplicada o básica será localizar caracteres específicos o variación específica en características específicas de un acervo de genes perteneciente a una especie cultivada, como parte de una estrategia eficaz de búsqueda. La colección núcleo proporciona un punto de acceso eficaz a la colección completa para una búsqueda, en el acervo de genes, de las características de interés. Por ejemplo, la colección núcleo de maní de los Estados Unidos ha sido utilizada como punto de acceso hacia la colección general, identificando los grupos del subconjunto de la colección núcleo que contengan accesiones resistentes al virus del marchitamiento moteado del tomate (TSWV) y trazando luego planes para seleccionar todas las accesiones de la colección completa a partir de grupos que posean esa resistencia (Anderson *et al.* 1996; Holbrook 1999).

Recuadro 6. Alternativas y enlaces de Internet para promover el uso de una colección núcleo

Alternativas

- Correo directo a los usuarios actuales
- Cartelera (posters) o presentaciones en conferencias o reuniones
- Publicaciones científicas y de otras clases (como *Crop Science*, *Plant Genetic Resources Newsletter*, *Genetic Resources and Crop Evolution*, *Euphytica*)
- Boletines sobre especies cultivadas (*InfoMusa*, *Barley Newsletter*)
- Listas de correo electrónico o de grupos de noticias (Plant Tissue Culture Listserv, GrainGenes)
- Redes dedicadas a especies cultivadas (*Red de Biotecnología de Yuca*, INBAR, *Nitrogen Fixing Tree Association*, *Red Internacional para la Evaluación Genética del Arroz*)
- Redes regionales de recursos genéticos o de investigación agrícola (ASARECA, ECP/GR, AgREN)
- Comités de especies cultivadas o de germoplasma
- Sistemas internacionales de información, como el WIEWS.

Enlaces de Internet

- Sitios web importantes de Internet (p.ej., las bases de datos sobre germoplasma: SINGER, pcGRIN)
- Bases de datos sobre construcción de mapas y desarrollo de secuencias de los genomas (GrainGenes, SolGenes, Rice Sequencing Project, Grasses Genome Initiative, etc.)
- Redes de evaluación de especies cultivadas (INGER, LAMP, UPWARD)
- Iniciativas de tipo educativo (módulos en los cursos universitarios, trabajos prácticos)
- Redes de agrónomos y de extensionistas comprometidos con el desarrollo agrícola (AgREN)
- Muchas ONG involucradas en el desarrollo agrícola (SRISTI).

4.2.1 Investigación aplicada: selección respecto a caracteres útiles

La colección núcleo se usa comúnmente para seleccionar con base en características agrónomicamente útiles. Se puede hacer selección en las colecciones núcleo sobre una amplia gama de caracteres cualitativos o cuantitativos. La presencia o ausencia, en la colección núcleo, de dichas características se puede utilizar para hacer un análisis de costo-beneficio sobre qué tan amplias deben ser las estrategias de búsqueda y qué procedimientos optimizarían los beneficios. De hecho, ya se han utilizado colecciones núcleo para detectar materiales que posean determinados caracteres útiles en diversos cultivos, y hay pruebas suficientes de que esas colecciones han sido una ayuda efectiva para identificar nuevo germoplasma útil (Cuadro 4). Las colecciones núcleo se han empleado también en experimentos de evaluación de múltiples caracteres, de tipo más general (ver, por ejemplo, Willner *et al.* 1998; Hodgkin *et al.* 1999).

En algunas especies cultivadas, los usuarios desearían identificar genotipos útiles en vez de genes (como en muchos cultivos forrajeros o en otros obtenidos por clonación). En tales casos, la colección núcleo permitirá hacer un muestreo racional de la mayor representación de la diversidad genética en las actividades de selección y mejoramiento. Un conjunto más amplio de usuarios (como los agrónomos, los extensionistas o los agricultores) podría interesarse en seleccionar directamente genotipos de una colección núcleo y en evaluarlos con respecto a sus propias necesidades.

Hasta el momento se ha informado poco acerca del uso de una colección núcleo para identificar líneas con buena capacidad combinatoria (Frankel y Brown 1984; Spagnoletti Zeuli y Qualset 1995). Sin embargo, las colecciones núcleo representan un punto de partida muy apropiado para la elección de líneas aptas para dichos estudios. El conocimiento de la relación entre las líneas probadoras comúnmente empleadas y algunas entradas importantes de la colección núcleo daría nuevos incentivos para que los usuarios utilicen la colección núcleo.

Las colecciones núcleo serán una herramienta muy efectiva para los investigadores interesados en los efectos de fondo que inciden en la expresión de los genes (como la epistasia, la epigenética y otros) y que, además, necesiten (para los estudios que han planificado) un conjunto variado de genotipos con un historial muy divergente. De modo semejante, los usuarios finales –interesados en evaluar o aprovechar el alcance de las interacciones genotipo x medio ambiente ($G \times E$) o de las interacciones gen x medio ambiente (o QTL x ambiente)– podrán utilizar las entradas de una colección núcleo para evaluar el alcance de dichas interacciones en un acervo de genes (Charmet *et al.* 1993; Balfourier *et al.* 1997).

4.2.2 Investigación básica y capacitación

Las colecciones núcleo serán muy útiles dondequiera que se necesite un amplio espectro de diversidad, ya sea con fines de investigación o de ilustración. Las colecciones núcleo se han utilizado para explorar tanto el alcance y la distribución de la diversidad genética dentro del acervo de genes de una especie cultivada (Tohme *et al.* 1996, 1999) como las relaciones que existen entre los acervos de genes. Las colecciones núcleo pueden usarse también para establecer la correlación que pueda existir entre caracteres y parámetros medioambientales; este enfoque fue adoptado para establecer la relación entre la cianogénesis y el clima en germoplasma de trébol blanco de los Estados Unidos (Pederson *et al.* 1996).

4.3 Incremento del uso de las colecciones núcleo

Una vez establecida la colección núcleo, hay que informar a los usuarios acerca de su existencia y de la forma en que les puede servir en su trabajo. No debe darse por sentado que, siendo usuarios del germoplasma, quedarán automáticamente enterados de la existencia y de la utilidad de una colección núcleo. Lograr un conjunto de usuarios tan extenso y variado como sea posible, y que hayan recibido información pertinente acerca de la colección núcleo, hará que ésta sea más útil para ellos y, en consecuencia, fortalecerá los vínculos que unen la colección núcleo y sus usuarios. Cuanto más clientes utilicen la colección núcleo y aporten **además** sugerencias para hacerla más útil, tanto más se incrementará en el tiempo el valor y la importancia de ella para satisfacer las necesidades de los usuarios.

Cuadro 4. Ejemplos del uso de una colección núcleo para detectar germoplasma con determinadas características.

Característica general	Carácter específico	Colección núcleo	Referencia
Resistencia a factores de estrés biótico	Resistencia nueva al moho blanco	Frijol común	Miklas <i>et al.</i> 1997
	Resistencia a la mancha foliar tardía, al virus del marchitamiento manchado del tomate, a la pudrición del limbo causada por Rhizoctonia	Maní	Holbrook y Anderson 1995; Anderson <i>et al.</i> 1996; Franke <i>et al.</i> ; Holbrook 1999
	Resistencia a la antracnosis, al marchitamiento causado por Fusarium, al áfido del repollo	Lenteja	Kaiser <i>et al.</i> 1998; Baya <i>et al.</i> 1997
	Resistencia a <i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brassica oleracea</i>	Ellis <i>et al.</i> 1998
	Resistencia de <i>Peronospora parasitica</i>	<i>Brassica oleracea</i>	Coelho <i>et al.</i> 1998
	Resistencia a mancha circular (<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>)	<i>Triticum monococcum</i>	Cadle <i>et al.</i> 1997
Tolerancia de factores de estrés abiótico	Tolerancia de suelos ácidos	Alfalfa	Bouton 1996
	Salinidad	Quinua	Ruiz-Tapia <i>et al.</i> 1997
Contenido químico	Factores de calidad del aceite y la harina	Cártamo (azafrán)	Bergman <i>et al.</i> 1997
	Composición de ácidos grasos: ácido epóxico y ácido eicosenoico	Maní	Hammond <i>et al.</i> 1997
	Calidad forrajera de hojas y tallos	<i>Medicago sativa</i>	Jung <i>et al.</i> 1997
	Digestibilidad	<i>Lolium perenne</i>	Boller <i>et al.</i> 1998
Caracteres fisiológicos	Respuesta al almacenamiento en condiciones de crecimiento lento <i>in vitro</i>	Café	Dussert <i>et al.</i> 1997
	Calidad del césped, producción de semilla	<i>Poa pratensis</i>	Johnson <i>et al.</i> 1999
	Cianogénesis y adaptabilidad al clima	Trébol blanco	Pederson <i>et al.</i> 1996
	Absorción de nitrógeno y acumulación de biomasa	Papa	Errebhi <i>et al.</i> 1998
Otros caracteres relacionados con el fitomejoramiento	Capacidad combinatoria y modelos heteróticos	Trigo	Spagnoletti Zeuli y Qualset 1995
	Interacciones genotipo x ambiente	Ryegrass perenne	Charmet <i>et al.</i> 1993; Balfourier <i>et al.</i> 1997

Es posible llegar a los usuarios potenciales de muchas y diferentes maneras para darles información útil sobre la colección núcleo. La búsqueda proactiva de nuevos usuarios es muy recomendable; hay que considerar diferentes formas de “hacerle publicidad” a la colección núcleo entre el variado grupo de usuarios potenciales, tanto a nivel nacional como internacional. En el Recuadro 6 se presenta una lista de opciones de publicidad.

La información de retorno que envíen continuamente los usuarios ayudará a evaluar y aumentar la utilidad de la colección núcleo. Hay que procurar que los usuarios hagan nuevas caracterizaciones y comuniquen datos de sus evaluaciones puesto que así se mejorará la calidad de la información sobre las accesiones de la colección núcleo. Un paso importante será, por consiguiente, establecer procedimientos y requisitos claros que permitan a los usuarios suministrar toda la información relevante posible.

También es importante dar instrucciones claras a los usuarios finales de la colección núcleo sobre la manera como deben citarla o referirse a ella en un escrito. Para que los resultados de diferentes usuarios puedan cruzarse para hacer comparaciones, es esencial que todos ellos utilicen la misma nomenclatura cuando se refieren a las accesiones de la colección núcleo. También se puede alentar a los usuarios a que publiquen o hagan conocer el trabajo que han desarrollado con ayuda de la colección núcleo. La elaboración de una bibliografía (y su actualización permanente) sobre la información documentada y los usos que se ha dado a una colección núcleo, serán, con el tiempo, un recurso inestimable para los nuevos usuarios de esa colección y de gran ayuda en el manejo de la misma.

Las necesidades y las preferencias de los usuarios del germoplasma, al igual que los procedimientos que emplean, se modifican con el transcurso del tiempo; por tanto, puede ser útil realizar periódicamente una encuesta sobre las necesidades de los usuarios de una colección núcleo (cada 2 a 5 años, por ejemplo). Estas encuestas pueden ayudar posteriormente a modificar la colección núcleo o a ajustarla a las necesidades de los diferentes grupos de usuarios (McFerson *et al.* 1996).

Una oportunidad de demostrar a los usuarios la gran variabilidad de que disponen se presenta cuando hay que multiplicar las accesiones de la colección núcleo. Se los puede invitar, por ejemplo, a un día de campo para que inspeccionen la variabilidad fenotípica disponible en la colección núcleo o en una parte específica de la misma (como en un grupo perteneciente a ella). Si la invitación a participar en los ejercicios anteriores se extiende a una gran diversidad de usuarios, sus sugerencias (información retroalimentada) serán particularmente valiosas para el curador de la colección núcleo.

El enfoque y la metodología del fitomejoramiento cambian constantemente. Por consiguiente, serán de gran utilidad las conexiones o “puentes” entre la colección núcleo y otras iniciativas del fitomejoramiento (ver Recuadro 6) y, recíprocamente, será muy útil para las actividades de mejoramiento la referencia o el punto de relación que ellas puedan tener en la colección núcleo.

5 Perspectivas de desarrollo futuro

El concepto de colección núcleo apareció en 1984; desde entonces se han establecido muchas y utilizado muchas colecciones núcleo y su número continúa creciendo. No cabe duda de que los procedimientos empleados para establecer una colección núcleo se irán perfeccionando porque cada día se dispone de nuevos resultados de diversos estudios. La efectividad relativa de los métodos taxonómicos, geográficos, ecológicos y agromorfológicos empleados para agrupar materiales será más obvia. Se definirá la capacidad con que los diferentes métodos garantizan que la diversidad genética este captada en las colecciones núcleo. Se probarán nuevos métodos para seleccionar, partiendo de grupos específicos, las entradas que integrarán la colección núcleo, y se diseñarán mejores métodos para usarlas.

La información generada por el aumento en el uso de los marcadores bioquímicos y moleculares contribuirá, sin duda, a mejorar las colecciones núcleo; igualmente, el creciente uso de los sistemas de información georreferenciada será de gran ayuda en el análisis de los patrones de distribución de la diversidad genética (Guarino *et al.* 2001). La progresiva disponibilidad de tales conjuntos de datos para la confirmación y la revisión de las colecciones núcleo significa que una colección núcleo funcionará como un “resumen” de los conocimientos existentes sobre patrones amplios de variación encontrados en acervos de genes de especies cultivadas. Al mismo tiempo, habrá mejor acceso por Internet a la información sobre las colecciones, lo cual aumentará tanto la popularidad como la utilidad de las colecciones núcleo.

Las colecciones núcleo tendrán también una influencia importante a otro nivel. El procedimiento favorece un enfoque que valida los conocimientos existentes acerca de una colección y que aporta un incentivo poderoso para adquirir nuevos conocimientos. En este sentido, una colección núcleo le agrega valor a la colección completa. Ella fomenta, además, el desarrollo de una metodología de muestreo y análisis, que abrirá nuevas y mejores rutas de acceso a la diversidad genética y a su utilización.

Un paso esencial en la metodología con que se conforma una colección núcleo es la selección de un conjunto genéticamente representativo partiendo de cualquier conjunto más grande de accesiones. Esto significa que no sólo es posible representar toda la colección sino, además, partes más pequeñas de la misma o diferentes partes de ella a diferentes densidades. Este paso proporciona una salida a los administradores de los bancos de germoplasma, ya que podrán atender solicitudes como “50 accesiones que representen los cultivares de lechuga 'butterhead' de Europa Occidental”, o “50 accesiones que representen todos los demás cultivares de lechuga butterhead del mundo”, o “25 accesiones que representen los demás tipos de *Lactuca* cultivada”.

Van Hintum (1999) describe un procedimiento que puede emplearse para identificar una muestra representativa de un banco de germoplasma en línea, con acceso directo a la información que tiene un ordenador sobre una colección del banco de germoplasma. Este procedimiento se puede utilizar para responder a una demanda específica, como alguna de las anteriormente descritas, y para escoger, de manera más general, una muestra del tamaño que se especifique según los principios establecidos y definidos. Van Hintum denomina estas muestras “selecciones de la colección núcleo” y advierte que el procedimiento se puede emplear para seleccionar una muestra representativa de cualquier tamaño a partir de cualquier conjunto de materiales. Es de esperar que tales sistemas, combinados con interfaces mejoradas de Internet para las bases de datos de germoplasma, mejorarán enormemente el acceso a los bancos de germoplasma.

La metodología de muestreo empleada para desarrollar colecciones núcleo se puede aplicar a otra labor de conservación, en la que se requieren conjuntos definidos de muestras de tamaño limitado. Podría emplearse para ayudar a identificar las poblaciones de una especie silvestre, como la de un pariente de una especie cultivada o de una especie forestal, que deberían conservarse *in situ* para mantener en un nivel máximo la diversidad genética. Se ha sugerido que, como en el caso anterior, se emplee la metodología para apoyar la conservación en fincas de los cultivares tradicionales (Bhuwon Sthapit, comunicación

personal). Se repite aquí la situación en que un procedimiento haría posible que los programas nacionales trabajaran con las comunidades y con los agricultores en la identificación de cultivares locales que, si se llegan a usar continuamente, maximizarían la diversidad genética conservada.

También se ha propuesto la posibilidad de desarrollar metodología para establecer una “colección núcleo masal” (van Hintum 1998). En la Sección 3.1 se mencionó brevemente este punto. En la mayoría de las colecciones núcleo se forman grupos de accesiones, de los cuales se seleccionan una o varias entradas. Para conformar una “colección núcleo masal”, todas las accesiones de un grupo o algunas de ellas se toman en 'grupo' (en masa) y se forma con ellas una sola entrada. En consecuencia, estas entradas contendrán, desde el principio, toda la diversidad genética disponible en los respectivos grupos. El material contenido en una entrada masal puede recombinarse por cruzamiento o, si se trata de polinizadores cruzados, permitiendo que éstos crezcan afuera en una parcela de aislamiento.

Las colecciones núcleo masales ofrecerían una forma de aumentar la cantidad de diversidad genética presente en una colección núcleo, ya que no se necesitaría seleccionar una accesión individual en grupos todavía heterogéneos. Ahora bien, la utilidad que tendrán estas colecciones en el trabajo futuro depende de la habilidad de los curadores para identificar estos genes en las poblaciones masales, un problema similar, en ciertos aspectos, al de identificar genes útiles en colecciones de mayor tamaño. Las poblaciones masales se usarían en situaciones en que se desea tener poblaciones variables. Por ejemplo:

- Podrían actuar como punto de partida en la conformación de poblaciones adaptadas, con características muy similares. Si se exponen las entradas masales a selección natural y a una selección masal leve, y se las “nutre” además con germoplasma que tenga algunos caracteres nuevos deseados, este germoplasma experimentaría una introgresión lenta en el trasfondo de adaptación de las poblaciones masales. La experiencia adquirida con los cruces mixtos de cebada (Suneson 1963) y las alternativas que hay en el enfoque de selección masal (ver por ejemplo Kannenberg y Falk 1995; Veteläinen *et al.* 1996) muestran el potencial que tiene el mejoramiento de poblaciones y sugieren que este enfoque (la selección masal) puede ser una ayuda práctica.
- Las colecciones núcleo masales o los productos obtenidos después de varias rondas de selección leve y adaptación, podrían emplearse en programas dinámicos de conservación. En ellos, el material del banco de germoplasma quedaría expuesto al medio ambiente variable para que se adapte a nuevos factores de estrés. Los programas de conservación de poblaciones no son nuevos (Simmonds 1962) pero pueden convertirse en un método importante para mantener la capacidad adaptativa para enfrentar el cambio climático o la creciente radiación ultravioleta. Al fin de cuentas, estas colecciones núcleo masales son herramientas para el mejoramiento, no colecciones núcleo en su sentido original.

Referencias

- Anderson, W.F.; C.C. Holbrook; A.K. Culbreath. 1996. Screening the peanut core collection for resistance to tomato spotted wilt virus. *Peanut Sci.* 23:57-61.
- Balfourier, F.; G. Charmet; C. Grand Ravel. 1994. Conservation of allelic multiplicity and genotypic frequency by pooling wild populations of perennial ryegrass. *Heredity* 73:386-396.
- Balfourier, F.; J.A. Oliveira; G. Charmet; E. Arbones. 1997. Factorial regression analysis of genotype by environment interaction in ryegrass populations, using both isozyme and climatic data as covariates. *Euphytica* 98:37-47.
- Balfourier, F.; J.M. Prosperi; G. Charmet; M. Goulard; P. Monastiez. 1999. Using spatial patterns of diversity to develop core collections. p. 37-48 en: *Core Collections for Today and Tomorrow* (R.C. Johnson y T. Hodgkin, eds.). IPGRI, Roma, Italia.
- Baya, B.; W. Erskine; M. Singh. 1997. Screening lentil for resistance to Fusarium wilt: methodology and sources of resistance. *Euphytica* 98:1-2, 69-74.
- Bergman, J.W.; C.R. Flynn; R.C. Johnson. 1997. Evaluation of safflower accessions for oil and meal quality factors. p. 232-243 en: *Safflower: A multipurpose species with unexploited potential and world adaptability*. Proc. IVth International Safflower Conference, Bari, Italia, 2-7 junio 1997 (A. Corleto y H.H. Mundel, eds.). Adriatica Editrice, Bari, Italia.
- Bisht, I.S.; R.K. Mahajan; T.R. Loknathan; R.C. Agrawal. 1998 Diversity in Indian sesame collection and stratification of germplasm accessions in different diversity groups. *Genet. Resour. and Crop Evol.* 45:325-335.
- Boller, B., D. Schmid; F.X. Schubiger; B. Boller; F.J. Stadelmann. 1998. Variation in digestibility among European accessions of *Lolium perenne*. p. 227-229 en: *Breeding for a multifunctional agriculture*. Proc. 21st Meeting of the Fodder Crops and Amenity Grasses Section of EUCARPIA, Kartause Ittingen, Suiza, 9-12 septiembre 1997. Swiss Federal Research Station for Agroecology and Agriculture, Zurich, Suiza.
- Boukema, I.W.; Th.J.L. van Hintum. 1994. *Brassica oleracea*, a case of an integrated approach to genetic resources conservation. p. 123-129 en: *Evaluation and exploitation of genetic resources: pre-breeding*. Proc. Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia, 15-18 marzo 1994, Clermont-Ferrand, Francia (F. Balfourier y M.R. Perretant, eds.). Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles, Francia.
- Boukema, T.W.; Th.J.L. van Hintum; D. Astley. 1997. The creation and composition of the *Brassica oleracea* core collection. *Plant Genet. Resour. Newsl.* 111:29-32.
- Bouton J.H. 1996. Screening the alfalfa core collection for acid soil tolerance. *Crop Sci.* 36(1):198-200.
- Breese, E.L. 1989. Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: the scientific background. IBPGR, Roma.
- Brown, A.H.D. 1989a. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31:818-824.
- Brown, A.H.D. 1989b. The case for core collections. p. 136-156 en: *The use of plant genetic resources* (A.H.D. Brown, O.H. Frankel, D.R. Marshall y J.T. Williams, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Brown, A.H.D. 1995. The core collection at the crossroads. p. 3-19 en: *Core collections of plant genetic resources* (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Brown, A.H.D.; D.J. Schoen. 1994. Optimal sampling strategies for core collections of plant genetic resources. p. 357-369 en: *Conservation genetics* (V. Loeschke, J. Tomiuk y S.K. Jain, eds.). Birkhäuser Verlag Basel, Suiza.
- Brown, A.H.D.; J.P. Grace; S.S. Speer. 1987. Designation of a "core" collection of perennial *Glycine*. *Soybean Genet. Newsl.* 14:59-70.

- Cadle, M.M.; T.D. Murria; S.S. Jones. 1997. Identification of resistance to *Pseudocercospora herpotrichoides* in *Triticum monococcu*. *Plant Disease* 81(10):1181-1186.
- Charmet, G.; F. Balfourier. 1995. The use of geostatistics for sampling a core collection of perennial ryegrass populations. *Genet. Resour. and Crop Evol.* 42(4):303-309.
- Charmet, G.; F. Balfourier; C. Ravel; J.B. Denis. 1993. Genotype x environment interactions in a collection of French perennial ryegrass populations. *Theor. Appl. Genet.* 86:731-736.
- Coelho, P.; K. Bahcevandziev; L. Valerio; A. Monteiro; D. Leckie; D. Astley; I.R. Crute; I. Boukema; G. Thomas; A.A. Monteiro. 1998. The relationship between cotyledon and adult plant resistance to downy mildew (*Peronospora parasitica*) in *Brassica oleracea*. *Acta Hort.* 459:335-342.
- Cordeiro, C.M.T.; E.A.V. Morales; P. Ferreira; D.M.S. Rocha; I.R.S. Costa; A.C.C. Valois; S. Silva. 1995. Towards a Brazilian core collection of cassava. p. 155-168 en: *Core collections of plant genetic resources* (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Crossa, J.; I.H. DeLacy; S. Taba. 1995. The use of multivariate methods in developing a core collection. p. 77-92 en: *Core collections of plant genetic resources* (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Diwan, N.; G.R. Bauchan; M.S. McIntosh. 1994. A core collection for the United States annual *Medicago* germplasm collection. *Crop Sci.*34:279-285.
- Diwan, N.; M.S. McIntosh; G.R. Bauchan. 1995. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. *Theor. Appl. Genet.* 90:755-761.
- Dussert, S.; N. Chabrilange; F. Anthony; F. Engelmann; C. Recalt; S. Hamon. 1997. Variability in storage response within a coffee (*Coffea* spp.) core collection under slow growth conditions. *Plant Cell Reports* 16:344-348.
- Ellis, P.R.; D.A.C. Pink; K. Phelps; P.L. Jukes; S.E. Breeds; A.E. Pinnegar. 1998. Evaluation of a core collection of *Brassica oleracea* accessions for resistance to *Brevicoryne brassicae*, the cabbage aphid. *Euphytica* 103(2):149-160.
- Errebhi, M.; C.J. Rosen; F.I. Lauer; M.W. Martin; J.B. Bamberg; D.E. Birong. 1998. Screening of exotic potato germplasm for nitrogen uptake and biomass production. *Am. J. Potato Res.* 75(2):93-100.
- Erskine, W.; F.J. Muehlbauer. 1991. Allozyme and morphological variability, outcrossing rate and core collection formation in lentil germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 83:119-125.
- FAO. 1996. Global plan of action for the conservation and sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Roma.
- Franke, M.D.; T.B. Breneman; C.C. Holbrook. 1999. Identification of resistance to *Rhizoctonia* limb rot in a core collection of peanut germplasm. *Plant Disease* 83(10):944-948.
- Frankel, O.H. 1984. Genetic perspectives of germplasm conservation. p. 161-170 en: *Genetic manipulation: Impact on man and society* (W. Arber, K. Llimensee, W.J. Peacock y P. Starlinger, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Frankel, O.H.; A.H.D. Brown. 1984. Plant genetic resources today: A critical appraisal. En: *Crop genetic resources: Conservation and evaluation* (J.H.W. Holden y J.T. Williams, eds.). Allen and Unwin, Winchester, Massachusetts, Estados Unidos.
- Guarino, L.; A. Jarvis; R.J. Hijmans; N. Maxted. 2002. Geographic information systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resources. p. 387-404 en: *Managing plant genetic diversity* (J.M.M. Engels, V. Ramanatha Rao, A.H.D. Brown y M.T. Jackson, eds.). CABI, Oxon, Reino Unido.
- Hammond, E.G.; D. Duvick; T. Wang; H. Dodo; R.N. Pittman. 1997. Survey of the fatty acid composition of peanut (*Arachis hypogaea*) germplasm and characterization of their epoxy and eicosenoic acids. *JACOS* 74(10):1235-1239.

- Hodgkin, T.; Guo Qingyuan; Zhang Xiurong; Zhao Yingzhong; Feng Xiangyun; P.L. Gautam; R.K. Mahajan; I.S. Bisht; T.R. Loknathan; .N. Mathur; Zhou Mingde. 1999. Developing sesame core collections in China and India. p. 74-81 en: Core collections for today and tomorrow (R.C. Johnson y T. Hodgkin, eds.). IPGRI, Roma, Italia.
- Holbrook, C.C. 1999. Testing and utilization of a core collection for the US germplasm collection of peanut. p. 68-73 en: Core collections for today and tomorrow (R.C. Johnson y T. Hodgkin, eds.). IPGRI, Roma, Italia.
- Holbrook, C.C.; W.F. Anderson. 1995. Evaluation of a core collection to identify resistance to late spot in peanut. *Crop Sci.* 35:1700-1702.
- Holbrook, C.C.; W.F. Anderson; R.N. Pittman. 1993. Selection of a core collection from the U.S. germplasm collection of peanut. *Crop Sci.* 33:859-861.
- IBPGR. 1991. Elsevier's dictionary of plant genetic resources. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Johnson, R.C.; W.J. Johnston; M.C. Nelson; C.J. Simon; C.T. Golob. 1999. Core utilization and development: An example with *Poa pratensis*. p. 49-60 en: Core collections for today and tomorrow (R.C. Johnson y T. Hodgkin, eds.). IPGRI, Roma, Italia.
- Jung, H.G.; C.C. Sheaffer; D.K. Barnes; J.L. Halgerson. 1997. Forage quality variation in the U.S. alfalfa core collection. *Crop Sci.* 37(4):1361-1366.
- Kaiser, W.J.; M. Mihov; F.J. Muelbauer; R.M. Hannan. 1998. First report of anthracnose of lentil incited by *Colletotrichum truncatum* in Bulgaria. *Plant Disease* 82(1):128.
- Kannenbergh, L.W.; D.E. Falk. 1995. Models for activation of plant genetic resources for crop breeding programs. *Can. J. Plant Sci.* 75:45-53.
- Knüpffer, H.; Th.J.L. van Hintum. 1995. The Barley Core Collection: An international effort. p. 171-178 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Mahajan, R.K.; Bisht, I.S. 1999. Sampling strategies for developing an Indian sesame core collection. Para: Plant Foods for Human Nutrition (En impression).
- Matthews, P.; M.J. Ambrose. 1994. Development and use of a 'core' collection for the John Innes *Pisum* collection. p. 99-107 en: Evaluation and exploitation of genetic resources: pre-breeding. Proc. Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia, 15-18 marzo 1994, Clermont-Ferrand, Francia (F. Balfourier y M.R. Perretant, eds.). Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles, Francia.
- McFerson, J.R.; W.F. Lamboy; S. Kresovich. 1996. Assessing user perceptions of genetic resource collections in crucifer crops. *Crop Sci.* 36:831-838.
- Miklas, P.; R. Delorme; R. Hannan; M. Dickson. 1997. Using the core concept to identify new white mold resistance sources in common bean. *Bean Improvement Coop. Abstr.* 18.
- Noirot, M.; S. Hamon ; F. Anthony. 1996. The principal component scoring: a new method of constituting a core collection using quantitative data. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43:1-6.
- Ortíz, R.; E.N. Ruíz-Tapia; A. Mujica-Sánchez. 1998. Sampling strategy for a core collection of Peruvian quinoa germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 96:475-483.
- Ortíz, R.; S. Madsen; E.N. Ruíz-Tapia; S.-E. Jacobsen; A. Mujica-Sánchez; J.L. Christiansen; O. Stolen. 1999. Validating a core collection of Peruvian quinoa germplasm. *Genet. Resour. Crop Evol.* 46:285-290.
- Pederson, G.A.; T.E. Fairbrother; S.L. Greene. 1996. Cyanogenesis and climatic relationships in U.S. white clover germplasm collection and core subset. *Crop Sci.* 36:427-433.
- Phippen, W.B.; S. Kresovich; F.G. Candelas; J.R. McFerson. 1997. Molecular characterization can quantify and partition variation among genebank holdings: a case study with phenotypically similar accessions of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. (cabbage) 'Golden Acre'. *Theor. Appl. Genet.* 94:227-234.
- Radovic, G.; D. Jelovac. 1994. The possible approach in maize core collection development. p. 109-115 en: Evaluation and exploitation of genetic resources: Pre-breeding. Proc. Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia, 15-18 marzo 1994, Clermont-Ferrand,

- Francia (F. Balfourier y M.R. Perretant, eds.). Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles, Francia.
- Ruíz-Tapia, E.N.; O. Stolen; J.L. Christiansen; R. Ortíz; L. Stolen. 1997. Assessment of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) accessions for tolerance to salinity. p. 67-78 en: Crop development for the cool and wet regions of Europe: Spelt and quinoa. Working Group Meeting, Wageningen, Netherlands, 24-25 octubre 1997. European Commission, DG XII, Science, Research and Development, COST, Luxemburgo.
- Schoen, D.J.; A.H.D. Brown. 1995. Maximising genetic diversity in core collections of wild relatives of crop species. p. 55-76 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Simmonds, N.W. 1962. Variability in crop plants, its use and conservation. *Biol. Rev.* 37:442-465.
- Skroch, P.W.; J. Nienhuis; S. Beebe; J. Tohme; F. Pedraza. 1998. Comparison of Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core and reserve germplasm collections. *Crop Sci.* 38(2):488-496.
- Spagnoletti Zeuli, P.L.S.; C.O. Qualset. 1995. The durum wheat core collection and the plant breeder. p. 213-228 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Suneson, C.A. 1963. Breeding techniques: Composite crosses and hybrid barley. p. 303-309 en: Barley genetics; I. Wageningen, Holanda.
- Tanksley, S.D.; S.R. McCouch. 1997. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277:1063-1066.
- Tohme, J.; O.D. González; S. Beebe; M.C. Duque. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. *Crop Sci.* 36:1375-1384.
- Tohme, J. ; P. Jones; S. Beebe; M. Iwanaga. 1995. The combined use of agroecological and characterisation data to establish the CIAT *Phaseolus vulgaris* core collection. p. 95-107 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Tohme, J.; S. Beebe; C. Iglesias. 1999. Molecular characterization of the CIAT bean and cassava core collections. p. 28-36 en: Core collections for today and tomorrow (R.C. Johnson y T. Hodgkin, eds.). IPGRI, Roma, Italia.
- van Hintum, Th.J.L. 1994. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants. p. 23-34 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- van Hintum, Th.J.L. 1998. Concept and application of core collections in genebanks. p. 138-144 en: Band 8: Züchterische Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen – Ergebnisse und Forschungsbedarf –Tagungsband eines Symposiums vom 29.09. bis 01.10.1997 in Gatersleben. ZADI, Bonn, Alemania.
- van Hintum, Th.J.L. 1999. The Core Selector, a system to generate representative selections of germplasm accessions. *Plant Genet. Resour. Newsl.* 118:64-67.
- van Hintum, Th.J.L.; D. Haalman. 1994. Pedigree analysis for composing a core collection of modern cultivars, with examples from barley (*Hordeum vulgare* s. lat.). *Theor. Appl. Genet.* 88:70-74.
- van Hintum, Th.J.L.; I.W. Boukema; D.L. Visser. 1996. Reduction of duplication in a *Brassica oleracea* germplasm collection. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43:343-349.
- van Hintum, Th.J.L.; R. von Bothmer; Dirk L. Visser. 1995. Sampling strategies for composing a core collection of cultivated barley (*Hordeum vulgare* s. lat.) collected in China. *Hereditas* 122:7-15.
- Veteläinen, M.; E. Nissilä; P.M.A. Tigerstedt; R. von Bothmer. 1996. Utilization of exotic germplasm in Nordic barley breeding and its consequences for adaptation. *Euphytica* 92:267-273.

- Willner, E.; U. Kastirr; F. Rabenstein; B. Boller; F.J. Stadelmann. 1998. Evaluation of European ryegrass core collection and possible use in breeding. p. 164-167 en: Breeding for a multifunctional agriculture. Proc. 21st Meeting of the Fodder Crops and Amenity Grasses Section of EUCARPIA, Kartause Ittingen, Suiza, 9-12 septiembre 1997. Swiss Federal Research Station for Agroecology and Agriculture, Zurich, Suiza.
- Yonezawa, K.; T. Nomura; H. Morishima. 1995. Sampling strategies for use in stratified germplasm collections. p. 35-54 en: Core collections of plant genetic resources (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum y E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, Reino Unido.
- Zhang, X.; Y. Zhao; Y. Cheng; X. Feng; Q. Guo; M. Zhou; T. Hodgkin. 2000. Establishment of sesame germplasm core collection in China. Genet. Resour. Crop Evol. 47:273-279.