



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**MORFOLOGÍA, CITOLOGÍA Y BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE
POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees Y *Cenchrus ciliaris* L.**

SANTIAGO GARDUÑO VELÁZQUEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis, titulada: **Morfología, citología y biología reproductiva de poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees y *Cenchrus ciliaris* L.** realizada por el alumno: **Santiago Garduño Velázquez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. ADRIÁN RAYMUNDO QUERO CARRILLO

DIRECTOR DE TESIS



DR. RAÚL RODRÍGUEZ HERRERA

ASESOR



DR. DAVID HERNÁNDEZ SÁNCHEZ

ASESOR



DR. ALFONSO HERNÁNDEZ GARAY

ASESOR



DR. JAVIER FRANCISCO ENRÍQUEZ QUIROZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2012

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con no. 166689, durante mis estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de estudiar la Maestría y Doctorado.

A mi consejo particular: Dr. Adrián Quero Carrillo, Dr. Raúl Rodríguez Herrera, Dr. David Hernández Sánchez, Dr. Alfonso Hernández Garay, Dr. Javier Francisco Enríquez Quiroz y al Dr. José Alberto Escalante Estrada por su apoyo en la realización de esta tesis.

Al Dr. David Bonnett, Ing. Alejandro Cortés Velázquez y Téc. Víctor Rosas del Laboratorio de Cruzas Amplias del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMyT), por la orientación y permitirme usar sus instalaciones para la realización de la parte citológica de esta tesis.

A mis compañeros del Doctorado por todo el apoyo técnico que me brindaron en la realización de esta tesis.

Al C. Miguel Vega por su apoyo para la realización de las preparaciones para la revisión de los sacos embrionarios para las dos especies estudiadas.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres:

Amparo Velázquez Yáñez y Luis Garduño García

A mi esposa Alejandra y mi hija Haydeé Elizabeth

Por su comprensión y apoyo que me han brindado en la realización de mis estudios doctorales.

A mis hermanos y sobrinos por sus buenos deseos y confianza en la terminación de mis estudios.

CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.	i
ÍNDICE DE FIGURAS.	iv
RESUMEN GENERAL.	vi
GENERAL ABSTRACT.	viii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.	1
1.1. Introducción.	2
1.2. Objetivos.	4
1.3. Literatura Citada.	5
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.	8
2.1. Recursos Forrajeros en México.	9
2.1.1. Recursos forrajeros nativos de México.	11
2.1.2. Recursos forrajeros introducidos.	12
2.2. Recursos Genéticos en Plantas Forrajeras.	13
2.2.1. Germoplasma de plantas forrajeras.	13
2.3. Caracterización del Germoplasma: Consideraciones sobre Morfología, Citología y Citoembriología.	15
2.3.1. Caracterización morfológica.	15
2.3.2. Caracterización citológica	17
2.3.3. Caracterización citoembriológica.	18
2.4. Género <i>Leptochloa</i>	19
2.4.1. <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	23
2.4.1.1. distribución e importancia.	23
2.4.1.2. descripción morfológica de <i>Leptochloa dubia</i>	25
2.4.1.3. citología y sistema reproductivo de <i>Leptochloa dubia</i> . .	26

2.5. Género <i>Cenchrus</i>	27
2.5.1. <i>Cenchrus ciliaris</i> L.	28
2.5.1.1. distribución e importancia.	28
2.5.1.2. descripción morfológica de <i>Cenchrus ciliaris</i> L.	30
2.5.1.3. citología y sistema reproductivo.	31
2.6. Conclusiones de la Revisión de Literatura.	32
2.7. Literatura Citada.	33
CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES DE <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees NATIVAS DEL CENTRO Y NORTE DE MÉXICO.	44
3.1. Resumen.	45
3.2. Abstract.	46
3.3. Introducción.	47
3.4. Materiales y Métodos.	49
3.4.1. Material vegetativo.	49
3.4.2. Descriptores morfológicos.	50
3.4.3. Análisis multivariado.	53
3.5. Resultados y Discusión.	54
3.5.1. Comparación de medias para datos multivariados.	54
3.5.2. Análisis de componentes principales (ACP).	56
3.5.2. Análisis de conglomerados jerárquicos.	58
3.6. Conclusiones.	63
3.7. Literatura Citada.	63
CAPÍTULO IV. NIVEL DE PLOIDÍA EN POBLACIONES DE <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees DEL CENTRO-NORTE DE MÉXICO.	68
4.1. Resumen.	69

4.2. Abstract.	70
4.3. Introducción.	71
4.4. Materiales y Métodos.	73
4.4.1. Colecta del material vegetal.	73
4.4.2. Conteos cromosómicos.	75
4.4.4. Análisis estadístico.	76
4.5. Resultados y Discusión.	76
4.5.1. Número cromosómico y nivel de ploidía.	76
4.5.2. Estadísticos de comparación entre localidades por nivel de ploidía.	79
4.6. Conclusiones.	82
4.7. Literatura Citada.	82
CAPÍTULO V. BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y MORFOLOGÍA DE LA INFLORESCENCIA DE POBLACIONES DE <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	87
5.1. Resumen.	88
5.2. Abstract.	89
5.3. Introducción.	90
5.4. Materiales y Métodos.	92
5.4.1. Colecta del material vegetal.	92
5.4.2. Sacos embrionarios y polínicos.	92
5.4.3. Descriptores morfológicos y reproductivos.	94
5.4.4. Análisis estadístico.	94
5.5. Resultados y Discusión.	95
5.5.1. Comparación de medias por el método Student-Newman-Keuls (SNK).	95
5.5.2. Análisis de componentes principales (ACP).	101

5.5.3. Correlación de Pearson.	104
5.6. Conclusiones.	106
5.7. Literatura Citada.	106
CAPÍTULO VI. DIVERSIDAD MORFOLÓGICA, CITOLÓGICA Y VALOR NUTRITIVO DE SIETE NUEVOS GENOTIPOS DE PASTO BUFFEL (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.) Y UN CULTIVAR TOLERANTES A FRÍO.	109
6.1. Resumen.	110
6.2. Abstract.	111
6.3. Introducción.	112
6.4. Materiales y Métodos.	114
6.4.1. Obtención de genotipos.	114
6.4.2. Conteos cromosómicos.	116
6.4.3. Sacos embrionarios.	116
6.4.4. Caracteres morfológicos y químicos.	117
6.4.5. Análisis estadístico.	118
6.5. Resultados y Discusión.	119
6.5.1. Caracterización citológica y reproductiva.	119
6.5.2. Análisis de componentes principales (ACP).	121
6.5.3. Análisis de conglomerados jerárquicos.	126
6.5.4. Rendimiento de materia seca.	127
6.5.5. Contenido nutricional de hoja y tallos.	127
6.6. Conclusiones.	129
6.7. Literatura Citada.	131

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Número de especies y accesiones de gramíneas, leguminosas y arbustos forrajeros en los tres principales bancos internacionales de germoplasma de plantas forrajeras.	14
Cuadro 3.1. Poblaciones evaluadas de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, sitio de colecta, ubicación del sitio de colecta, altitud y región a la que pertenecen.	51
Cuadro 3.2. Descriptores morfológicos utilizados para caracterizar 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	53
Cuadro 3.3. Comparación de medias [Hotelling ($\alpha=0.05$)] para datos multivariados, media y coeficiente de variación de 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas en donde fueron colectadas.	55
Cuadro 3.4. Componentes principales resultantes de la matriz de correlación de 17 variables morfológicas de 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.	56
Cuadro 3.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su componente principal, de 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	57
Cuadro 4.1. Poblaciones evaluadas de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, sitio de colecta, ubicación del sitio de colecta, número de individuos por población revisados y número de cromosomas somáticos (2n) por planta.	77
Cuadro 4.2. Estadísticos de comparación entre localidades de acuerdo al nivel de ploidía.	80
Cuadro 4.3. Estadísticos de Cochran-Mantel-Haenszel (basados en puntuaciones de tabla).	80
Cuadro 5.1. Descriptores morfológicos y reproductivos utilizados para caracterizar 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	94

Cuadro 5.2. Comparación de medias de la distribución de cleistogamia y casmogamia en la parte basal, media y terminal de la inflorescencia de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco Edo. de México.	96
Cuadro 5.3. Comparación de medias del porcentaje de cleistogamia y casmogamia de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas en donde fueron colectadas, evaluadas en Texcoco Edo. de México.	96
Cuadro 5.4. Componentes Principales resultantes de la matriz de correlación de 14 variables morfológicas y reproductivas, de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.....	101
Cuadro 5.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su componente principal de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.	102
Cuadro 5.6. Matriz de correlación de Pearson entre 17 variables geográficas, morfológicas y reproductivas.	105
Cuadro 6.1. Sitio de colecta, estatus, altitud de origen, número de cromosomas, nivel de ploidía y sistema reproductivo de los ocho genotipos evaluados de pasto Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L).	117
Cuadro 6.2. Descriptores morfológicos y químicos, utilizados para caracterizar ocho genotipos de pasto Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.) tolerantes a frío.	118
Cuadro 6.3. Matriz de correlación para estandarización de 18 variables morfológicas y seis químicas en Análisis de Componentes Principales (ACP).	122
Cuadro 6.4. Componentes Principales resultantes de la matriz de correlación de 18 variables morfológicas y 6 químicas, de ocho genotipos del pasto Buffel tolerantes a frío.	123

Cuadro 6.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su Componente Principal, de ocho genotipos de pasto Buffel tolerantes a frío.	124
Cuadro 6.6. Rendimiento de materia seca (kg MS ha ⁻¹) para hoja, tallos, inflorescencia y relación hoja:tallo de ocho genotipos de pasto Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.) durante la estación de lluvias, en Salinas de Hidalgo, SLP.	129
Cuadro 6.7. Contenido de PC, FDN, FDA, lignina, cenizas y digestibilidad <i>in vitro</i> de MS (%) de hoja y tallo de siete nuevos genotipos y el cultivar “Frío” de <i>Cenchrus ciliaris</i> L. tolerantes a frío.	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Mapa de distribución geográfica del género <i>Leptochloa</i> . Límites al Norte y al Sur de la distribución del género <i>Leptochloa</i> (••••••). Área de distribución de <i>Leptochloa dubia</i> (área de gris). Localidades representativas de: 1. <i>Leptochloa fascicularis</i> , 2. <i>L. uninervia</i> , 3. <i>L. fusca</i> , 4. <i>L. chinensis</i> y 5. <i>L. virgata</i>	21
Figura 2.2. Fotografías de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees tomadas en: a) Ocampo, Gto. b) Tecozautla, Hgo. c) Chapingo, Méx. d, e, f y g) Texcoco, Edo. Méx.	24
Figura 2.3. Distribución geográfica de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees.	25
Figura 2.4. Distribución geográfica de <i>Cenchrus ciliaris</i> L.	29
Figura 3.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de 57 poblaciones, de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees y regiones donde se ubica cada población.	52
Figura 3.2. Distribución espacial de 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, colectadas en seis regiones geográficas (puntos grises), 17 variables morfológicas evaluadas (puntos claros), elaborado en base a los dos primeros Componentes Principales (CP1 y CP2).	60
Figura 3.3. Análisis de Conglomerados Jerárquico resultante del análisis de atributos morfológicos, para 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, agrupados por región geográfica de origen.	60
Figura 3.4. Análisis de Conglomerados Jerárquico resultante del análisis de atributos morfológicos, para 57 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, agrupados por región geográfica de origen y población.	62
Figura 4.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de poblaciones de pasto <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees. Números en negro representan poblaciones tetraploides. Números rojos, poblaciones con plantas diploides y tetraploides.	74
Figura 4.2. Colección de poblaciones de plantas de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees. A, Charola de germinación. B, C, D, E, Macetas etiquetadas con diferentes genotipos colectados en distintos sitios de México.	75

Figura 4.3. Metafase mitótica de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees. a) 19-2 (2n=4x=40), b) 23-3 (2n=4x=40), c) 17-1 (2n=2x=20), d) 43-1 (2n=4x=40), e) 64-1 (2n=4x=40), f) 45-2 (2n=2x=20), g) 22-3 (2n=4x=40), h) 39-3, i) 60-3 (2n=4x=40).	81
Figura 5.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de 40 poblaciones, de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees y regiones donde se ubica cada población.	93
Figura 5.2. Porcentaje de espiguillas con cleistogamia y casmogamia en la base, parte media y terminal de inflorescencias de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas donde fueron colectadas. CL: Cleistogamia (■) Casmogamia CA: (■).	98
Figura 5.3. Desarrollo* floral, sacos polínicos y embrionarios de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, en espiguillas con casmogamia.	99
Figura 5.4. Desarrollo* floral, sacos polínicos y embrionarios de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees, en espiguillas con cleistogamia.	100
Figura 5.5. Distribución espacial de 40 poblaciones de <i>Leptochloa dubia</i> (Kunth) Nees (puntos azules), 14 variables evaluadas (puntos amarillos), elaborado en base a los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).	103
Figura 6.1. Genotipos de pasto Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L) tolerantes a frío. .	115
Figura 6.2. Sacos embrionarios de siete nuevos genotipos y el cultivar “Frío” de pasto Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	120
Figura 6.3. Distribución espacial de ocho genotipos de <i>Cenchrus ciliaris</i> L. tolerantes al frío (puntos azules), 18 variables morfológicas y seis químicas evaluadas (puntos amarillos), elaborado en base a los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).	125
Figura 6.4. Clasificación de ocho genotipos de pasto Buffel, basada en 18 características morfológicas y seis químicas.	126

MORFOLOGÍA, CITOLOGÍA Y BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees Y *Cenchrus ciliaris* L.

RESUMEN GENERAL

El objetivo fue caracterizar su morfología, citología y biología reproductiva de poblaciones nativas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, colectadas en el centro-norte de México; siete nuevos genotipos y, el cultivar comercial “Frío” de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), para definir la variabilidad natural disponible con el fin de aprovecharlos sistemáticamente producción de forrajes. Para la caracterización morfológica de *L. dubia* se realizó un análisis de comparación de medias de Hotelling ($\alpha=0.05$) para datos multivariados, lo que permitió comprobar la existencia de amplia variabilidad en los 17 descriptores, 57 poblaciones y seis regiones evaluadas, lo cual fue corroborado con el Análisis de Componentes Principales (ACP); ya que el acumulado en los tres primeros Componentes Principales (CP) alcanzó 95%, el CP1 explicó 49%, CP2 36% y CP3 11% de la variación total. Las variables más importantes en CP1 se relacionaron con la inflorescencia y, para CP2, las variables relacionadas con rendimiento de forraje, se detectaron poblaciones de las regiones Valle de México, Altos de Guanajuato y Valle del Mezquital con características morfológicas interesantes para producción y calidad del forraje. Se determinó el número cromosómico a 224 plantas de 67 poblaciones de *Leptochloa dubia*, el 96% fueron tetraploides ($2n=4x=40$) y 4% diploides ($2n=2x=20$); al analizar las localidades y niveles de ploidía con el estadístico al azar Q_s , no fueron significativos, por lo que no hay diferencia entre localidades, basándose en el nivel de ploidía. Se evaluaron los sacos reproductivos de cuatro plantas de 40 poblaciones, se encontró que todos presentaron un sólo saco embrionario tipo *Polygonum*, se determinó que el 81% de espiguillas presentaron cleistogamia y 19% casmogamia. El porcentaje de espiguillas con cleistogamia es mayor ($P<0.05$) en la base que hacia el borde de la inflorescencia, en la base presentó 95%, en la parte media 83% y terminal 64% de la inflorescencia. Se encontraron diferencias ($P<0.05$) al comparar por regiones; las poblaciones colectadas en el Valle de México, presentaron mayor porcentaje

de espiguillas con cleistogamia 86% y las que presentaron menor porcentaje fueron las poblaciones de la región Llanuras de Ojuelos con 76%. El ACP para caracteres reproductivos y morfología de la inflorescencia mostró que en lo acumulado los tres primeros Componentes Principales explicaron 64%, CP1 33%, CP2 20% y CP3 11% de la varianza total. Las variables más importantes para CP1 fueron porcentaje y longitud de anteras de espiguillas con cleistogamia en la base, parte media y terminal de la inflorescencia. Para CP2 ramas por inflorescencia, longitud de las ramas, espiguillas por rama de la inflorescencia y altura de planta. Se evaluaron ocho genotipos de pasto Buffel tolerantes al frío, los siete nuevos genotipos fueron tetraploides ($2n=4x=36$) y el cultivar "Frío" pentaploide ($2n=5x=45$). Todos los genotipos presentaron sacos embrionarios múltiples, lo que indica que posee un sistema reproductivo apomíctico por aposporia. Existió variabilidad morfológica, en rendimiento y calidad nutritiva entre los ocho genotipos de pasto Buffel tolerantes al frío, las variables altura de planta, diámetro de tallo, largo de inflorescencia, materia seca de tallos y total se correlacionaron positivamente ($P<0.05$) con FDN, FDA y lignina, pero negativamente ($P<0.05$) con relación hoja:tallo, PC y digestibilidad *in vitro* de MS. Se clasificaron en tres grupos: el grupo uno, se formó por los genotipos B-1, B-2, B-4, B-5 y B-6; éstos, se correlacionaron positivamente ($P<0.05$) con las variables rendimiento de MS total, pero presentaron menor calidad de MS; el grupo dos, se constituyó por B-3 y B-Frío; los cuales, se asociaron con variables de calidad del forraje, pero presentaron menor rendimiento de MS; el grupo tres se conformó por el genotipo B-7, que presentó características asociadas al rendimiento de semilla.

Palabras clave: *Leptochloa dubia*, *Cenchrus ciliaris*, caracterización morfológica, número de cromosomas, sacos embrionarios.

MORPHOLOGY, CYTOLOGY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF POPULATIONS OF *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees AND *Cenchrus ciliaris* L.

GENERAL ABSTRACT

With the objective to characterize through morphology, cytology and reproductive biology of native to Mexico populations of *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees collected within Northern-Central Mexico, as well as seven new cold resistant genotypes and the commercial variety "Frio" of Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) were evaluated to use systematically these plant resources for forage production. For *L. dubia* morphological characterization a Hotelling's ($\alpha=0.05$) analysis for mean comparison for multivariate data was performed, allowing to probe the availability of a wide diversity through 17 descriptors for 57 plant populations from six geographic evaluated areas and this was reinforced through Principal Component Analysis (ACP) explained 95% with the cumulative value of the three principal components (CP). The first CP explained 49%, CP2 36%, and CP3 11% of the total variation. The CP1's most important variables were related to inflorescence traits. For CP2 the related variables included forage production traits, detecting populations from Valle de México, Guanajuato Plateau and Mezquital Valley comprising interesting morphological traits for forage production and quality. Most 96% of the analyzed populations were tetraploid ($2n=4x=40$) and 4% were diploid ($2n=2x=20$); analyzing localities and ploidy levels using random statistic Qs, no difference among localities was detected based on ploidy level. Embryo sac development was analyzed for four plants from each of 40 populations, and all populations contained only one embryo sac *Polygonum* type. It was determined, as a mean value that 81% of the spikelets from the inflorescence were cleistogamous and 19% were chasmogamous. Cleistogamous spikelets percentage was higher ($P<0.05$) from the inflorescence's base (95%) through the apice (central part, 83%; apical portion, 64%). Comparing regions, differences ($P<0.05$) were detected, Valle de México's populations showed higher cleistogamous spikelets (86%) and the lowest percentage were detected on the Llanuras de Ojuelos region (76%). The ACP for reproductive traits and inflorescence's morphology showed

that the first three PC explained 64%: CP1 33%, CP2 20% and CP3 11% of the total variance. The most important variables for CP1 included percentage and anther's length from basal, middle and apical cleistogamous spikelets. For CP2, these included ramets from inflorescence, length of ramets, spikelets per ramet, and plant height. Eight Buffelgrass cold tolerant genotypes were evaluated and seven new genotypes were tetraploid ($2n=4x=36$) and the cultivar Frio was pentaploid ($2n=5x=45$). All evaluated genotypes showed multiple embryo sacs per ovule indicating aposporic apomixis presence within these genotypes. Plant diversity was observed for morphology, productivity and forage nutritive value among the evaluated material. Plant height, forage height, stem diameter, inflorescence length, dry matter from stems, and total dry matter were positively related ($P<0.05$) to NDF, ADF, and lignin; but, negatively ($P<0.05$) to leaf:stem ratio, CP, and *in vitro* DM digestibility. Three groups were defined; group one included genotypes B-1, B-2, B-4, B-5, and B-6; these were positively related ($P<0.05$) to DM production variables, but showing lower forage quality; group two was integrated with B-3 and B-Frio and was associated with forage quality traits; group three was conformed for B-7 genotype, showing traits associated to seed production.

Key words: *Leptochloa dubia*, *Cenchrus ciliaris*, morphology characterization, chromosome number, embryo sac analysis.

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Introducción

El territorio mexicano esta conformado por 196.4 millones de hectáreas, de las cuales 109.8 millones de has (56%), son utilizadas para actividades pecuarias, principalmente en sistemas de pastoreo extensivo (INEGI, 2012). La ganadería es una actividad muy importante en lo económico y social, comprende 3.4 millones de unidades de producción pecuaria, crea más de un millón de empleos directos y 12.4 millones indirectos (Villamar, 2008). El PIB del sector agropecuario y forestal en 2010 fue 324 mil millones de pesos, de los cuales el sector ganadero representó el 33% (INEGI, 2012). Existe una población ganadera de 32 millones 642 mil cabezas de bovinos, 9 millones de caprinos y 8 millones de ovinos, ofertando 5,615,000 toneladas de carne, 10,549 millones de litros de leche y exportando más de un millón de cabezas de ganado en pie a Estados Unidos (SIAP, 2012).

Para la alimentación del ganado, los forrajes son la fuente más económica de proporcionar nutrientes (Jiménez, 1993). En México se producen 189.6 millones de t MS año⁻¹, el 72% procede de praderas y pastizales; por tanto, la importancia de realizar investigaciones en especies nativas e introducidas, con alto potencial de producción, es notoria. México es un importante centro de origen y diversificación de gramíneas, se han registrado 1182 especies con un total de 1278 taxas (especies con sus categorías infraespecíficas incluidas) de los cuales 1119 son nativos y 159 introducidos (Dávila *et al.*, 2006). Mejía y Dávila (1992), encontraron que 532 especies de gramíneas tienen uso forrajero, dentro de estas, 229 especies presentan valor regular; 196, bueno y 45, excelente. La mayoría de las gramíneas calificadas como excelentes, se distribuyen en zonas semiáridas de los pastizales del noroeste de México, esta zona es diversa y rica en especies con buen potencial agronómico, que pueden competir o superar a las introducidas en esta región, entre los que se encuentran los pastos Gigante [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], Navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], Banderita [*B. curtipendula*] (Michx. Torr.), Tempranero [*Setaria macrostachya* (Kunth) Nees], Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henrard], entre otros (Morales *et al.*, 2006; Rzendowski, 2006; Quero *et al.*, 2007; Quero *et al.*, 2010).

Leptochloa dubia (Kunth) Nees, es una valiosa gramínea forrajera nativa de los pastizales de zonas semiáridas de México (Cantú, 2011), posee buen potencial de producción de forraje en zonas de escasa precipitación, tolerancia al frío, alto valor nutritivo y produce alta cantidad de semilla (Polk *et al.*, 1976; Sánchez, 1976; Pitman, 1980; Lesur, 2010). En la actualidad, el interés por utilizar gramíneas forrajeras nativas es creciente, debido básicamente, a la adaptación edafoclimática de su región de origen y alterar menos los ecosistemas con introducción de plantas exóticas (Valdés y Cabral, 1994; Nabinger, 1997). Sin embargo, la diversidad intraespecífica de esta y otras especies nativas permanece prácticamente inexplorada, por lo que se requiere estudiar su morfología, citología, biología reproductiva y organización molecular; lo cual, es básico para llevar a cabo programas de selección y mejoramiento genético, con la consecuente utilización y preservación de la especie (Do Valle *et al.*, 2007; Quero *et al.*, 2007).

Se han introducido a México 159 especies de gramíneas, principalmente de África (Dávila *et al.*, 2006), para el trópico y zonas áridas sin heladas; éstas gramíneas han superado a las nativas en cuanto a la producción de forraje, por lo que su introducción es una estrategia para incrementar el rendimiento de las praderas (Quero *et al.*, 2010; Enríquez *et al.*, 2011), una de las especies con mayor éxito en las zonas áridas y semiáridas sin heladas, ha sido el pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) originario de África, introducido a México en 1954, posee resistencia a sequías prolongadas, pastoreo, produce forraje de buen valor nutritivo y muy apetecido por el ganado (Ibarra *et al.*, 1991; Bogdan, 1997). La producción de forraje y valor nutritivo del Buffel es igual o superior al de la mayoría de las especies de pastos nativos y mayor a las especies introducidas (Mutz y Drawe, 1983).

Se estima que en México existen más de 4 millones de has establecidas con Buffel, principalmente, en los estados del noreste y noroeste del país (Alcalá, 1995). Sin embargo, una de las principales limitantes en el establecimiento y crecimiento de es la presencia de heladas, por esta razón tiene problemas para su establecimiento en la región del altiplano mexicano.

El primer paso en la selección del germoplasma vegetal es la caracterización, morfológica, citológica, biología reproductiva y molecular (Bhat *et al.*, 2005). Mediante la caracterización morfológica es posible visualizar variabilidad fenotípica, aspectos relacionados con la producción y calidad del forraje; número de cromosomas, nivel de ploidía, tipo reproductivo, esto es necesario para determinar la compatibilidad reproductiva y llevar a cabo programas de cruzamiento; las diferentes técnicas de marcadores moleculares AFLP, RAPD, RFLP y SSR, auxilian en la detección de la diversidad existente entre genotipos a nivel molecular (Ozias *et al.*, 1993; Do Valle *et al.*, 2007).

Se han realizado pocas investigaciones en donde se caracteriza debidamente el germoplasma de especies nativas forrajeras, que involucre caracteres relacionados con potencial agronómico, citológico, biología reproductiva y molecular. En México solamente se han efectuado trabajos de este tipo en el Colegio de Postgraduados en *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. y *Hymenachne amplexicaulis* (Rudge) Nees, en el INIFAP en *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud y *Digitaria californica* (Benth.) Henrard; sin embargo, no se ha dado seguimiento y no han liberado materiales sobresalientes, mientras que en el pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), en el INIFAP se han liberado variedades tolerantes al frío como Zaragoza-115, pero no ha tenido mucho éxito, por lo tanto se debe de seguir generando investigación tendiente a caracterizar y generar genotipos que puedan producir forraje de calidad en condiciones ambientales restrictivas. Con base en la anterior problemática presentada se plantean los siguientes objetivos:

1.2. Objetivos

1. Caracterizar la diversidad morfológica, citológica y biología reproductiva de poblaciones nativas de la zona centro-norte de México de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.
2. Caracterizar la diversidad morfológica, citológica, sistema reproductivo y valor nutritivo de siete genotipos silvestres y el cultivar comercial Buffel "Frío" de *Cenchrus ciliaris* L. tolerantes a frío introducidos de África.

1.3 Literatura Citada

- Alcalá, G. C. H. 1995. Origen y distribución mundial. Guía practica para el establecimiento, manejo y utilización del zacate Buffel. PATROCIPES. Sonora, Méx. 10 p.
- Bhat, V., K. K. Dwivedi, J. P. Khurana, and S. K. Sopory. 2005. Apomixis: An enigma apomixis, with potential applications. *Current Science*. 89(11): 1879-1893.
- Bogdan, A. V. 1997. Pastos tropicales y plantas de forraje. A. G. T. Editor, S. A. México, D. F. 461 p.
- Cantú, B. J. E. 2011. Manejo y mejoramiento de pastizales. Ed. Doble Hélice. Chihuahua, Méx. 320 p.
- Dávila, P., M. T. S. Mejía, M. S. Gómez, J. R. Valdés, J. J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón, y A. Ocampo. 2006. Catálogo de las gramíneas de México. UNAM-CONABIO. México. 671 p.
- Do Valle, C. L. Jank, y R. M. Simeão. 2007. Genética de nuevas especies forrajeras tropicales. *In*: R. Tejos M., C. Zambrano A. García C. M. Tobía R., N. J. Valbuena y F. Ramírez (eds). XI Seminario manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal. Barquisimeto, Venezuela. pp: 132-145.
- Enríquez Q. J. F., G. A. Hernández, y M. Z. Romero. 2011. Generación, transferencia y adopción de tecnología en forrajes en el trópico de México. *In*: Memoria del II Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y XXI Reunión sobre producción de carne y leche en climas cálidos. Chihuahua, Chih. pp: 1-13.
- Ibarra, F. F., J. R. Cox, y R. M. Martín. 1991. Efecto del suelo y clima en el establecimiento y persistencia del zacate Buffel en México y sur de Texas. *In*: Memoria VII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Manejo de Pastizales. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. pp: 14-28.
- INEGI. 2012. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/Sistemas/temasV2/Default.aspx?s=est&c=2382>. Accesado el 10 de Enero de 2012.
- Jiménez, M. A. 1993. La producción forrajera en México. FIRA-UACH. Chapingo, México. 100 p.
- Lesur, L. 2010. Manual de pasturas. Ed. Trillas. México, D. F. 88 p.

- Mejía, M. T. S., y P. A. Dávila. 1992. Gramíneas útiles de México. Instituto de Biología UNAM. México, D. F. 293 p.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, O. Le Blanc, G. A. Hernández, P. J. Pérez, y S. S. González. 2006. Evaluación de la diversidad del pasto nativo *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante marcadores de AFLP. *Agrociencia*. 40: 711-720.
- Mutz, J. L., and E. L. Drawe. 1983. Clipping frequency and fertilization influence herbage yields and crude protein content of four grasses in south Texas. *J. Range Manag.* 36: 582-585.
- Nabinger, C. 1997. Eficiência do uso de pastagens: disponibilidade e perdas de forragem. *In: Simpósio sobre manejo da pastagem, 14.*, Piracicaba. Anais. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. pp: 213-251.
- Ozias, A. P., E. L. Lubbers, W. W. Hanna, and J. W. McNay. 1993. Transmission of the apomitic mode of reproduction in *Pennisetum*: co-inheritance of the trait and molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 85: 632-638.
- Pitman, W. 1980. Relationships between seasonal forage quality patterns and structural carbohydrates of warm-season grasses and environmental factors. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 97 p.
- Polk, D. B., C. J. Scifres, and J. L. Mutz. 1976. Establishment, production, and protein content of four grasses in South Texas. *J. Range Manage.* 29: 240-244.
- Quero, C. A. R., Q. J. F. Enríquez, y J. L. Miranda. 2007. Evaluación de especies forrajeras en América Tropical, avances o *status quo*. *Interciencia*. 32: 566-571.
- Quero, C. A. R., G. A. Hernández, J. L. Miranda, P. J. Pérez, y H. M. Sánchez. 2010. Recursos genéticos para el pastoreo extensivo. *In: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales*. Chiapas, México. pp: 94-98.
- Rzendowski, J. 2006. Vegetación de México. 1^{ra} Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México. 504 p.
- Sánchez, A. M. 1976. Influencia de la fertilización de N-P-K sobre la producción de semilla de cuatro zacates de crecimiento de verano, bajo condiciones de riego. *Pastizales*. 4: 17.

- SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. Accesado el 12 de Agosto de 2012.
- Valdes, J., and I. Cabral. 1993. Chorology of Mexican Grasses. *In*: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (eds.). Biological Diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford University Press. Nueva York. EUA. pp: 439-446.
- Villamar, A. L. 2008. Situación del Sector Pecuario en México. *In*: Memoria del taller sobre captura y aprovechamiento de metano proveniente de residuos agropecuarios. Morelia, Michoacán. 25 p. Disponible en: http://www.globalmethane.org/documents/events_ag_20080423_luis_villamar_angulo.pdf. Accesado el 12 de Noviembre de 2011.

CAPÍTULO II.

REVISIÓN GENERAL DE LITERATURA

2.1. Recursos Forrajeros en México

La ganadería mexicana basa su sustento en el aporte nutricional del forraje de pastizales nativos, praderas cultivadas, esquilmos agrícolas y cultivos forrajeros (Villegas *et al.*, 2001). El forraje proporciona a los rumiantes nutrimentos en forma económica, comparado con otros alimentos que son altamente demandados por otras especies, ya que existe alta disponibilidad del recurso en la naturaleza (Jiménez, 1993). Villamar (2008) señaló que se produjeron 189.6 millones de t MS año⁻¹; de las cuales, el 42% corresponde a praderas, 30% pastizales, 24% esquilmos agrícolas y 4% cultivos forrajeros. Sin embargo, las estadísticas cambian para cada región, por ejemplo en el norte de México, más del 80% corresponde a pastizales, siendo esta la principal fuente de alimentación (Cantú, 2011).

México es el centro de origen y diversificación de un gran número de recursos forrajeros, inexplorados de gramíneas y leguminosas con amplio potencial de producción (Quero *et al.*, 2010a). Valdés y Dávila (1995), reconocen la existencia de 206 géneros de los cuales 22 son clasificados como monotípicos, 11 endémicos, 49 introducidos y 13 tienen más de 20 especies concentrándose la mayoría en: *Agrostis* (21), *Aristida* (49), *Bothriochloa* (19), *Bouteloua* (59), *Bromus* (25), *Digitaria* (27), *Eragrostis* (54), *Festuca* (30), *Mulhembergia* (111), *Panicum* (69), *Paspalum* (85), *Setaria* (30) y *Sporobolus* (30). Así mismo Reeder (1969), señaló que existen más géneros de gramíneas dioicas en México que en ningún otro país del mundo, con 16.

Mejía y Dávila (1992), encontraron que 532 especies de gramíneas tienen uso forrajero, dentro de éstas 229 presentan valor regular, 196 bueno, 45 excelente y las 62 restantes falta información. Los pastizales son sitios en los que se produce forraje de manera natural para la alimentación del ganado y fauna silvestre, se componen principalmente por especies nativas, constituyen zonas extensas del centro y noroeste del país, pero la mayor parte se encuentran en condición pobre; aquí es donde se encuentra la mayor diversidad de gramíneas nativas con potencial forrajero (COTECOCA, 1978; Quero *et al.*, 2010a). Los principales

géneros de gramíneas en estas comunidades incluyen: *Bouteloua*, *Aristida*, *Lycurus*, *Leptochloa*, *Setaria*, *Andropogon*, *Hilaria*, *Sporobolus*, *Cynodon* y *Eragrostis* (Cantú, 2011). Se estima que anualmente se producen 56.4 millones de t MS de forraje (Villamar, 2008).

En la actualidad, existen 11.9 millones de has de praderas cultivadas y producen 80 millones de t MS año⁻¹ de forraje, principalmente en los estados del trópico como: Veracruz con 3.1 millones de hectáreas, Chiapas 1.5, Tamaulipas 1.1, Tabasco 819 mil, Sonora 665 mil, Yucatán 661 mil, Campeche 514 mil, Oaxaca 510 mil y Nuevo León 501 mil has (Villamar, 2008). Las gramíneas más utilizadas en las praderas en el país son de origen africano entre las que destacan: Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), Guinea (*Panicum maximum* Jacq.), Bermuda (*Cynodon dactylon* L.), Estrella de África (*C. plectostachyus* Vanderyst.), Insurgente (*Brachiaria brizantha*), Llanero (*Andropogon gayanus* Kunth.), Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), Jaragua (*Hyparrhenia rufa*), Llorón (*Eragrostis curvula*), Klein (*Panicum coloratum*), entre otros. Mientras que la mayoría de las leguminosas forrajeras de trópico son originarias de Latinoamérica como: Guaje [*Leucaena leucocephala* (Lamark)], Centro (*Centrosema brasilianum*), Cacahuatillo (*Arachis pintoi* Krapovickas) y Cocoite (*Gliricidia sepium* Kunth; Harlan, 1983; Enríquez *et al.*, 1999).

Los cultivos forrajeros representan una importante fuente de alimentación para la producción animal, principalmente en sistemas de bovinos de leche altamente tecnificados (Villamar, 2008). Se siembran cerca de 2 millones de has de cultivos forrajeros en México, entre los que destacan alfalfa (383,436 ha), maíz (535,620 ha), avena (788,521 ha), sorgo (215,618 ha), cebada (27,585 ha) y ballico (19,835 ha), entre otros y los estados que más destacan son Chihuahua (228,617 ha), Jalisco (148,856 ha), Zacatecas (136,221 ha) y Durango (115,517 ha) (SIAP, 2012).

Otra fuente importante de alimento para el ganado proviene de los esquilmos agrícolas, se ha estimado que nuestro país produce alrededor de 46 millones de t MS año⁻¹, destacándose la producción de esquilmos de maíz con 34, papa 6 y

trigo 2.4 millones de t MS año⁻¹ (Villegas *et al.*, 2001; Villamar, 2008). El consumo de esquilmos es de gran importancia en algunas regiones agrícolas de México, ya que gran parte del ganado se mantiene de esquilmos en época de estiaje (Jiménez, 1993).

2.1.1. Recursos forrajeros nativos de México

Los recursos forrajeros nativos de México y el continente Americano son abundantes de forma natural, aunque no bien conocidos en parte por la introducción de especies forrajeras que ha ocurrido en los últimos 50 años (Pyke, 1990). México es un importante centro de origen y diversificación de gramíneas, de las 1119 especies nativas que existen en el territorio mexicano, 21.7% son endémicas, siendo la tribu Eragrostidae la que presenta mayor número de especies endémicas con 73 (Valdés y Cabral, 1993; Dávila, *et al.*, 2006).

Mejía y Dávila (1992), reconocen la existencia de 532 especies de gramíneas nativas con potencial forrajero, 45 de éstas como excelentes, entre las que encuentran en regiones de trópico: especies de los géneros *Axonopus*, *Paspalum*, *Echinochloa*, *Hymenachne* y *Tripsacum* (Hernández, 1958; Granados y López, 1980; Valdés y Dávila, 1995; Enríquez *et al.*, 1999). En la región templada: especies de los géneros *Bouteloua*, *Bromus*, *Muhlenbergia*, *Lycurus*, *Stipa*, *Piptochaetium*, *Aristida*, *Panicum*, *Setaria*, *Andropogon* y *Elyonurus*; sin embargo, solo se encuentra en áreas montañosas, la vegetación nativa es escasa, es donde se ubica la mayor población humana del país, las tierras fueron sometidas a agricultura intensiva (Hernández, 1958; De Alba, 1976; Granados y López, 1980; Cantú, 1990; Valdés y Dávila, 1995). En las zonas semiáridas existe una franja extensa de pastizales que se extiende, a lo largo de la base de la Sierra Madre Occidental, se ubica en zonas de transición entre los bosques y matorral xerófilos, desde el norte de Guanajuato hasta Sonora y ocupa del 10 al 12% del territorio nacional, es donde existe la mayor diversidad de especies de gramíneas nativas con potencial forrajero, siendo competitivas hasta con especies introducidas (Rzendowski, 2006; Quero *et al.*, 2010a). Entre las especies forrajeras más

importantes se encuentran al pasto Gigante [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], Navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. Ex Kunth) Lag. Ex Steud.], Banderita [*B. curtipendula* (Michx.) Torr.], Navajita Velluda (*B. hirsuta* Lag.), Tempranero [*Setaria macrostachya* (Kunth) Nees], Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henrard], Toboso (*Hilaria mutica*), Salado (*Distichlis spicata*), pasto Alcalino (*Sporobolus airoides*), entre otros (Hernández, 1958; Granados y López, 1980; Ortegón y Sathyanarayanaiah, 1985; Morales *et al.*, 2006; Quero *et al.*, 2007; Quero *et al.*, 2010a). La capacidad de carga de estos pastizales oscila entre 5 ha/UA cuando están en condición excelente sobre planicies, tierras bajas y valles, a más de 40 ha/UA en condición pobre sobre las pendientes de las sierras (FIRA, 1986).

2.1.2. Recursos forrajeros introducidos

Dávila *et al.* (2006) mencionan que se han introducido a México 159 especies de gramíneas, la mayoría son cultivadas en praderas y otras son importantes malezas en los cultivos. La introducción de gramíneas inició desde la época de la colonia con la entrada de cultivos forrajeros para regiones templadas como trigo, avena, cebada, centeno y sorgo (León, 1968). Posteriormente, continuó con la introducción de pastos nativos principalmente de África y Asia para regiones tropicales, áridas y semiáridas. Algunas de las más importantes en las zonas áridas y semiáridas son *Cenchrus ciliaris*, *Panicum coloratum*, *Eragrostis curvula*, *Dichanthium annulatum*, en trópico *Cynodon dactylon*, *C. plectostachyus*, *Panicum maximum*, *Brachiaria brizantha*, *B. dictyoneura* y *Andropogon gayanus* (Beltrán, 2010).

La introducción de pastos Africanos a México se remonta a 1872 cuando fue introducido el pasto Pará (*Brachiaria mutica*), en la década de 1880 el pasto Guinea (*Panicum maximum*), en 1920 y 1924 los pastos Jaragua (*Hyparrhenia rufa*) y Gordura (*Melinis minutiflora*) respectivamente, procedentes de islas del Caribe, a su vez traídos de la costa occidental y del suroeste de África en barcos mercantes o de esclavos (Parsons, 1972). Posteriormente, se introdujeron

especies como zacate Taiwán (*Pennisetum purpureum*), Pangola (*Digitaria decumbens*) en 1953, Estrella de África (*Cynodon nlemfuensis*) en la década de 1960 (Meléndez *et al.*, 1980; Enríquez *et al.*, 1999). En 1954 el pasto Buffel fue introducido a zonas áridas y semiáridas sin heladas, la variedad común T-4464, en la década de 1960 fueron introducidos el pasto Llorón (*Eragrostis curvula*) y Klein (*Panicum coloratum*) procedentes de Estados Unidos (Ibarra *et al.*, 1991).

En la década de 1980 en el programa de forrajes del INIFAP evaluó gran número de accesiones de *Andropogon gayanus*, *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha*, *B. humidicola*, *B. dictyoneura*, *B. ruziziensis*, *Panicum maximum* y liberaron las que presentaron mejor adaptación a las condiciones del trópico de México (Beltrán, 2010; Enríquez *et al.*, 2011). A partir de la liberación de éstas, en 1989 se iniciaron las siembras de praderas tropicales con nuevas especies o cultivares a gran escala en gran parte del trópico mexicano (Enríquez *et al.*, 2010). En los años más recientes las especies del género *Brachiaria* han cobrado importancia en cuanto a su superficie sembrada, siendo las principales el Señal (*Brachiaria decumbens*), Insurgente y Toledo (*B. brizantha*), Humidícola (*B. humidicola*) e Isleño (*B. dictyoneura*), con una superficie sembrada entre 1990 y 2003 de 3.6 millones de has (Holmann *et al.*, 2004; Enríquez *et al.*, 2010).

2.2. Recursos Genéticos en Plantas Forrajeras

2.2.1. Germoplasma de plantas forrajeras

Los tres bancos internacionales de germoplasma de plantas forrajeras más grandes del mundo (CIAT, CSIRO, ILRI; Cuadro 2.1), poseen alrededor de 39,000 accesiones de aproximadamente 2,000 especies de gramíneas, leguminosas y arbustos forrajeros (Hansson y Maass, 1999). La colección de forrajes fue priorizada entre 1970 y 1980 por los Institutos internacionales como CIAT, CSIRO, ILRI y IPGRI en colaboración con instituciones nacionales de los países en donde se realizaron las colectas (Schultze-Kraft *et al.*, 1993) y la atención principal de estos bancos de germoplasma ha sido la colecta de leguminosas, por su alto

contenido de proteína, digestibilidad, los arboles y arbustos producen forraje en la época seca.

En 1996 en el CIAT, el 89.2% eran leguminosas y el 9.8% gramíneas (Torres, 1996). Los principales géneros de estos bancos son 22 de leguminosas (*Acacia*, *Arachis*, *Cajanus*, *Calliandra*, *Canavalia*, *Cassia*, *Centrosema*, *Cratylia*, *Desmanthus*, *Desmodium*, *Leucaena*, *Stylosanthes*, entre otras), 12 de gramíneas (*Andropogon*, *Brachiaria*, *Bothriochloa*, *Cenchrus*, *Chloris*, *Digitaria*, *Eragrostis*, *Hyparrhenia*, *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum* y *Sorghum*) y 14 arbustos forrajeros.

Cuadro 2.1. Número de especies (y accesiones) de gramíneas, leguminosas y arbustos forrajeros en los tres principales bancos internacionales de germoplasma de plantas forrajeras.

	CIAT	CSIRO	ILRI
Gramíneas	105 (1,880)	252 (2,670)	139 (1,820)
Leguminosas	345 (15,980)	518 (9,210)	233 (4,250)
Arbustos	66 (720)	154 (1,420)	183 (1,450)

CIAT = Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia; CSIRO = Commonwealth and Industrial Research Organization, Australia; ILRI = International Livestock Research Institute, Etiopia. Jank *et al.*, (2005).

En el Cuadro 2.1, se observa que las accesiones de leguminosas predominan en las colectas de estos tres bancos de germoplasma con porcentajes de 86, 69 y 57%, gramíneas de 10, 20 y 24% y arbustos forrajeros 4, 11 y 19%, para el CIAT, CSIRO y ILRI, respectivamente (Jank *et al.*, 2005). También existen muchas colectas en instituciones nacionales, que poseen bancos de germoplasma especializados de algún género o especie en particular, tal es el caso del Banco Mundial de Germoplasma para *Cenchrus ciliaris* L. de la Universidad de Texas A&M, que posee 800 accesiones colectadas en Sudáfrica en 1976 (Hignight *et al.*, 1991).

2.3. Caracterización del Germoplasma: Consideraciones sobre Morfología, Citología y Citoembriología

Caracterización es la descripción de la variación realizada en una colección de germoplasma, en términos de características morfológicas, fisiológicas, citológicas, bioquímicas, citoembriológicas y moleculares con alta heredabilidad, es decir características cuya expresión es altamente independiente del ambiente (Schultze-Kraft, 1990).

La caracterización del germoplasma puede ser realizada de diferentes maneras, por ejemplo, a través del análisis morfológico (altura de planta, tamaño de hojas, relación hoja:tallo, duración del periodo vegetativo, floración y fructificación), agronómicas (producción de forraje, semilla, resistencia a condiciones ambientales y enfermedades), bioquímicas (flavonoides e isoenzimas), moleculares (marcadores de ADN), citológica (número cromosómico, nivel de ploidía y fertilidad de los granos de polen), citoembriológica (desarrollo y tipo del saco embrionario, regularidad meiótica, megasporogénesis y gametogénesis) son fundamentales para el establecimiento de estrategias de selección y cruzamiento, aprovechamiento sistemático de los recursos naturales, en programas de selección y mejoramiento de plantas (De Oliveira, 2008). El objetivo de la caracterización es conocer y clasificar la diversidad del germoplasma, en base a características relacionadas en alguna forma con la utilidad y uso potencial del material (Schultze-Kraft, 1990).

2.3.1. Caracterización morfológica

Es la determinación de la variabilidad morfológica existente en una especie, es uno de los pasos iniciales y de menor costo para dimensionar la diversidad potencial del germoplasma, de una colección para su empleo inmediato o posterior en un programa de mejoramiento genético (Sawasato, 2007). La caracterización morfológica tiene como objetivo conocer el material con que se va a trabajar y detectar la diversidad existente. En los próximos pasos será asociar las características de interés agronómico con las genéticas, estas estimaciones son

fundamentales en los siguientes pasos de un programa de mejoramiento (Schultze-Kraft, 1990).

Los descriptores morfológicos deben ser altamente heredables, que sean detectados a simple vista y se expresen igual en todos los ambientes (Franco e Hidalgo, 2003). Las estructuras más importantes para la caracterización morfológica son aquellos que están menos influenciados por el ambiente, flor y fruto en importancia decreciente hojas, tallos, raíces y tejidos celulares (Enríquez, 1991).

Morales *et al.* (2008), en un estudio de la diversidad morfológica existente en poblaciones nativas de *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr., encontraron ecotipos con alto potencial forrajero de acuerdo a su variabilidad morfológica, al disponer de buena riqueza genética del pasto Banderita, con atributos forrajeros sobresalientes para ser incluidos en programas de mejoramiento y restauración de pastizales. Las variables que más contribuyeron en la expresión de la diversidad fueron longitud de la inflorescencia, diámetro del tallo y altura del forraje.

Bortolini *et al.* (2006) caracterizaron una colección de Trébol blanco (*Trifolium repens* L.) evaluaron nueve características morfológicas, el área foliar fue encontrada como la característica con mayor contribución relativa para la diversidad genética (24%), la cual fue importante en la selección de tipos morfológicos más persistentes, a condiciones adversas de altas temperaturas y humedad relativa.

Morales *et al.* (2009) analizaron la diversidad morfológica de 173 ecotipos de [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], colectados en diferentes sitios del estado de Chihuahua, evaluaron 12 características morfológicas, las principales variables que aportaron mayor variación fueron rendimiento de forraje, densidad de tallos y altura del forraje, entre estas tres variables explicaron el 57.3% de la variación total. Detectaron alta variabilidad morfológica y ecotipos con atributos forrajeros sobresalientes.

2.3.2. Caracterización citológica

La caracterización citológica debería de ser un prerrequisito en la actividad básica de caracterización de colecciones de germoplasma (Sybenga, 1998). La caracterización citológica contempla entre otros aspectos, el conteo de cromosomas, determinación del nivel de ploidía, clasificación del comportamiento meiótico, fertilidad del polen, afinidad genómica entre accesiones y entre híbridos interespecíficos (Pagliarini y Pozzobon, 2004). La información básica obtenida de estudios citológicos contribuye directamente en los programas de mejoramiento de plantas, para realizar los esquemas de cruzamientos entre los diferentes individuos de una misma especie o especies emparentadas (Hanna, 1980). La caracterización citológica tiene como objetivo principal, analizar y explicar la estructura y comportamiento de los cromosomas, así como las funciones de éstos de conservar la información genética, transmitirla y regular las funciones celulares, mediante el estudio de los controles y variaciones, sus consecuencias genéticas e implicaciones evolutivas y en mejoramiento genético de las plantas (Lacadena, 1996).

A pesar de la importancia del número cromosómico en sistemática y evolución, apenas han sido registradas 25% de angiospermas (Bennett, 1998) y en la mayoría de éstas especies los datos básicos acerca de los cromosomas son incompletos, debería ser una prioridad importante recopilarlos debido a los problemas que se tienen a nivel mundial de preservación de los recursos genéticos (Stace, 2000).

Los estudios citológicos permiten obtener información básica en relaciones filogenéticas, evolutivas y polimorfismos intra e interespecífico (Pozzobon *et al.*, 2006). El conocimiento citológico es de gran importancia en un programa de mejoramiento, en la selección de individuos revelando posibles alteraciones en la fertilidad de los individuos, para formular la metodología que se va a emplear en los programas de mejoramiento, esquemas de cruzamiento y manipulación genética (Sybenga, 1998).

Valls (1978), estudió la biosistemática del género *Leptochloa* con énfasis especial en *Leptochloa dubia*, encontró que la poliploidía es común en este género, *Leptochloa chinensis*, *L. dubia*, *L. neesii* y *L. uniflora* mostraron que tienen más de un nivel de ploidía; *L. chinensis* y *L. uniflora*, aparentemente incluye aneuploides, al caracterizar diferentes accesiones de *L. dubia* encontró cuatro accesiones tetraploides ($2n=4x=40$) y ocho octoploides ($2n=8x=80$).

Morales *et al.* (2007), determinaron el número cromosómico y nivel de ploidía en 188 ecotipos de *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr., encontraron amplia variación citológica cuyo número varió de 19 a 107 cromosomas y su nivel de ploidía fue desde diploide ($2n=2x=20$) hasta decaploide ($2n=10x=107$).

2.3.3. Caracterización citoembriológica

Es el estudio del desarrollo del saco embrionario y las variantes que existen dentro y entre especies, para esto existen en general dos técnicas: 1) se hacen traslucidos los tejidos *in toto* mediante el uso de compuestos químicos como Metil Salicilato, Bencil Benzoato y Dibutilftalato, se puede observar dentro del saco embrionario, el número de núcleos que posee y determinar si es sexual o apomítico (Young *et al.*, 1979); en muchos casos, especialmente en especies diplospóricas, será necesario revisar la meiosis de la célula madre de la megaspóra, para discriminar entre individuos sexuales y apomíticos; esto es, antes del desarrollo del saco embrionario. 2) Mediante cortes histológicos, en esta técnica los tejidos son fijados (generalmente en alcohol, ácido acético o formol) para preservar la morfología celular, posteriormente se impregnan en parafina, se realizan cortes con micrótopo que van de 5 a 12 μm , se adhieren al portaobjetos y se tiñen en colorantes como safranina, fast-green, etc. (Alonso, 2011).

Estas técnicas permiten realizar estudios de apomixis, mediante la diferenciación de los tipos de sacos embrionarios que presentan, se identifica el tipo *Polygonum* (octanucleado) de los sacos sexuales con una ovocélula, dos núcleos polares, tres antípodas y dos sinérgidas, mientras que los apomíticos apospóricos tipo

Panicum son (tetranucleados), carecen de antípodas y poseen un núcleo polar (Sherwood, 2001).

Nidikudama y De Leeuw (1998), compararon el desarrollo sexual con el apospórico, dentro de los sacos embrionarios de *Brachiaria decumbens* y *B. brizantha*, y observaron que los materiales apomícticos de ambas especies presentaron un desarrollo similar de los sacos embrionarios, de los cuales maduraron primero los sacos apospóricos y luego los meióticos.

Rabau *et al.* (1986), encontraron dos tipos de sacos embrionarios diplospóricos en pasto Llorón (*Eragrostis curvula*). El tipo más frecuente consiste en un saco monopolar tetranucleado, con dos sinérgidas, una oosfera y un núcleo polar agrupados en el extremo micropilar. Una variante de este saco presentó dos núcleos polares y una sola sinérgida. El segundo tipo de saco es bipolar, con dos pares de núcleos separados por una vacuola. El desarrollo posterior produce un saco 6 a 7 nucleado, con una oosfera, dos sinérgidas, dos núcleos polares y 3 ó 4 antípodas en el extremo calazal.

En especies con cleistogamia y casmogamia se estudia la sincronización de la antesis con la formación del embrión. Caponio y Rua (2003), en *Digitaria bicornis* examinaron el saco embrionario en antesis, encontraron que en espiguillas con cleistogamia ya había ocurrido la polinización debido a que se encontraba el embrión en desarrollo y formación de endospermo, mientras que en las espiguillas con casmogamia observaron el saco embrionario con su oosfera, dos sinérgidas, dos núcleos polares y varias antípodas.

2.4. Género *Leptochloa*

Leptochloa es un género que comprende aproximadamente 32 especies con 10 subespecies anuales y perennes (Snow, 1997), algunas de las cuales son de importancia económica y ecológica como malezas (*L. coerulescens*, *L. fascicularis*, *L. filiformis*, *L. scabra* y *L. uninervia*) y otras como forrajeras (*L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora* y *L. paniceae*) distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Watson y Dallwitz, 1992). En el continente Americano se han

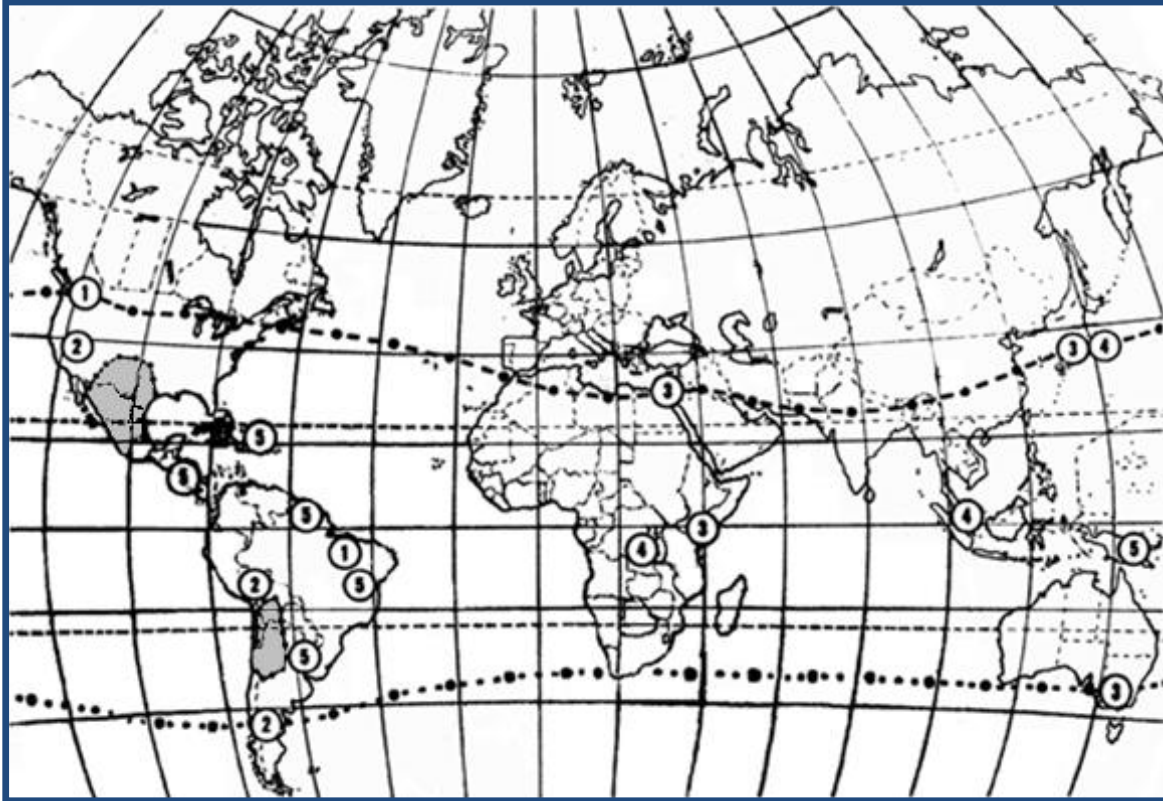
reportado 17 especies de *Leptochloa* y 13 de éstas son nativas (Peterson *et al.*, 2001; 2007) y, en México, 13 especies de *Leptochloa* se distribuyen principalmente en trópico (Dávila *et al.*, 2006).

Especies del género *Leptochloa* se distribuyen en las zonas cálido-templadas de América, África y Australia, presentes en bosques, sabanas con suelos secos o pantanosos y a menudo como malezas en lugares perturbados (COTECOCA, 1991). Se distribuye en el mundo entre un rango latitudinal aproximado de 48° N y 45° S. Las áreas con mayor riqueza en especies de este género son Estados Unidos, México, Tanzania, Etiopia y Australia, la especie más diseminada es *Leptochloa fusca* y coincide con los límites latitudinales del género (Fig. 2.1; Snow, 1997).

La mayoría de las especies son anuales, pero existen algunos individuos perennes (*Leptochloa acuatica*, *L. caudata*, *L. coerulescens*, *L. malambrica*, *L. fusca*, *L. chinencis* y *L. fascicularis*) y se distribuyen en ambientes tropicales húmedos, cerca del Ecuador, a orillas de estanques de agua, mientras que las especies perennes como *L. dubia*, en zonas semiáridas y montañosas de EUA, Mesoamérica y algunas porciones de Sudamérica. En el Sur de África *L. eleusine* prefiere los suelos bien drenados. Mientras que *L. digitata* en Australia y *L. gigantea* en África crecen en ambientes semihúmedos (Snow, 1997). *L. fusca* se distribuye en muchos ambientes incluso tiene alta tolerancia a la salinidad, se ha reportado la excreción de sal en pequeños poros papilares en las hojas (Joshi *et al.*, 1983).

Pocas especies de *Leptochloa* tienen valor forrajero. Gould (1975), reportó buena apetecibilidad, producción y calidad de forraje de *L. dubia*, pero presenta problemas para adaptarse a algunos ambientes. *L. fusca* tiene buena apetencia y puede ser una opción para forraje en suelos con problemas de salinidad donde otras especies forrajeras no crecen (Chapman, 1996). Algunas especies son consideradas como malezas importantes *Leptochloa filiformis*, *L. fusca*, *L. fascicularis* y *L. panicea*, principalmente en el cultivo de arroz, hortalizas y cítricos (Villaseñor y Espinosa, 1998; Degiovanni *et al.*, 2010).

Figura 2.1. Mapa de distribución geográfica del género *Leptochloa*. Límites al Norte y Sur de la distribución del género *Leptochloa* (•••••). Área de distribución de *Leptochloa dubia* (área de gris). Localidades representativas de: 1. *Leptochloa fascicularis*, 2. *L. uninervia*, 3. *L. fusca*, 4. *L. chinensis* y 5. *L. virgata*.



Valls, (1978).

Con respecto a la clasificación del género *Leptochloa* es compleja y existen serios problemas taxonómicos (Watson y Dallwitz, 1992; Snow, 1997), no se han determinado los límites entre los géneros *Leptochloa* y *Diplachne*, existen especies que son clasificadas en ambos géneros, por ejemplo en la literatura de Sudamérica es comúnmente nombrada como *Diplachne dubia* mientras que en Norteamérica es *Leptochloa dubia* (Valls, 1978).

Han existido muchos intentos por varios autores para esclarecer y definir los límites del género *Leptochloa* (Gray, 1848; Hitchcock, 1951; Valls, 1978; Pohl y Davidse, 1994; Snow, 1997). Sin embargo, en la actualidad sigue habiendo cierta confusión acerca de su clasificación. La disputa para esclarecer estos géneros lleva muchos años, algunos autores siguen fusionando a *Leptochloa* con *Diplachne* (Gray, 1848; Hitchcock, 1951; Gould, 1975; McVaugh, 1983; Pohl y

Davidse, 1994; Phillips, 1995), mientras que otros autores siguen segregando a *Diplachne* (MacNeill, 1979; Lazarides, 1980; Simon y Macfarlane, 1996; Nicora, 1995; Snow, 1997).

De acuerdo con Clayton y Renvoize (1986) existen tres puntos en los que se relaciona el género *Leptochloa* con otros géneros 1) tiene muchos géneros relativamente cercanos o emparentados 2) *Leptochloa* está evolutivamente relacionado con otros géneros, y 3) *Leptochloa* puede ser parafilético, es decir, que tiene un antepasado común con otros géneros relacionados. La mayoría de los grupos de la subfamilia Chloridoideae han evolucionado a partir de una población ancestral común incluyendo *Leptochloa*, pero una gran parte aún sigue sin probarse. Phillips (1982), analizando caracteres morfológicos, reporta que algunas especies de *Diplachne* y *Leptochloa* se superponen y poseen características de ambos géneros.

La monofilia del género *Leptochloa* no es clara utilizando datos morfológicos y anatómicos, no han sido corroborados con datos moleculares su relación con otros géneros (Snow, 1997). En un análisis con fragmentos de restricción cpADN con géneros que pertenecen a su clado basal, encontraron que *L. dubia* comparte un ancestro común con *Scleropogon* Phil., *Dasyochloa* Willd. ex Rydb., Munroa Torr. y *Erioneuron* Nash. y no forma parte del clado en el que se encuentran géneros como *Muhlenbergia*, *Munroinae*, *Scleropogon*, *Sporobolus*, *Eleusine* y *Eustachys* (Duvall et al., 1994). Sin embargo, en otro estudio de filogenética de Chloridoideae basado en secuencias matK, *Leptochloa dubia* formó un clado con *Coelachyrum* Hochst. & Nees y *Astrebla* F. Muell resultando un parentesco cercano con éste género (Hilu y Alice, 2001). En otro estudio de filogenética de *Leptochloa* se realizó un análisis combinado de secuencias *trnL-F* y ITS para *L. dubia*, *L. fusca* y *L. panicea* resultaron en clados distintos por lo que sugiere un origen polifilético, es decir que no tienen un antepasado en común (Columbus et al., 2007).

2.4.1. *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees

2.4.1.1. Distribución e importancia

En México, se encuentra presente en mesetas, colinas secas, pendientes rocosas, pastizales medianos abiertos del norte del país, zonas de riego del centro, áreas costeras, planicies y sabanas del sur (COTECOCA, 1991; Pohol y Davidse, 1994). Con mayor abundancia y a veces dominante en el pastizal de navajita y en el pastizal con encino-enebro, en suelos de aluvión profundo, abunda en los declives pronunciados y pedregosos dentro de los pastizales anteriores, de las zonas áridas y semiáridas del norte y centro de México. Mejor adaptado a suelos arenosos profundos y lomeríos rocosos (Lesur, 2010). Se distribuye desde Chiapas hasta Baja California principalmente en regiones templadas, aunque también se ha reportado en trópico (Villaseñor y Espinosa, 1998). Localmente en los estados de Jalisco, Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua y Coahuila, es conocido como “zacate Gigante” (Fig. 2.2; COTECOCA, 1991), es una de las especies de gramíneas nativas considerada importante, por su producción forrajera y aprovechamiento ganadero (Hernández, 1958; Granados y López, 1980; COTECOCA, 1991).

Leptochloa dubia (Kunth) Nees es una gramínea perenne amacollada de crecimiento erecto, es una de las especies nativas que posee características interesantes como forrajera, buen potencial de producción de materia seca, alto contenido de proteína, excelente digestibilidad y produce alto rendimiento de semilla (Polk *et al.*, 1976; Pitman, 1980; Jaramillo, 1994). Se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina, Figura 2.3 (Valls, 1978; Snow, 1997; Peñaloza *et al.*, 2002; Snow *et al.*, 2008; Kenneth, 2012).

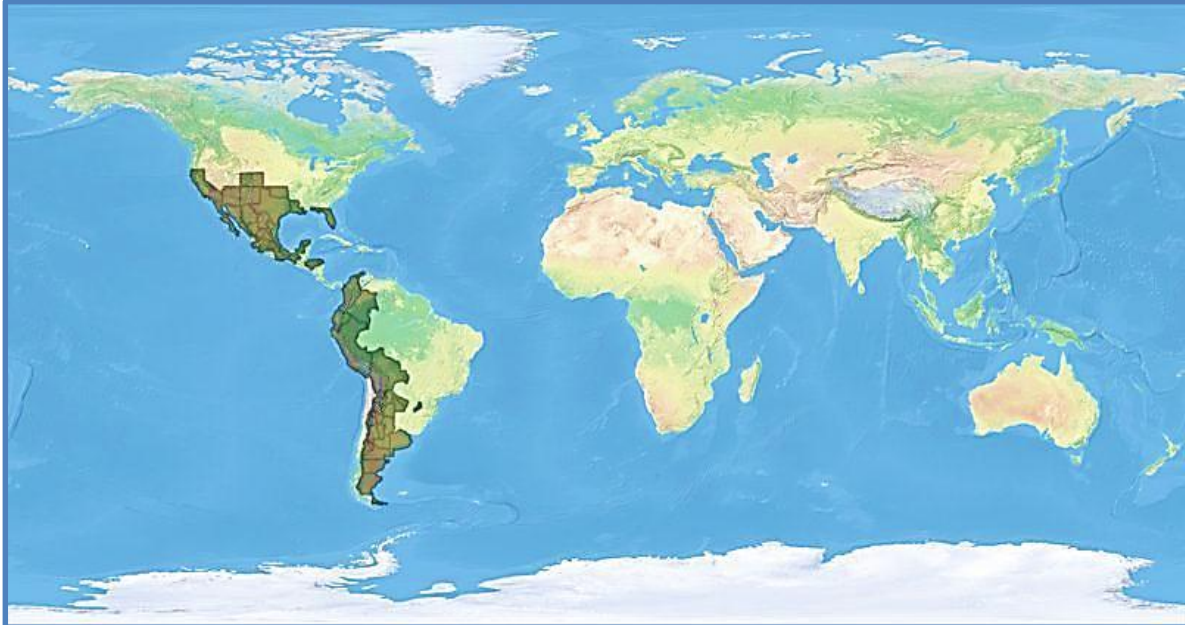
Su reproducción es mediante semilla, ya que posee alta capacidad de producción de ésta: 288 kg ha⁻¹ con una aplicación de 120-60-00 kg ha⁻¹ de N-P-K, siendo muy superior al pasto Banderita (*Bouteloua curtipendula*) de 176 kg ha⁻¹ (Sánchez, 1976a).

Figura 2.2. Fotografías de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees tomadas en: a) Ocampo, Gto. b) Tecozautla, Hgo. c) Chapingo, Edo. de Méx. d, e, f y g) Texcoco, Edo. de México.



En un experimento en el que compararon el rendimiento y calidad nutritiva del pasto *Leptochloa dubia* y dos variedades de pasto Banderita (Premier y Reno), produjeron 3624, 2452 y 3406 kg ha⁻¹ respectivamente y 374, 266 y 329 kg de proteína cruda ha⁻¹ (Sánchez, 1976b).

Figura 2.3. Distribución geográfica del pasto *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees (■).



Kenneth, (2012).

2.4.1.2. Descripción morfológica de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees

Plantas perennes con culmos en su mayoría erectos en ocasiones decumbentes, tallos casi siempre de 30 a 100 cm de alto y 1 a 4.5 mm de ancho, en macollos densos, sin estolones ni rizomas, simples o ramificados; vainas por lo general más cortas que los entrenudos, por lo menos las inferiores aquilladas y planas, las superiores redondeadas, con frecuencia purpúreas; entrenudos glabros de 3 a 11 cm de longitud, sólidos; lígulas membranosas, de 1 a 1.5 mm de largo, fimbriada y ciliada; láminas casi siempre de 8 a 35 cm de longitud por 2 a 8 mm de ancho (Snow, 1997).

Panículas de 10 a 45 cm, 5 a 14 ramillas laterales, flexuosas, de ascendentes a divaricadas, casi siempre de 3 a 19 cm de largo (Pohl y Davidse, 1994). Espiguillas de 4 a 12 mm de largo, superpuestas imbricadas frecuentemente sésiles, 4 a 13 flosculadas, con pocos callos glabros y cilios muy pequeños; gluma inferior,

membranosa, estrecha y triangular, escabrosa y con una nervadura central, algunas veces papilada a los lados de 2 a 4.8 mm de longitud. La gluma superior membranosa, ovada, lanceolada, escabrosa y con nervadura central, papilada de 3.3 a 5 mm de longitud. Lema membranosa aunque poco frecuente 4 ó 5 nervaduras de 4 a 5 mm de longitud, ovadas u oblongas, con el nervio medio prominente y más o menos redondeadas en el dorso, glabras o pubescentes con tres nervios y pelos esparcidos en los internervios, el ápice bilobulado, tres estambres, anteras de 1 a 1.6 mm de longitud amarillos. Cariópside de 1.9 a 2.3 mm de longitud 0.9 a 1 mm de ancho (COTECOCA, 1991; Snow, 1997; Zuluaga *et al.*, 2008).

2.4.1.3. Citología y sistema reproductivo de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees

El número básico de cromosomas para el género *Leptochloa* es $n=x=10$ y algunos poliploides con $n=x=9$ se han reportado para *L. chinensis* y *L. uniflora* (Snow, 1997). *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees se caracteriza por un número cromosómico básico de $n=x=10$. En estudios de conteos cromosómicos para *L. dubia* encontraron complementos cromosómicos, que van desde el nivel diploide ($2n=2x=20$) hasta octaploide ($2n=8x=80$; Covas, 1949; Brown, 1950; Gould, 1960; Valls, 1978).

Covas (1949), encontró que *L. dubia* poseía 40 cromosomas $2n=4x=40$ en Sudamérica; mientras que Brown (1950), en Texas, observó plantas hexaploides ($2n=6x=60$); Gould (1960), encontró tres accesiones diploides ($2n=2x=20$) y una tetraploide ($2n=4x=40$), en Texas y dos tetraploides en Arizona. Carnahan y Hill (1961), reportaron que poseían 20 cromosomas y Valls (1978), encontró ocho accesiones octoploides ($2n=8x=80$) y cuatro tetraploides ($2n=4x=40$), en Texas.

El comportamiento reproductivo de *Leptochloa dubia* es caracterizado por presentar cleistogamia obligada en las inflorescencias axilares, cleistogamia facultativa en las inflorescencias terminales, es probable que ocurra Casmogamia, en la formación de un saco embrionario normal, proliferan las antípodas, ocasionalmente hay una germinación temprana del polen en las anteras y

frecuente degradación del polen después, puede llegar a una etapa trinucleada, este patrón generalmente no se modifica con el nivel de ploidía (Valls, 1978; Snow, 1997).

La biología y morfología floral de *Leptochloa dubia* es complicada por tres factores: 1) la ocurrencia facultativa de cleistogamia en las inflorescencias terminales, 2) la temprana degradación de los granos de polen bajo algunas circunstancias y 3) el frecuente daño de estructuras florales por plagas de insectos en la parte terminal de la inflorescencia (Valls, 1978).

2.5. Género *Cenchrus*

Plantas anuales o perennes cespitosas, rizomatozas, estoloníferas o decumbentes con panículas densas que se asemejan a una espiga. Las espiguillas pueden ser simples, pero por lo general se encuentran en grupos de dos a siete y están rodeadas por cerdas usualmente duras, aplanadas y unidas forman un involucre en la parte más baja (Gould y Shaw, 1992; Bogdan, 1997). Las espiguillas pueden ser de forma lanceolada u ovalada, puntiagudas y con dos flósculos de los cuales, el superior es bisexual. Se han reportado 22 especies distribuidas en las regiones cálidas, principalmente en las regiones áridas y semiáridas, tropicales y subtropicales del mundo (Watson y Dallwitz, 1992).

Este género es de importancia económica, contiene especies forrajeras como *C. ciliaris* (resistente a la sequía, tolerante al pastoreo intensivo) y *C. setigerus*. También hay especies forrajeros de pastos nativos como: *Cenchrus biflorus*, *C. pennisetiformis*, *C. multiflorum* y malezas: *C. biflorus*, *C. brownii*, *C. echinatus*, *C. incertus*, *C. longispinus*, *C. myosuroides*, *C. pauciflorus* y *C. tribuloides* (Watson y Dallwitz, 1992).

El número cromosómico básico del género es $n=x=9$ y 12, con números cromosómicos somáticos de $2n=34, 35, 36, 40, 44, 45$ y 68, ya que hay especies diploides y poliploides (Bogdan, 1997).

Cenchrus y *Pennisetum* están cercanamente emparentados y se evidencia principalmente en la morfología intermedia del fascículo de tres especies (*C. multiflorum*, *C. myosuroides* y *C. ciliaris*), así como varias especies americanas y africanas. En ellas, las cerdas de los fascículos están unidas solo en la base, forman un disco basal pequeño y la sistemática de dichos intermediarios es arbitraria (Pohl y Davidse, 1994).

Watson y Dallwitz (1992), reportan 22 especies de *Cenchrus* distribuidas principalmente en climas tropicales y templados, en México se han reportado 10 especies del género *Cenchrus* entre los que se encuentran: *Cenchrus ciliaris*, *C. brownii*, *C. equinatus*, *C. incertus*, *C. longispinus*, *C. multiflorum*, *C. myosuroides*, *C. palmeri*, y *C. pilosus*, algunas de estas especies tienen importancia como forrajes y malezas (Dávila *et al.*, 2006).

2.5.1. *Cenchrus ciliaris* L.

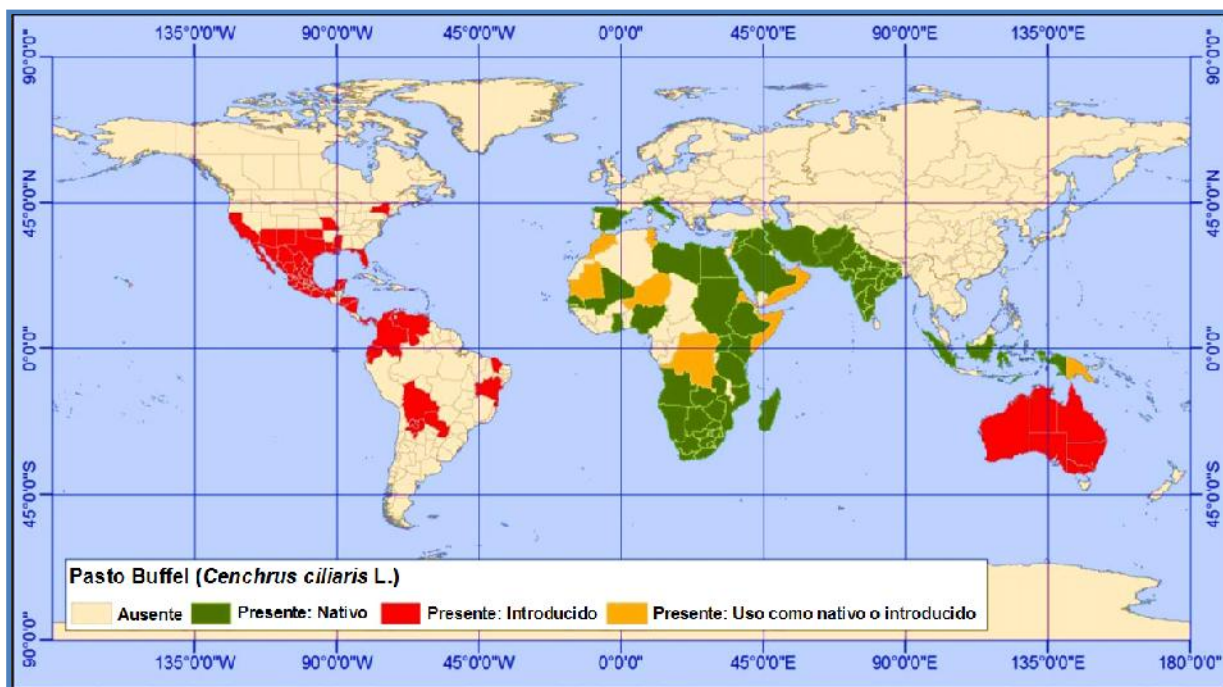
2.5.1.1. Distribución e importancia

Cenchrus ciliaris L. es una gramínea perenne nativa de África, ampliamente utilizada como forrajera en las regiones áridas y semiáridas e inclusive desérticas del mundo (Mansoor *et al.*, 2002), su área de distribución natural se encuentra en África Tropical, norte de África, costa del Mediterráneo, Arabia Saudita, Pakistán, India e Indonesia (Fig. 2.4), fue introducido en el siglo XIX a las zonas tropicales y semiáridas de América y Australia (Marshall *et al.*, 2011).

El pasto Buffel fue introducido a México en 1954, como variedad T-4464 conocido como Buffel común o Americano, procedente de Texas, al estado de Nuevo León y posteriormente a otros estados como Sonora, en donde ha contribuido al desarrollo de la ganadería. (González, 1991; Ibarra *et al.*, 1991; Valencia *et al.*, 2010). Ha tenido una excelente adaptación a las condiciones semiáridas, sin heladas, se ha constituido en una alternativa muy promisorias para elevar la producción de forraje de 2 ó 4 veces, en comparación con los pastizales nativos (García *et al.*, 2003; Lavander, 2003), se estima que en México existe una

superficie de 4 millones de ha establecidas; que en su mayoría provienen de un solo genotipo el T-4464 o común, principalmente en los estados de Sonora, Tamaulipas, Nuevo León, Coahuila, Sinaloa y Yucatán (Alcalá, 1995).

Figura 2.4. Distribución geográfica de *Cenchrus ciliaris* L.



Marshall *et al.* (2011)

Su valor radica en que produce forraje de buena calidad en zonas con escasa precipitación, presenta un sistema radical profundo y ramificado, una corona formada por tallos engrosados donde se acumulan hidratos de carbono que le confieren resistencia a la sequía, al fuego y permiten crecer rápidamente con el inicio de las lluvias (Bogdan, 1997; Beltrán y Loredo, 2002). A pesar de que florece permanentemente, es continua la producción de tallos vegetativos, crece en verano y poco tolerante al frío. Se desarrolla en suelos de mediana fertilidad con buen drenaje, de textura franco-arenosa a franco-arcillosa, ligeramente alcalinos, es sensible a encharcamientos, tiene moderada tolerancia a la salinidad y precipitaciones que oscilan entre 350 a 750 mm (Enríquez *et al.*, 1999).

Existen gran cantidad de variedades, siendo las más utilizadas en México el común T-4464, Formidable, Zaragoza-115, Nueces, Frío, Llano, Molopo, Biolela,

Gaindah, Milenio, H-17, Laredo y Pecos (Garza *et al.*, 2010). El valor nutricional del pasto Buffel es superior al de la mayoría de las especies de pastos nativos (Ramírez *et al.*, 2001) y de igual o mayor valor a otras especies de pastos introducidos como Rhodes (*Chloris gayana* Kunth) y Pretoria 90 [*Dichanthium annulatum* (Forssk.) Stapf] (Mutz y Drawe, 1983). Se han reportado porcentajes de digestibilidad de 40 a 60%, así como un contenido de proteína de 19% en crecimiento activo, 11% en formación de espigas, 8% en madurez vegetativa y de 4 a 2% durante la sequía (Woodwar, 1980; Hussey y Bashaw, 1985; Martín e Ibarra, 1995).

El pasto Buffel es la especie forrajera más utilizada para la resiembra de agostaderos deteriorados y de bajo potencial forrajero en México. En la actualidad, existen alrededor de 4 millones de has establecidas y existen millones de has susceptibles de sembrarse; sin embargo, una de las principales limitantes en el establecimiento y crecimiento es la ocurrencia de heladas, razón por la cual este pasto tiene problemas para establecerse en las partes más altas y frías del altiplano mexicano (Alcalá, 1995; Beltrán y Loredo, 2002). Aunque existen variedades que han sido seleccionadas para tolerancia al frío como el Zaragoza-115, Llano, Nueces y Frío, no han sido lo suficiente tolerantes para resistir las heladas que se presentan en gran parte de la región del altiplano y poder establecer praderas que sean productivas (Ibarra *et al.*, 2011).

2.5.1.2. Descripción morfológica de *Cenchrus ciliaris* L.

Culmos de 25 a 100 cm de alto; vainas, comprimidas glabras escasamente pilosas; láminas escabrosas, en ocasiones ligeramente pilosas, de 2.4 a 2.8 cm de largo, por 2.2 a 8.5 mm de ancho. Inflorescencia densa y cilíndrica de 2 a 12 cm de largo por 1 a 2.6 cm de ancho; raquis flexible y escabroso; involucros alargados y pubescentes; pedúnculo diminuto y densamente piloso de 0.5 a 1.5 mm de largo por 1 a 2 mm de ancho; espigas erectas o dispersas de 4.3 a 10 mm de largo por 0.2 a 0.6 mm de ancho, con cilios largos, pubescentes en los márgenes internos, concrecentes únicamente en la base, o un poco más arriba escabrosa, las

internas con frecuencia plumosas o con cilios largos en los márgenes; verticilo inferior semejante a cerdas y más corto que las espinas internas; espiguillas de 2 a 4 por involucro, de 2 a 5.6 mm de largo; primera gluma de 1 a 3 mm de largo por 0.77 a 1.4 mm de ancho, delgada y membranácea, 1-nervada; segunda gluma de 2.5 a 5.9 mm de largo y de 1.3 a 3.4 mm de ancho, flósculo fértil de 2.2 a 5.4 mm de largo por 1 a 1.5 mm de ancho, el cariósido es ovoide de 1.4 a 1.9 mm de largo por 1 mm de ancho (Beetle, 1987; Pohl y Davidse, 1994).

2.5.1.3. Citología y sistema reproductivo de *Cenchrus ciliaris* L.

Cenchrus ciliaris L. es perenne, proporciona forraje durante la época de lluvias, se reproduce predominantemente por apomixis aunque también se han detectado plantas, que tienen reproducción sexual obligada y apomixis facultativa (Bogdan, 1997). Las plantas con reproducción sexual obligada tienen amplio potencial para el uso en programas de mejoramiento (Winger, 1984). Existen tetraploides ($2n=4x=36$), pentaploides, hexaploides, aneuploides, el número cromosómico básico es $n=x=9$, se han reportado plantas $2n=18, 32, 34, 36, 40, 45, 52$ y 54 (Bogdan, 1997; Van Devender *et al.*, 1997). Las flores son hermafroditas y de polinización cruzada. La especie se reproduce por aposporia, la apomixis es a menudo facultativa, pero plantas sexuales son raras (Sherwood y Gustine, 1994).

Hanna y Bashaw (1987), reportaron el descubrimiento ocasional de una planta sexual, en este estudio, revelan, que fue funcional la megaspora producto de la meiosis y de la megagametogenesis. La progenie, resultado de la polinización cruzada, resultó en gran variación morfológica y una segregación de 1:1 para plantas sexuales:apospóricas, indicando que el carácter de apomixis normalmente se comporta como factor mendeliano simple (Quero *et al.*, 2010b).

El pasto Buffel posee flores hermafroditas, presentan protoginia, lo que facilita la polinización cruzada; sin embargo, se reproduce por aposporia, es decir que el saco embrionario se forma de una célula somática de la nucela, el gameto femenino no se reduce, a partir del cual se desarrolla el embrión sin que exista la doble fecundación (Gould y Shaw, 1992). La apomixis en esta especie es

facultativa pero son muy raras las plantas sexuales. La aposporia es monopolar tipo *Panicum*, basado en cuatro núcleos, carece de antípodas y forman múltiples sacos embrionarios sin reducirse, mientras en las plantas sexuales solo uno (Sherwood y Gustine, 1994). La semilla es idéntica en su composición genética a la madre, por lo que su recombinación genética es muy limitada, volviéndolo susceptible a heladas y enfermedades (Rodríguez *et al.*, 1999).

2.6. Conclusiones de la Revisión de Literatura

México es un importante centro de origen y diversificación de gramíneas, se han detectado 1182 especies, de las cuales 532 tienen uso forrajero, dentro de estas, 229 presentan valor regular, 196 bueno y 45 excelente entre las que se encuentra el pasto *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, como las especies de gramíneas nativas de mayor potencial agronómico en las zonas semiáridas.

Existe escasa información acerca de la diversidad natural existente de *Leptochloa dubia*, por lo que en este estudio se realizará la caracterización morfológica, citológica y biología reproductiva de distintas poblaciones, para la clasificación del germoplasma en base a características relacionadas, en alguna forma con la utilidad y los usos potenciales del material para forraje.

El pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) es la gramínea introducida de África que mejor se ha adaptado a regiones áridas y semiáridas e inclusive desérticas de México. Su principal limitante es la baja diversidad y resistencia a frío, lo que expone a eventos de baja frecuencia y alta intensidad: heladas y plagas.

2.7. Literatura Citada

- Alcalá, G. C. H. 1995. Origen y distribución mundial. Guía práctica para el establecimiento, manejo y utilización del zacate Buffel. PATROCIPES. Sonora, Méx. 10 p.
- Alonso, P. J. R. 2011. Manual de microhistología vegetal. Ed. Mundi-Prensa. México, D. F. 326 p.
- Beetle, A. A. 1987. Las gramíneas de México. Tomo II. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México, D. F. 344 p.
- Beltrán, L. S., y O. C. Loredó. 2002. Reconversión de áreas agrícolas marginales en praderas de pasto Buffel. Folleto para productores no. 32. San Luis Potosí, México. 16 p.
- Beltrán, L. S. 2010. El INIFAP y la investigación en pastizales y recursos forrajeros. *In*: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. pp: 64-69.
- Bennett, M. D. 1998. Plant genome values: How much do we know? Proceedings of the National Academy Science. Washington. 95: 2011-2016.
- Bogdan, A. V. 1997. Pastos tropicales y plantas de forraje. A. G. T. Editor, S. A. México, D. F. 461 p.
- Bortolini, F., M. Dall'Agnol, M. T. Schifino-Wittmann, M. Trevisan, M. V. Vieira, S. M. Scheffer-Basso, e D. P. Montardo. 2006. Caracterização morfológica e divergência genética em germoplasma de trevo-branco. Rev. Bras. Zoot. 35: 1601-1610.
- Brown, W. V. 1950. A cytological study of some Texas Gramineae. Bull. Torrey Bot. Club. 77: 63-76.
- Cantú, B. J. E. 1990. Manejo de pastizales. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Torreón, Coahuila, México. 290 p.
- Cantú, B. J. E. 2011. Manejo y mejoramiento de pastizales. Ed. Doble Hélice. Chihuahua, Méx. 320 p.
- Caponio, I. y G. H. Rua. 2003. Biología reproductiva de *Digitaria bicornis*, una maleza frecuente en los cultivos del nordeste de la Argentina. Rev. Cient. Agropecuaria. 7: 21-27.

- Carnahan, H. L., and H. D. Hill. 1961. Cytology and genetics of forage grasses. *Bot. Rev.* 27: 1-162.
- Chapman, C. R. 1996. *The biology of Grasses*. CAB Internacional, Wallingford. U. K. 273 p.
- Clayton, W. D., and S. A. Renvoize. 1986. *Genera graminum: Grasses of the World*. Kew Bull., Addit. Royal Botanic Gardens, Kew. 13: 1-389.
- Columbus, J. T., R. Cerros-Tlatilpa, M. S. Kinney, M. E. Siqueiros-Delgado, H. I. Bell, M. P. Griffith, and N. F. R. Rodriguez. 2007. Phylogenetics of Chloridoideae (Gramineae): A preliminary study based on nuclear ribosomal internal transcriber spacer and chloroplast trnL–F sequences. *Aliso*. 23: 565–57.
- Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero (COTECOCA). 1978. *Determinación de los coeficientes de agostadero por estados SARH*. México. 10 volúmenes.
- Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero (COTECOCA). 1991. *Las Gramíneas de México*. Tomo III. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. 332 p.
- Covas, G. 1949. Estudios cariológicos en antófitas III. *Darwiniana*. 9: 158-162.
- Dávila, P., M. T. Mejía-Saulés, M. Gómez-Sánchez, J. Valdés-Reyna, J. J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón, y A. Ocampo. 2006. *Catálogo de las gramíneas de México*. UNAM–CONABIO. México. 671 p.
- De Alba, J. 1976. Panorama actual de la ganadería mexicana. Memoria del Seminario Internacional de Ganadería Tropical. FIRA, SAG, Banco de México, Guerrero, México. pp: 41-62.
- Degiovanni, V., R. C. P. Martínez, y O. F. Motta. 2010. *Producción eco-eficiente del arroz en América Latina*. Tomo I. Centro de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 487 p.
- De Oliveira, D. R. C. 2008. *Caracterização citogenética e morfológica em uma coleção de acessos de *Paspalum nicorae* Parodi*. Dissertação Maestre en Zootecnia. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. 142 p.
- Do Valle, C. B, and Y. Savidan. 1998. Genética, citogenética y biología reproductiva de *Brachiaria*: *In: Brachiaria: Biología, agronomía y mejoramiento*. Ed. J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. Do Valle, colaboración de

- V. Kumble, CIAT, Cali, Colombia, y EMBRAPA/CNPGC, Campo Grande, Brasil. 312 p.
- Duvall, M. R., P. M. Peterson, and A. H. Christensen. 1994. Alliances of *Muhlenbergia* (Poaceae) within New World Eragrostideae are identified by phylogenetic analysis of mapped restriction sites from plastid DNAs. *Amer. J. Bot.* 81: 622-629.
- Enríquez, G. 1991. Descripción y evaluación de los recursos genéticos. *In: Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales.* Castillo, R. Estrella, J. Tapia, C. Ed. Porvenir. Quito, E. C. pp: 116-160.
- Enríquez, Q. J. F., F. N. Meléndez, y E. D. Bolaños. 1999. Tecnología para la producción y manejo de forrajes tropicales en México. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Papaloapan. Libro Técnico Núm. 7. División Pecuaria Veracruz, México. 262 p.
- Enríquez, Q. J. F., C. A. R. Quero, y C. F. Herrera. 2010. Multiplicación de semilla de gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales en México. *In: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales.* Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp: 260-276.
- Enríquez, Q. J. F., G. A. Hernández, y M. Z. Romero. 2011. Generación, transferencia y adopción de tecnología en forrajes en el trópico de México. *In: Memoria del II Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y XXI Reunión sobre producción de carne y leche en climas cálidos.* Chihuahua, Chih. pp: 1-13.
- FIRA. 1986. Instructivos técnicos de apoyo para la formulación de proyectos de financiamiento y asistencia técnica. Serie Ganadería. Forrajes. FIRA-Banco de México. México, D. F. 256 p.
- Franco, T., y R. Hidalgo. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- García, D. G., L. R. Ramírez, R. Foroughbakhch, y R. R. Morales. 2003. Valor nutricional y digestión ruminal de cinco líneas apomícticas y un híbrido de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). *Téc. Pecu. Méx.* 41: 209-218.
- Garza, C. R. D., J. T. Flores, E. V. Vargas, M. R. Espinoza, y P. F. Zárate. 2010. Alternativas forrajeras para los sistemas de producción animal en el norte de Tamaulipas. *In: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de*

- Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Méx. pp: 114.
- González, D. J. 1991. Aprovechamiento integral del zacate Buffel. *In: Memoria VII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Manejo Pastizales*. Ciudad. Victoria, Tamaulipas, México. pp: 1-2.
- Gould, F. 1960. Chromosome numbers in southwestern grasses II. *Amer. J. Bot.* 47: 873-877.
- Gould, F. 1975. *The grasses of Texas*. Texas A&M University Press. College Station. 654 p.
- Gould, F., y R. B. Shaw. 1992. *Gramíneas clasificación sistemática*. AGT Editor, S. A. México, D. F. 381 p.
- Granados, S. D., y R. G. López. 1980. *Manual de agrostología*. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zonas Áridas. México. 216 p.
- Gray, A. 1848. *A manual of botany of the Northern United States*. Boston & Cambridge. 710 p.
- Hanna, H. H. 1980. Application of cytogenetics to plant breeding. *Proceedings of southern pasture and forage crop improvement conference*. pp: 75-80.
- Hanna, W. W., and E. C. Bashaw. 1987. Apomixis, its identification and use in plant breeding. *Crop Sci.* 27(6): 1136-1139.
- Hanson, J., and B. L. Maass. 1999. Tropical forage germplasm conservation. *Proc. XVIII International Grassland Congress*. Winnipeg, Manitoba, Canada. 3: 31-36.
- Harlan, J. R. 1983. The scope for collection and improvement of forage plants. *In: Genetic resources of forage plants*. McIvor J. G. y R. A. Bray (Eds.). East Melbourne: CSIRO, Australia. pp: 3-14.
- Hernández, X. E. 1958. Los zacates más importantes para la ganadería en México. *Agric. Téc. Méx.* 7: 46-48.
- Hilu, K. W., and L. A. Alice. 2001. A phylogeny of Chloridoideae (Poaceae) based on matK sequences. *Syst. Bot.* 26: 386-405.
- Hignight, K. W., E. C. Bashaw, and M. A. Hussey. 1991. Cytological and morphological diversity of native apomictic Buffelgrass *Pennisetum ciliare* (L.) Link. *Bot. Gazette.* 152: 214-218.

- Hitchcock, A. S. 1951. Manual of the grasses of the United States. Second Edition. USDA. Publication no. 200. Government Printing Office, Washington. 1051 p.
- Holmann, F., L. Rivas, P. Argel, y E. Pérez. 2004. Impacto de la adopción de pastos *Brachiaria* en Centroamérica y México. Cali, Colombia. Centro de Agricultura Tropical. CIAT. 31 p.
- Hussey, M. A., and E. C. Bashaw. 1985. Influence of clipping height on the yield and quality of Winter Hardy Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) germoplasm. Forage Research in Texas. Texas A&M University System. USA. pp: 37-38.
- Ibarra, F. F., J. R. Cox, y R. M. Martín. 1991. Efecto del suelo y clima en el establecimiento y persistencia del zacate Buffel en México y sur de Texas. *In: Memoria VII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Manejo de Pastizales*. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. pp: 14-28.
- Ibarra, F. F. A., R. M. Martín, M. A. Hussey, B. L. Burson, B. F. Denogean, M. S. Moreno, y A. F. Ayala. 2011. Variedades de zacate Buffel tolerantes al frío. Publicación Técnica No. 3. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Sonora, Méx. 34 p.
- Jank, L., F. Carvalho, and C. V. Do Valle. 2005. New grasses and legumes: advances and perspectives for the tropical zones of Latin America. *In: Grasslands: developments opportunities perspectives*. Edited by S. G. Reynolds and J. Frame. FAO. EUA. 539 p.
- Jaramillo, V. 1994. Revegetación y reforestación de las áreas ganaderas de las zonas áridas y semiáridas de México. Comisión Técnica Consultiva de Coeficientes de Agostaderos (COTECOCA). Subsecretaria de Ganadería. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México, D. F. 40 p.
- Jiménez, M. A. 1993. La producción forrajera en México. FIRA-UACH. Chapingo, México. 100 p.
- Joshi, Y. C., R. S. Dwivedi, A. R. Bal, and A. Qadar. 1983. Salt excretion by glands in *Diplachne fusca* (Linn.) Indian J. Plant Physiol. 26: 203-208.
- Kenneth, S. B. 2012. Grassworld. Queensland Herbarium, Australia. Disponible en: <http://grassworld.myspecies.info/category/world-grasses/world-grasses/leptochloa/leptochloa-dubia>. Accesado el 11 de Mayo de 2012.
- Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Editorial Complutense, S. A. Madrid, España. 931 p.

- Lavander, A. L. 2003. Pruebas de adaptación de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) en la región de Cananea, Sonora. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Santa Ana, Sonora. 42 p.
- Lazarides, M. 1980. The grass genus *Leptochloa* Beauv. (Poaceae, Eragrostoideae) in Australia and Papua New Guinea. *Brunonia*. 3: 247-269.
- León, J. 1968. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. IICA. San José, Costa Rica. 477 p.
- Lesur, L. 2010. Manual de pasturas. Ed. Trillas. México, D.F. 88 p.
- MacNeill, J. 1979. *Diplachne* and *Leptochloa* (Poaceae) in North America. *Brittonia*. 31: 399-404.
- Mansoor, U., H. Mansoor, A. Wahid, and A. R. Rao. 2002. Ecotypic variability for drought resistance in *Cenchrus ciliaris* L. germplasm from Cholistan Desert in Pakistan. *Int. J. Agric. Biol.* 4: 392-397.
- Marshall, V. M., M. M. Lewis, and B. Ostendorf. 2011. Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris*) as an invader and threat to biodiversity in arid environments: A review. *Journal of Arid Environments*. 78: 1-12.
- Martín, M. H., y F. A. Ibarra. 1995. Productividad y calidad forrajera. Guía practica para el establecimiento, manejo y utilización del zacate Buffel. PATROCIPEs. Hermosillo, Sonora. Mex. 36 p.
- McVaugh, R. 1983. Graminae *In*: W. R. Anderson (editor), *Flora Novo-Galiciana*. Vol. 14. University of Michigan Press, Ann. Arbor. pp: 1-223.
- Mejía, M. T. S., y P. A. Dávila. 1992. Gramíneas útiles de México. Instituto de Biología UNAM. México, D. F. 293 p.
- Meléndez, N. F., M. J. A. González y P. J. Pérez. 1980. El pasto Estrella africana. H. Cárdenas, Tabasco, México. Col. Superior de Agricultura Tropical. 99 p.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, G. A. Hernández, P. J. Pérez y S. S. González. 2006. Evaluación de la diversidad del pasto nativo *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante marcadores de AFLP. *Agrociencia*. 40: 711-720.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, y C. H. A. Avendaño. 2007. Caracterización de la diversidad nativa del zacate Banderita *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante su nivel de ploidía. *Téc. Pecu. Méx.* 45: 263-278.

- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, P. J. Pérez, G. A. Hernández, y O. Le Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia*. 42: 767-775.
- Morales, N. C. R., P. L. Madrid, C. A. Melgoza, S. M. Martínez, G. S. Arevalo, C. Q. Rascón, y G. P. Jurado. 2009. Análisis morfológico de la diversidad del pasto Navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. *Téc. Pecu. Méx.* 47: 245-256.
- Mutz, J. L., and E. L. Drawe. 1983. Clipping frequency and fertilization influence herbage yields and crude protein content of four grasses in south Texas. *J. Range Manag.* 36: 582-585.
- Nidikudama, J., and P. N. De Leeuw. 1998. Experiencia regional con *Brachiaria*: África del Sur del Sáhara. *In: Brachiaria: Biología, agronomía y mejoramiento*. Ed. J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. Do Valle, colaboración de V. Kumble, CIAT, Cali, Colombia, y EMBRAPA/CNPGC, Campo Grande, Brasil. 312 p.
- Nicora, E. G. 1995. Los géneros *Diplachne* y *Leptochloa* (Gramineae, Eragrosteae) de Argentina y países limítrofes. *Darwiniana*. 33: 233-256
- Ortegón, P. A., y K. Sathyanarayanaiah. 1985. Evaluación de colecciones nativas de zacatón Alcalino (*Sporobolus airoides* Torr.) en la formación de variedades bajo sequía. *Agraria*. 1: 107-121.
- Pagliarini, M. S., e M. T. Pozzobon. 2004. Meiose vegetal: um enfoque a para caracterização de germoplasma. *In: Curso de citogenética a recursos genéticos vegetais*. EMBRAPA. Brasil. pp: 24-41.
- Parsons, J. J. 1972. Spread of African pastures grasses to the American tropics. *J. Range Manage.* 25: 12-17.
- Peñaloza, J. G., P. M. Peterson, y D. C. Gilardo. 2002. Los géneros *Eragrostis* y *Leptochloa* (Poaceae: Cynodonteae) en Colombia. *Hickenia* 3. 35: 133-141.
- Peterson, P. M., R. J. Soreng, G. Davidse, T. S. Filgueiras, F. O. Zuloaga, and E. J. Judziewicz. 2001. Catalogue of New World grasses (Poaceae): II. Subfamily Chloridoideae. *Contr. U.S. Natl. Herb.* 41: 1-255.
- Peterson, P. M., J. T. Columbus, and S. J. Pennington. 2007. Classification and biogeography of New World grasses: Chloridoideae. *Aliso*. 23: 580-59.
- Phillips, S. M. 1982. A numerical analysis of the Eragrostideae (Gramineae). *Kew Bull.* 37: 133-162.

- Phillips, S. M. 1995. Poaceae (Gramineae). *In*: Flora of Ethiopia and Eritrea. Volume 7. Hedberg & S. Edwards (Editors). The National Herbarium Addis Ababa, University, Ethiopia. pp: 1-420.
- Pitman, W. 1980. Relationships between seasonal forage quality patterns and structural carbohydrates of warm-season grasses and enviromental factors. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 97 p.
- Pohl, R. W., y G. Davidse. 1994. *Leptochloa*. *In*: G. Davidse, M. Sousa S&A. O. Chater (eds.). Flora Mesoamericana. Vol. 6. Alismataceae a Cyperaceae. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. México, D. F. pp: 335-352.
- Polk, D. B., C. J. Scifres, and J. L. Mutz. 1976. Establishment, production, and protein content of four grasses in South Texas. *J. Range Manage.* 29: 240-244.
- Pozzobon, M. T., M. T. Schifino-Wittmann, and L. B. Bianchetti. 2006. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species do: $x=12$ and $x=13$ represent two evolutionary lines?. *Botanical J. the Linnean Society of London.* 151: 259-269.
- Pyke, D. A. 1990. Comparative demography of co-occurring introduced and native tussock grass: persistence and potential expansion. *Oecologia.* 82: 537-543.
- Quero, C. A. R., Q. J. F. Enríquez, y J. L. Miranda. 2007. Evaluación de especies forrajeras en América Tropical, avances o *status quo*. *Interciencia.* 32: 566-571.
- Quero, C. A. R., G. A. Hernández, J. L. Miranda, P. J. Pérez, y H. M. Sánchez. 2010a. Recursos genéticos para el pastoreo extensivo. *In*: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales. Chiapas, México. pp: 94-98.
- Quero, C. A. R., J. F. Q. Enríquez, N. C. R. Morales, y L. J. Miranda. 2010b. Apomixis y su importancia en el mejoramiento en la selección y mejoramiento de las gramíneas tropicales. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 1: 25-41.
- Rabau, T., B. Longly, y B. P. Louant. 1986. Ontogenése des sacs embryonnaires non reduits chez *Eragrostis curvula*. *Can. J. Bot.* 14: 1778-1785.
- Ramirez, R. G., R. Foroughbackhch, L. A. Hauad, A. J. Alba, and C. G. C. Garcia. 2001. Seasonal variation of in situ digestibility of dry matter, crude protein and

cell wall of total plant, leaves and stems of Nueces Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.). J. Appl. Anim. Res. 20: 73-82.

Reeder, J. R. 1969. Las gramíneas dioicas de México. Bol. So. Bot. Méx. 30: 121-126.

Rodriguez, O., D. J. Gonzalez, J. P. Kraus, J. P. Wilson, and W. W. Hanna. 1999. First report and epidemics of Buffelgrass blight caused *Pyricularia grisea* in South Texas. Plant Disease. 84(4): 398.

Rzendowski, J. 2006. Vegetación de México. 1^{ra} Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México. 504 p.

Sánchez, A. M. 1976a. Influencia de la fertilización de N-P-K sobre la producción de semilla de cuatro zacates de crecimiento de verano, bajo condiciones de riego. Pastizales. 4: 17.

Sánchez, A. M. 1976b. Producción forrajera y calidad nutritiva, afectadas por la frecuencia y altura de corte en dos zacates introducidos y tres nativos. Pastizales. 4: 18.

Sawasato, J. T. 2007. Caracterização agronômica e molecular *Paspalum urvillei* Steudel. Dissertação Mestre em Zootecnia. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul. 205 p.

Schultze-Kraft, R. 1990. Caracterización y evaluación preliminar de germoplasma de las plantas forrajeras. In: Dialogo XXVIII. Introducción, conservación y evaluación de germoplasma forrajero. ICCA. Uruguay. pp: 316-319.

Schultze-Kraft, R., W. M. Williams, and J. M. Keoghan. 1993. Searching for new germoplasm for the year 2000 and beyond. In: Proceedings of the XVII International Grassland Congress, Palmerston North, New Zeland. pp: 8-21.

Sherwood, R. T., and D. L. Gustine. 1994. Modifying embryo sac development and strategies for cloning the apomixes gene from Buffelgrass. In: Apomixis: exploiting hybrid vigor in rice. International Rice Research Institute. Manila, Philippines. pp: 47-50.

Sherwood, R. T. 2001. Genetic analysis of apomixis. In: Savidan, Y., J. G. Carman, and T. Dresselhaus. 2001. The flowering of Apomixis: From mechanism to genetic engineering. México, D. F. Cimmyt, IRD, European Commission DG VI (FAIR). 243 p.

SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. Accesado el 14 de Enero de 2012.

- Simon, B. K., and T. D. Macfarlane. 1996. Ecological biogeography of Western Australian grasses. Gondwanan heritage: past, present and future of the Western Australian Biota (eds S. D. Hopper, J. A. Chappill, M. Harvey and A. S. George). Surrey Beatty & Sons, New South Wales, Australia. pp: 129-136.
- Snow, N. 1997. Phylogeny and systematics of *Leptochloa* P. Beauv. sensu lato (Poaceae: Chloridoideae). Ph. D. Dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri. 506 p.
- Snow, N., P. M. Peterson, and D. C. Giraldo. 2008. *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae) in Colombia. J. Bot. Res. Inst. Texas. 2: 86-874.
- Stace, C. A. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. Taxon. 49: 451-477.
- Sybenga, J. 1998. Forty years of cytogenetics in plant breeding: a personal view. In: Lelley, T. Ed. Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Tullen, Austria. Universitätsverlag. pp: 22-32.
- Torres, G. A. M. 1996. Un herbario de referencia para la colección de forrajes tropicales conservada por el Centro de Agricultura Tropical CIAT. Pasturas Tropicales. 18(3): 71-74.
- Van Devender, T. R., R. S. Felger, and A. Burquez. 1997. Exotic plants in the Sonoran Desert region, Arizona and Sonora. Symposium Proceedings, California Exotic Pest Plant Council. Disponible en: <http://www.caleppc.org/symposia/97symposium/VanDevender.PDF>. Consultado 24 de Marzo de 2010.
- Valdes, J., and I. Cabral. 1993. Chronology of Mexican Grasses. In: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (eds.). Biological Diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford University Press. Nueva York. EUA. pp: 439-446.
- Valdés, R. J., y A. P. D. Dávila. 1995. Clasificación de los géneros de gramíneas (Poaceae) mexicanas. Acta Botánica Mexicana. 33: 37-50.
- Valencia, C. M., M. J. M. Gutiérrez, P. E. Castellanos, G. G. Jiménez, y F. Arellano. 2010. El zacate Buffel en áreas naturales protegidas. In: Memoria del I Congreso Internacional de Manejo de Pastizales y II Simposio Internacional de Forrajes Tropicales, Chiapas, México. pp: 128-129.

- Valls, J. M. F. 1978. A biosystematic study of *Leptochloa* with special emphasis on *Leptochloa dubia* (Graminae:Chlorideae). Ph. D. Thesis. Texas A&M. Univ., College Station. Texas, EEUU. 205 p.
- Villamar, A. L. 2008. Situación del Sector Pecuario en México. En: Taller sobre captura y aprovechamiento de metano proveniente de residuos agropecuarios. Morelia, Michoacán. 25 p. Disponible en: http://www.globalmethane.org/documents/events_ag_20080423_luis_villamar_angulo.pdf. Accesado el 12 de Noviembre de 2011.
- Villaseñor, R. J. L., y F. J. Espinosa. 1998. Catálogo de malezas de México. UNAM. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 449 p.
- Villegas, D. G., M. A. Bolaños, y P. L. Olguín. 2001. La ganadería en México. 1.5.1. I. Textos monográficos: 5. Economía. Temas selectos de geografía de México. Instituto de Geografía. UNAM. 158 p.
- Watson, L., and M. Dallwitz. 1992. The grass genera of the World. Cab International. Cambridge, UK. 1063 p.
- Winger, C. L. J. 1984. Cytology and genetics of mode of reproduction in a facultatively apomitic accession of Buffelgrass. Ph. D. Thesis. Texas A&M. Univ., College Station. Texas, EEUU. 150 p.
- Woodward, W. T. W. 1980. Performance of Buffelgrass cultivars for South Texas Agricultural Experimental Station Bulletin MP-1460 Texas A&M University System College Station Texas. pp: 17-22.
- Young, B. A., R. T. Sherwood, and E. C. Bashaw. 1979. Cleared pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixes in grasses. Canadian Journal Botany. 57: 1668-1672.
- Zuluaga, F., O. Morrone, y M. J. Belgrano. 2008. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur: (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). Missouri Botanical Garden Press. Univ. Michigan. 3348 p.

CAPÍTULO III

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees NATIVAS DEL CENTRO Y NORTE DE MÉXICO

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, NATIVAS DEL CENTRO Y NORTE DE MÉXICO

2.1. Resumen

Los recursos forrajeros de México son abundantes, existen 1119 gramíneas nativas, de estas se han identificado 532 con potencial forrajero; sin embargo, en la mayoría permanece inexplorado su potencial agronómico. En las zonas semiáridas del noroeste de México existen varias especies de pastos nativos, que constituyen un recurso valioso para la alimentación del ganado y fauna silvestre, una de ellas es *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, que produce forraje de excelente calidad y posee buen potencial de producción de forraje en zonas con escasa precipitación. El objetivo de este estudio fue evaluar y caracterizar la diversidad morfológica de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* colectadas en 2009 en el centro y norte de México y evaluadas durante el verano de 2011. Con este propósito, se midieron 17 características cuantitativas durante la etapa de floración. Los datos se analizaron mediante la prueba de comparación de medias de Hotelling ($\alpha=0.05$) para datos multivariados, análisis de componentes principales (ACP) y conglomerados jerárquicos (CJ). La comparación de medias permitió comprobar la existencia de variabilidad en todas las variables, entre poblaciones y regiones, lo cual fue corroborado con el ACP, ya que el acumulado en los tres primeros componentes alcanzó 95%, el componente uno (CP1) explicó el 49%, CP2 el 36% y CP3 el 11% de la variación total. Las variables más importantes en CP1 fueron longitud de las ramas de la inflorescencia, número de espiguillas por rama y longitud de inflorescencia, para el CP2 fue rendimiento de forraje, materia seca de inflorescencia y materia seca de tallos. Al aplicar el análisis de CJ, se obtuvieron cuatro grupos contrastantes: G1 con (1) población, G2 con (12), G3 con (5) y G4 con (39) relacionados con su origen geográfico. La caracterización morfológica permitió comprobar que existe enorme variación entre el germoplasma evaluado, con amplio potencial para ser utilizada en programas de selección y mejoramiento.

Palabras clave: *Leptochloa dubia*, caracterización morfológica, componentes principales.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF GREEN SPRANGLETOP [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], POPULATIONS NATIVE TO CENTRAL AND NORTHERN MEXICO

2.2. Abstract

Foraging plant resources are abundant in Mexico, there exist 1119 native gramineae, from which, 532 have been identified as potential for foraging; nevertheless, most remain unexplored as far as their agronomical potential is concerned. In the semi-arid zones of north-west Mexico, there are several species of native grasses that constitute a valuable resource for feeding livestock and wildlife. One of these species is Green sprangletop [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], which produces excellent quality forage and has good production potential as forage in zones with scarce rainfall. The objective of this study was to evaluate and characterize the morphological diversity of 57 populations of *Leptochloa dubia* collected during 2009 within central and northern Mexico, and evaluated during the Summer of 2011. With this objective in mind, 17 quantitative characteristics were measured during flowering. Data were analyzed through the Hotelling ($\alpha=0.05$) comparison of means for multivariate data, principal components (PCA), and hierarchical components (CJ) tests. The comparison of means allowed to prove the existence of a great variability for all variables, among populations and regions. This was corroborated by PCA, since the accumulated in the first three components reached 95%; component one (CP1) accounted for 49%, CP2 for 36%, and CP3 for 11% of the total variation. The most important variables in CP1 were length of inflorescence stems, number of spikelets per stem, and length of the inflorescence; for CP2, forage yield, dry matter of inflorescence and dry matter of stems. When applying the CJ analysis, four contrasting groups were obtained: G1 with (1) population, G2 with (12), G3 with (5), and G4 with (39). The morphological characterization allowed to prove that there is a great variation in the evaluated germplasm, that has a great potential to be used in selection and improvement programs.

Key words: *Leptochloa dubia*, morphological characterization, principal components.

3.3. Introducción

México es un importante centro de origen y diversificación de gramíneas, existen 1182 especies con un total de 1278 taxas (especies con sus categorías infraespecíficas incluidas); de los cuales, 1119 son nativos y 159 introducidos (Dávila *et al.*, 2006), 630 especies con distribución restringida y 272 endémicas, siendo la tribu Eragrostoideae la que presenta mayor número de especies endémicas con 73 (Valdés y Cabral, 1993). Valdés y Dávila (1995), registraron 206 géneros (157 nativos y 49 introducidos), se estima que el 50% de los géneros nativos tienen potencial forrajero, aunque pocos de ellos son utilizados con este fin, pues son sustituidas por especies introducidas. Sin embargo, la mayor parte de las tierras de pastoreo, donde se ubica el centro de origen y distribución de estas especies, se encuentra en deterioro con suelos erosionados, poca cobertura vegetal y baja densidad de plantas. Lo anterior, provoca la pérdida de diversidad genética de muchas de estas especies, las cuales están ya adaptadas a suelos y condiciones ambientales particulares que ocurren en México y difícilmente, estas adaptaciones genéticas se encuentran en plantas introducidas: tolerancia a bajas temperaturas, escasa precipitación, alta alcalinidad, exceso de sales solubles, yeso y otras (Valdés y Cabral, 1993; Villegas *et al.*, 2001). El aprovechamiento de estas adaptaciones genéticas podrían ser utilizadas para desarrollar variedades superiores (Quero *et al.*, 2007).

Entre la diversidad de gramíneas existente en pastizales de zonas áridas y semiáridas de México, se han identificado algunas con excelente potencial forrajero: Gigante [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.], Navajita azul (*Bouteloua gracilis*), Tempranero (*Setaria macrostachya*), Toboso (*Hilaria mutica*), Zacatón Alcalino (*Sporobolus airoides*), pasto Lobero (*Lycurus pheloides*) y Punta blanca (*Digitaria californica*; Mejía y Dávila, 1992; Villegas *et al.*, 2001, Quero *et al.*, 2007). *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees posee buen potencial de producción de biomasa en zonas con escasa precipitación, alto contenido de proteína y excelente digestibilidad (Polk *et al.*, 1976; Pitman, 1980; Jaramillo, 1994).

Su distribución geográfica va desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina, se ha encontrado desde 100 hasta 2600 y en ocasiones hasta 3150 msnm en los Andes peruanos y bolivianos (Snow, 1997; Peñaloza *et al.*, 2002; Snow *et al.*, 2008). En México, se distribuye desde Chiapas hasta Baja California (COTECOCA, 1991; Villaseñor y Espinosa, 1998) El centro de origen de esta especie se ubica en el norte de México y sur de Estados Unidos (Mielke, 1993; Pohl y Davidse, 1994; Rodríguez, 2000), su distribución en diferentes ambientes en México hace suponer que existen diferencias genéticas y morfológicas específicas entre poblaciones, que pueden ser identificadas para la selección a producción y calidad de forraje, rendimiento de semilla y resistencia a condiciones adversas.

Para evaluar la diversidad del germoplasma de las plantas de interés agronómico, se pueden emplear descriptores morfológicos, citológicos, bioquímicos y moleculares; sin embargo, la caracterización morfológica es muy importante ya que se relaciona y complementa con otros descriptores, los cuales, si no se relacionan con caracteres morfológicos y agronómicos de las plantas no tienen mucho valor (Hillis y Moritz, 1990).

La caracterización morfológica se realiza mediante descriptores que determinan la variabilidad existente en la población disponible y es uno de los pasos iniciales y de menor costo para dimensionar la diversidad o potencial del germoplasma, para el empleo inmediato o futuro en programas de selección y mejoramiento en especies con interés agronómico (Franco e Hidalgo, 2003). Para que sea eficiente una colecta de germoplasma se debe efectuar en el centro de origen de la especie, que es donde se registra la mayor diversidad natural de la misma, ya que se encuentran todas las formas alélicas para todos los caracteres de la especie evaluada (Calvo *et al.*, 2000; Cubero, 2003).

La descripción morfológica de estructuras vegetativas, reproductivas y rasgos agronómicos clásicos han sido de gran utilidad para la caracterización y evaluación de recursos genéticos (Schultze-Kraft, 1990). Estos descriptores pueden ser definidos como atributos vegetales fácilmente cuantificables e

identificables, los cuales pueden ser altamente heredables, permiten rápida discriminación entre fenotipos, son fácilmente observables y se expresan en la misma forma en cualquier ambiente ó permiten evaluar características conferidas por herencia poligénica que son muy susceptibles a la influencia del ambiente: rendimiento y resistencia a enfermedades, de gran importancia en el mejoramiento del cultivo (Lowe *et al.*, 1996).

El uso de la descripción de características morfológicas o fenotípicas, se ha utilizado ampliamente en la selección de genotipos superiores y en la caracterización de diferentes especies forrajeras *Brachiaria* spp. (Do Valle, 1988), *Panicum maximum* (Costa *et al.*, 1989), *Paspalum* spp. (Steiner *et al.*, 1998), *Trifolium repens* (Bortiloni *et al.*, 2006), *Bouteloua curtipendula* (Morales *et al.*, 2008), *Bouteloua gracilis* (Morales *et al.*, 2009). Sin embargo, este tipo de caracterización no siempre refleja la variación genética real, debido a que el fenotipo está determinado parcialmente por la información genética del individuo, e influenciado por el ambiente donde se desarrolla (Valadez *et al.*, 2001). El objetivo fue evaluar y caracterizar la diversidad morfológica de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees colectadas en el centro y norte de México, mediante descriptores morfológicos.

3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. Material vegetativo

Se colectó semilla de 57 poblaciones nativas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees de seis regiones geográficas diferentes (Morrone, 2005), en nueve estados de la república mexicana (Cuadro 3.1; Fig. 3.1), en el área de distribución natural de la especie: Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas, entre los paralelos (19° a 28° N) y 1500 a 2435 msnm; en cada sitio, se colectó semilla de siete plantas diferentes y estas fueron consideradas como una población. La siembra se realizó el dos de agosto de 2010, en charolas de germinación de 200 cavidades llenas con “peat moss”

como medio de crecimiento. Se trasplantaron siete plantas diferentes (una por maceta) por población el 31 de agosto, en macetas de plástico de 18 L de capacidad, utilizando como sustrato tierra común, estas se acomodaron en hileras con una separación de 60 cm y 30 cm entre macetas, en la época de sequía se regaron dos veces a la semana hasta el inicio de la temporada de lluvias del 2011.

3.4.2. Descriptores morfológicos

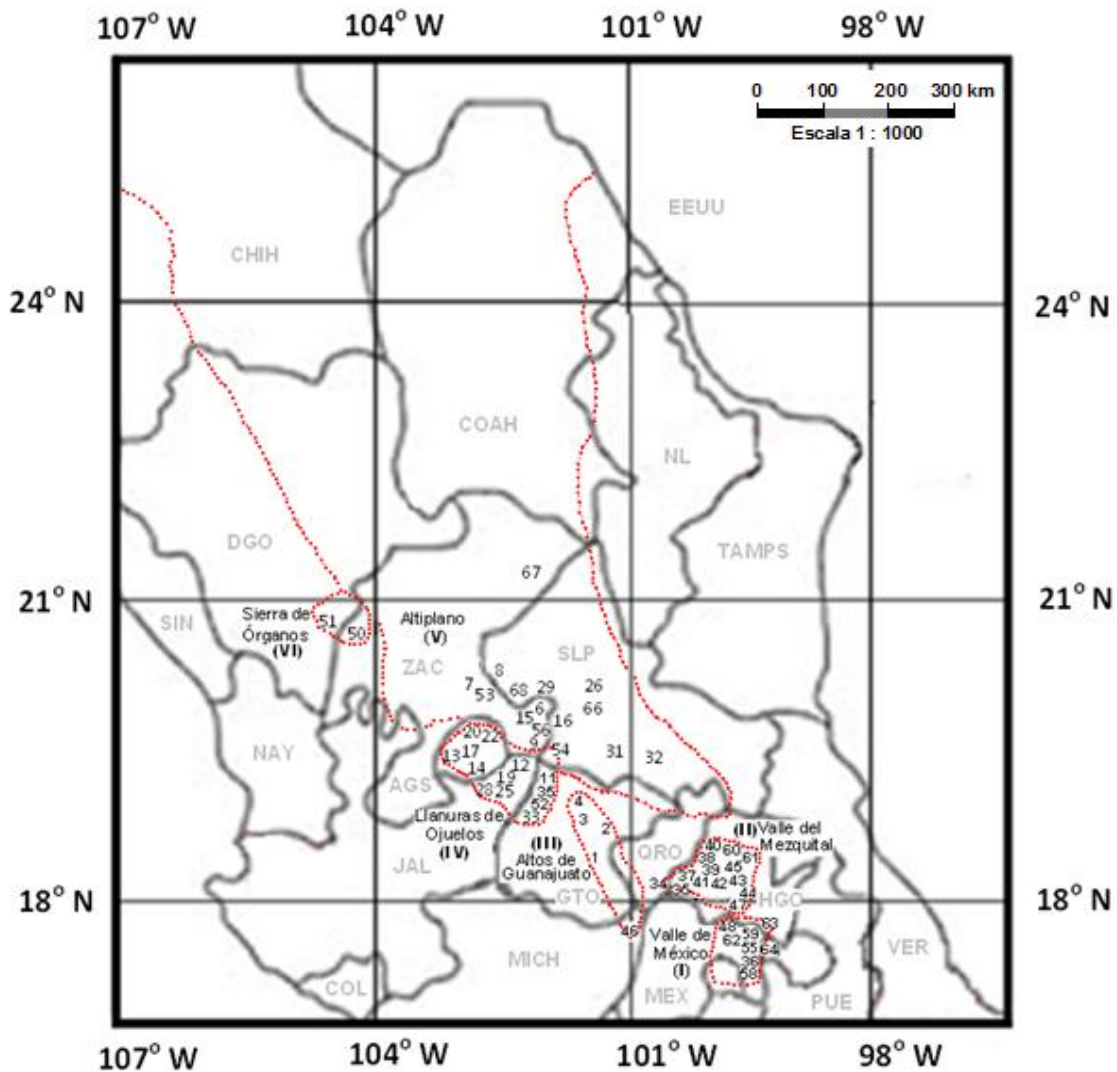
Las mediciones fueron realizadas a 57 poblaciones utilizando siete plantas por población. La evaluación morfológica se realizó cuando las plantas llegaron a su fase reproductiva, se realizó utilizando 17 descriptores (Cuadro 3.2), que son utilizadas por la mayoría de autores para la descripción morfológica; de caracteres cuantitativos ligados a la morfología vegetativa y reproductiva (Wouw *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2008). El experimento fue realizado en el Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, Texcoco, Edo. de México, del 24 junio al 5 de agosto del 2011, durante este periodo la precipitación acumulada fue 230 mm, temperatura mínima 16.6 °C y máxima de 23.1 °C. El forraje se cosechó de la planta completa, 42 días después de un corte de homogenización para evaluar su rendimiento. Las muestras se separaron en hojas, tallos, inflorescencias y se secaron 72 h en una estufa de flujo de aire a 70 °C para medir el rendimiento de materia seca de hojas, tallos, inflorescencias y total.

Cuadro 3.1. Poblaciones evaluadas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, estado donde se colectó, ubicación del sitio de colecta, altitud y región geográfica a la que pertenecen.

Pob.	Edo	Norte	Oeste	msnm	Reg	Pob	Edo	Norte	Oeste	msnm	Reg
1	Gto	20° 51' 04"	100°30' 38"	2161	III	37	Hgo	20° 22' 14"	99° 39' 53"	2116	II
2	Gto	21° 17' 11"	100° 35' 09"	1983	III	38	Hgo	20° 25' 25"	99° 35' 48"	2126	II
3	Gto	21° 10' 55"	100° 52' 37"	1950	III	39	Hgo	20° 25' 42"	99° 31' 17"	2341	II
4	Gto	21° 42' 06"	101° 30' 03"	2280	III	40	Hgo	20° 29' 58"	99° 18' 29"	1799	II
6	Zac	22° 18' 35"	101° 35' 53"	2451	V	41	Hgo	20° 17' 15"	99° 41' 46"	2245	II
7	Zac	22° 40' 51"	102° 06' 24"	2133	V	42	Hgo	20° 14' 18"	99° 34' 06"	2435	II
8	Zac	22° 40' 07"	102° 02' 28"	2032	V	43	Hgo	20° 13' 28"	98° 28' 27"	2214	II
9	Zac	22° 35' 41"	102° 04' 99"	2044	V	44	Hgo	20° 12' 30"	99° 24' 00"	2122	II
11	Gto	21° 15' 39"	100° 41' 35"	2003	IV	45	Hgo	20° 16' 44"	99° 24' 37"	2158	II
12	Jal	21° 50' 41"	101° 35' 40"	2230	IV	46	Mich	20° 07' 04"	100°14' 16"	2415	III
13	Ags	22° 13' 30"	102° 27' 28"	1932	IV	47	Hgo	20° 10' 02"	99° 22' 01"	2012	II
14	Ags	21° 58' 02"	101° 42' 50"	2122	IV	48	Méx	19° 43' 07"	98° 45' 28"	2346	I
15	Zac	22° 19' 01"	101° 39' 53"	2266	IV	50	Zac	23° 45' 13"	103° 50' 33"	2145	VI
16	Zac	22° 14' 48"	101° 36' 06"	2311	IV	51	Dgo	23° 44' 47"	103° 58' 25"	1942	VI
17	Ags	22° 13' 25"	102° 11' 01"	2064	IV	53	Zac	22° 31' 33"	101° 55' 18"	2167	V
19	Jal	22° 00' 32"	101° 48' 10"	2143	IV	54	SLP	21° 53' 40"	101° 21' 18"	2185	IV
20	Ags	21° 56' 21"	101° 58' 35"	2021	IV	55	Méx	19° 29' 11"	98° 52' 57"	2250	I
22	Ags	22° 05' 21"	102° 03' 22"	2018	IV	56	Zac	22° 04' 36"	101° 33'56"	2169	IV
24	Zac	22° 21' 51"	101° 43' 46"	2139	V	58	Méx	19° 24' 55"	98° 53' 35"	2254	I
25	Jal	21° 59' 15"	101° 45' 12"	2168	IV	59	Méx	19° 30' 54"	98° 50' 16"	2322	I
26	SLP	22° 22' 48"	101° 09' 56"	1840	V	60	Hgo	20° 28' 19"	99°19' 49"	1830	II
28	Jal	22° 02' 30"	101° 56' 03"	2056	VI	61	Hgo	20° 25' 35"	99° 20' 04"	1919	II
29	SLP	22° 23' 53"	101° 35' 44"	2272	V	62	Méx	19° 42' 52"	98° 48' 56"	2307	I
31	SLP	21° 48' 36"	101° 06' 15"	1956	V	63	Hgo	19° 53' 10"	98° 38' 01"	2533	I
32	SLP	21° 48' 33"	100° 57' 48"	1828	V	64	Méx	19° 33' 13"	98° 44' 15"	2703	I
33	Gto	21° 39' 58"	101° 34' 53"	2142	VI	66	SLP	22° 18' 53"	101° 09' 54"	1891	V
34	Qro	20° 19' 39"	99° 59' 57"	2152	II	67	Zac	24° 09' 13"	101° 29' 32"	1891	V
35	Hgo	20° 17' 16"	99° 47' 06"	2244	II	68	SLP	22° 37' 37"	101° 42' 41"	2077	V
36	Méx	19° 29' 10"	98° 92' 56"	2262	I						

Regiones: I Valle de México; II Valle del Mezquital; III Altos de Guanajuato; IV Llanuras de Ojuelos; V Altiplano; VI Sierra de Órganos. Estados de México: Ags= Aguascalientes, Dgo= Durango, Gto= Guanajuato, Hgo= Hidalgo, Jal= Jalisco, Méx= Estado de México, Mich= Michoacán, Qro= Querétaro, SLP= San Luis Potosí, Zac= Zacatecas.

Figura 3.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de 57 poblaciones, de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees y regiones donde se ubica cada población.



Estados de México: AGS Aguascalientes, COL Colima, CHIH Chihuahua, COAH Coahuila, DGO Durango, GTO Guanajuato, HGO Hidalgo, JAL Jalisco, MEX Estado de México, MICH Michoacán, NAY Nayarit, NL Nuevo León, PUE Puebla, QRO Querétaro, SLP San Luis Potosí, SIN Sinaloa, TAMPS Tamaulipas, VER Veracruz, ZAC Zacatecas.

Cuadro 3.2. Descriptores morfológicos utilizados para caracterizar 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

Código	Descriptor
AP	Altura de planta (cm)
DT	Densidad de tallos m ²
DTB	Diámetro de tallo (base) (mm)
DTM	Diámetro de tallo (medio) (mm)
ALH	Ancho de lámina de hoja central (mm)
LLH	Longitud de lámina de la hoja central (mm)
LI	Longitud de inflorescencia (mm)
LRI	Longitud del raquis de la inflorescencia (mm)
NRI	Número de ramas por inflorescencia
NER	Número de espiguillas por rama
LRI	Longitud de las ramas de la inflorescencia (mm)
LP	Longitud del pedicelo (mm)
MSH	Materia seca de hojas (g m ⁻²)
MST	Materia seca de tallos (g m ⁻²)
MSI	Materia seca de inflorescencia (g m ⁻²)
RF	Rendimiento de forraje (g MS m ⁻²)
RHT	Relación hoja:tallo

3.4.3. Análisis multivariado

Se realizó un Análisis de Varianza Multivariado y prueba de Hotelling ($\alpha=0.05$) para comparación de medias en datos multivariados, se utilizó el Análisis de Componentes Principales para determinar atributos relevantes a los genotipos, calculándose los autovalores, autovectores y coeficiente de determinación (R^2) de las variables en cada componente principal. Para visualizar el agrupamiento de los genotipos y variables, se realizó la representación biplot, en base a dos componentes principales y Análisis de Conglomerados Jerárquicos, con el fin de clasificar y agrupar los genotipos en base a similitud de acuerdo a las regiones de origen. Los datos se analizaron con el programa estadístico (InfoStat, 2008).

3.5. Resultados y Discusión

3.5.1. Comparación de medias para datos multivariados

El análisis de varianza multivariado mostró que existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre regiones; la comparación de medias de Hotelling ($\alpha = 0.05$) reveló que la región Llanuras de Ojuelos (IV) es la que presentó en general valores menores de todas las variables evaluadas; mientras que, en la región Altos de Guanajuato (III) se presentaron valores mayores, mostrando que existe alta variación entre cada una de las variables (Cuadro 3.3). Las poblaciones de la región Valle del Mezquital fueron las más altas en promedio con 98 cm, mientras que las poblaciones del Altiplano fueron las que presentaron menor altura con 83 cm en promedio. La densidad promedio de tallos m^{-2} fue de 1934, la menor de 1407 de las poblaciones de la Sierra de Órganos y la mayor de 2201 tallos m^{-2} para las poblaciones del Altiplano. Para rendimiento de forraje, las poblaciones colectadas en la región Altos de Guanajuato y Valle del Mezquital fueron las que presentaron mayor rendimiento de forraje, con 252 y 224 g MS m^{-2} , respectivamente y las poblaciones colectadas en Sierra de Órganos fueron las que presentaron menor rendimiento de forraje con 180 g MS m^{-2} . La mayor relación hoja:tallo fue de 0.69, y se presentó en las poblaciones de las regiones Valle de México, Mezquital, Altiplano y la menor fue para la región Sierra de Órganos con 0.39. Esto coincide con Assefa *et al.* (2001), quienes evaluaron la diversidad morfológica de 36 poblaciones nativas de *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter, colectadas en seis regiones de Etiopia, el análisis de varianza mostró gran variación dentro y entre regiones ($P < 0.05$), en 14 variables morfológicas cuantitativas evaluadas; con diferencias ($P < 0.01$), en producción de biomasa por planta y rendimiento de semilla, variando de 6 g MS a 1.29 g/semilla/planta en poblaciones de Gojam, hasta 438.79 g/MS y 95.18 g/semilla/planta, en poblaciones de la región de Rift Valley. Por su parte, Ram *et al.* (2004) evaluaron fenotípicamente y genotípicamente el polimorfismo de 37 accesiones de pasto Salado (*Distichlis spicata*) colectados en sitios distantes del continente americano, encontraron gran variación a pesar de su reproducción clonal; la dioecia, ha contribuido en la variación dentro y entre regiones de Norteamérica y Sudamérica, así como poblaciones de la costa, con

poblaciones colectadas en el desierto. García *et al.* (2007), exploraron la variabilidad morfológica y molecular de ocho poblaciones nativas de *Paspalum dilatatum* Poir en la región de las Pampas Argentinas. Estos autores, evaluaron 10 variables morfológicas y encontraron diferencias ($P < 0.01$) entre regiones para longitud de planta, longitud y ancho de hoja bandera, longitud de segunda hoja, longitud del raquis de inflorescencia, número de espigas por panoja y porcentaje de espiguillas con cariósido.

Cuadro 3.3. Comparación de medias [Hotelling ($\alpha = 0.05$)] para datos multivariados, media y coeficiente de variación de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas en donde fueron colectadas.

Variables	Regiones						Media	CV
	I	II	III	IV	V	VI		
Altura de plantas (cm)	91	98	92	86	83	91	90	8.9
Densidad de tallos m^{-2}	1832	2051	1970	2146	2201	1407	1934	18.2
Diámetro de tallo en la base (mm)	2.6	2.4	2.9	2.5	2.2	2.6	2.5	16.5
Diámetro de tallo en parte media (mm)	2.1	1.9	2.4	1.9	1.6	2.1	2	20.3
Ancho de lámina de hoja central (cm)	6.1	5.3	5.3	5.1	4.8	5.3	5.3	12.5
Longitud lámina de hoja central (cm)	17.6	18.2	15.8	17.2	17.6	16.4	17	16.5
Longitud de inflorescencia (cm)	13	13	14	12	14	16	14	16.5
Longitud raquis de inflorescencia (cm)	37	36	38	32	31	44	36	14.2
Ramas por inflorescencia	6.8	7.1	7.1	7.1	6.3	9.9	7.3	16.2
Número de espiguillas por rama	14	14	16	13	15	22	16	15.4
Longitud ramas de inflorescencia (cm)	6.7	6	6.4	5.6	5.5	8.6	6.5	17.1
Longitud del pedicelo (mm)	2.9	3	2.7	2	2.1	2	2.5	19.8
MS de hojas $g MS m^{-2}$	83	85	80	73	70	48	73	17.7
MS de tallos $g MS m^{-2}$	121	127	153	111	104	127	125	19
MS de inflorescencia $g MS m^{-2}$	13	12	18	12	9.7	6.1	12	43
Rendimiento de forraje $g MS m^{-2}$	217	224	252	205	184	180	210	16.4
Relación hoja:tallo	0.69	0.69	0.53	0.62	0.69	0.39	0.6	21.5
Significancia ($P < 0.05$)	D	E	F	A	B	C		

Regiones: I Valle de México; II Valle del Mezquital; III Altos de Guanajuato; IV Llanuras de Ojuelos; V Altiplano; VI Sierra de Órganos. A, B, C, D, E; Promedios con distinta literal entre columnas son diferentes ($P < 0.05$). CV= Coeficiente de Variación.

3.5.2. Análisis de componentes principales (ACP)

Cinco componentes principales explicaron 100% de la varianza total (Cuadro 3.4); el primer componente principal (CP1) es el más importante, su autovalor fue 8.26, explicó 49% de la varianza total; el segundo componente principal (CP2) con un autovalor de 6.13, explicó 36%; tercer componente (CP3) tuvo un autovalor de 1.8, solo estos tres primeros componentes se consideraron para el análisis, dado que los autovalores fueron superiores a uno. La varianza que contiene cada CP resultante, es explicada por autovectores de cada variable (Rencher, 2002).

Cuadro 3.4. Componentes principales resultantes de la matriz de correlación de 17 variables morfológicas de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.

Componentes principales	Valor	Diferencia	Proporción	Acumulada
1	8.26	2.13	0.49	0.49
2	6.13	4.33	0.36	0.85
3	1.80	1.36	0.11	0.95
4	0.44	0.06	0.03	0.98
5	0.38	0.38	0.02	1.00

El Componente Principal (CP1) y Componente Principal (CP2) en su conjunto explicaron el 85% de la varianza total. Las variables más importantes del CP1 fueron las relacionadas con inflorescencia, entre las que se encuentran longitud del raquis, de inflorescencia, número de ramas por inflorescencia, número de espiguillas por rama, longitud de inflorescencia, longitud de ramas de inflorescencia y densidad de tallos. Para CP2 las variables más importantes fueron aquellas relacionadas con producción de forraje; entre ellas, altura de planta, diámetro basal y parte media de tallo, ancho de lámina de hoja central, materia seca de tallos, MS de inflorescencias y rendimiento de forraje (Cuadro 3.5). Morris (2009), encontró algo similar al realizar análisis de componentes principales a 19 accesiones de *Clitoria ternatea* L., para ocho características morfológicas y fenológicas, encontró que los primeros cuatro componentes explican el 91.1% de la variación total; para el primer componente las variables que más contribuyeron

fueron ramificación y días a inicio de floración; para el segundo las variables más importantes fueron número y peso de semillas y para el tercer componente, días a floración y días a 50% de madurez. Mientras que Morales *et al.* (2012), caracterizaron la diversidad fenotípica y molecular de 91 ecotipos de pasto Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henr.] colectados en Chihuahua, encontraron que las variables que aportaron mayor variación en el CP1 fueron las relacionadas con producción de MS; para el CP2, ancho de hoja y diámetro de tallo.

Cuadro 3.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su componente principal, de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

Variables	CP1	CP2
Altura de plantas	0.22	0.31
Densidad de tallos	-0.33	0.01
Diámetro de tallo en la base	0.18	0.33
Diámetro de tallo en la parte media	0.19	0.33
Ancho de la lámina de la hoja central	0.05	0.25
Longitud de la lámina de la hoja central	-0.24	-0.14
Longitud de inflorescencia	0.27	-0.18
Longitud del raquis de inflorescencia	0.32	0.07
Número de ramas por inflorescencia	0.32	-0.09
Número de espiguillas por rama	0.33	-0.13
Longitud de las ramas de la inflorescencia	0.33	-0.33
Longitud del pedicelo	-0.10	0.30
Materia seca de hojas	-0.26	0.26
Materia seca de tallos	0.14	0.33
Materia seca de inflorescencia	-0.13	0.36
Rendimiento de forraje	-0.07	0.39
Relación hoja:tallo	-0.33	0.02

Se correlacionaron longitud de inflorescencia, número de espiguillas por rama, ramas por inflorescencia, longitud de ramas de la inflorescencia con longitud del raquis de inflorescencia; a su vez, éstas características se relacionan con poblaciones colectadas en Sierra de Órganos (Fig. 3.2). La altura de planta se correlacionó positivamente con diámetro basal y medio de tallo, MS de tallo y ancho de lámina de hoja central y estas características se relacionan con las

poblaciones colectadas en Altos de Guanajuato. El rendimiento de forraje se correlacionó positivamente con MS de inflorescencia, longitud del pedicelo, MS de hoja y estas características se relacionan con las poblaciones colectadas en el Valle de México. La relación hoja:tallo se correlacionó positivamente con densidad de tallos y MS de hoja, las poblaciones colectadas en el Valle del Mezquital son las que se relacionaron con estas características. Las poblaciones colectadas en las Llanuras de Ojuelos se asocian a las variables densidad de tallos, longitud de lámina de hoja central y relación hoja:tallo. Las poblaciones del Altiplano se asocian a longitud de lámina de hoja central. Oliveira y López (1999), caracterizaron agro-morfológica e isoenzimáticamente diez poblaciones españolas de Ballico anual (*Lolium rigidum* Gaud.), encontraron que éstas mostraron alta variación para caracteres morfológicos y alta correlación positiva entre fecha de espigado, longitud de hoja bandera con producción de materia seca del segundo corte y se correlacionaron negativamente con altura de floración y longitud de espigas. Cavagnaro *et al.* (2006), evaluaron 20 accesiones colectadas en la región semiárida de Argentina, de la gramínea forrajera *Trichloris crinita* en tres regiones de Argentina (Catamarca, La Rioja y Mendoza) en base a 15 caracteres morfológicos, encontraron que las variables altura de culmo, altura del follaje, diámetro basal y número de culmos se correlacionaron positivamente con producción de biomasa, con valores de r superiores a 0.70.

3.5.2. Análisis de conglomerados jerárquicos

Para el análisis de Conglomerados Jerárquicos (Fig. 3.3) se seleccionó con las distancias Mahalanovis por tener la correlación cofenética más alta ($R^2= 0.973$; Di Rienzo *et al.*, 2008), los grupos están integrados por seis regiones geográficas en donde fueron colectadas las poblaciones: el grupo uno, se formó por las dos poblaciones provenientes de la Sierra de Órganos, fue el más alejado de todos; ésto, debido a que su origen geográfico es el más distante de todos, se encuentra en los límites de los estados de Zacatecas y Durango, se caracterizaron por presentar inflorescencias de mayor tamaño y bajo rendimiento de forraje (180 g MS m⁻²) en comparación con las regiones I, II, III, IV, V que tuvieron un rango de

184 a 252 g MS m⁻². El grupo dos, formado por poblaciones colectadas en las Llanuras de Ojuelos y Altiplano, se caracterizaron por presentar la menor altura de planta: 84.5 cm, la mayor densidad de tallos: 2170 tallos m⁻² y producción media de forraje: 194 g MS m⁻² y el grupo tres, integrado por poblaciones del Valle de México, Valle del Mezquital y Altos de Guanajuato, son las poblaciones que presentaron mayor altura de planta (94 cm), densidad de tallos (1951 tallos m⁻²) y mayor producción de forraje (231 g MS m⁻², en promedio). Esto es similar a lo encontrado por Enríquez *et al.* (2006), quienes reportaron importante variación morfológica entre poblaciones *Hymenachne amplexicaulis* (Rudge) Nees, colectadas en la costa del Golfo de México, las cuales fueron de mayor tamaño y más vigorosas en comparación con poblaciones colectadas en la costa del Océano Pacífico, de menor tamaño y vigor. Ribero (2009), evaluó la diversidad morfológica de 97 ecotipos de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees en el estado de Chihuahua, se formaron 5 grupos principales, las variables de mayor peso, en la formación de estos grupos fueron rendimiento de forraje, altura de forraje y altura de planta, el grupo uno se integró por 13 ecotipos provenientes principalmente de Rivera Palacios, Aldama, Valle de Zaragoza, Ojinaga, Casas Grandes y Guerrero, grupo dos por 12 ecotipos provenientes de Riva Palacios, Namiquipa, Parral, Bachínova, Guerrero, Chihuahua y Allende, grupo tres 18 ecotipos recolectados en Satevó, Chihuahua, Ojinaga, Camargo, Janos y Parral, grupo cuatro 38 ecotipos originarios de Ahumada, Satevó, Chihuahua, Namiquipa, Janos y Ojinaga, y grupo cinco 16 ecotipos provenientes de Satevó, Chihuahua, Janos, Namiquipa, Buenaventura, Rosales, Ojinaga y Parral, sin embargo no se observó una tendencia de agrupamiento por municipios en donde se colectó el material.

Figura 3.2. Distribución espacial de 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, colectadas en seis regiones geográficas (puntos azules), 17 variables morfológicas evaluadas (puntos amarillos), elaborado en base a los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).

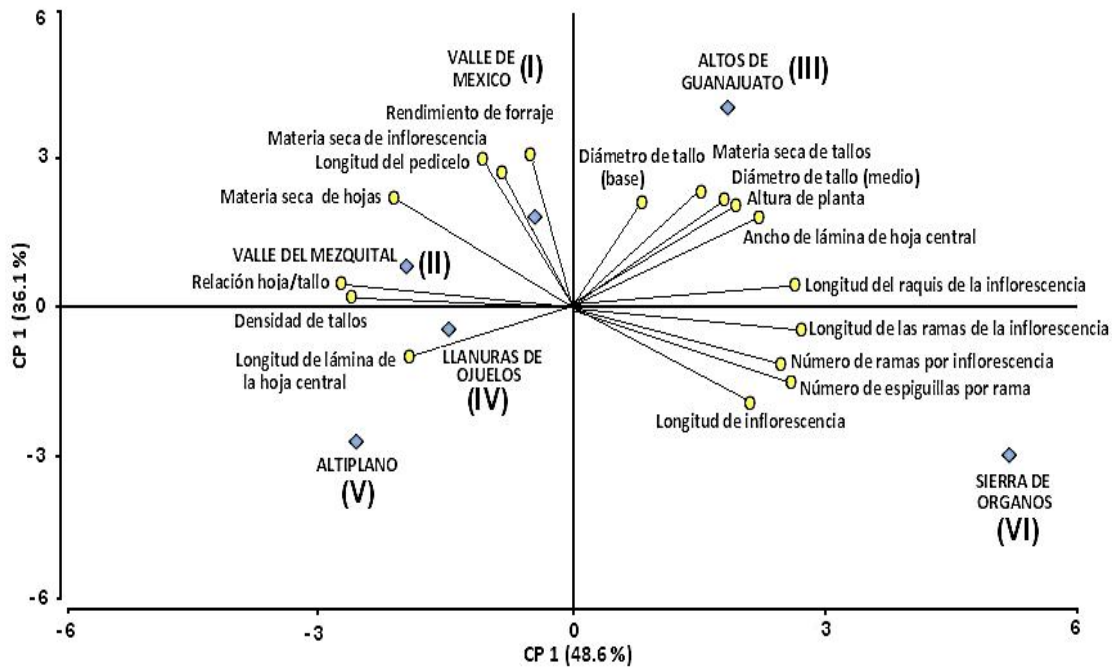
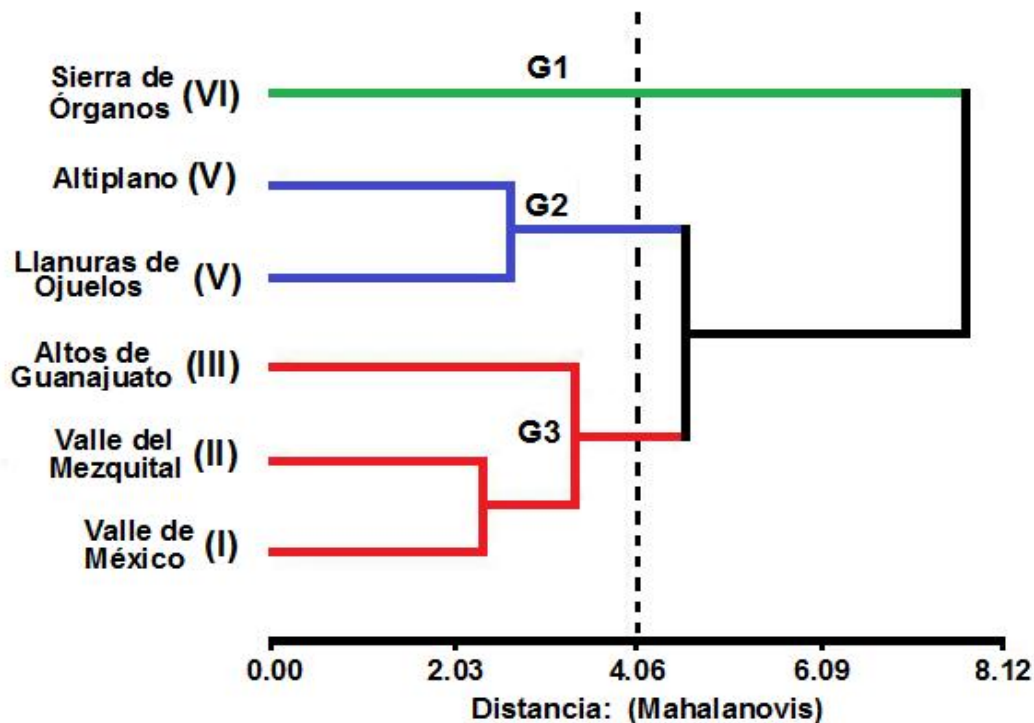


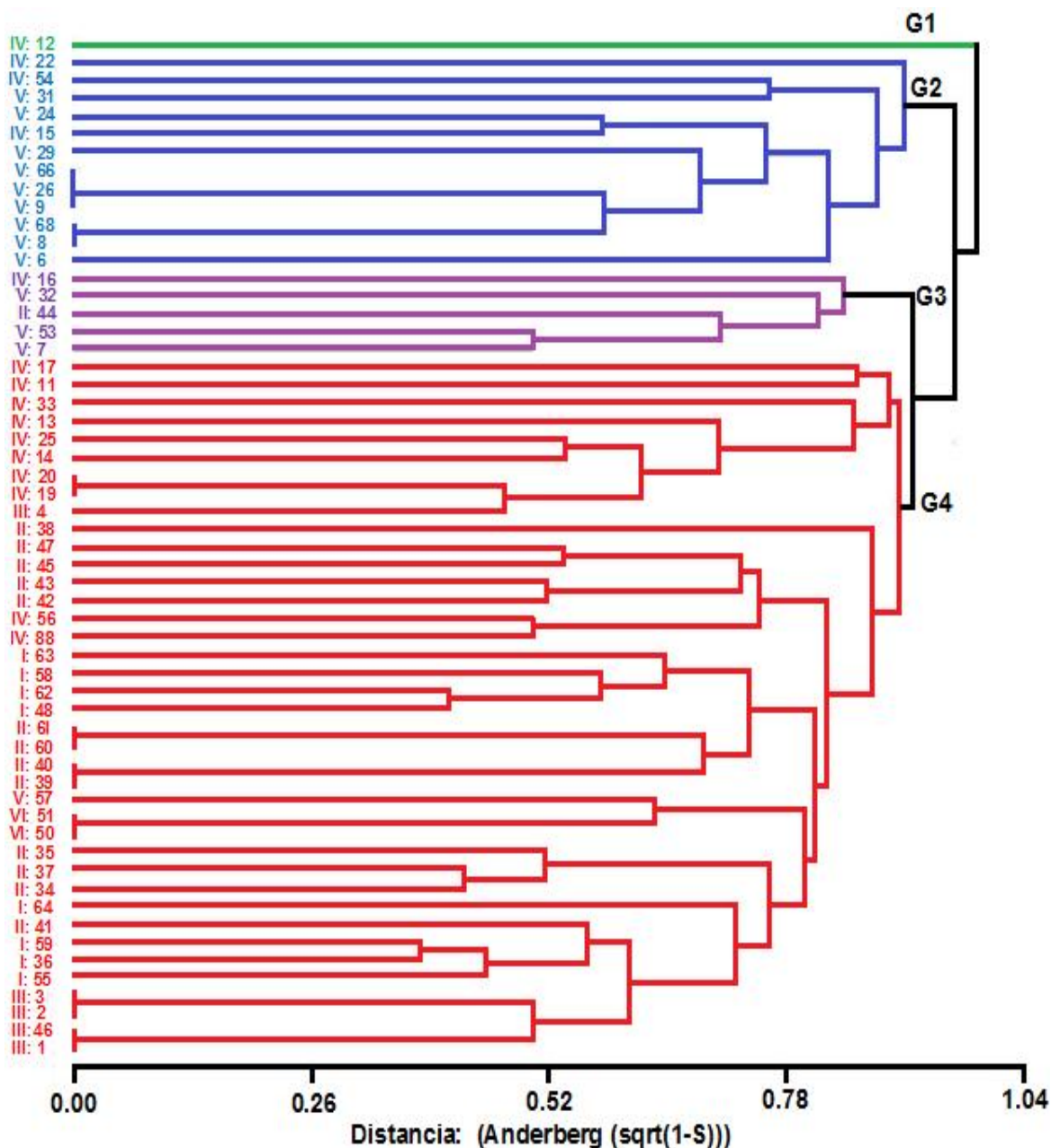
Figura 3.3. Análisis de Conglomerados Jerárquicos resultante del análisis de atributos morfológicos, para 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, agrupados por región geográfica de origen.



Para el análisis de Conglomerados Jerárquicos (Fig. 3.4) mediante distancias Anderberg sqrt (1-S), su correlación cofenética fue la más alta ($R^2= 0.922$; Di Rienzo *et al.*, 2008), se definieron cuatro grupos, los cuales están integrados por 57 poblaciones colectadas en seis regiones geográficas. El Grupo uno, el más alejado de todos, formado por la población 12 de la región Llanuras de Ojuelos, proveniente de Ojuelos, Jalisco. El Grupo dos, conformado por nueve poblaciones originarias de las regiones Altiplano y tres poblaciones de Llanuras de Ojuelos. El Grupo tres, conformado por cinco poblaciones de las regiones Altiplano (3), Valle del Mezquital (1) y Llanuras de Ojuelos (1). El Grupo cuatro, el más numeroso, agrupa 39 poblaciones de las regiones Valle de México (8), Valle del Mezquital (13), Altos de Guanajuato (5), Llanuras de Ojuelos (12), Altiplano (1) y Sierra de Órganos (2). Los grupos uno, dos y tres se formaron principalmente por poblaciones colectadas en el Altiplano y Llanuras de Ojuelos y se caracterizaron por presentar mayor densidad de tallos (> 2000 tallos m^{-2}), producción media de 180 - 200 g MS m^{-2} y forraje de buena calidad. El Grupo cuatro aglomeró poblaciones de las regiones I, II, III y IV, que produjeron el mayor rendimiento de forraje (>200 g MS m^{-2}). La diversidad o variación morfológica detectada entre poblaciones y regiones, se debe a que la colecta se realizó en el centro de origen y diversificación de la especie, los cambios adaptativos en las poblaciones, dependen de la acumulación de cambios menores en los genes a través de miles de años, por mutaciones, recombinación de genes, flujo genético, asilamiento geográfico y adaptación a diferentes ambientes (Hedrick, 2011). Johnson *et al.* (2002), encontraron resultados similares, caracterizaron 228 accesiones de *Poa pratensis* L. procedentes de 26 países, encontraron alta variabilidad morfológica entre accesiones de diferentes regiones, lo cual fue corroborado con marcadores moleculares RAPD, además pudieron identificar el origen de cada accesión, ya que algunas plantas colectadas en un sitio, tenían origen distinto. Cavagnaro *et al.* (2006), realizaron Análisis Clúster para separar 20 accesiones de *Trichloris crinita* en base a producción de biomasa y encontraron gran diversidad, revelando cuatro grupos, el grupo dos aglomeró a seis de siete accesiones que tuvieron alta producción de forraje (> 110 g MS/planta); el grupo uno aglomeró una accesión

con alta y otra con mediana producción (75 a 110 g MS/planta); mientras los grupos tres y cuatro, se formaron por accesiones que presentaron baja producción de forraje (< 75 g MS/planta).

Figura 3.4. Análisis de Conglomerados Jerárquicos resultante del análisis de atributos morfológicos, para 57 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, agrupados por región geográfica de origen y población.



3.6. Conclusiones

Existe alta variación morfológica entre poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, colectadas en regiones templadas semiáridas del centro y norte de México. La agrupación por regiones, detectó poblaciones del Valle de México, Altos de Guanajuato y Valle del Mezquital con características morfológicas sobresalientes y alto rendimiento de forraje, que pueden ser utilizados en programas de mejoramiento y las poblaciones que presentaron menor rendimiento de forraje fueron las originarias del Altiplano y Sierra de Órganos.

3.7. Literatura Citada

- Assefa, K., H. Tefera, A. Merker, T. Kefyalew, and F. Hundera. 2001. Quantitative trait diversity in tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] germplasm from Central and Northern Ethiopia. *Genet. Resour. Crop Evol.* 48: 53-61.
- Bortolini, F., M. Dall'Agnol, M. T. Schifino-Wittmann, M. Trevisan, M. V. Vieira, S. M. Scheffer-Basso, e D. P. Montardo. 2006. Caracterização morfológica e divergência genética em germoplasma de trevo-branco. *Rev. Bras. Zoot.* 35: 1601-1610.
- Calvo, S. J. F., M. A. Esteve, y F. B. López. 2000. Biodiversidad: contribución a su conocimiento y conservación en la Región de Murcia. Universidad de Murcia, Instituto del Agua y del Medio Ambiente. España. 333 p.
- Cavagnaro, P. F., J. B. Cavagnaro, J. L. Lemes, R. W. Masuelli, and C. V. Passera. 2006. Genetic diversity, among varieties of the native forage grass *Trichloris crinita* based on AFLP markers, morphological characters, and quantitative agronomic traits. *Genome.* 48: 906-918.
- Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero (COTECOCA). 1991. Las Gramíneas de México. Tomo III. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. 332 p.
- Costa, J. M., Y. Savidan, L. Jank, and L. H. Castro. 1989. Morphological studies as tool for evaluation of wide tropical forage grass germplasm. *In: Proc. XVI Int. Grassland Congress. Nice, France. Association francaise pour la production fourragère. INRA. Versailles Cedex, Francia. pp: 277-278.*

- Cubero, J. I. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. Ed. Mundi-Prensa. Segunda Edición. Madrid, España. 569 p.
- Dávila, A. P., M. T. Mejía-Saulés, M. Gómez-Sánchez, J. Valdés-Reyna, J. J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón, y A. Ocampo. 2006. Catálogo de las Gramíneas de México. UNAM-CONABIO México. 671 p.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, y C. W. Robledo. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- Do Valle, C. B. 1988. Coleção de germoplasma de espécies de *Brachiaria* CIAT: Estudos básicos visando ao melhoramento genético. Campo Grande, MS, EMBRAPA-CNPGC. 33 p.
- Enríquez, Q. J. F., C. A. R. Quero, G. A. Hernández, y M. E. García. 2006. Azuche, *Hymenachne amplexicaulis* (Rudge) Nees, forage genetic resources for floodplains in tropical Mexico. Genet. Resour. Crop Evol. 53: 1405-1412.
- Franco, T. L., y R. Hidalgo. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. FRANCO, T. L.; HIDALGO, R. (eds.). Boletín Técnico Núm. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- García, M. V., P. A. Valatti, and M. J. Arturi. 2007. Genetic variability in natural populations of *Paspalum dilatatum* Poir. analyzed by means of morphological traits and molecular markers. Genet. Resour. Crop Evol. 54: 935-946.
- Hedrick, W. P. 2011. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers. EEUU. 675 p.
- Hillis, D. M., and C. Moritz. 1990. An overview of applications of molecular systematics. In: Molecular systematics (ed. D. M. Hillis and C. Moritz). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. pp: 1-11.
- InfoStat. 2008. Manual del usuario. Ed. Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Jaramillo, V. 1994. Revegetación y reforestación de las áreas ganaderas de las zonas áridas y semiáridas de México. Comisión Técnica Consultiva de Coeficientes de Agostaderos (COTECOCA). Subsecretaría de Ganadería. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México, D. F. 40 p.
- Johnson, R. C., W. J. Jhonston, C. T. Golob, M. C. Nelson, and R. J. Soreng. 2002. Characterization of the USDA *Poa pratensis* collection using RAPD markers and agronomic descriptors. Genet. Resour. Crop Evol. 49: 349-361.

- Lowe, A. J., O. Hanotte, and L. Garino. 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collection: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genet. Resour. Newslett.* 107: 50-54.
- Mejía, M. T. S., y P. A. Dávila. 1992. Gramíneas útiles de México. Instituto de Biología UNAM. México, D. F. 293 p.
- Mielke, J. 1993. Native plants for Southwestern landscapes. University of Texas Press. Texas, EE.UU. 310 p.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, P. J. Pérez, G. A. Hernández, y O. Le-Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia.* 42: 767-775.
- Morales, N. C. R., P. L. Madrid, C. A. Melgoza, S. M. Martínez, G. S. Arevalo, C. Q. Rascón, y G. P. Jurado. 2009. Análisis morfológico de la diversidad del pasto Navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. *Téc. Pecu. Méx.* 47: 245-256.
- Morales, N. C. R., C. A. Melgoza, G. P. Jurado, S. M. Martínez, y A. C. H. Avendaño. 2012. Caracterización fenotípica y molecular de poblaciones de zacate Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henr.]. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3(2): 171-184.
- Morris, J. B. 2009. Characterization of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphology, phenology, reproduction and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. *Genet. Resour. Crop Evol.* 56: 421-427.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Rev. Mex. Biodiv.* 76(2): 207-252.
- Oliveira, L. A., y J. E. López. 1999. Caracterización de poblaciones españolas de *Lolium rigidum* Gaud., para caracteres agro-morfológicos e isoenzímicos. *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.* 14: 453-463.
- Peñaloza, J. G., P. M. Peterson, y D. C. Gilardo. 2002. Los géneros *Eragrostis* y *Leptochloa* (Poaceae: Cynodonteae) en Colombia. *Hickenia* 3. 35: 133-141.
- Pohl, R., y W. Davidse. 1994. *Leptochloa*. In: G. Davidse, M. Sousa S&A. O. Chater (eds.). *Flora Mesoamericana*. Vol. 6. Alismataceae a Cyperaceae. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. México, D. F. pp: 335-352.

- Pitman, W. 1980. Relationships between seasonal forage quality patterns and structural carbohydrates of warm-season grasses and environmental factors. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 97 p.
- Polk, D. B., C. J. Scifres, and J. L. Mutz. 1976. Establishment, production, and protein content of four grasses in South Texas. *J. Range Manage.* 29: 240-244.
- Quero, C. A. R., Q. J. F. Enríquez, y J. L. Miranda. 2007. Evaluación de especies forrajeras en América Tropical, avances o *status quo*. *Interciencia.* 32: 566-571.
- Ram, A., M. Zaccai, D. Pasternak, and A. Bustan. 2004. Analysis of phenotypic and genetic polymorphism among accessions of saltgrass (*Distichlis spicata*). *Genet. Resour. Crop Evol.* 51: 687-699.
- Rencher, A. C. 2002. Methods of multivariate analysis. Second Edition. Wiley-Interscience. USA. 708 p.
- Rodríguez, C. B. 2000. Gramíneas características y claves. Universidad Autónoma Chapingo. México. 214 p.
- Rivero, H. O. 2009. Diversidad morfológica de *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. y *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees en el estado de Chihuahua. Tesis de Maestría en Ciencias en Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua. 49 p.
- Schultze-Kraft, R. 1990. Caracterización y evaluación preliminar de germoplasma de las plantas forrajeras. *In: Dialogo XXVIII. Introducción, conservación y evaluación de germoplasma forrajero.* ICCA. Uruguay. pp: 316-319.
- Snow, N. 1997. Phylogeny and systematics of *Leptochloa* P. Beauv. *sensu lato* (Poaceae: Chloridoideae). Ph. D. Dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri. 506 p.
- Snow, N., P. M. Peterson, and D. C. Giraldo. 2008. *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae) in Colombia. *J. Bot. Res. Inst. Texas.* 2: 86-874.
- Steiner, J. J., E. Piccioni, M. Falcinelli, and A. Liston. 1998. Germplasm diversity among cultivars and the NPGS crimson clover collection. *Crop Sci.* 38: 263-271.
- Váladez, M. E., G. Kahl, J. Ramser, B. Hüttel, y A. I. Rublúo. 2001. Técnicas moleculares para la caracterización de genomas vegetales (Garbanzo) y algunas aplicaciones potenciales. *Rev. Fitotec. Mex.* 24: 103-120.

- Valdes, J., and I. Cabral. 1993. Chorology of Mexican Grasses. *In*: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (eds.). Biological Diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford University Press. Nueva York. EUA. pp: 439-446.
- Valdés, R. J., y A. P. Dávila. 1995. Clasificación de los géneros de gramíneas (Poaceae) mexicanas. *Acta Bot. Mex.* 33: 37-50.
- Villaseñor, R. J. L., y F. J. Espinosa. 1998. Catálogo de malezas de México. UNAM. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 449 p.
- Villegas, D. G., A. M. Bolaños, y L. P. Olgúin. 2001. La ganadería en México. Plaza Valdés Editores. México, D. F. 158 p.
- Wouw, V. M., J. Hanson and S. Nokoe. 1999. Observation strategies for morphological characterization of forages. *Genet. Resour. Crop Evol.* 46: 63-71.

CAPÍTULO IV

NIVEL DE PLOIDÍA EN POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees DEL CENTRO-NORTE DE MÉXICO

NIVEL DE PLOIDÍA EN POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees DEL CENTRO-NORTE DE MÉXICO

4.1. Resumen

El género *Leptochloa* comprende aproximadamente 32 especies anuales, perennes, rizomatozas, estoloníferas o decumbentes, diploides y poliploides con distribución tropical y subtropical. Algunas de éstas son de importancia forrajera como: *L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora*, *L. paniceae*. *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, es nativo del centro y norte de México, contribuye de manera importante en la alimentación del ganado y fauna en zonas de escasa precipitación con clima templado o frío, su número cromosómico básico es $x=10$ y su nivel de ploidía va de diploide ($2n=2x=20$) a octaploide ($2n=8x=80$). El objetivo fue determinar el número cromosómico y nivel de ploidía de una colección de 67 poblaciones de *Leptochloa dubia*. Los conteos cromosómicos se realizaron en ápices de raíces en crecimiento activo (5 a 10 mm), tratadas con 8-hidroxiquinolina (2 mM) por 3.5 h, fijadas en solución (3:1 v/v alcohol absoluto y ácido acético glacial) y se conservaron a 4 °C hasta el momento de su evaluación. El recuento de cromosomas se efectuó en un microscopio compuesto con contraste de fases, se observaron células en metafase, por lo menos, cinco preparaciones y 10 células por preparación, para cada planta. El 96% de las plantas analizadas fueron tetraploides ($2n=4x=40$) y el 4% diploides ($2n=2x=20$). Las plantas diploides procedentes de seis poblaciones de Hidalgo, Guanajuato y de la zona limítrofe entre Aguascalientes, Jalisco y Guanajuato, las plantas tetraploides se encontraron en todas las poblaciones evaluadas, sin embargo no se encontró que existan diferencias significativas ($P>0.05$) entre localidades de acuerdo a su nivel de ploidía. Los niveles encontrados son indicativos del amplio centro de origen de esta especie.

Palabras clave: *Leptochloa dubia*, cromosomas, diploide, tetraploide.

PLOIDY LEVEL OF *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees POPULATIONS NATIVE TO THE NORTH CENTRAL MEXICO

4.2. Abstract

The genus comprises about 32 species of *Leptochloa* annual, perennial, rhizomatous, stoloniferous or decumbent, diploid and polyploidy with pantropical distribution. Some of these are important forage as: *L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora*, *L. paniceae*. *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees (Green Sprangletop) is a perennial forage grass, native to north-central Mexico, suitable for regions with limited precipitation. Its basic chromosome number is $x=10$, and has ploidy levels ranging from diploid ($2n=2x=20$) to octaploid ($2n=8x=80$). The objective was to determine the chromosome number and ploidy level of a collection of 67 populations of *Leptochloa dubia*. Chromosome counts were performed on young root tips with active growth (5 to 10 mm), treated with 8-hydroxyquinoline (2 mM) for 3.5 h, fixed in solution (3:1 v/v absolute alcohol and glacial acetic acid) and stored at 4 °C until evaluation. The chromosome counting was done using a phase-contrast optical microscope. Metaphasic cells were observed in at least five preparations and 10 cells for each plant and population. Most 96% of the analyzed populations were tetraploid ($2n=4x=40$) and 4% were diploid ($2n=2x=20$). Diploid plants were detected from six native populations from the states of Hidalgo, Guanajuato, and Aguascalientes, and the border between the states of Jalisco and Guanajuato. Tetraploid plants were found within all studied populations, but no significant differences ($P>0.05$) were detected among localities regarding their level of ploidy. The ploidy levels found are indicative of the broad center of origin for this species.

Key words: *Leptochloa dubia*, chromosomes, diploid, tetraploid.

4.3. Introducción

Leptochloa es un género que comprende aproximadamente 32 especies anuales y perennes, rizomatozas, estoloníferas o decumbentes (Snow, 1997), algunas con importancia económica y ecológica como malezas (*L. coerulescens*, *L. fascicularis*, *L. filiformis*, *L. fusca*, *L. scabra*, *L. uninervia* y *L. virgata*), y otras, como forrajeras (*L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora* y *L. paniceae*), poseen una distribución tropical y subtropical en el mundo (Watson y Dallwitz, 1992). En el continente Americano se han reportado 17 especies de *Leptochloa*, 13 de éstas como nativas (Peterson *et al.*, 2001, 2007), y en México trece especies distribuidas principalmente en los trópicos (Dávila *et al.*, 2006).

Leptochloa dubia (Kunth) Nees, es perenne amacollado de crecimiento erecto, alcanza una altura de 30 a 110 cm, hojas verdes brillantes de 10 a 25 cm de longitud por 2 a 5 mm de ancho, panícula en forma piramidal con 3 a 12 racimos espigados ascendentes, casi siempre de 4 a 12 cm de largo (Anderson *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 2008), es de rápido crecimiento, posee buen potencial de producción de biomasa en zonas de escasa precipitación, alta tolerancia al frío (-10 °C), buen contenido de proteína, excelente digestibilidad y buena capacidad para asociarse con otras gramíneas (Polk *et al.*, 1976; Pitman, 1980; Mielke, 1993; Jaramillo, 1994; Urrutia *et al.*, 2000; Beatriz *et al.*, 2005). Su distribución geográfica se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina, se han encontrado desde los 100 hasta 2600 y en ocasiones hasta los 3150 msnm en la cordillera de los Andes (Valls, 1978; Snow, 1997; Peñaloza *et al.*, 2002; Snow *et al.*, 2008).

Los estudios citológicos en gramíneas son importantes (Morales-Fernández *et al.*, 1973), ya que el conocimiento citológico, muestra las relaciones dentro de especie, género o familia, ayudan a caracterizar germoplasma, clarificar el origen de los híbridos naturales y variedades cultivadas (Stace, 2000; Pozzobon *et al.*, 2006). Además, complementa la información obtenida por métodos moleculares para el mejoramiento genético de las plantas, cuando se usan en cruza intra e interespecíficas (García, 1990; Sybenga, 1992; Stace, 2000).

La información citológica es básica en programas de cruzamiento, así como para relacionar el potencial forrajero con el nivel de ploidía (Do Valle *et al.*, 1998; Quero *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2007). *L. dubia* se caracteriza por un número básico $x=10$ cromosomas (Brown, 1951; Gould, 1960; Valls, 1978), estudios previos reportaron cuatro complementos cromosómicos que van desde nivel diploide ($2n=2x=20$) hasta octaploide ($2n=8x=80$) (Covas, 1949; Brown, 1951; Gould y Soderstrom, 1967; Valls, 1978). La poliploidía es común en gramíneas (Echandi, 1970), y ésta puede aparecer como consecuencia de fallos en la meiosis que conducen a la formación de gametos no reducidos, con cambios consecuentes en la morfología, fisiología y la creación de barreras de aislamiento que conducen a la divergencia evolutiva o por hibridación de especies diploides (De Wet, 1980; Therman, 1995; Lacadena, 1996). La alta frecuencia de poliploides en gramíneas sugiere que ha hecho una contribución importante al proceso de diversificación y especiación entre las especies (Thompson y Lumaret, 1992; Leitch y Bennet, 1997). A mayores altitudes y latitudes existe un aumento en la poliploidía, esto debido a que los genes que controlan caracteres de valor selectivo pueden acumularse con mayor facilidad en los poliploides, por lo que pueden adaptarse más rápidamente a condiciones ambientales extremas (Granados y López, 1980; Lacadena, 1996; Comai, 2005).

El centro de origen de *Leptochloa dubia* se localiza en el centro-norte de México (Mielke, 1993; Pohl y Davidse, 1994; Rodríguez, 2000). En los centros de origen de otras gramíneas forrajeras como: *Panicum*, *Brachiaria*, *Tripsacum*, *Paspalum* y *Bouteloua* es donde se ha encontrado la mayor riqueza de morfotipos, citotipos, resistencias a plagas, enfermedades y factores adversos (Nakajima *et al.*, 1978; Quero *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2006; Dahmer *et al.*, 2008; Quero *et al.*, 2010); en éstos puede existir hibridación dentro de la especie con diferente nivel de ploidía (De Wet, 1968; De Wet, 1986; Do Valle y Savidan, 1996), aunque la mayoría de los individuos híbridos son estériles o apomícticos algunos de ellos pueden presentar ventajas evolutivas y fijar algunos caracteres de importancia agronómica (De Wet, 1986; Sites y Reed, 1994; Litch y Bennet, 1997), en estas

zonas es donde ocurre mayor dinámica de flujo genético entre los diversos niveles de ploidía (Quero *et al.*, 2010).

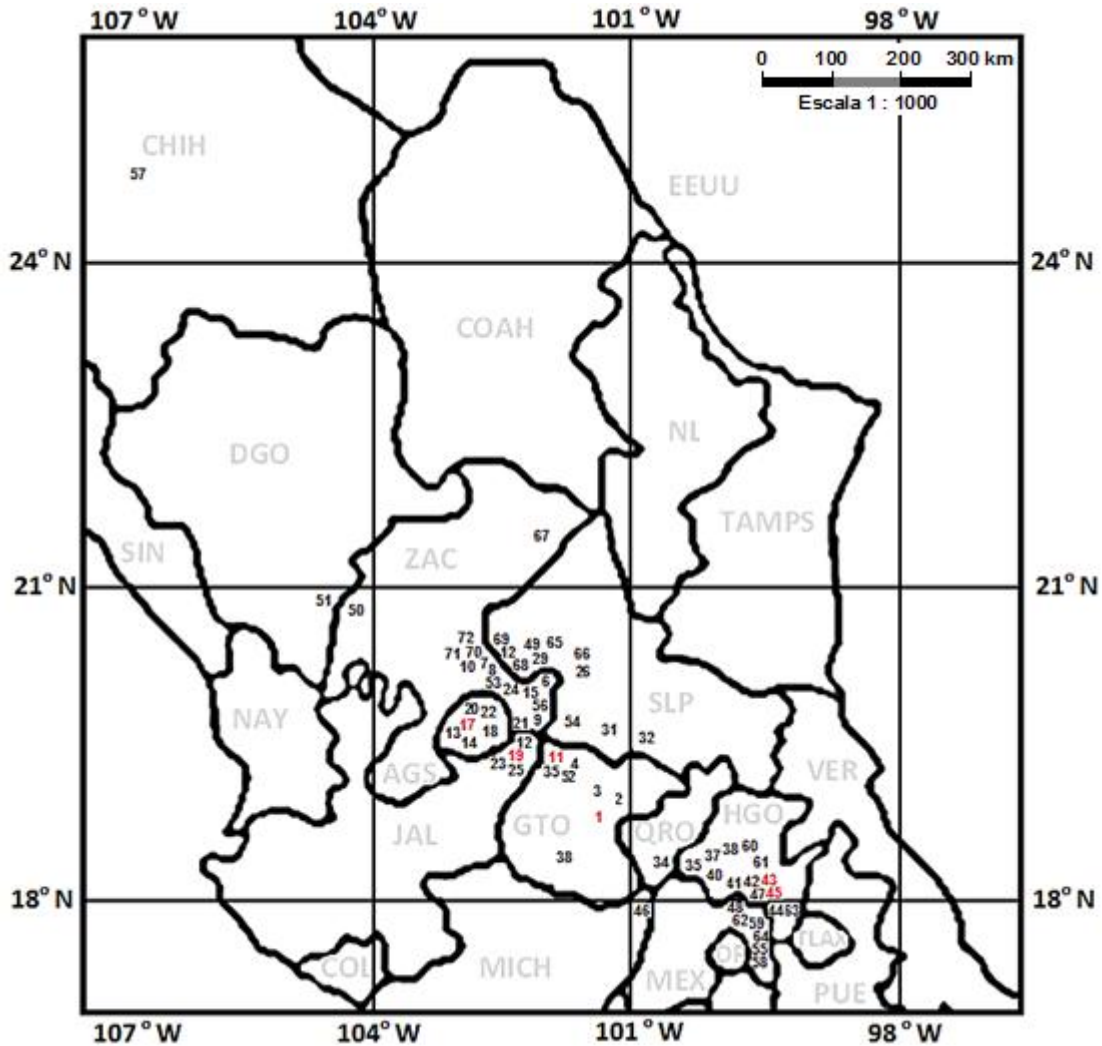
En las plantas la poliploidía ocurre de 35 a 40% y en gramíneas, hasta 70%, lo que indica que representa una ventaja de adaptación al ambiente (Stebbins, 1972; Thompson y Lumaret, 1992). En gramíneas forrajeras se ha encontrado que la mayoría de las especies incrementa la producción de biomasa, debido a células de mayor tamaño y plasticidad del genoma para adaptarse a condiciones adversas (Echandi, 1970; Quero *et al.*, 2010). El objetivo fue determinar el número cromosómico y nivel de ploidía de 67 poblaciones de *Leptochloa dubia*, nativas del centro-norte de México y relacionarlos con su origen geográfico.

4.4. Materiales y Métodos

4.4.1. Colecta del material vegetal

Se colectó semilla de 67 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, en diferentes regiones de 10 estados de la república mexicana (Fig. 4.1), en el área de su distribución natural: Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas, entre los paralelos (19° a 28° N) y 1500 a 2450 msnm. En cada sitio se recolectó semilla de 10 plantas diferentes y estas fueron consideradas como una población. Se sembraron 6 semillas de 5 plantas diferentes por población en charolas de germinación de 200 cavidades llenas con “peat moss” como medio de crecimiento, tres semanas después de la emergencia fueron trasplantadas en macetas de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, utilizando como sustrato tierra, las plantas estuvieron condiciones de invernadero a una temperatura que fluctuaba de 18 a 26 °C y se regaron cada tercer día (Fig. 4.2). El trabajo se realizó en el Laboratorio de Cruzas Amplias, del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en Texcoco, Edo. de México.

Figura 4.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. Números en negro representan poblaciones tetraploides. Números rojos, poblaciones con plantas diploides y tetraploides.



Estados de México: AGS Aguascalientes, COL Colima, CHIH Chihuahua, COAH Coahuila, DGO Durango, DF Distrito Federal, GTO Guanajuato, HGO Hidalgo, JAL Jalisco, MEX Estado de México, MICH Michoacán, NAY Nayarit, NL Nuevo León, PUE Puebla, QRO Querétaro, SLP San Luis Potosí, SIN Sinaloa, TAMPS Tamaulipas, TLAX Tlaxcala, VER Veracruz, ZAC Zacatecas.

Figura 4.2. Colección de poblaciones de plantas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. A, Charola de germinación. B, C, D, E, Macetas etiquetadas con diferentes genotipos colectados en distintos sitios de México.



4.4.2. Conteos cromosómicos

El número cromosómico somático ($2n$) fue determinado a partir de muestras de ápices de raíces en crecimiento activo (5 a 10 mm), con la finalidad de muestrear el meristemo apical, donde se encuentra el mayor número de células en división (Becerra *et al.*, 2002), el momento de muestreo varió entre 10:00 y 11:00 am, cuando se encontró mayor número de células en metafase. Las raíces se trataron con 8-hidroxiquinolina (2 mM) a temperatura ambiente (18 a 24 °C) durante 3.5 h, se fijaron en solución (3:1 v/v alcohol absoluto: ácido acético glacial), se tiñeron en orceina acética al 2% y se conservaron a 4 °C hasta su evaluación al microscopio

compuesto (García, 1990). Para observar los cromosomas al microscopio, se hirvieron en ácido acético al 45% por 30 s, se separó la masa celular y se colocó sobre un portaobjetos con una gota de ácido acético al 45%; enseguida se ejerció presión uniforme con el pulgar sobre el cubreobjeto, para dispersar los cromosomas, se hicieron los recuentos cromosómicos al menos en cinco preparaciones y 10 células metafásicas por preparación por planta, con el objetivo de inmersión 100x con contraste de fases (García, 1990; Valladolid *et al.*, 2004).

4.4.4. Análisis estadístico

Para determinar diferencias entre localidades y nivel de ploidía, los datos por localidad (para más de un nivel de ploidía) fueron analizados empleando análisis categórico de datos, con tablas 2 x r, donde 2 representó los niveles de poliploidía (diploides y tetraploides) y r las localidades (SAS, 1997).

4.5. Resultados y Discusión

4.5.1. Número cromosómico y nivel de ploidía

El número cromosómico fue determinado en 224 plantas de 67 poblaciones de *Leptochloa dubia* colectadas en diferentes regiones (Fig. 4.1), se detectaron 215 plantas tetraploides ($2n=4x=40$) representaron el 96% de las plantas evaluadas y se presentaron en todas las poblaciones analizadas; además, se observaron nueve plantas diploides ($2n=2x=20$), 4% de las plantas evaluadas y éstas fueron encontradas en seis poblaciones, en tres regiones distintas (Fig. 4.1; Cuadro 4.1), suroeste de Hidalgo (Poblaciones 43 y 45); Guanajuato, una planta diploide (Población 1) y tres sitios en los límites de Guanajuato, Jalisco y Aguascalientes (Poblaciones 11, 17 y 19). Covas (1949), encontró que *L. dubia* poseía 40 cromosomas $2n=4x=40$ en Sudamérica; mientras que Brown (1950), en Texas, observó plantas hexaploides ($2n=6x=60$); Gould (1960), encontró tres accesiones diploides ($2n=2x=20$) y una tetraploide ($2n=4x=40$), en Texas y dos tetraploides en Arizona. Carnahan y Hill (1961), reportaron 20 cromosomas y Valls (1978), encontró ocho accesiones $2n=8x=80$ y cuatro $2n=4x=40$, en Texas.

Cuadro 4.1. Poblaciones evaluadas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, sitio de colecta, ubicación del sitio de colecta, número de individuos por población revisados y número de cromosomas somáticos (2n) por planta.

No. Pob.	Sitio de Colecta	Coordenadas				Plantas evaluadas (2n)				
		Estado	Norte	Oeste	MSNM	1	2	3	4	5
1	San Miguel de Allende	Gto	20° 51'04''	100° 30'38''	2161	20	40	40	40	
2	San Luis de la Paz	Gto	21°17'11''	100°35' 09''	1983	40	40	40	40	
3	Dolores Hidalgo	Gto	21°10'55''	100°52'37''	1950	40	40	40		
4	Ocampo	Gto	21°42'06''	101°30'04''	2280	40	40	40		
6	Pinos	Zac	22°18'35''	101°35'53''	2451	40	40	40		
7	Pánfilo Natera	Zac	22°40'51''	102° 06'25''	2133	40	40	40	40	
8	El Saladillo	Zac	22°40'08''	102°02'29''	2032	40	40	40		
9	Santa Elena	Zac	22°35'41''	102°04'99''	2044	40	40	40		
10	Carretera Salinas -Zacatecas	Zac	22°38'21''	101°52'46''	2115	40	40	40		
11	El Liaño	Gto	21°15'39''	100°41'35''	2003	40	40	20	40	
12	Ojuelos	Jal	21°50'41''	101°35'40''	2230	40	40	40		
13	Rincón de Ramos	Ags	22°13'30''	102°27'28''	1932	40	40	40		
14	Camino Encinillas – Matancillas	Ags	21°58'02''	101°42'51''	2122	40	40	40		
15	Carretera Pinos - Villa Hidalgo	Zac	22°19'02''	101°39'53''	2266	40	40	40		
17	Tepezala	Ags	22°13'25''	102°11'01''	2064	20	20	40	20	
18	Carr. Noria de Ángeles -Loreto	Zac	22°21'09''	101°56'20''	2121	40	40	40	40	
19	Los Campos	Jal	22°00'32''	101°48'11''	2143	40	40	40	20	
20	Palo Alto	Ags	21°56'22''	101°58'35''	2021	40	40	40		
21	Carretera Campos – Buenavista	Ags	22°01'31''	101°46'38''	2203	40	40	40		
22	Villa Juárez	Ags	22°05'21''	102° 03'22''	2018	40	40	40		
23	Espíritu Santo	SLP	22°59'51''	101°3'05''	2135	40	40	40	40	
24	Villa Hidalgo	Zac	22°21'51''	101°43'46''	2139	40	40	40		
25	Carr. Campos San José de la Palma	Jal	21°59'16''	101°45'13''	2168	40	40	40	40	
26	Ahualulco	SLP	22°22'48''	101°09'57''	1840	40	40	40		
28	Ojo de Agua	Jal	22°02'30''	101°56'04''	2056	40	40	40		
29	Patrocinio	SLP	22°23'54''	101°35'44''	2272	40	40	40	40	40
31	Carranco Hondo	SLP	21°48'36''	101°06'15''	1956	40	40	40		
32	Villa de Reyes	SLP	21°48'34''	100°57'48''	1828	40	40	40		
33	El Novillo	Gto	21°39'58''	101°34'54''	2142	40	40	40		
34	Paso de Mota	Qro	20°19'39''	99° 59'57''	2152	40	40	40		
35	Guadalupe	Hgo	20°17'16''	99°47'07''	2244	40	40	40		
37	Huichapan	Hgo	20°22'14''	99°39'54''	2116	40	40	40		
38	Tecoautla	Hgo	20°25'25''	99°35'49''	2126	40	40	40		
39	Jonacapa	Hgo	20°25'42''	99° 31'17''	2341	40	40	40		
40	Portezuelo	Hgo	20°29'58''	99°18'29''	1799	40	40	40		
41	San Sebastián Tenoch	Hgo	20°17'15''	99°41'47''	2245	40	40	40		
42	Nopala	Hgo	20°14'18''	99°34'06''	2435	40	40	40		
43	El Márquez	Hgo	20°13'29''	98°28'27''	2214	40	20	40	20	40
44	Tepetitlan	Hgo	20°12'30''	99°24'00''	2122	40	40	40	40	

Cuadro 4.1. Poblaciones evaluadas..... continuación.

45	Chapantongo	Hgo	20°16'44"	99°24'37"	2158	40	20	40	40
46	Epitacio Huerta	Mich	20°07'04"	100°14'16"	2415	40	40	40	
47	Presa de Endo	Hgo	20°10'03"	99°22'01"	2012	40	40	40	
48	Axapusco	Méx	19°43'07"	98°45'28"	2346	40	40	40	
49	Km 1 carretera Salinas – Pinos	SLP	22°27'28"	101°33'15"	2176	40	40	40	
50	Calabazal	Zac	23°45'13"	103°50'34"	2145	40	40	40	
51	Vicente Guerrero	Dgo	23°44'48"	103°58'26"	1942	40	40	40	
52	Gachupines	Gto	21°45'54"	101°33'53"	2194	40	40	40	
53	Villa González Ortega	Zac	22°31'33"	101°55'19"	2167	40	40	40	
54	Villa de Arriaga	SLP	21°53'41"	101°21'18"	2185	40	40	40	
55	Texcoco	Méx	19°29'11"	98°52'57"	2250	40	40	40	
56	La Vaquita	Zac	22°04'36"	101°33'56"	2169	40	40	40	
57	Chihuahua	Chih	28°35'43"	106° 04'01"	1500	40	40	40	
58	San Vicente Chicoloapan	Méx	19°24'56"	98°53'35"	2254	40	40	40	
59	Molino de Flores	Méx	19°30'55"	98°50'17"	2322	40	40	40	
60	San José	Hgo	20°28'19"	99°19'49"	1830	40	40	40	
61	Alfayucan	Hgo	20°25'35"	99°20'04"	1919	40	40	40	
62	San Martín de las Piramides	Méx	19°42'52"	98°48'56"	2307	40	40	40	
63	Acelotla	Hgo	19°53'10"	98°38'02"	2533	40	40	40	
64	km 16 Carr. Texcoco – Tlaxcala	Méx	19°33'13"	98°44'15"	2703	40	40	40	
65	Autopista Zac. - SLP	SLP	22°28'33"	101°32'14"	2125	40	40	40	
66	Carrillo Prieto	SLP	22°18'53"	101°09'55"	1891	40	40	40	
67	San Tiburcio	Zac	24°09'13"	101°29'32"	1891	40	40	40	
68	Salinas de Hidalgo	SLP	22°37'37"	101°42'41"	2077	40	40	40	
69	Km 115 carretera SLP – Zac.	Zac	22°38'05"	101°51'55"	2122	40	40	40	
70	Km 127 carretera SLP – Zac.	Zac	22°29'35"	101°59'14"	2136	40	40	40	
71	Km 135 carretera SLP – Zac.	Zac	22°40'11"	102°03'59"	2064	40	40	40	
72	Km 166 carretera SLP – Zac.	Zac	22°44'37"	102°20'44"	2156	40	40	40	

Estados de México: AGS Aguascalientes, CHIH Chihuahua, DGO Durango, GTO Guanajuato, HGO Hidalgo, JAL Jalisco, MEX Estado de México, MICH Michoacán, QRO Querétaro, SLP San Luis Potosí, ZAC Zacatecas.

En gramíneas es común la variación intraespecífica del número cromosómico y la hibridación entre éstas (Khidir, 1985; Fernández *et al.*, 1991). La poliploidía puede aparecer como consecuencia de la formación de gametos no reducidos, por la fecundación simultánea de un gameto femenino y dos masculinos o por la formación de quimeras o mosaicos poliploides dando origen a poliploides (Lacadena, 1996). A mayor nivel de ploidía, es mayor el tamaño del núcleo celular como resultado de la duplicación cromosómica y hay mayor producción de biomasa (Mayers, 1947; Echandi, 1970; Lacadena, 1996; Quero *et al.*, 2010). En

especies simpátricas con diferente nivel de ploidía, la hibridación es abundante, por lo que éstos son fuente de diversidad genética (De Wet, 1986).

4.5.2. Estadísticos de comparación entre localidades por nivel de ploidía

El estadístico Q_s tuvo un valor de 0.0018 (Cuadro 4.2) y $p=0.96$; Q_p tiene un valor de 3.51 y $p=0.62$, ambos no son significativos; por tanto, se concluye que no hay diferencia entre las localidades basándose en el nivel de ploidía. El valor QMH para la correlación no cero fue igual a 0.0018, con 1 grado de libertad, valor no significativo, reforzando la conclusión de que no existen diferencias entre localidades con base al nivel de ploidía (Cuadro 4.3). En las localidades la frecuencia de diploides fue menor (tres magnitudes), en comparación con las tetraploides. Las plantas tetraploides tienen mayor valor adaptativo en comparación con plantas diploides. Hay tres ventajas de los poliploides. Las primeras dos, heterosis y redundancia génica, resultan de duplicación de genes; mientras que la tercera, reproducción asexual (apomixis) significa una ruta de escape a la esterilidad por desbalance embrión: endospermo (Quero *et al.*, 2010). La heterosis causa que los poliploides sean más vigorosos que sus congéneres diploides, mientras que la redundancia génica los protege de efectos deletéreos de las mutaciones. La reproducción asexual posibilita a los poliploides a reproducirse en ausencia de compañeros sexuales (Comai, 2005). Solo en Tapezala (17) se encontró una mayor presencia de individuos diploides que tetraploides. Una posible explicación es que los poliploides adaptados que evitan la extinción entran en una trayectoria evolutiva de diploidización, durante la cual la redundancia genómica es reducida (Comai, 2005).

Cuadro 4.2. Estadísticos de comparación entre localidades de acuerdo al nivel de ploidía.

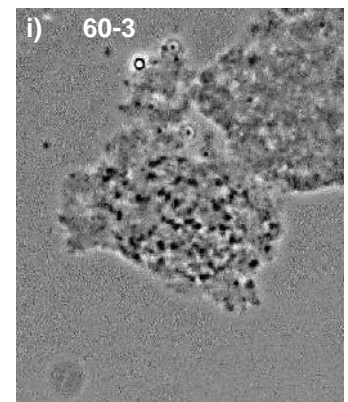
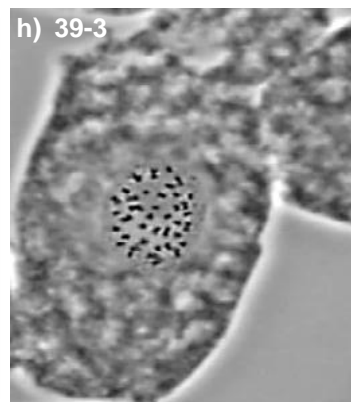
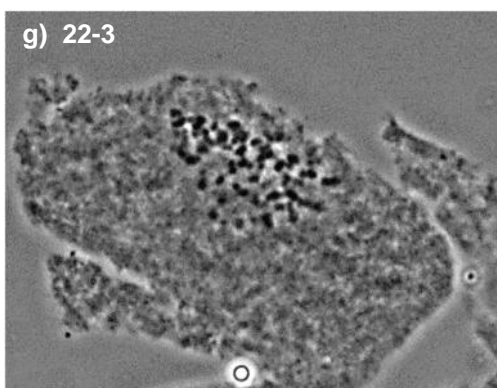
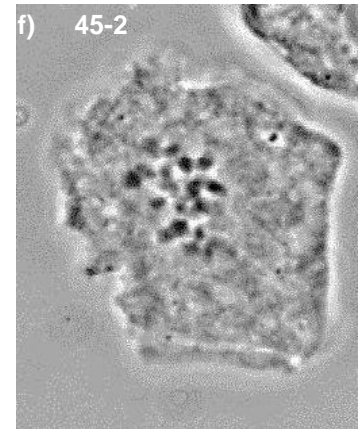
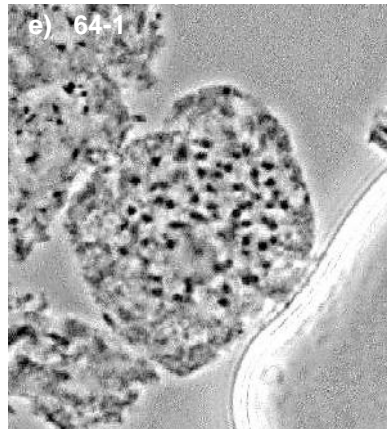
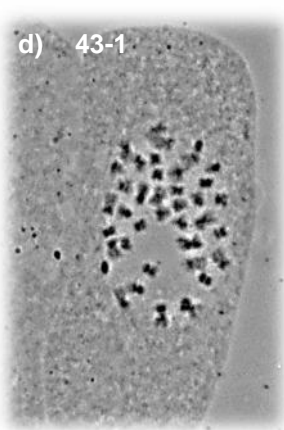
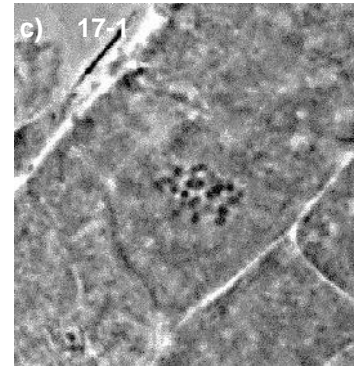
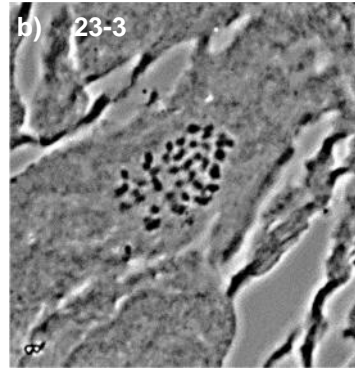
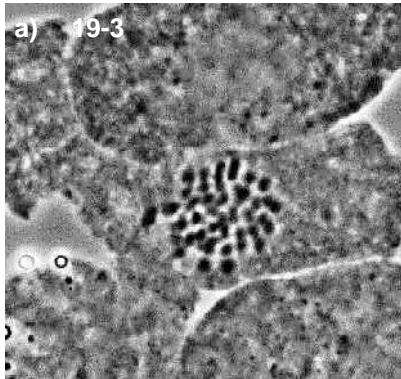
Estadístico	GI	Valor	Probabilidad
Chi-Cuadrada	5	3.5156	0.6210
Taza de verisimilitud Chi-Cuadrada	5	3.4474	0.6314
Chi-Cuadrada Mantel-Haenszel	1	0.0018	0.9665
Coeficiente Phi		0.3750	
Coeficiente de Contingencia		0.3511	
Cramer's V		0.3750	

Cuadro 4.3. Estadísticos de Cochran-Mantel-Haenszel (basados en puntuaciones de tabla).

Estadístico	Hipótesis alternativa	GI	Valor	Probabilidad
1	Correlación no cero	1	0.0018	0.9665
2	Difer. Calific. Promedio hileras	1	0.0018	0.9665
3	Asociación general	5	3.3750	0.6424

Los recuentos cromosómicos en *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees son particularmente difíciles, debido a la dureza de las paredes celulares y al tamaño pequeño de los cromosomas, característico de la tribu Eragrostideae que es de 2 a 3 micras en la mayoría de los casos (Valls, 1978; Granados y López, 1980). Es posible que debido a estas dificultades, ningún trabajo citológico sobre *Leptochloa dubia* que presente descripciones del cariotipo. Sin embargo, nuestras observaciones muestran que predominan los cromosomas metacéntricos y submetacéntricos (Fig. 4.3-d). Por lo difícil que resulta realizar conteos cromosómicos en esta especie, debido a lo cual algunos autores trataron de estimar el nivel de ploidía por métodos indirectos. Valls (1978), trató de relacionar el nivel de ploidía con el tamaño de polen y estomas, encontró que el tamaño del grano de polen y del estoma era significativamente más grande, cuando se trataba de plantas octaploides en comparación con plantas tetraploides.

Figura 4.3. Metafase mitótica de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. a) 19-3 ($2n=4x=40$), b) 23-3 ($2n=4x=40$), c) 17-1 ($2n=2x=20$), d) 43-1 ($2n=4x=40$), e) 64-1 ($2n=4x=40$), f) 45-2 ($2n=2x=20$), g) 22-3 ($2n=4x=40$), h) 39-3 ($2n=4x=40$), i) 60-3 ($2n=4x=40$).



4.6. Conclusiones

El 96% de las plantas evaluadas fueron tetraploides ($2n=4x=40$) procedentes de todos los sitios de colecta y 4% fueron diploides ($2n=2x=20$) provenientes de 6 poblaciones diferentes. Las plantas diploides se ubicaron en tres regiones: una en el suroeste de Hidalgo, sureste de Guanajuato y zona limítrofe entre Aguascalientes, Guanajuato y Jalisco. No se encontró que existan diferencias significativas entre localidades de acuerdo a su nivel de ploidía.

4.7. Literatura Citada

- Anderson, J., S. W. Curtis, and A. A. Hanson. 1995. Grass Varieties in the United States. United States Dep. of Agriculture. CRC Lewis Publishers. EE. UU. 296 p.
- Beatriz, E. R., C. A. Bianco, S. E. Mercado, y E. G. Scappini. 2005. Poáceas de San Luis. Distribución e importancia económica. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Argentina. 150 p.
- Becerra, N. L., T. E. Barrera, y C. X. Marquínez. 2002. Anatomía y morfología de los órganos vegetativos de las plantas vasculares. UNIBIBLOS. Bogota, Colombia. 276 p.
- Brown, W. V. 1950. A cytological study of some Texas Gramineae. Bull. Torrey Bot. Club. 77: 63-76.
- Brown, W. V. 1951. Chromosome numbers of some Texas grasses. Bull. Torrey Bot. Club. 78: 292-299.
- Carnahan, H. L., and H. D. Hill. 1961. Cytology and genetics of forage grasses. Bot. Rev. 27: 1-162.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploidy. Nature Reviews Genetics. 6: 836-846.
- Covas, G. 1949. Estudios cariológicos en antófitas III. Darwiniana. 9: 158-162.
- Dahmer, N., M. T. Schifino-Wittmann, M. A. Dall', and B. Castro. 2008. Cytogenetic data for *Paspalum notatum* Flüge accessions. Sci. Agric. 65: 381-388.

- Dávila, P., M. T. Mejía-Saulés, M. Gómez-Sánchez, J. Valdés-Reyna, J. J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón, y A. Ocampo. 2006. Catálogo de las Gramíneas de México. UNAM–CONABIO. México. 671 p.
- De Wet, J. M. J. 1968. Diploid - tetraploid - haploid cycles and the origin of variability in *Dichanthium agamospecies*. *Evolution*. 22: 394-397.
- De Wet, J. M. J. 1980. Origins of poliploids *In*: Lewis WH (Ed) Poliploidy Biological Relevance. Plenum Press. New York and London. 583 p.
- De Wet, J. M. J. 1986. Hybridization and polyploidy in the Poaceae. *In*: Soderstrom T. R, Hilu KW, Campbell C. S, Barkworth ME editors. Grass systematic and evolution 1st ed. Washington, DC USA. Smithsonian Institution Press. pp: 188-194.
- Do Valle, C., and H. Savidan. 1996. Genetics, cytogenetics and reproductive biology of *Brachiaria*. *Brachiaria: Biology, Agronomy, and improvement*. CIAT-EMBRAPA. pp: 147-163.
- Do Valle, C., B. J. Miles, J. Agudelo, M. A. Calderon, e M. L. Escandón. 1998. Collecao de germoplasma do espécies de *Brachiaria*. CIAT: Estudios básicos visando ao melhoramiento genético. CIAT-EMBRAPA. pp: 1-36.
- Echandi, Z. R. 1970. Mejoramiento de forrajes en especial de las gramíneas. *In*: Primer Seminario Internacional sobre la Enseñanza de Cultivos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA).Turrialba, Costa Rica. pp: 30-37.
- Fernández, O. A., R. E. Brededan, y A. O. Gargano. 1991. Citogenética *In*: El pasto Llorón su biología y manejo. CERZOS. Universidad Nacional del Sur. Argentina. pp: 19-38.
- García, V. A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 144 p.
- Gould, F. 1960. Chromosome numbers in southwestern grasses II. *Amer. J. Bot.* 47: 873-877.
- Gould, F., and T. R. Soderstrom. 1967. Chromosome numbers of tropical American grasses. *Amer. J. Bot.* 54: 676-683.
- Granados, S. D., y R. G. López. 1980. Manual de agrostología. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zonas Áridas. México. 216 p.
- Jaramillo, V. 1994. Revegetación y reforestación de las áreas ganaderas de las zonas áridas y semiáridas de México. Comisión Técnica Consultiva de

- Coeficientes de Agostaderos (COTECOCA). Subsecretaría de Ganadería. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México, D. F. 40 p.
- Khidir, W. H. 1985. Biological basis for adaptation in grasses: An Introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 72: 824-825.
- Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Editorial Complutense, S. A. Madrid, España. 931 p.
- Leitch, I. J., and M. D. Bennet. 1997. Polyploidy in angiosperm. *Trends in Plant Science*. 2: 470-476.
- Mayers, W. M. 1947. Cytology and genetics of forage grasses. *The botanical Review*. Springer on behalf of New York Botanical Garden Press. 13: 369-421.
- Mielke, J. 1993. Native plants for Southwestern landscapes. University of Texas Press. Texas, EE.UU. 310 p.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, O. Le Blanc, G. A. Hernández, P. J. Pérez, y S. S. González. 2006. Evaluación de la diversidad del pasto nativo *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante marcadores de AFLP. *Agrociencia*. 40: 711-720.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, y C. H. A. Avendaño. 2007. Caracterización de la diversidad nativa del zacate Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] mediante su nivel de ploidía. *Téc. Pec. Méx.* 45: 263-278.
- Morales-Fernandes, M. I., B. I. Barreto, and F. M. Salzano. 1973. Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian form *Paspalum notatum*. *Canadian J. Genet. Cytology*. 15: 523-531.
- Nakajima, K., M. Ochi, and N. Mochizuki. 1978. Characteristics and variations of guineagrass strains collected and introduced from Africa. I. Evaluation of characteristics and variations. *Bull. Natl. Grassl. Inst. Japan*. 12: 38-53.
- Peñaloza, J. G., P. M. Peterson, y D. C. Gilardo. 2002. Los géneros *Eragrostis* y *Leptochloa* (Poaceae: Cynodonteae) en Colombia. *Hickenia* 3. 35: 133-141.
- Peterson, P. M., R. J. Soreng, G. Davidse, T. S. Filgueiras, F. O. Zuloaga, and E. J. Judziewicz. 2001. Catalogue of New World grasses (Poaceae): II. Subfamily Chloridoideae. *Contr. U.S. Natl. Herb.* 41: 1-255.
- Peterson, P. M., J. T. Columbus, and S. J. Pennington. 2007. Classification and biogeography of New World grasses: Chloridoideae. *Aliso*. 23: 580-59.

- Pitman, W. 1980. Relationships between seasonal forage quality patterns and structural carbohydrates of warm-season grasses and environmental factors. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 97 p.
- Pohl, R. W., y G. Davidse. 1994. *Leptochloa*. En: G. Davidse, M. Sousa S&A. O. Chater (eds.). Flora Mesoamericana. Vol. 6. Alismataceae a Cyperaceae. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. México, D. F. pp: 335-352.
- Polk, D. B., C. J. Scifres, and J. L. Mutz. 1976. Establishment, production, and protein content of four grasses in South Texas. J. Range Manage. 29: 240-244.
- Pozzobon, M. T., M. T. Schifino-Wittmann, and L. B. Bianchetti. 2006. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species do: $x=12$ and $x=13$ represent two evolutionary lines?. Bot. J. Linnean Society. London. 151: 259-269.
- Quero, C. A. R., Y. H. Savidan, J. Berthaud, J. P. Pérez, y J. V. Espinoza. 1997. Estudios citogenéticos en el género *Tripsacum*. Agrociencia. 31: 331-334.
- Quero, C. A. R., J. F. Q. Enríquez, y L. J. Miranda. 2007. Evaluación de especies forrajeras en América tropical, avances o *status quo*. Interciencia. 32: 566-571.
- Quero, C. A. R., J. F. Q. Enríquez, C. R. N. Morales, y L. J. Miranda. 2010. Apomixis y su importancia en la selección y mejoramiento de las gramíneas tropicales. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 1: 25-41.
- Rodríguez, C. B. 2000. Gramíneas características y claves. Universidad Autónoma Chapingo. México. 214 p.
- SAS. 1997. Users Guide. Statistical Analysis Institute Inc., Cary NC. 1167 p.
- Sites, J. W., and K. M. Reed. 1994. Chromosomal evolution, especiation and systematics: some relevant issues. Herpetologica. 50: 237-249.
- Snow, N. 1997. Phylogeny and systematics of *Leptochloa* P. Beauv. sensu lato (Poaceae: Chloridoideae). Ph. D. dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri. 506 p.
- Snow, N., P. M. Peterson, and D. C. Giraldo. 2008. *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae) in Colombia. J. Bot. Res. Inst. Texas. 2: 861-874.

- Stace, C. A. 2000. Cytology and cytogenetic as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th Centuries. *Taxon*. Utrecht. 49: 451-477.
- Stebbins, G. L. 1972. The evolution of the grass family. *In*: Youngner VB, McKell CM, editors. *The biology and utilization of grasses*. Academic Press, New York. pp: 1-17.
- Sybenga, J. 1992. *Cytogenetics in plant breeding*. Springer, Berlin Heidelberg, New York. 469 p.
- Therman, E. 1995. Chromosome behavior in cell differentiation. A field ripe for exploration?. *Genetics*. 141: 799-804.
- Thompson, J. D., and R. Lumaret. 1992. The evolutionary dynamics of polyploidy plants: origins, establishment and persistence. *Trends in Ecology and Evolution*. 7: 302-306.
- Urrutia, J. M., M. A. C. Cordero, y S. L. Beltrán. 2000. Ovinocultura de agostadero en el norte de México. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México. 104 p.
- Valladolid, A., R. Blas, y R. González. 2004. Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. *In*: *Raíces Andinas: contribución al conocimiento y a la capacitación*. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. pp: 95-100.
- Valls, J. M. F. 1978. A biosystematics study of *Leptochloa* with special emphasis on *Leptochloa dubia* (Graminae:Chlorideae). Ph. D. Thesis. Texas A&M. Univ., College Station. Texas, EEUU. 205 p.
- Watson, L., and M. Dallwitz. 1992. *The grass genera of the World*. Cab International. Cambridge, UK. 1063 p.

CAPÍTULO V

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y MORFOLOGÍA DE LA INFLORESCENCIA DE POBLACIONES DE *Leptochloa* *dubia* (Kunth) Nees

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y MORFOLOGÍA DE LA INFLORESCENCIA DE POBLACIONES DE *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees

5.1. Resumen

El objetivo fue revisar el sistema reproductivo (cleistogamia o casmogamia), su distribución en la inflorescencia y relacionarlo con variables morfológicas de 40 poblaciones colectadas en ocho estados del centro y norte de México. Se cortaron seis espiguillas en la base, parte media y terminal de la inflorescencia en diferentes estados de desarrollo en cada planta, se extrajeron los ovarios y sacos polínicos, se fijaron con FAA durante 24 h [50% etanol, 5% ácido acético glacial, 10% formaldehído, 35% de agua destilada], fueron deshidratadas en alcohol butílico terciario durante 12 h, se embebieron en parafina, se realizaron cortes a 12 μm , se colorearon con safranina y fast-green, las variables morfológicas se midieron en el periodo de floración en agosto de 2011. Se realizó análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba Student-Newman-Keuls (SNK), análisis de componentes principales (ACP) y correlación de Pearson. El 81% de espiguillas presentaron cleistogamia y 19% casmogamia. Existieron diferencias ($P < 0.05$) en la distribución de espiguillas con cleistogamia en la inflorescencia, la base presentó 95%, parte media 83% y parte terminal 64%. Entre regiones, se encontraron diferencias ($P < 0.05$), las poblaciones del Valle de México, Sierra de Órganos y Altiplano presentaron los niveles más altos de cleistogamia, con 86, 86% y 85%, las poblaciones del Valle del Mezquital 80%, Altos de Guanajuato 79% y Llanuras de Ojuelos 76%, presentaron niveles más bajos de cleistogamia. El CP1 explicó 33% de la varianza total; CP2 20% y CP3 11%. Las variables más importantes para CP1 fueron porcentaje y longitud de anteras de las espiguillas con cleistogamia en la base, parte media y terminal de inflorescencia. Para CP2 ramas por inflorescencia, longitud de las ramas, espiguillas por rama de inflorescencia y altura de planta. La longitud de inflorescencia se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la base ($R^2 = 0.34$), parte media ($R^2 = 0.46$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = 0.34$) y negativamente ($P < 0.05$) con longitud de antera en la base ($R^2 = -0.30$), parte media ($R^2 = -0.40$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = -0.37$); mientras que, longitud de antera en la parte terminal se correlacionó negativamente ($P < 0.05$) con el porcentaje total de espiguillas con cleistogamia ($R^2 = -0.31$).

Palabras clave: Cleistogamia, casmogamia, componentes principales.

REPRODUCTIVE BIOLOGY AND MORPHOLOGY INFLORESCENCE OF POPULATIONS *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees

5.2. Abstract

In order to define the reproductive system (cleistogamy or chasmogamy) and its distribution through the inflorescence, and relate it with morphological variables, 40 populations from eight Northern-Central Mexican states were evaluated. Six spikelets from each basal, middle and apical inflorescence parts were cutted in several development stages for each plant, ovaries and pollen sacs were fixed using FAA solution during 24h [50% ethanol, 5% glacial acetic acid, 10% formaldehyde, 35% distilled water], samples were dehydrated using tertiary butilic alcohol during 12h, then paraffin embedded and sliced with 12 μm cuts, colored using saphranin and fast green colorants, inflorescence morphological variables were measured during the flowering period in august 2011. Data analysis was performed using ANOVA and mean comparison through Student-Newman-Keuls (SNK), Principal Components Analysis (ACP) and Pearson's Correlation. Spikelets were cleistogamous at 81% and the remaining chasmogamous. Differences do exist ($P < 0.05$) on spikelet's cleistogamy distribution within the inflorescence; basal part showed 95%, middle part 83% and apical portion 64%. Among regions, differences ($P < 0.05$) were detected, populations from the Valle de México, Sierra de Organos, and Altiplano showed higher cleistogamy levels with 86, 86 and 85%, populations from the Valle del Mezquital 80%, Altos de Guanajuato 79%, and Llanuras de Ojuelos 76%, showed the lower cleistogamy levels. Principal Component one explained 33% of the total variance; CP2 20%, and CP3 11%. The most important variables for CP1 included anthers percentage and length from basal, middle and apical part of the inflorescence's cleistogamic spikelets. For CP2 ramets per inflorescence, ramet's length, and spikelets per ramet, and plant height. Inflorescence length was positively related ($P < 0.05$) with spikelet's basal ($R^2 = 0.34$), middle ($R^2 = 0.46$), and apical ($R^2 = 0.34$) cleistogamy percentage, and negatively ($P < 0.05$) with anther length within the basal ($R^2 = -0.34$), middle ($R^2 = -0.40$) and terminal inflorescence part ($R^2 = -0.37$); by the other hand, anther length within the middle and apical inflorescence portion were negatively related ($P < 0.05$) to total spikelets showing cleistogamy ($R^2 = -0.31$).

Key words: Cleistogamy, chamogamy, principal components.

5.3. Introducción

Leptochloa es un género que comprende aproximadamente 32 especies con 10 subespecies anuales y perennes, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo entre un rango latitudinal aproximado de 48° N y 45° S (Snow, 1997; Snow *et al.*, 2008). Las áreas con mayor riqueza en especies de este género incluye Estados Unidos, México, Tanzania, Etiopia y Australia, siendo *Leptochloa fusca* la especie más diseminada y coincide con los límites latitudinales del género (Snow, 1997). En México, se han encontrado 13 especies de *Leptochloa*: *L. aquatica*, *L. digitatiformis*, *L. dubia*, *L. fascicularis*, *L. filiformis*, *L. nealleyi*, *L. panicoides*, *L. scabra*, *L. univervia*, *L. virgata*, *L. viscida* y se distribuyen principalmente en trópico (Dávila *et al.*, 2006). Las especies del género *Leptochloa* son plantas bisexuales, de espiguillas con flósculos hermafroditas, cleistógamas y casmógamas (Watson y Dallwitz, 1992).

La mayoría de las especies son anuales, pero existen algunas especies perennes como: *Leptochloa acuatica*, *L. caudata*, *L. coerulescens*, *L. malambrica*, *L. fusca*, *L. chinencis* y *L. fascicularis* y se distribuyen en ambientes tropicales húmedos cerca del ecuador, a orillas de estanques de agua; mientras que especies perennes, como *L. dubia* en zonas semiáridas, montañosas de EUA, Mesoamérica y algunas porciones de Sudamérica (Snow, 1997). En el Sur de África *L. eleusine* prefiere suelos bien drenados. Mientras *L. digitata* en Australia y *L. gigantea* en África, crecen en ambientes semihúmedos (Clayton y Renvoize, 1986). *L. fusca* se distribuye en muchos ambientes incluso tiene alta tolerancia a salinidad (Joshi *et al.*, 1983).

Leptochloa dubia (Kunth) Nees es una gramínea nativa, perenne, amacollada que tiene buen valor forrajero, en México se encuentra presente en mesetas, colinas secas, pendientes rocosas, pastizales medianos abiertos del norte del país, zonas de riego del centro, ruderales, áreas costeras, planicies y sabanas del sur (COTECOCA, 1991; Pohl y Davidse, 1994; Cantú, 2011). Se distribuye desde Chiapas hasta Baja California principalmente en regiones templadas, aunque también se ha reportado en trópico (Villaseñor y Espinosa, 1998).

El comportamiento reproductivo de *L. dubia*, es caracterizado por presentar cleistogamia obligada en las espiguillas axilares y cleistogamia facultativa en las espiguillas terminales. En la formación de un saco embrionario (SE) normal proliferan las antípodas; ocasionalmente, ocurre germinación temprana del polen en las anteras y frecuente degradación del polen; después, puede llegar a una etapa trinucleada, este patrón generalmente no se modifica con el nivel de ploidía (Valls, 1978). La biología y morfología floral de *L. dubia* es complicada por tres factores: 1) Ocurrencia facultativa de cleistogamia en las inflorescencias terminales, 2) Temprana degradación de granos de polen bajo algunas circunstancias y 3) Frecuente daño de estructuras florales por insectos en la parte terminal de la inflorescencia (Valls, 1978).

En Poáceas, la cleistogamia es frecuente, se han encontrado 70 géneros y 321 especies de gramíneas. Las regiones con mayor número de gramíneas con cleistogamia es Sudamérica con 39%, Centro y Norteamérica con 19%, Australia y Nueva Zelanda 14% (Campbell *et al.*, 1983). Conocer el sistema reproductivo y estructura genética de los cultivos es indispensable para caracterizar nuevas poblaciones, diseñar programas de mejoramiento genético, mantenimiento varietal y producción de semilla de cualquier especie (Jain, 1975). Las plantas cleistógamas tienen alto grado de homocigosis y las poblaciones están fuertemente estructuradas en líneas puras, mientras que las especies con fecundación cruzada tienen plantas heterocigotas y las poblaciones presentan una importante diversidad genética entre los individuos (Cubero, 2003). Eckstein y Otte (2005), estudiaron el efecto de la cleistogamia y casmogamia en la polinización, producción de semilla, vigor de la descendencia y adaptación en tres ambientes de tres especies en peligro de extinción (*Viola elatior*, *V. pumila*, *V. stagnina*) y concluyeron que la exclusión de insectos polinizadores solo tuvo pequeños efectos sobre la producción de semilla, que las semillas con cleistogamia fueron de menor tamaño que las semillas con casmogamia, el crecimiento de plántulas fue significativamente mayor en las que provenían de semillas con casmogamia, que las de cleistogamia y encontraron depresión exogámica debido a que provienen de poblaciones pequeñas y aisladas. El objetivo fue determinar el tipo de saco

embrionario, sistema reproductivo (cleistogamia o casmogamia), su distribución en la inflorescencia y entre poblaciones agrupadas en regiones donde se colectaron, así como relacionar el sistema reproductivo con características morfológicas de inflorescencia de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

5.4. Materiales y Métodos

5.4.1. Colecta del material vegetal

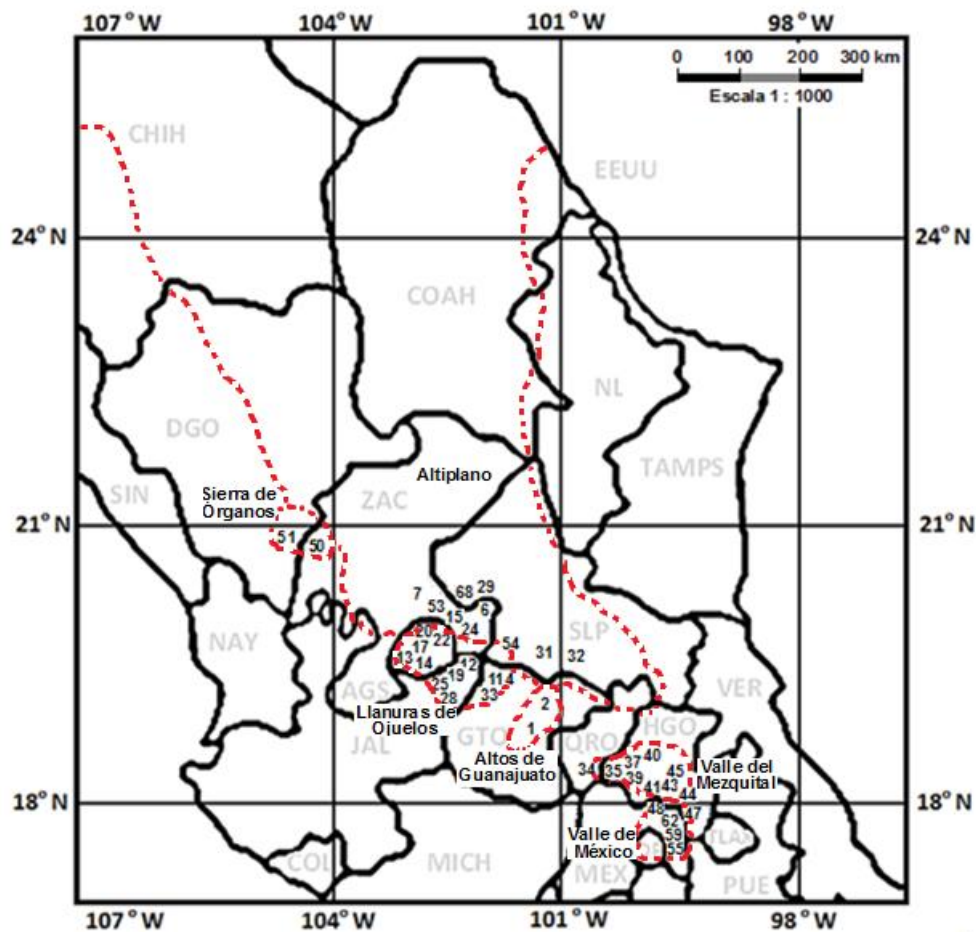
Se evaluaron 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, colectadas en diferentes regiones de ocho estados la República Mexicana (Fig. 5.1), en el área de su distribución natural: Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Jalisco, México, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas, entre los paralelos (19° a 23° N) y 1500 a 2450 msnm. En cada sitio se tomó la latitud, longitud, altitud y se colectó semilla de 10 plantas diferentes y éstas fueron consideradas como una población. Se sembraron semillas de cuatro plantas diferentes por población en charolas de germinación de 200 cavidades llenas con “peat moss” como medio de crecimiento; tres semanas después de la emergencia fueron trasplantadas en macetas de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, utilizando como sustrato tierra, las plantas estuvieron condiciones de invernadero a una temperatura que fluctuaba de 18 a 26 °C y se regaron cada tercer día, hasta alcanzar la floración.

5.4.2. Sacos embrionarios y polínicos

Se cortaron seis espiguillas de la base, seis en parte media y seis en la porción terminal de la inflorescencia, en diferentes estados de desarrollo para cada planta, se extrajeron los ovarios, sacos polínicos y se fijaron en solución FAA durante 24 h [50% etanol, 5% ácido acético glacial, 10% formaldehído a una concentración de 37%, 35% de agua destilada]; las espiguillas fueron deshidratadas en una serie de alcohol butílico terciario al: 30, 50, 70, 100%, etanol 50% y 50% xileno, y xileno al 100% durante 12 h en cada concentración, posteriormente se embebieron en parafina y se realizaron cortes seriados con el micrótomo a 12 µm. Se montaron en portaobjetos y colorearon con safranina y fast-green. Finalmente se

observaron, fotografiaron sacos embrionarios y polínicos de cada una de las preparaciones con un microscopio Axio Imager M1 Zeiss, con cámara integrada AxioCam MRc5 y capturadas las fotografías con el Software Axio Vision 4.6. Las fotografías se editaron en el Software *IngeJ* versión 8.0. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Microhistología del Colegio de Postgraduados y en el Laboratorio de Cruzas Amplias, del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en Texcoco, Edo. de México.

Figura 5.1. Mapa de localización de los sitios de colecta de 40 poblaciones, de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees y regiones donde se ubica cada población.



Estados de México: AGS Aguascalientes, COL Colima, CHIH Chihuahua, COAH Coahuila, DGO Durango, DF Distrito Federal, GTO Guanajuato, HGO Hidalgo, JAL Jalisco, MEX Estado de México, MICH Michoacán, NAY Nayarit, NL Nuevo León, PUE Puebla, QRO Querétaro, SLP San Luis Potosí, SIN Sinaloa, TAMPS Tamaulipas, TLAX Tlaxcala, VER Veracruz, ZAC Zacatecas.

5.4.3. Descriptores morfológicos y reproductivos

Las mediciones fueron realizadas a 40 poblaciones utilizando cuatro plantas por población. La evaluación se realizó cuando las plantas llegaron a su fase reproductiva, se realizó utilizando 14 variables relacionadas con las inflorescencias para correlacionarlas y buscar alguna relación con el sistema reproductivo de cleistogamia o casmogamia (Cuadro 5.1).

Cuadro 5.1. Descriptores morfológicos y reproductivos utilizados para caracterizar 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

Código	Descriptor
AP	Altura de planta (cm)
LI	Longitud de inflorescencia (cm)
NRI	Número de ramas por inflorescencia
LRI	Longitud de ramas de la inflorescencia (cm)
NER	Número de espiguillas por rama
%EBCL	Porcentaje de espiguillas en la base de la inflorescencia con cleistogamia
%EMCL	Porcentaje de espiguillas en la parte media con cleistogamia
%ETCL	Porcentaje de espiguillas de la parte terminal con cleistogamia
LABI	Longitud de anteras de la base de la inflorescencia (μm)
LAMI	Longitud de anteras de la parte media de la inflorescencia (μm)
LATI	Longitud de anteras de la parte terminal de la inflorescencia (μm)
%TECL	Porcentaje total de espiguillas con cleistogamia
LAECL	Longitud de anteras de espiguillas con cleistogamia (μm)
LAECA	Longitud de anteras de espiguillas con casmogamia (μm)

5.4.4. Análisis estadístico

Para determinar diferencias entre los porcentajes de espiguillas con cleistogamia y casmogamia en la base, parte media y terminal de la inflorescencia por regiones geográficas, se realizó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba Student-Newman-Keuls (SAS, 1999). También se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para determinar atributos relevantes a las poblaciones, calculándose los autovalores y autovectores de las variables en cada componente principal. Para visualizar el agrupamiento de las poblaciones y las variables, se realizó la representación en el plano mediante un biplot en base a los dos componentes principales. Para medir el grado de relación entre 17 variables geográficas, morfológicas y reproductivas se realizó un análisis de correlación de Pearson. Los datos se analizaron con el programa estadístico (InfoStat, 2008).

5.5. Resultados y Discusión

5.5.1. Comparación de medias por el método Student-Newman-Keuls (SNK)

El análisis de varianza y la prueba de comparación de medias por el método de Student-Newman-Keuls (SNK), mostraron que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las espiguillas colectadas en la base, parte media y terminal de la inflorescencia en cuanto al porcentaje de espiguillas con cleistogamia y casmogamia, en la base se presentó 4.87% de espiguillas con casmogamia, en la parte media 17.2% y en la parte terminal 35.8% (Cuadro 5.2). El 80.7% de espiguillas presentaron cleistogamia y 19.3% casmogamia. Esto coincide con Valls (1978), quien mencionó que *L. dubia* presenta cleistogamia obligada en la base y en la parte terminal presenta cleistogamia facultativa. Capoino y Rua (2003), encontraron que en *Digitaria bicornis* se presentan espiguillas con cleistogamia y casmogamia en el mismo racimo, 65% de las espiguillas presentaron cleistogamia y 35% casmogamia y encontraron una disminución de la cleistogamia hacia la base de la inflorescencia, pero no encontraron diferencias entre longitud de antera para los dos tipos de espiguillas. Los porcentajes de cleistogamia y casmogamia están influenciados por factores ambientales, lo que aparentemente es una estrategia reproductiva, cuando las plantas se encuentran en condiciones restrictivas aumentan las flores con cleistogamia, para no depender de la polinización cruzada, al examinar las bases moleculares de la cleistogamia y casmogamia en *Arabidopsis thaliana*, se ha reportado que ésta regulada por la expresión de un gen o varios genes cuya expresión se modifica de acuerdo a las condiciones ambientales (Morinaga *et al.*, 2008).

El análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Student-Newman-Keuls (SNK), mostraron que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en porcentajes de cleistogamia y casmogamia entre plantas colectadas en diferentes regiones; las poblaciones colectadas en el Valle de México, Sierra de Órganos y Altiplano presentaron los niveles más altos de cleistogamia con 85.78, 85.78 y 84.85%, respectivamente (Cuadro 5.3). Las poblaciones que presentaron menores porcentajes de espiguillas con cleistogamia fueron del Valle del Mezquital

80.22%, Altos de Guanajuato 78.68% y Llanuras de Ojuelos 75.59%. Los sitios evolutivos de estas poblaciones contrastan en fisiografía y ambiente y durante largos periodos de tiempo, resultó en distintas variantes alélicas para el sistema reproductivo y otros atributos, con el fin de adaptarse a diferentes hábitats (Klug *et al.*, 2006). Tanto la cleistogamia y casmogamia se encuentran reguladas genéticamente pero están influenciadas por factores ambientales; Clay (1982), en *Danthonia spicata* encontró que intervienen varios componentes genéticos y determinó una heredabilidad para estos caracteres, en 52.6%, tanto los porcentajes de cleistogamia como de casmogamia tiene baja heredabilidad.

Cuadro 5.2. Comparación de medias de distribución de cleistogamia y casmogamia en la base, parte media y terminal de la inflorescencia de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco Edo. de México.

Partes de la inflorescencia	% Cleistogamia	% Casmogamia
Base	95.13 A	4.87 C
Media	82.77 B	17.23 B
Terminal	64.17 C	35.83 A
Media	80.69	19.31

A, B, C; Medias con distinta literal entre columnas son diferentes (SNK; P<0.05).

Cuadro 5.3. Comparación de medias del porcentaje de cleistogamia y casmogamia de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas de colectadas, evaluadas en Texcoco Edo. de México.

Regiones	% Cleistogamia	% Casmogamia
Valle de México	85.78 A	14.22 B
Sierra de Órganos	85.78 A	14.22 B
Altiplano	84.85 A	15.15 B
Valle del Mezquital	80.22 B	19.78 A
Altos de Guanajuato	78.68 B	21.32 A
Llanuras de Ojuelos	75.59 B	24.41 A

A, B, C; Medias con distinta literal entre columnas son diferentes (SNK; P<0.05).

Las poblaciones del Valle de México, Sierra de Órganos y Altiplano no presentaron espiguillas con casmogamia en la base de la inflorescencia; en la parte media, presentan hasta 15%, parte terminal entre 20 y 30%, en general presentan menor número de espiguillas con casmogamia (Fig. 5.2). Las poblaciones del Valle del Mezquital, Altos de Guanajuato y Llanuras de Ojuelos presentaron el mayor porcentaje de espiguillas con casmogamia; en la base, de 5 a 10%, en parte media, de 15 a 20% y en la parte terminal de la inflorescencia, entre 30 y 40%. Aunque el porcentaje de cleistogamia y casmogamia se puede modificar por factores ambientales, Clay (1982) en *Danthonia spicata*, al evaluar los porcentajes de cleistogamia y casmogamia en condiciones al aire libre y de invernadero encontró que en el invernadero se incrementó en 12% la cleistogamia.

El desarrollo del saco embrionario (SE) sigue el mismo esquema en todas las poblaciones observadas, incluyendo las plantas diploides y tetraploides, se inicia a partir de la megáspora funcional, originado por mitosis un saco embrionario al principio binucleado; posteriormente ocurren dos divisiones mitóticas pasando a estado 4-nucleado y posteriormente a un saco 8-nucleado. A la madurez, los sacos embrionarios de todas las poblaciones tienen la estructura tipo *Polygonum* (Fig. 5.3; Fig. 5.4), constituidos por dos sinérgidas, oosfera, dos núcleos polares y tres antípodas. Se observó en el 80.7% de los ovarios estudiados y para estadios de desarrollo de antesis o anteriores, el desarrollo del endospermo y embrión, comienza antes que se produzca la antesis, lo que indica que el mecanismo reproductivo dominante es por cleistogamia (Fig. 5.4). Si bien la presencia de cleistogamia ha sido mencionada anteriormente, por otros autores (Valls, 1978; Pohl y Davidse, 1994; Snow, 1997) no se habían realizado estudios en los que se siguiera el proceso de desarrollo de la espiguilla, anteras y saco embrionario de espiguillas cleistógamas y casmógamas antes y después de antesis. Caponio y Pensiero (2002), en un estudio del comportamiento citológico y reproductivo de la especie *Setaria pflanzii*, encontraron que es una especie alotetraploide ($2n=4x=36$), el SE es tipo *Polygonum*, presenta un sistema de reproducción sexual donde predomina la autogamia.

Figura 5.2. Porcentaje de espiguillas con cleistogamia y casmogamia en la base, parte media y terminal de inflorescencias de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, agrupadas en seis regiones geográficas donde fueron colectadas. CL: Cleistogamia (■) Casmogamia CA: (■).

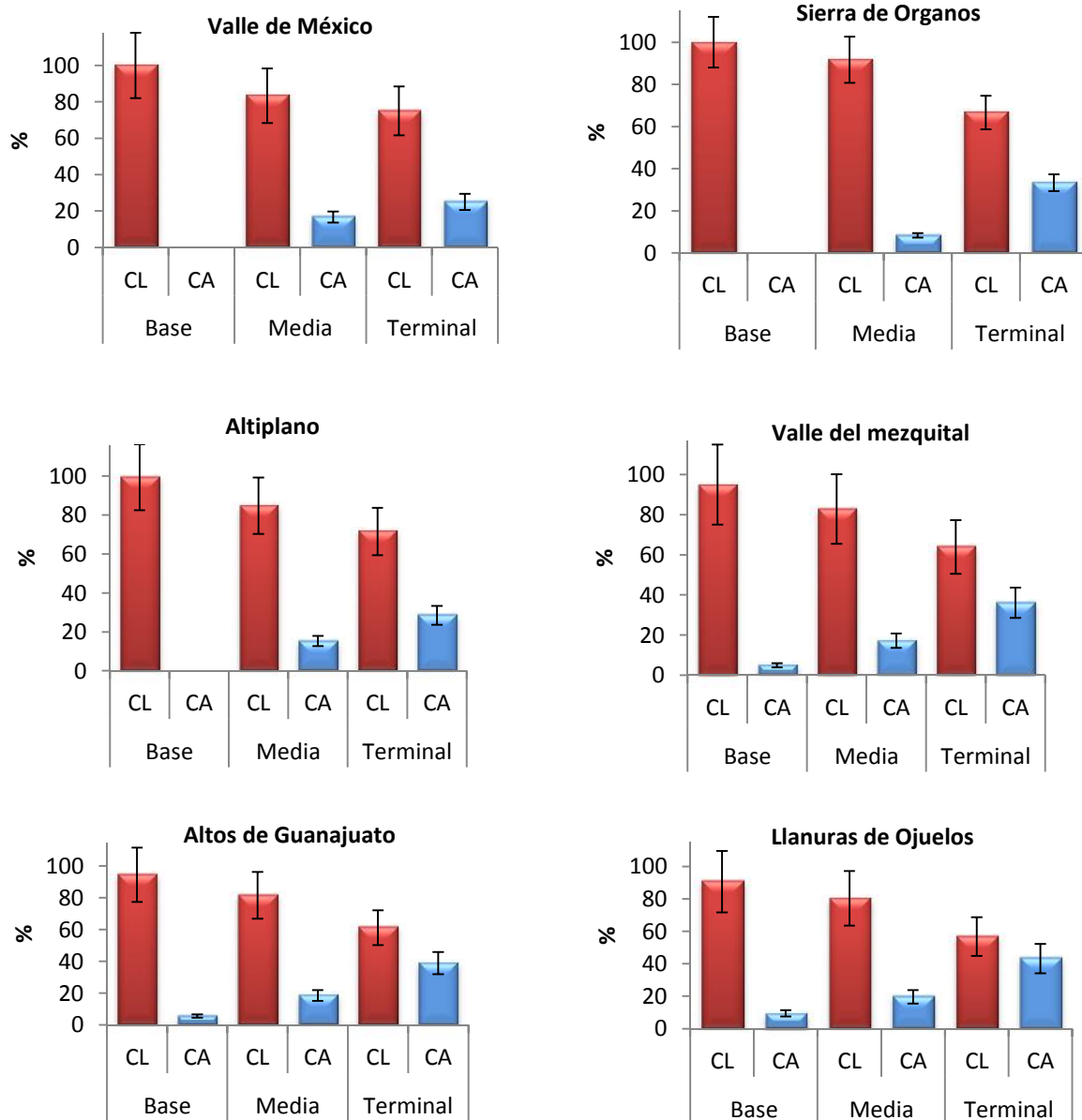
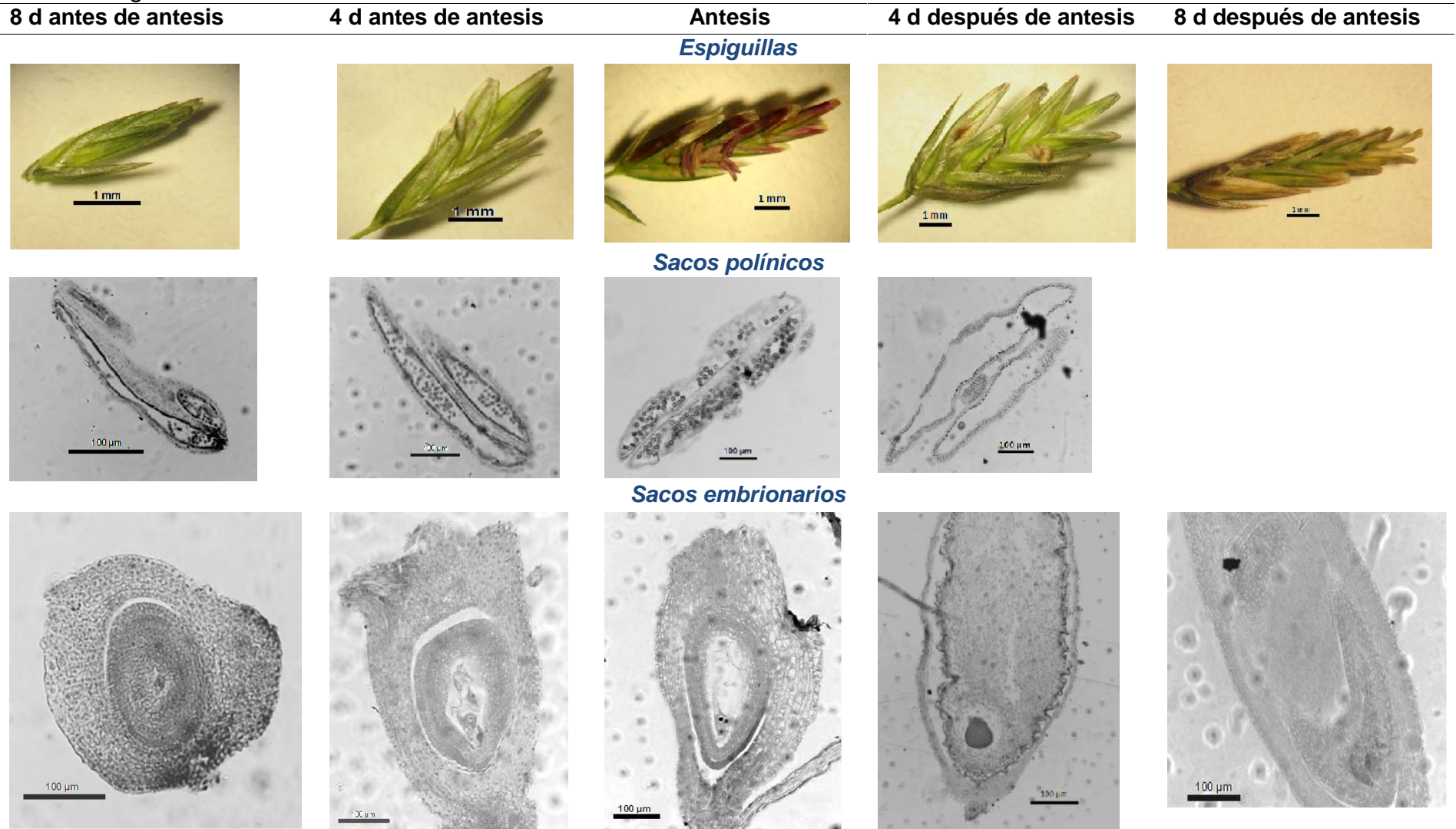
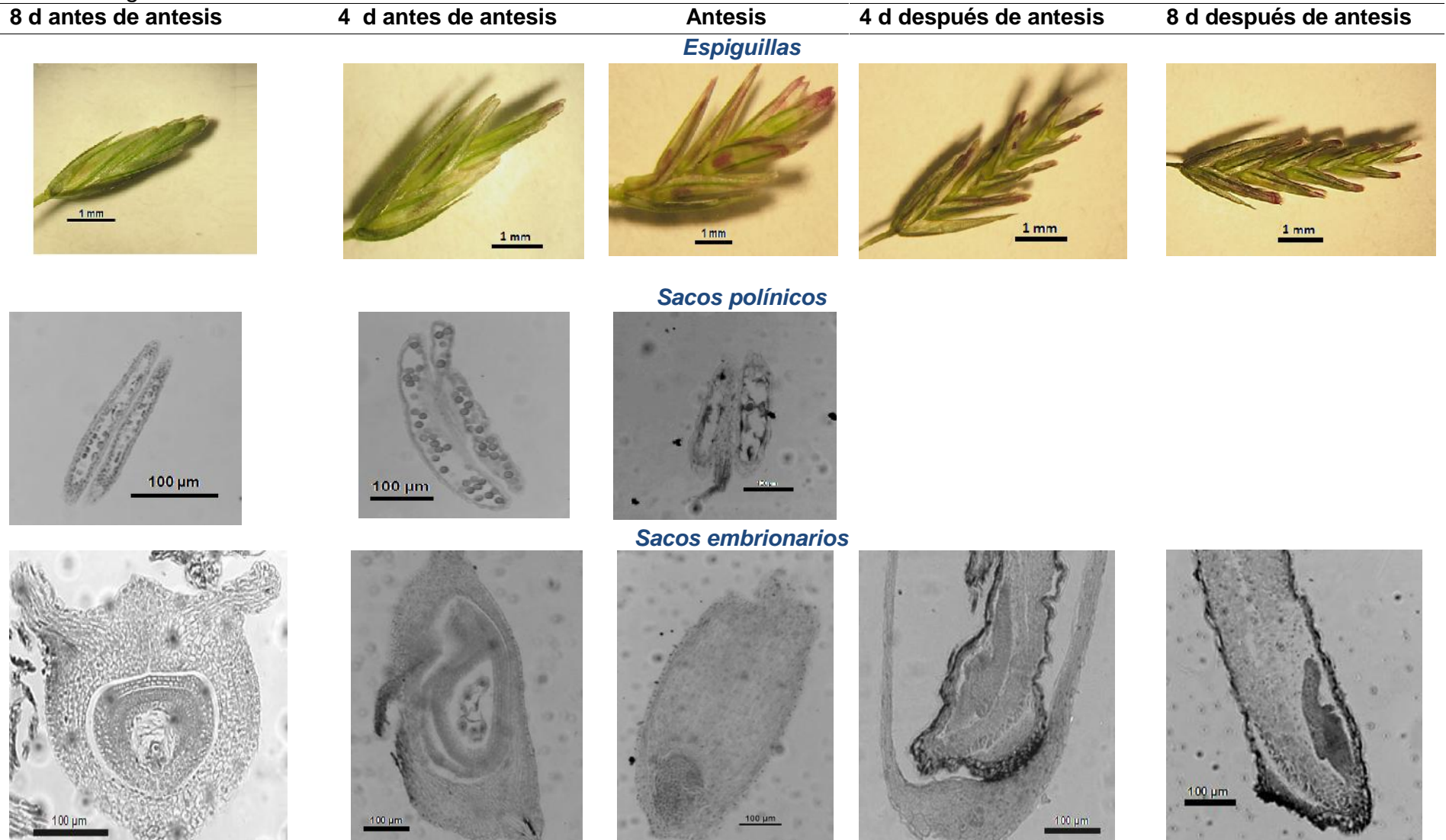


Figura 5.3. Desarrollo* floral, sacos polínicos y embrionarios de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, en espiguillas con casmogamia.



*Anteras fuera de espiguilla, de mayor tamaño y con mayor cantidad de granos de polen. Existe sincronía en el desarrollo, para que la singamia ocurra cercana al momento de antesis.

Figura 5.4. Desarrollo* floral, sacos polínicos y embrionarios de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, en espiguillas con cleistogamia.



*Anteras dentro de espiguilla, de menor tamaño y con menor cantidad de granos de polen. La fecundación ocurre antes que la de las espiguillas casmogámicas.

5.5.2. Análisis de componentes principales (ACP)

Seis componentes principales explicaron 85% de la varianza total (Cuadro 5.4); el primer componente principal (CP1) fue el más importante, su autovalor fue 4.64, explicó 33% de la varianza total; el segundo componente principal (CP2) con un autovalor de 2.85, explicó 20%; tercer componente (CP3) tuvo un autovalor de 1.51, explicó 11% y el cuarto componente (CP4) tuvo un autovalor de 1.13 explica 8% de la varianza total. La varianza que contiene cada CP resultante, es explicada por autovectores de cada variable (Rencher, 2002).

Cuadro 5.4. Componentes Principales resultantes de la matriz de correlación de 14 variables morfológicas y reproductivas, de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.

Componente principal	Valor	Diferencia	Proporción	Acumulada
1	4.64	1.79	0.33	0.33
2	2.85	1.34	0.20	0.53
3	1.51	0.38	0.11	0.64
4	1.13	0.16	0.08	0.72
5	0.97	0.12	0.07	0.79
6	0.85	0.27	0.06	0.85

El CP1 y CP2 en su conjunto explican el 53% de la varianza total. Las variables más importantes del CP1 fueron porcentaje de espiguillas con cleistogamia y longitud de anteras en la base, parte media y terminal de la inflorescencia. Para CP2 número de ramas por inflorescencia, longitud de ramas, espiguillas por ramas de inflorescencia y altura de planta (Cuadro 5.5). Morales *et al.* (2008), al realizar un Análisis de Componentes Principales en características morfológicas de *Bouteloua curtipendula*, encontraron que los tres primeros componentes explicaron el 63.3% de la variación total, para el CP1, las variables más importantes fueron longitud de inflorescencia, diámetro de tallo en la base y diámetro de tallo en la altura media de los hijatos; para el CP2, densidad de tallos, altura de forraje y altura de planta; en el CP3, longitud de ramas, longitud del raquis de la inflorescencia y número de ramas. El CP1 se caracterizó por agrupar variables relacionadas con el tallo; el CP2 reflejó que el

potencial producción de forraje está relacionado con la densidad de tallos y altura de forraje; las variables en el CP3 establecen que la longitud y número de ramas se relacionan con el rendimiento de semilla. Morales *et al.* (2009), al realizar la caracterización morfológica de 177 ecotipos de *Bouteloua gracilis* colectados en Chihuahua, encontraron que los tres primeros componentes principales CP explicaron 57.3% de la variación morfológica. Para el CP1 las variables de mayor contribución en la explicación de la variación morfológica fueron rendimiento de forraje, densidad de tallos y altura de forraje; para CP2, grosor de espigas, longitud de inflorescencia y número de espigas y en el CP3, grosor de tallo, ancho de hoja y longitud de espiga. El CP1 se caracterizó por agrupar variables relacionadas con producción de forraje; mientras que, el CP2 incluyó variables relacionadas con producción de semilla, lo cual refleja rasgos de dispersión y propagación y CP3 reunió variables relacionadas con la calidad forrajera. Por su parte Campbell (1982), evaluó morfológica y citoembriológicamente, once especies del género *Adropogon* que presentan cleistogamia y casmogamia, encontró alta correlación ($P < 0.01$) entre longitud del pedúnculo floral, longitud de la espiguilla y longitud de la antera con un mayor porcentaje de espiguillas con casmogamia.

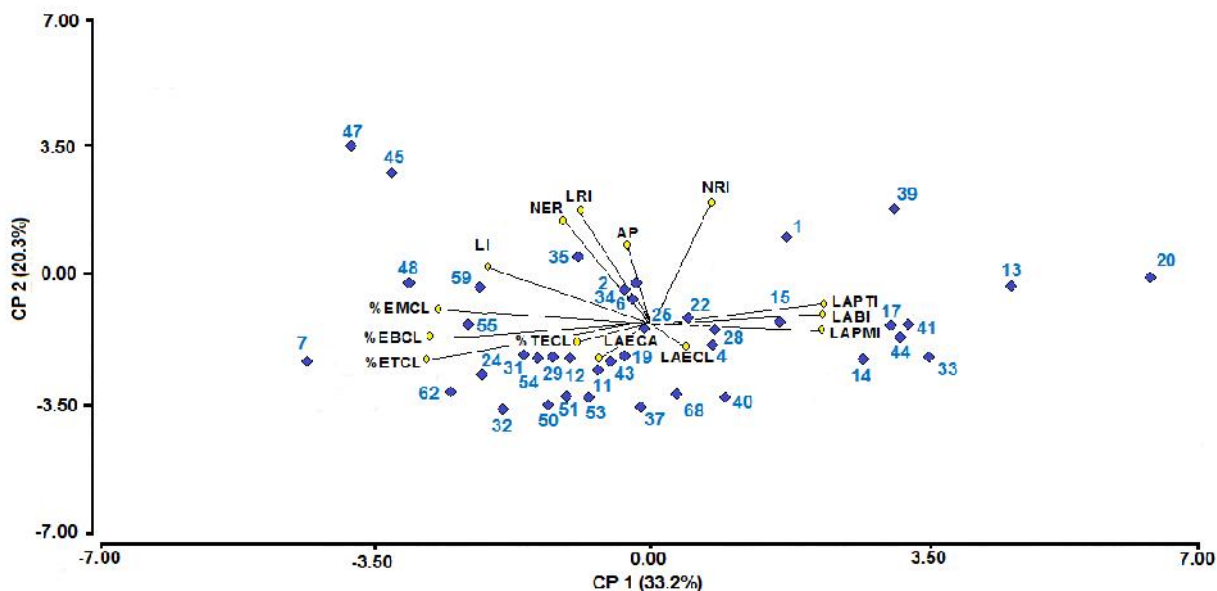
Cuadro 5.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su componente principal de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, evaluadas en Texcoco, Edo. de México.

Variables	CP1	CP2
Altura de planta	-0.04	0.32
Longitud de inflorescencia	-0.27	0.24
Número de ramas por inflorescencia	0.10	0.52
Longitud de ramas de la inflorescencia	-0.12	0.50
Número de espiguillas por rama	-0.15	0.48
Porcentaje de espiguillas en la base de la inflorescencia con CL	-0.39	-0.07
Porcentaje de espiguillas en la parte media con CL	-0.36	0.06
Porcentaje de espiguillas de la parte terminal con CL	-0.40	-0.16
Longitud de anteras de la base de la inflorescencia	0.36	0.06
Longitud de anteras de la parte media de la inflorescencia	0.34	-0.02
Longitud de anteras de la parte terminal de la inflorescencia	0.40	0.13
Porcentaje total de espiguillas con CL	-0.13	-0.09
Longitud de anteras de espiguillas con CL	0.04	-0.07
Longitud de anteras de espiguillas con casmogamia	-0.10	-0.16

CL= Cleistogamia

Se correlacionaron longitud de anteras en la parte terminal, en la base y parte media de inflorescencia; a su vez, estas características se correlacionaron con las poblaciones 17, 41, 44, 14, 13, 20, 15, 22, 1 y 39 (Fig. 5.5). Altura de planta se correlacionó con longitud de ramas de la inflorescencia, número de ramas por inflorescencia y número de espiguillas por rama y éstas se relacionaron con las poblaciones 6, 34, 2, 35, 45 y 47. El porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la base, parte media y terminal de la inflorescencia se correlacionaron con las poblaciones 48, 59, 55 y 7. El porcentaje total de espiguillas con cleistogamia se relacionaron con las poblaciones 31, 24, 62, 54 y 29, la longitud de anteras de espiguillas con casmogamia se asociaron con las poblaciones 12, 19, 32, 43, 11, 50, 51 y 53 y longitud de anteras de espiguillas con cleistogamia se correlacionó con las poblaciones 28, 4, 40, 68 y 37.

Figura 5.5. Distribución espacial de 40 poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees (puntos azules), 14 variables evaluadas (puntos amarillos), elaborado en base a los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).



AP Altura de planta, **LI** Longitud de inflorescencia, **NRI** Número de ramas por inflorescencia, **LRI** Longitud de ramas de la inflorescencia, **NER** Número de espiguillas por rama, **%EBCL** Porcentaje de espiguillas en la base de la inflorescencia con cleistogamia, **%EMCL** Porcentaje de espiguillas en la parte media con cleistogamia, **%ETCL** Porcentaje de espiguillas de la parte terminal de la inflorescencia con cleistogamia, **LABI** Longitud de anteras en la base de la inflorescencia, **LAPMI** Longitud de anteras en la parte media de la inflorescencia, **LAPTI** Longitud de anteras en la parte terminal de la inflorescencia, **%TECL** Porcentaje total de espiguillas con cleistogamia, **LAECL** Longitud de antera de espiguillas con cleistogamia, **LAECA** Longitud de antera de espiguillas con casmogamia.

5.5.3. Correlación de Pearson

El Cuadro 5.6 muestra el análisis de correlación de 17 variables geográficas, morfológicas y reproductivas. Altura de planta se correlacionó positivamente ($P < 0.01$) con longitud de ramas de la inflorescencia ($R^2 = 0.57$). Longitud de inflorescencia se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con longitud de ramas de la inflorescencia ($R^2 = 0.35$), número de espiguillas ($R^2 = 0.54$), porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la base ($R^2 = 0.34$), parte media ($R^2 = 0.46$) y terminal ($R^2 = 0.40$) de la inflorescencia y negativamente con longitud de anteras en la base ($R^2 = -0.30$), parte media ($R^2 = -0.40$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = -0.37$). Número de ramas de la inflorescencia se correlacionó positivamente ($P < 0.01$) con longitud de las ramas de la inflorescencia, número de espiguillas por rama ($R^2 = 0.66$) y negativamente ($P < 0.05$) con porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la parte terminal de la inflorescencia ($R^2 = -0.42$). Porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la base de la inflorescencia se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la parte terminal de la inflorescencia ($R^2 = 0.71$) y negativamente ($P < 0.05$) con longitud de anteras en la base ($R^2 = -0.84$), parte media ($R^2 = -0.49$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = -0.72$). Porcentaje de espiguillas con cleistogamia en la parte terminal de la inflorescencia se correlacionó negativamente ($P < 0.05$) con longitud de anteras en la base ($R^2 = -0.59$), parte media ($R^2 = -0.51$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = -0.91$). Longitud de anteras en la base de la inflorescencia se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con longitud de anteras de las espiguillas en la parte media ($R^2 = 0.47$) y terminal de la inflorescencia ($R^2 = 0.59$). Longitud de anteras de las espiguillas en la parte terminal de la inflorescencia se correlacionó negativamente ($P < 0.05$) con porcentaje total de espiguillas con cleistogamia ($R^2 = -0.31$). Campbell (1982), evaluó morfológica y citoembriológicamente once especies del género *Adropogon* que presentan cleistogamia y casmogamia, encontró alta correlación ($P < 0.01$) entre longitud del pedúnculo floral ($r_s = 64$), longitud de la espiguilla ($r_s = 49$), longitud de la antera ($r_s = 69$), número de granos de polen con longitud de antera ($r_s = 94$), también mencionó que los *Taxa* con alta frecuencia de cleistogamia en la floración, son más exitosos colonizadores en hábitats perturbados, debido a que se autopoliniza con la espiguilla cerrada.

Cuadro 5.6. Matriz de correlación de Pearson entre 17 variables geográficas, morfológicas y reproductivas.

	Latitud	Longitud	Altitud	AP	LI	NRI	LRI	NER	%EBCL	%EMCL	%ETCL	LABI	LAPMI	LAPTI	%TECL	LAECL	LAECA
Latitud	1.00																
Longitud	0.97***	1.00															
Altitud	-0.28	-0.29	1.00														
AP	-0.29	-0.23	-0.09	1.00													
LI	0.15	0.08	0.13	0.12	1.00												
NRI	0.22	0.25	-0.28	0.29	0.13	1.00											
LRI	0.003	0.03	-0.17	0.57**	0.35*	0.66***	1.00										
NER	0.40*	0.36*	-0.15	0.24	0.54**	0.66***	0.67***	1.00									
%EBCL	-0.06	-0.06	0.12	0.12	0.34*	-0.29	0.16	0.11	1.00								
%EMCL	0.17	0.17	0.10	-0.05	0.46**	-0.04	0.26	0.36*	0.49**	1.00							
%ETCL	-0.09	-0.15	0.21	-0.04	0.34*	-0.42*	0.05	0.06	0.71***	0.60***	1.00						
LABI	0.06	0.06	-0.08	-0.13	-0.30*	0.25	-0.10	-0.15	-0.84***	-0.43**	-0.59***	1.00					
LAPMI	-0.18	-0.15	-0.07	0.08	-0.40*	0.11	-0.12	-0.27	-0.49**	-0.82**	-0.51**	0.47**	1.00				
LAPTI	0.06	0.09	-0.08	-0.005	-0.37*	0.33*	-0.09	-0.09	-0.72***	-0.56**	-0.91***	0.59***	0.54**	1.00			
%TECL	-0.25	-0.28	-0.09	-0.04	0.07	-0.15	0.07	-0.03	0.22	0.10	0.27	-0.05	-0.09	-0.31*	1.00		
LAECL	-0.13	-0.14	0.20	-0.02	-0.16	-0.16	-0.07	-0.12	-0.19	0.22	-0.06	0.14	-0.12	0.07	-0.27	1.00	
LAECA	-0.01	-0.02	-0.01	-0.11	0.004	-0.13	-0.14	-0.03	0.13	0.11	0.27	0.22	0.07	-0.23	0.24	-0.03	1.00

AP Altura de planta, **LI** Longitud de inflorescencia, **NRI** Número de ramas por inflorescencia, **LRI** Longitud de ramas de la inflorescencia, **NER** Número de espiguillas por rama, **%EBCL** Porcentaje de espiguillas en la base de la inflorescencia con cleistogamia, **%EMCL** Porcentaje de espiguillas en la parte media con cleistogamia, **%ETCL** Porcentaje de espiguillas de la parte terminal de la inflorescencia con cleistogamia, **LABI** Longitud de anteras en la base de la inflorescencia, **LAPMI** Longitud de anteras en la parte media de la inflorescencia, **LAPTI** Longitud de anteras en la parte terminal de la inflorescencia, **%TECL** Porcentaje total de espiguillas con cleistogamia, **LAECL** Longitud de antera de espiguillas con cleistogamia, **LAECA** Longitud de antera de espiguillas con casmogamia.

*, **, *** Significancia de correlación $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, respectivamente.

5.6. Conclusiones

Leptochloa dubia presenta saco embrionario único tipo *Polygonum* constituidos por dos sinérgidas, oosfera, dos núcleos polares y tres antípodas. El 81% de las espiguillas presentaron cleistogamia y 19% casmogamia. Existieron diferencias en cuanto a la distribución de espiguillas con cleistogamia en la inflorescencia, la base presentó 95%, parte media 83% y parte terminal 64%. Entre regiones, las poblaciones del Valle de México, Sierra de Órganos y Altiplano presentaron los niveles más altos de cleistogamia con 86, 86 y 85%, las poblaciones del Valle del Mezquital 80%, Altos de Guanajuato 79% y Llanuras de Ojuelos 76% presentaron los niveles más bajos de cleistogamia. La longitud de inflorescencia se correlacionó positivamente, con porcentaje de espiguillas con cleistogamia y negativamente con longitud de antera.

5.6. Literatura Citada

- Campbell, C. 1982. Cleistogamy in *Andropogon* L. (Gramineae). Amer. J. Bot. 69: 1625-1635.
- Campbell, C., J. A. Quinn, G. P. Cheplick, and T. J. Bell. 1983. Cleistogamy in grasses. Ann. Rev. Ecol. Syst. 14: 411-441.
- Cantú, B. J. E. 2011. Manejo y mejoramiento de pastizales. Ed. Doble Hélice. Chihuahua, Méx. 320 p.
- Caponio, I., y J. F. Pensiero. 2002. Comportamiento citológico y reproductivo de *Setaria pflanzii* (Poaceae). Darwiniana. 40: 17-23.
- Caponio, I., y G. H. Rua. 2003. Biología reproductiva de *Digitaria bicornis*, una maleza frecuente en los cultivos del nordeste de la Argentina. Rev. Cient. Agropecuaria. 7: 21-27.
- Clay, K. 1982. Environmental and genetic determinants of cleistogamy in a natural population of the grass *Danthonia spicata*. Evolution. 36: 734-741.
- Clayton, W. D., and S. A. Renvoize. 1986. Genera graminum: Grasses of the World. Kew Bull., Addit. Royal Botanic Gardens, Kew. 13: 1-389

- Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero (COTECOCA). 1991. Las Gramíneas de México. Tomo III. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. 332 p.
- Cubero, J. I. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. Ed. Mundi-Prensa. Segunda Edición. Madrid, España. 569 p.
- Dávila, P., M. T. Mejía-Saulés, M. Gómez-Sánchez, J. Valdés-Reyna, J. J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón, y A. Ocampo. 2006. Catálogo de las gramíneas de México. UNAM-CONABIO. México. 671 p.
- Eckstein, R. L., and A. Otte. 2005. Effects of cleistogamy and pollen source on seed production and offspring performance in three endangered violets. *Basic and Applied Ecology*. 6: 339-350.
- InfoStat. 2008. Manual del usuario. Ed. Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Jain, S. K. 1975. Population structure and the effects of breeding systems. In: Frankel, O. H. and J. G. Hawkes. *Crop genetics resources for today and tomorrow*. Cambridge University Press. pp: 15-36.
- Joshi, Y. C., R. S. Dwivedi, A. R. Bal, and A. Qadar. 1983. Salt excretion by glands in *Diplachne fusca* (Linn.) Indian J. Plant Physiol. 26: 203-208.
- Klug, W. S., M. R. Cummings, y C. A. Spencer. 2006. Conceptos de genética. 8ª. Edición. Pearson Prentice Hall. España. 884 p.
- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, P. J. Pérez, G. A. Hernández, y O. Le Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia*. 42: 767-775.
- Morales, N. C. R., P. L. Madrid, C. A. Melgoza, S. M. Martínez, G. S. Arevalo, C. Q. Rascón, y G. P. Jurado. 2009. Análisis morfológico de la diversidad del pasto Navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. *Téc. Pecu. Méx.* 47: 245-256.
- Morinaga, S. I., A. J. Nagano, S. Miyazaki, M. Kubo, T. Demura, H. Fukoda, S. Sakai, and M. Hasebe. 2008. Ecogenomics of cleistogamous and chasmogamous flowering: genome-wide gene expression patterns from cross-species microarray analysis in *Cardamine kokaiensis* (Brassicaceae). *J. Ecology*. 96: 1086-1097.
- Pohl, R. W., y G. Davidse. 1994. *Leptochloa*. En: G. Davidse, M. Sousa S&A. O. Chater (eds.). *Flora Mesoamericana*. Vol. 6. Alismataceae a Cyperaceae.

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. México, D. F. pp: 335-352.

- Rencher, A. C. 2002. Methods of multivariate analysis. Second Edition. Wiley-Interscience. USA. 708 p.
- SAS. 1999. User's guide. Statistics, version 6. Sixth edition. SAS Inc. Cary, North Carolina, USA. 1686 p
- Snow, N. 1997. Phylogeny and systematics of *Leptochloa* P. Beauv. sensu lato (Poaceae: Chloridoideae). Ph. D. dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri. 506 p.
- Snow, N., P. M. Peterson, and D. C. Giraldo. 2008. *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae) in Colombia. J. Bot. Res. Inst. Texas. 2: 86-874.
- Valls, J. M. F. 1978. A biosystematic study of *Leptochloa* with special emphasis on *Leptochloa dubia* (Graminae:Chlorideae). Ph. D. Thesis. Texas A&M. Univ., College Station. Texas, EEUU. 205 p.
- Villaseñor, R. J. L., y F. J. Espinosa. 1998. Catálogo de malezas de México. UNAM. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 449 p.
- Watson, L., and M. Dallwitz. 1992. The grass genera of the World. Cab International. Cambridge, UK.1063 p.

CAPÍTULO VI

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA, CITOLÓGICA Y VALOR NUTRITIVO DE SIETE NUEVOS GENOTIPOS DE PASTO BUFFEL (*Cenchrus ciliaris* L.) Y UN CULTIVAR TOLERANTES A FRÍO

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA, CITOLÓGICA Y VALOR NUTRITIVO DE SIETE NUEVOS GENOTIPOS DE PASTO BUFFEL (*Cenchrus ciliaris* L.) Y UN CULTIVAR TOLERANTES A FRÍO

6.1. Resumen

En 2006 fueron sembrados 36 genotipos de *Cenchrus ciliaris* L. en el Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, introducidos de África y se evaluaron para tolerancia al frío, los siete genotipos que presentaron mejor adaptación, se caracterizaron por su morfología, citología, sistema reproductivo, valor nutritivo y se compararon con el cultivar comercial Buffel "Frío". Todos los genotipos presentan múltiples sacos embrionarios lo que indica que se reproducen por apomixis apospórica. Los datos se analizaron por medio de Componentes Principales (CP) y Conglomerados Jerárquicos (CJ). Los siete genotipos seleccionados fueron tetraploides ($2n=4x=36$) y el cultivar Frío pentaploide ($2n=5x=45$). Los tres primeros componentes explicaron 79% de la variación total. El CP1 explicó 49%, CP2 22% y CP3 9% de la variación total. Para CP1 las variables más importantes fueron: altura de planta, longitud de inflorescencia, altura de forraje, FDN, FDA, lignina, materia seca total y de tallos. Para CP2 fue materia seca de hojas, digestibilidad *in vitro* de MS, relación hoja:tallo y cenizas. Las variables altura de planta, altura de forraje, diámetro de tallo, largo de inflorescencia, materia seca de tallos y total se correlacionaron positivamente ($P<0.05$) con FDN, FDA y lignina pero, negativamente, con relación hoja:tallo, Proteína Cruda y digestibilidad *in vitro* de MS. Los ocho genotipos se clasificaron en tres grupos: grupo uno se formó por los genotipos B-1, B-2, B-4, B-5 y B-6 se asociaron positivamente con rendimiento de MST, pero negativamente con variables de calidad; grupo dos se formó por los genotipos B-3 y B-Frío se asociaron con variables de calidad del forraje, aunque presentaron menor rendimiento de MST, el grupo tres se formó por B-7 presentó características asociadas con la inflorescencia y rendimiento de semilla.

Palabras clave: Caracterización morfológica, caracterización citológica, componentes principales.

MORPHOLOGICAL DIVERSITY, CYTOLOGICAL AND NUTRITIVE VALUE OF SEVEN NEW GENOTYPES OF BUFFELGRASS (*Cenchrus ciliaris* L.) AND CULTIVAR COLD TOLERANT

6.2. Abstract

Thirty six genotypes were established through transplanting during 2006 at the Colegio de Postgraduados research area at the Campus San Luis Potosí. Plant material was original from Africa and evaluated for cold tolerance. Seven cold tolerant genotypes were characterized for morphology, cytology, reproductive system and nutritive value, and compared with the commercial cultivar Frio. Data was analyzed through Principal Component Analysis (PCA) as well as Ordered Clustering. All the seven cold tolerant genotypes were tetraploid ($2n=4x=36$) and the Frio cultivar was pentaploid ($2n=5x=45$). All genotypes have multiple embryo sacs which indicate that reproduce by apomixis aposporica. The three first Components explained 79% of total variability. From total variability, CP1 explained 49%, CP2 22%, and CP3 9%. For CP1 the most important variables included: plant height, flower length, forage height, NDF, ADF, lignin, total dry matter and stem dry matter. The most important variables for CP2 included: leaf dry matter, *in vitro* digestibility, leaf:stem relation and ashes. Plant height, forage height, stem diameter, inflorescence length, stem dry matter, and total dry matter were positively correlated ($P<0.05$) to NDF, ADF and lignin but negatively to leaf:stem ratio, PC content, and *in vitro* digestibility. The eight evaluated genotypes defined three groups: Group one included B-1, B-2, B-4, B-5, and B-6, and was positively associated to total dry matter production and negatively related to forage quality variables. Group two was conformed for genotypes B-3 and Frio and was associated to forage quality attributes; although showed lower total forage production. Group three only included genotype B-7 which shown good relation with attributes related to the inflorescence and seed yield.

Key words: Morphological characterization, cytological characterization, principal components.

6.3. Introducción

El pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) es una gramínea de crecimiento amacollado o rizomatoso, perenne, C₄, originaria de África (Hatch y Hussey, 1991; Quero *et al.*, 2010), se encuentra distribuido en regiones subtropicales, áridas y semiáridas de África, Arabia, Pakistán, India, Australia, México, sur de Estados Unidos, Centroamérica, Este de Brasil y norte de Argentina, en mayor proporción en regiones secas; crece en regiones con regímenes pluviométricos superiores a 350 mm, en altitudes desde nivel del mar hasta 2500 msnm (Bogdan, 1997; Mansoor *et al.*, 2002; Marshall *et al.*, 2011).

Esta gramínea fue introducida a México en la década de 1950 a regiones áridas y semiáridas y sin heladas, ya que posee buena adaptación a condiciones de sequía, y excelente rendimiento de materia seca (MS); actualmente, se cultivan más de 4 millones de hectáreas (Alcalá, 1995; Martín *et al.*, 1995) y se cosechan anualmente 7.2 millones t MS, que en su mayoría provienen de un sólo genotipo el Común T-4464 ó Americano (Villegas *et al.*, 2001). Sin embargo, una de las principales limitantes para el establecimiento y crecimiento del pasto Buffel, es la baja tolerancia al frío, en localidades montañosas del altiplano, norte y centro de México, en donde la temperatura mínima promedio del mes más frío es menor a 5 °C (Ibarra *et al.*, 2011).

Es muy importante caracterizar nuevos genotipos de especies forrajeras en base a su morfología, citología, sistema reproductivo y valor nutritivo, para compararlos con los existentes, así como detectar características sobresalientes y usos potenciales (Schultze-Kraft, 1990). Los caracteres morfológicos pueden ser la forma de hoja, raíz, tallo, inflorescencia, fruto, forma de semilla, tipo de crecimiento, y el objetivo de caracterizar es proveer información sobre el potencial de producción del germoplasma colectado o conservado, y es necesario contar con esta información para iniciar un programa de mejoramiento (Franco e Hidalgo, 2003).

El conocimiento citológico acerca del número cromosómico, nivel de ploidía y sistema reproductivo es indispensable para planear esquemas de cruzamiento y

mejoramiento genético de las plantas y de gran ayuda en los estudios morfológicos, taxonómicos y filogenéticos (Mayers, 1947; Burson y Bennett, 1971). El número cromosómico reportado para el pasto Buffel tiene un rango de 32 a 52, pero la mayoría de los genotipos son tetraploides $2n=4x=36$ (Fisher *et al.*, 1954; Hignight *et al.*, 1991; Visser *et al.*, 2000). Observaciones citológicas indican que los 36 cromosomas de los genotipos tetraploides son de origen alotetraploides con 10 a 14 bivalentes y 2 a 4 cuadrivalentes en diacinesis (Fisher *et al.*, 1954; Snyder *et al.*, 1955). A pesar de que la formación del uso acromático y la citocinesis parecen normales, en los univalentes del 1 al 5 se ha observado que sufren ocasionalmente un retraso en el anafase I (Higniht *et al.*, 1991). El pasto Buffel se reproduce principalmente por apomixis apospórica tipo *Panicum* [originalmente descrita en *Panicum maximum* (Warmke, 1954)], en donde el gametofito se origina de una célula somática, no reducida, que se divide mitóticamente solamente dos veces, para dar origen a sacos embrionarios con cuatro núcleos (en vez de ocho como en la reproducción sexual típica) (Asker y Jerling, 1992; Sherwood y Gustine, 1994).

Una de las limitantes del uso del pasto Buffel en zonas áridas ha sido la baja calidad del forraje durante el otoño; por tanto, conocer el valor nutritivo de nuevos genotipos, es importante para compararlos y determinar si cumplen con las necesidades nutricionales del animal o si es necesario suplementar algún nutriente (Gómez, 2005). Para el pasto Buffel, se han reportado valores de digestibilidad *in vitro* de MS de 40 a 60%, proteína cruda de 19% en crecimiento activo, 11% en formación de espigas, 8% en madurez vegetativa y 2 a 4% durante la sequía (Woodward, 1980; Hussey y Bashaw, 1985; García *et al.*, 2003; Arshadullah *et al.*, 2011). Sin embargo, se ha encontrado variación en cuanto a producción de materia seca y calidad nutritiva entre genotipos de pasto Buffel. García *et al.* (2007), evaluaron cinco nuevas líneas y la variedad Nueces de pasto Buffel, encontraron diferencias ($P<0.05$) en cuanto a producción de MS ha^{-1} , desde 6 a 10 t ha^{-1} , proteína cruda de 8 a 9.6%, celulosa (36.7 a 42.3%), hemicelulosa (18 a 24%) y lignina (3.3 a 6%). Arshadullah *et al.* (2011), compararon la producción y calidad nutritiva de forraje de cinco genotipos de pasto Buffel, encontraron amplia

variación ($P < 0.05$) de 5.2 a 7 t ha⁻¹ de MS, proteína cruda de 4.5 a 9.2%, fibra cruda de 33.2 a 43.8% y nutrientes digestibles totales de 51.5 a 55.2%. En la actualidad, los atributos que más se buscan al caracterizar el germoplasma de gramíneas forrajeras, es que sean de buena calidad y resistencia a condiciones ambientales restrictivas de producción (Christinck *et al.*, 2000).

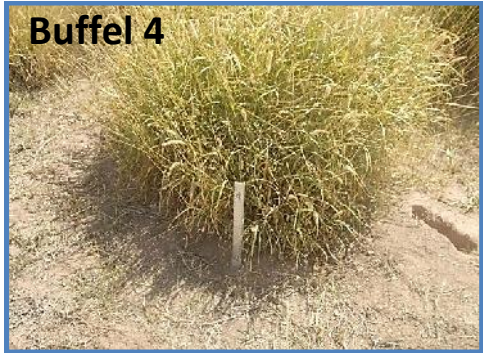
La mayoría de los genotipos disponibles de pasto Buffel sufren daños en otoño e invierno por sequía y bajas temperaturas, afectando la producción, calidad y persistencia de las praderas (Hussey y Bashaw, 1996). A pesar de que existen variedades que han sido seleccionadas para tolerancia al frío como: Zaragoza-115, Llano, Nueces y Frío, no han cumplido con las expectativas de los ganaderos (Ibarra *et al.*, 2011), de ahí la importancia de generar nuevos genotipos de pasto Buffel que superen a los existentes. Por tanto, los objetivos de esta investigación fueron caracterizar la diversidad de siete nuevos genotipos tolerantes al frío, mediante el número cromosómico, nivel de ploidía, sistema reproductivo, morfología, valor nutritivo y compararlos con el cultivar comercial “Frío”.

6.4. Materiales y Métodos

6.4.1. Obtención de genotipos

En 2006 fueron sembrados 36 genotipos silvestres de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), provenientes del Instituto Internacional de Ganadería para África (ILCA) de Etiopia, colectados en África del Este, establecidos en el área agrícola experimental del Colegio de Postgraduados, *Campus* San Luis Potosí, situado a 22° 37' N y 101° 42' O a 2083 msnm, la temperatura mínima promedio fue 8.2 y máxima 25 °C; precipitación anual de 337 mm, con un periodo largo de heladas en otoño e invierno. Después de cinco años de evaluaciones agronómicas en condiciones de temporal bajo sequías prolongadas y heladas con temperaturas mínimas extremas de -15 °C, siete de estos genotipos se seleccionaron por presentar buenos atributos agronómicos, tolerancia a la sequía y frío y se compararon con el cultivar comercial “Frío” (Fig. 6.1; Cuadro 6.1).

Figura 6.1. Genotipos de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) tolerantes a frío.



6.4.2. Conteos cromosómicos

Diez semillas por genotipo fueron germinadas en cajas de Petri con papel filtro, éstas fueron mantenidas a temperatura ambiente bajo condiciones de oscuridad por 5 ó 6 días. Después, cuando las radículas tuvieron una longitud de 1.5 a 2 cm, se colectaron sus puntas en crecimiento activo (5 a 10 mm). Cinco muestras por genotipo, fueron tratadas con 8-hidroxiquinolina (2 mM) a temperatura ambiente (18 a 24 °C) durante 4 h; posteriormente, se fijaron en solución 3:1 (v/v alcohol absoluto: ácido acético glacial), se conservaron en refrigeración a 4 °C, hasta su evaluación al microscopio (García, 1990). Al momento de observar los cromosomas al microscopio óptico, se cortó la punta de la raíz (2 ó 3 mm) y se hirvieron en ácido acético al 45% por 30 s, se separó la masa celular y se colocó sobre un portaobjetos con una gota de ácido acético al 45% y una gota de rojo carmín al 2% (v/v); enseguida, se ejerció presión uniforme con el dedo pulgar sobre el cubreobjeto, para que los cromosomas se dispersen, se hicieron los recuentos cromosómicos al menos en cinco preparaciones y diez células metafásicas por preparación por planta, con el objetivo de inmersión 100x con contraste de fases (García, 1990; Valladolid *et al.*, 2004). El trabajo se realizó en el Laboratorio de Cruzas Amplias del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en el Batán, Texcoco, Edo. de México.

6.4.3. Sacos embrionarios

Para el estudio citoembriológico se fijaron inflorescencias previo a la anthesis, en soluciones de alcohol al: 30, 50, 70, 85 y 100% durante 12 h en cada concentración. Los ovarios se deshidrataron en una serie de alcohol 50% y 50% xileno, y xileno al 100% por 12 h; posteriormente, se embebieron en parafina y se hicieron cortes seriados con el micrótomo a 12 µm. Se montaron en portaobjetos y se colorearon con safranina y fast-green. Finalmente, se observaron y fotografiaron los cortes de los sacos embrionarios, con un microscopio Axio Imager M1 Zeiss, con cámara integrada AxioCam MRc5 y capturadas las fotografías con el Software Axio Vision 4.6. Las fotografías se editaron con el software *IngeJ* versión 8.0. La eventual presencia de uno o más sacos

apospóricos por óvulo indicaría que la planta está genéticamente capacitada para la reproducción apomíctica. Este experimento se realizó en el Laboratorio de Microhistología del Colegio de Postgraduados y en el Laboratorio de Cruzas Amplias del CIMMYT.

Cuadro 6.1. Sitio de colecta, estatus, altitud de origen, número de cromosomas, nivel de ploidía y sistema reproductivo de los ocho genotipos evaluados de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L).

No. de genotipo	Área de colecta	Estatus	Altitud (msnm)	No. de cromosomas	Ploidía	Sistema reproductivo
B – 1	Shewa, Etiopia	Silvestre	1530	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 2	Shewa, Etiopia	Silvestre	1760	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 3	Sidamo, Etiopia	Silvestre	1600	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 4	Sodo, Etiopia	Silvestre	1700	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 5	Alaba, Etiopia	Silvestre	1750	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 6	Arsi, Etiopia	Silvestre	1670	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B – 7	Muranga, Kenia	Silvestre	1530	36	2n = 4x = 36	Aposporia
B - Frío*	--	Cultivar	--	45	2n = 5x = 45	Aposporia

*Cultivar liberado por la USDA-ARS en 1999, bajo las denominaciones T-704, T-409704 y 409704 (Hussey y Burson, 1999).

6.4.4. Caracteres morfológicos y químicos

Las variables morfológicas y químicas utilizadas en la caracterización, de pasto Buffel son las mismas que fueron reportadas como las de mayor importancia forrajera y valor nutritivo (Cuadro 6.2; Wouw *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2008). Las mediciones se realizaron a todos los genotipos con tres repeticiones por genotipo. La evaluación morfológica se realizó, en etapa reproductiva a la misma edad de rebrote. En condiciones de campo, la primera precipitación pluvial apreciable se presentó el 29 de junio de 2011, con lo que inicio el crecimiento del pasto. La toma de datos se realizó el 29 de septiembre de 2011, cuando finalizó el periodo de lluvias, a los 93 días de rebrote, se midieron atributos del tallo, hojas e inflorescencia; posteriormente, se cortó el forraje a ras de suelo para determinar la producción de Materia Seca total y sus componentes. La precipitación acumulada entre 29 de junio y el 29 de septiembre de 2011 fue de 133 mm, concentrándose el 73% en septiembre (INIFAP, 2012).

El forraje cosechado se lavó y separó en hojas, tallos e inflorescencias. Una parte de este material (100 g) se llevó al Laboratorio de Nutrición de la Universidad Autónoma Chapingo, en donde se determinó el contenido de humedad, proteína cruda (PC) y cenizas (CNS; AOAC, 1995), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (LIG) y digestibilidad *in vitro* de MS (DIV) por la técnica Goëring y Van Soest (1970), con tres repeticiones por genotipo. Se calculó el rendimiento por hectárea de hojas, tallos, inflorescencia, material muerto, total y la relación hoja:tallo.

Cuadro 6.2. Descriptores morfológicos y químicos, utilizados para caracterizar ocho genotipos de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) tolerantes a frío.

Código	Descriptores	Código	Descriptores
AP	Altura de planta (cm)	PMS	Peso de mil semillas (mg)
AF	Altura del forraje (cm)	MST	Materia seca total (g)
DT	Densidad de tallos m ²	MSH	Materia seca de hojas (g)
DTB	Diámetro de tallo en la base (mm)	MSTA	Materia seca de tallos (g)
DTM	Diámetro de tallo en la parte media (mm)	MSI	MS de inflorescencia (g)
ALH	Ancho de lámina de la hoja central (mm)	RHT	Relación hoja:tallo
LLH	Longitud de lámina de hoja central (cm)	PC	Proteína cruda
LI	Longitud de inflorescencia (cm)	FDN	Fibra detergente neutro
LDI	Longitud del involucro (cm)	FDA	Fibra detergente ácido
FDI	Fusión del involucro (mm)	LIG	Lignina
NI	Número de involucros por inflorescencia	DIV	Digestibilidad <i>in vitro</i> de MS
DM	Diámetro del macollo (cm)	CNS	Cenizas

6.4.5. Análisis estadístico

Para analizar los datos de los valores estandarizados de las variables, se usó el software InfoStat, (2008). Se analizó la matriz de correlación del ACP de 18 variables morfológicas y seis químicas, de los ocho genotipos de pasto Buffel tolerantes al frío. Así mismo, se utilizó el Análisis de Componentes Principales para determinar atributos relevantes a los genotipos, calculándose los autovalores, autovectores y el coeficiente de determinación (R^2) de las variables, en cada componente principal. Para visualizar el agrupamiento de los genotipos y las variables, se realizó la representación en el plano mediante un biplot en base a los dos componentes principales. Además, se realizó un Análisis de Conglomerados

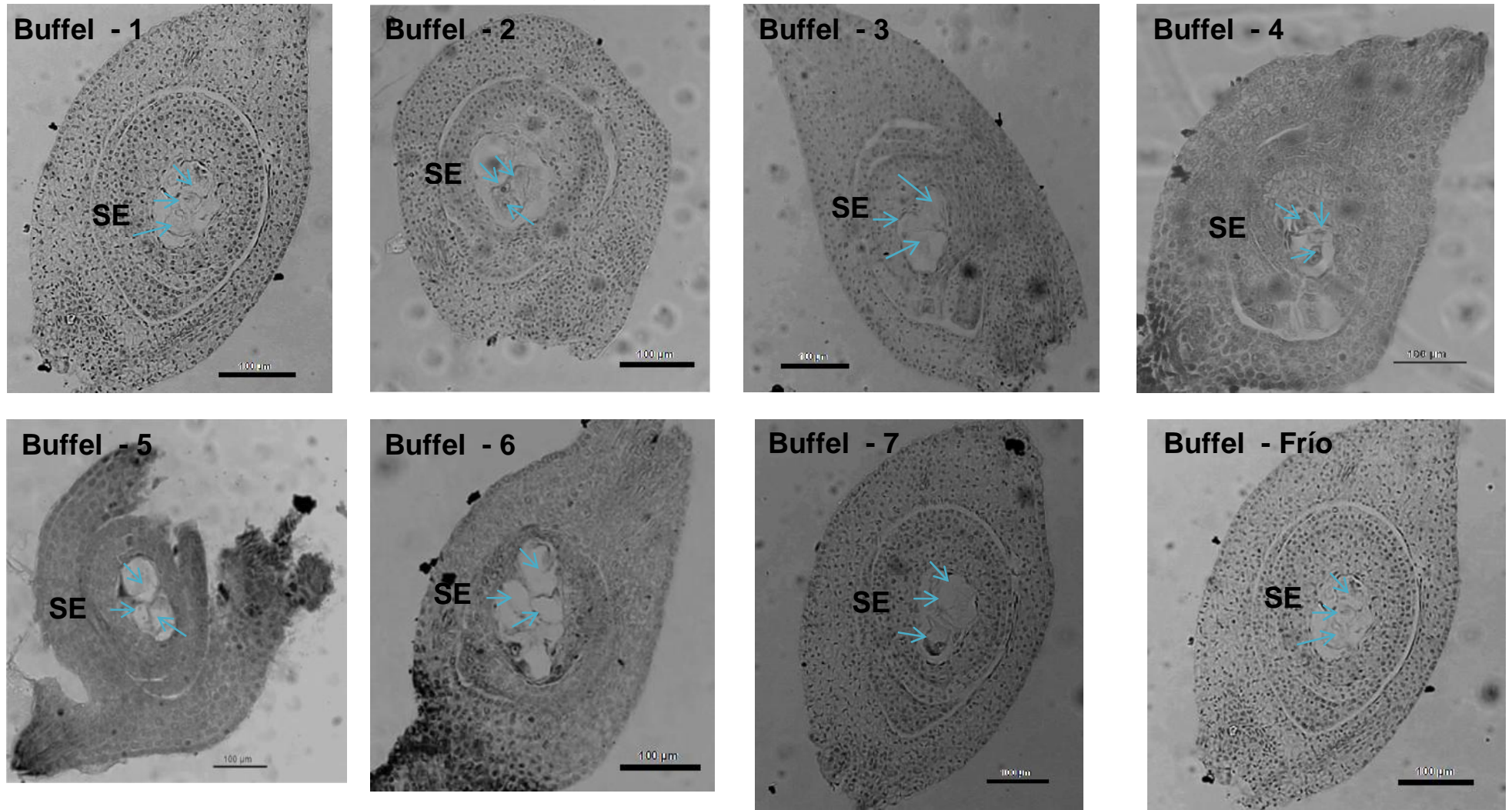
Jerárquicos con el fin de clasificar y agrupar los genotipos en base a su similitud. Se comparó el rendimiento por componentes, total, relación hoja:tallo y contenido nutricional de tallos y hojas mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones, para comparar las medias se utilizó la prueba de Tukey y se analizó con el programa estadístico (SAS, 1999).

6.5. Resultados y Discusión

6.5.1. Caracterización citológica y reproductiva

La caracterización citológica reveló diferentes niveles de ploidía, los siete genotipos fueron tetraploides ($2n=4x=36$) y el cultivar de Buffel “Frío” fue pentaploide ($2n=5x=45$; Cuadro 6.1), lo que indica que todos son apomícticos; sin embargo, existen evidencias (Hignight *et al.*, 1991; Visser *et al.*, 2000), de que genotipos tetraploides y pentaploides presentan niveles muy bajos de apomixis facultativa, lo que podría explicar las variaciones morfológicas y químicas observadas entre genotipos tetraploides (Fig. 6.1). El diferente nivel de ploidía entre el Buffel “Frío”, generado de fecundación de una célula huevo no reducida y polen reducido normalmente ($2n+n=4x+x=36+9$) y los siete genotipos podrían explicar diferencias morfológicas en altura de planta, longitud de inflorescencia y producción de forraje; sin embargo, probablemente no sea la razón principal de estas diferencias, porque existe mayor variación entre genotipos tetraploides, lo que sugiere que provienen de poblaciones diferentes. Todos los genotipos presentan sacos embrionarios (SE) múltiples (Fig. 6.2), lo que indica la presencia de apomixis apospórica tipo *Panicum* (Burson, 1994), con dos sinérgidas, una ovocélula no reducida, un núcleo polar y ausencia de antípodas (Winger, 1984). En la apomixis facultativa (Hignight *et al.*, 1991) se desarrollan de manera simultánea SE sexuales y apomícticos en un mismo ovario, los SE sexuales son de menor tamaño y degeneran por madurez tardía normalmente, lo que promueve el desarrollo de sacos embrionarios de mayor tamaño que son los apospóricos (Burson, 1994; Savidan, 2000).

Figura 6.2. Sacos embrionarios de siete nuevos genotipos y el cultivar “Frío” de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.)



SE: Sacos embrionarios. Cada flecha indica la ubicación de un saco embrionario.

6.5.2. Análisis de componentes principales (ACP)

El análisis de correlación de 18 variables morfológicas y seis químicas mostró que, algunas variables se correlacionan fuertemente con una alta probabilidad de significancia ($P < 0.05$). Altura de planta se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con altura de forraje ($R^2 = 0.95$), diámetro de tallo ($R^2 = 0.75$), materia seca total ($R^2 = 0.77$), MS de tallos ($R^2 = 0.72$), fibra detergente neutro ($R^2 = 0.70$), fibra detergente ácido ($R^2 = 0.92$), lignina ($R^2 = 0.82$) y negativamente ($P < 0.05$) con relación hoja:tallo ($R^2 = -0.23$) y proteína cruda ($R^2 = -0.92$). El diámetro del tallo en la base y parte media se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con longitud de inflorescencia, fibra detergente ácido, fibra detergente neutro, lignina y negativamente con digestibilidad *in vitro* de MS. Ancho de lámina de la hoja del centro, se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con MS total ($R^2 = 0.90$) y longitud de inflorescencia ($R^2 = 0.70$). Materia seca total se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con MS de tallos ($R^2 = 0.95$) y negativamente con proteína cruda ($R^2 = -0.73$). MS de tallos se correlacionó negativamente ($P < 0.05$) con proteína cruda ($R^2 = -0.69$), relación hoja:tallo ($R^2 = -0.55$) y digestibilidad *in vitro* de MS ($R^2 = -0.40$). Proteína cruda se correlacionó negativamente ($P < 0.05$) con fibra detergente ácido ($R^2 = -0.83$) y lignina ($R^2 = -0.69$) (Cuadro 6.3). Griffa *et al.* (2011), realizaron una evaluación morfológica de cuatro cultivares de *Cenchrus ciliaris* L. (Texas-4464, Molopo, Biolela y Lucero) bajo condiciones de sequía, y encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre cultivares, en las siguientes variables: altura de planta, ancho y longitud de hoja bandera, número de nudos, ancho del macollo, longitud del pedúnculo y rendimiento de materia seca total. Se observó una correlación positiva entre altura de planta, número de nudos y ancho del macollo con rendimiento de MS. Núñez y Cantú (2000), determinaron las correlaciones entre digestibilidad *in vitro* de MS y composición química de una variedad de Sorgo x Sudán de nervadura café, encontraron que la fibra detergente neutro se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con fibra detergente ácido, lignina y negativamente con proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de MS.

Cuadro 6.3. Matriz de correlación para estandarización de 18 variables morfológicas y seis químicas en análisis de componentes principales (ACP).

	AP	AF	DT	DTB	DTM	ALH	LLH	LI	LDI	FDI	NII	DM	PMS	MST	MSH	MSTA	MSI	RHT	PC	FDN	FDA	LIG	DIV	CNS	
AP	1.00																								
AF	0.95**	1.00																							
DT	-0.57	-0.39	1.00																						
DTB	0.74*	0.69*	-0.70*	1.00																					
DTM	0.75*	0.68*	-0.77*	0.97**	1.00																				
ALH	0.67	0.70*	-0.33	0.36	0.31	1.00																			
LLH	0.34	0.31	-0.12	0.01	-0.12	0.61	1.00																		
LI	0.80*	0.80*	-0.55	0.73*	0.64	0.70*	0.63	1.00																	
LDI	-0.78*	-0.77*	0.27	-0.32	-0.30	-0.55	-0.59	-0.70*	1.00																
FDI	-0.21	-0.26	-0.12	0.19	0.25	-0.60	-0.62	-0.31	0.60	1.00															
NII	0.29	0.18	0.06	-0.23	-0.28	0.19	0.71*	0.21	-0.64	-0.44	1.00														
DM	0.17	0.16	0.37	0.00	-0.11	0.29	0.25	0.00	-0.08	-0.23	0.35	1.00													
PMS	0.42	0.58	-0.08	0.48	0.34	0.40	0.47	0.80*	-0.47	-0.21	0.01	-0.10	1.00												
MST	0.77*	0.79*	-0.25	0.43	0.38	0.90**	0.57	0.72*	-0.75*	-0.71*	0.33	0.43	0.41	1.00											
MSH	0.61	0.70*	0.22	0.05	0.00	0.68*	0.49	0.41	-0.69*	-0.54	0.54	0.58	0.31	0.76*	1.00										
MSTA	0.72*	0.73*	-0.41	0.57	0.51	0.88**	0.49	0.76*	-0.62	-0.65	0.11	0.31	0.44	0.95**	0.53	1.00									
MSI	0.20	0.02	-0.31	-0.12	-0.06	0.07	0.36	0.09	-0.56	-0.53	0.64	-0.05	-0.27	0.28	0.08	0.23	1.00								
RHT	-0.23	-0.22	0.60	-0.67	-0.64	-0.27	0.04	-0.49	0.02	0.11	0.52	0.29	-0.36	-0.28	0.37	-0.55	-0.01	1.00							
PC	-0.92**	-0.84**	0.67	-0.61	-0.61	-0.71*	-0.57	-0.86**	0.83*	0.32	-0.43	0.02	-0.45	-0.73*	-0.52	-0.69*	-0.36	0.23	1.00						
FDN	0.70*	0.58	-0.92**	0.88**	0.88**	0.48	0.23	0.77*	-0.39	-0.02	-0.09	-0.19	0.36	0.48	-0.06	0.65	0.21	-0.76*	-0.73*	1.00					
FDA	0.92**	0.86**	-0.63	0.90**	0.86**	0.55	0.31	0.85**	-0.60	0.01	0.16	0.19	0.53	0.64	0.40	0.66	0.04	-0.39	-0.83*	0.80*	1.00				
LIG	0.82*	0.80*	-0.55	0.90**	0.87**	0.29	0.10	0.76*	-0.60	0.05	0.05	0.02	0.57	0.49	0.24	0.54	0.08	-0.47	-0.69*	0.74*	0.91**	1.00			
DIV	-0.25	-0.25	0.44	-0.77*	-0.68*	-0.02	0.07	-0.50	0.06	-0.08	0.38	0.11	-0.48	-0.18	0.34	-0.40	0.05	0.86**	0.16	-0.67	-0.51	-0.68*	1.00		
CNS	0.60	0.65	0.03	0.15	0.12	0.32	0.45	0.48	-0.65	-0.04	0.56	0.13	0.48	0.33	0.71*	0.11	-0.05	0.48	-0.60	0.02	0.49	0.39	0.30	1.00	

AP altura de planta, AF altura de forraje, DT densidad de tallos m², DTB diámetro de tallo en la base, DTM diámetro de tallo en la parte media, ALH ancho de la lámina de la hoja central, LLH longitud de la lámina de la hoja central, LI longitud de inflorescencia, LDI longitud del involucre, FDI fusión del involucre, NII número de involucros por inflorescencia, DM diámetro del macollo, PMS peso de mil semillas, MST materia seca total, MSH materia seca de hojas, MST materia seca de tallos, MSI materia seca de inflorescencias, PC proteína cruda, FDN fibra detergente neutro, FDA fibra detergente ácido, LIG lignina, DIV digestibilidad *in vitro* de MS y CNS cenizas.

*, ** Significancia de correlación $P < 0.05$ y $P < 0.01$, respectivamente.

Los cinco componentes principales explican 93% de la varianza total; el primer componente principal (CP1) es el más importante porque explicó 48% de la varianza total; el segundo componente principal (CP2) explicó 22%; tercer componente (CP3) explicó 9% y el cuarto componente (CP4) explicó 8% de la varianza total. La varianza que contiene cada CP resultante, es explicada por autovectores de cada variable (Cuadro 6.4; Rencher, 2002).

Cuadro 6.4. Componentes principales resultantes de la matriz de correlación de 18 variables morfológicas y seis químicas, de ocho genotipos del pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), tolerantes a frío.

Componentes principales	Valor	Diferencia	Proporción	Acumulada
1	11.5	6.25	0.48	0.48
2	5.25	2.97	0.22	0.70
3	2.28	0.37	0.09	0.79
4	1.91	0.56	0.08	0.87
5	1.35	0.22	0.06	0.93

Los CP1 y CP2, en su conjunto, explican el 70% de la varianza total. Las variables más importantes del CP1 fueron altura de planta, longitud de inflorescencia, altura de forraje, fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina, materia seca total y de tallos. Para CP2 MS de hoja, digestibilidad *in vitro* de MS, relación hoja:tallo y cenizas (Cuadro 6.5). Mientras que Morales *et al.* (2012), caracterizaron la diversidad fenotípica y molecular de 91 ecotipos del pasto Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henr.] colectados en Chihuahua, encontraron que las variables que aportaron mayor variación en el CP1 fueron las relacionadas con producción de forraje; para el CP2, ancho de hoja y diámetro de tallo y para CP3 longitud de inflorescencia y densidad de tallos. Escobar *et al.* (2005), evaluaron las características productivas y químicas del follaje de tres poblaciones del pasto Salado [*Distichlis spicata* L. (Greene)] colectadas en ecosistemas costeros de Baja California Sur y encontraron que los tres primeros componentes principales explicaron el 92.7% de la varianza total; el primero (CP1), explicó 55.7%; el segundo (CP2) 24% y el tercero (CP3) sólo 13% de la varianza total. La varianza del CP1 es explicada por las variables productivas, cenizas y se correlacionó negativamente con extracto libre de nitrógeno. La varianza del CP2

fue explicada por celulosa, hemicelulosa, fibra cruda, fibra detergente ácido y proteína cruda. Para el CP3, la varianza puede explicarse principalmente por las variables lignina y FDN.

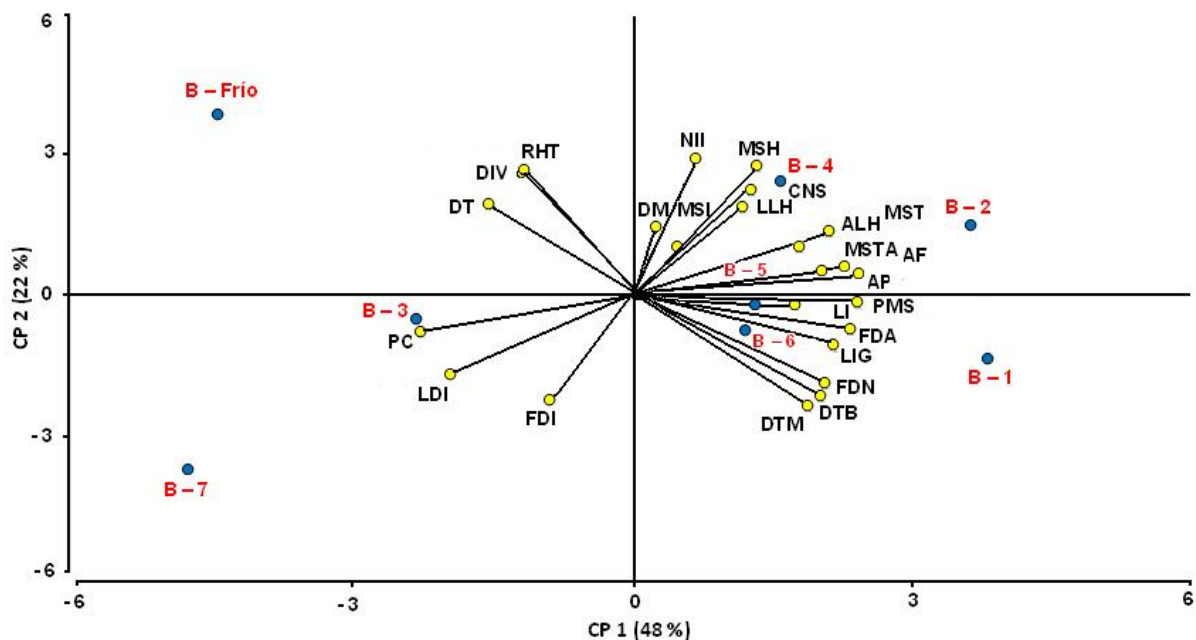
Cuadro 6.5. Autovectores característicos de las variables de mayor valor descriptivo para cada variable original, respecto a su Componente Principal, de ocho genotipos de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), tolerantes a frío.

Variable	CP1	CP2
Altura de planta	0.28	0.03
Altura de forraje	0.27	0.05
Densidad de tallos	-0.18	0.22
Diámetro de tallo en la base	0.23	-0.25
Diámetro de tallo en la parte media	0.22	-0.26
Ancho de la lámina de la hoja central	0.22	0.14
Longitud de la lámina de la hoja central	0.15	0.25
Longitud de inflorescencia	0.28	-0.01
Longitud del involucro	-0.23	-0.20
Fusión del involucro	-0.10	-0.26
Número de involucros por inflorescencia	0.07	0.34
Diámetro del macollo	0.04	0.20
Peso de mil semillas	0.18	-0.02
Materia seca total	0.25	0.16
Materia seca de hojas	0.15	0.33
Materia seca de tallos	0.25	0.04
Materia seca de inflorescencia	0.06	0.14
Relación hoja:tallo	-0.13	0.31
Proteína cruda	-0.27	-0.07
Fibra detergente neutro	0.24	-0.22
Fibra detergente ácido	0.27	-0.08
Lignina	0.25	-0.14
Digestibilidad <i>in vitro</i> de MS	-0.13	0.31
Cenizas	0.14	0.22

Una amplia correlación entre MS total producida y las variables diámetro de tallo, FDN, lignina, FDA, altura de planta, altura de forraje, largo y ancho de la lamina de la hoja central; por su parte, la relación hoja:tallo muestra una alta correlación con la digestibilidad *in vitro* de MS (Fig. 6.3). Los genotipos B-1, B-2, B-4, B-5 y B-6 se encuentran correlacionados con variables relativas al rendimiento de MS total, con FDN, FDA, lignina y cenizas; por su parte, B-3 y B-Frío están más asociados con

relación hoja:tallo, digestibilidad *in vitro* de MS, densidad de tallos y proteína cruda. El genotipo B-7 se relacionó con proteína cruda, longitud del involucro y fusión del involucro. García *et al.* (2003; 2007) evaluaron cinco nuevas líneas y la variedad Nueces de pasto Buffel, encontrando que las líneas que produjeron más forraje, tuvieron contenido de FDN, FDA, hemicelulosa más elevados y menos proteína cruda. Arshadullah *et al.* (2011), estudiaron el crecimiento estacional, variaciones genotípicas y su influencia en rendimiento y contenido nutricional de cinco líneas genéticas de *Cenchrus ciliaris* L., encontraron que la línea que produjo más forraje, presentó mayor ($P < 0.05$) contenido de fibra cruda y cenizas; pero, menor porcentaje de proteína cruda, extracto libre de nitrógeno, extracto etéreo y digestibilidad *in vitro* de MS, en comparación con líneas que produjeron menos forraje.

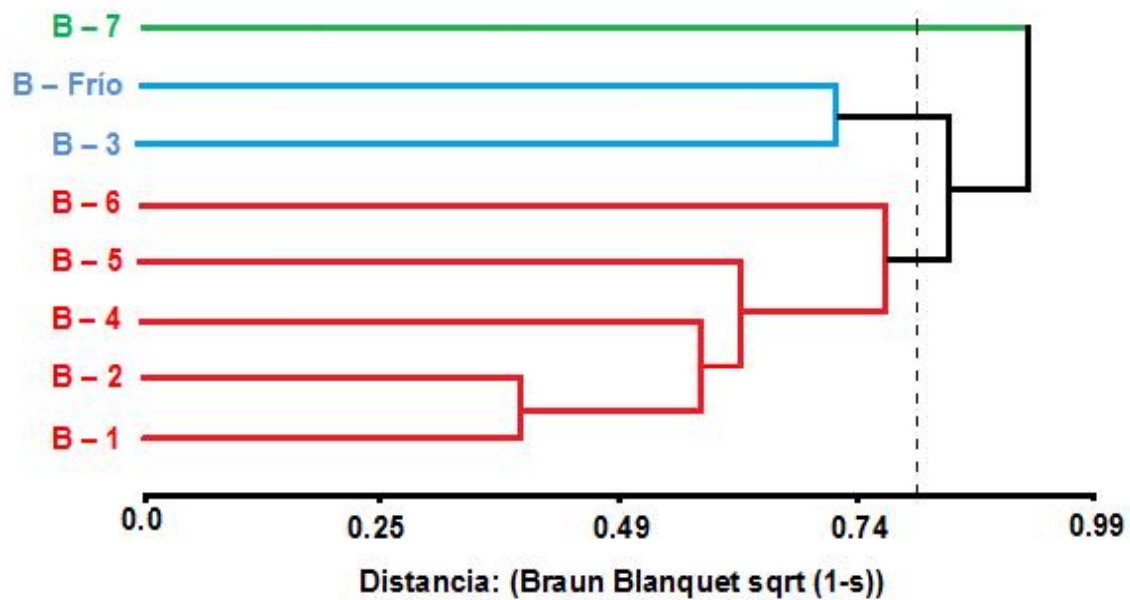
Figura 6.3. Distribución espacial de ocho genotipos de *Cenchrus ciliaris* L. tolerantes a frío (puntos azules), 18 variables morfológicas y seis químicas evaluadas (puntos amarillos), elaborado en base a los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).



6.5.3. Análisis de conglomerados jerárquicos

Para la conformación de los grupos el Análisis de Conglomerados Jerárquicos (Fig. 6.4), los grupos están integrados por 8 genotipos: el grupo uno, lo constituyeron los genotipos B-1, B-2, B-4 y B-5, el genotipo más cercano a este grupo es B-6; por otra parte, el grupo dos, esta formado por el B-3 y B-Frío, y fueron los más relacionados entre sí, cada uno formando un grupo diferente y el grupo tres se conformó por B-7, el más alejado de todos éstos, debido a que su origen geográfico se encuentra en Kenia; mientras que, los otros genotipos son de Etiopía. Hernández *et al.* (2007) evaluaron las características morfológicas y calidad de césped en 45 ecotipos de pasto Búfalo [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Englem.], para ello, los separaron en 2 grupos de interés; en el grupo uno, se encontraron los ecotipos con las mejores características de césped y, en el grupo dos ecotipos con poca calidad del césped, pero con potencial forrajero. Manzelli *et al.* (2005) al aplicar Análisis Cluster a 16 accesiones de *Sorghum bicolor* (L.) nativas de Somalia, en base a 12 características morfológicas y productivas permitió separar a las accesiones, que presentaron las mejores características para producción grano y forraje.

Figura 6.4. Clasificación de ocho genotipos de pasto Buffel, basada en 18 características morfológicas y seis químicas.



6.5.4. Rendimiento de materia seca

Dentro de los componentes del rendimiento de forraje, la producción de hoja es el más importante debido a que poseen mayor contenido de proteína y digestibilidad (Sierra, 2005). Existieron diferencias ($P < 0.05$) para producción de hoja, B-4 fue el mayor con $1255 \text{ kg MS ha}^{-1}$ y el menor B-7 con $422 \text{ kg MS ha}^{-1}$. El contenido de tallo fue mayor ($P < 0.05$) en el genotipo B-6 con $2033 \text{ kg MS ha}^{-1}$ y el menor lo presentaron B-Frío, B-3 y B-7 con 951, 944 y $859 \text{ kg MS ha}^{-1}$. El contenido de inflorescencias fue mayor ($P < 0.05$) para el genotipo B-2 con 229 y menor para B-7 con 73 kg MS ha^{-1} . El material muerto fue mayor en B-6 con 403 y menor en B-7 con $175 \text{ kg MS ha}^{-1}$. La producción de MS total (kg MS ha^{-1}) fue mayor ($P < 0.05$) en los genotipos B-6 y B-4 con 3448 y $3427 \text{ kg MS ha}^{-1}$, respectivamente y la menor la presentó el B-7 con $1529 \text{ kg MS ha}^{-1}$. La relación hoja:tallo puede servir como estimador de la calidad del forraje, misma que mostró efectos significativos ($P < 0.05$); la mayor relación hoja:tallo la obtuvo el B-Frío con 0.96 y la menor del B-6 con 0.42 (Cuadro 6.6). En un estudio, en donde compararon 85 genotipos de pasto Buffel en condiciones de temporal durante la época de lluvias, encontraron intervalos de producción de 1 a 5 t MS ha^{-1} , con un valor medio de 3 t MS ha^{-1} mientras que los testigos Nueces y Común produjeron 3 y 5 t MS ha^{-1} (Morales, 2003). García *et al.* (2003), evaluaron cinco líneas de pasto Buffel y el híbrido Nueces en época de lluvias, encontraron diferencias ($P < 0.05$) para producción de materia seca, la media fue 4.7 t MS ha^{-1} con intervalos de 3.2 a 5.9 t MS ha^{-1} .

6.5.5. Contenido nutricional de hoja y tallos

El Cuadro 6.7 muestra el contenido nutricional de tallos y hoja de siete genotipos y el cultivar "Frío" de pasto Buffel. La calidad de los pastos es muy variable, depende de la etapa fenológica, especies, variedades, fertilidad del suelo, época del año, parte de la planta (Estrada, 2002). El contenido de proteína, cenizas y digestibilidad *in vitro* de MS fue mayor en las hojas, mientras que FDN, FDA y lignina es mayor en los tallos (Cuadro 6.7). El promedio del contenido de proteína de hojas fue 10.53%, el valor más alto ($P < 0.05$) se presentó en el genotipo B-6

con 13.76 y el menor en B-1 con 8.2%. El contenido de proteína en tallos fue diferente ($P<0.05$) entre genotipos, los genotipos B-Frío y B-7 tuvieron los valores más altos con 6.87 y 6.82% y el menor fue para el genotipo B-2 con 2.77%. Los valores más elevados de FDN, FDA y lignina en tallo se presentaron en el genotipo B-1 con 82, 52.7 y 14.5%, respectivamente. El contenido de cenizas representa la cantidad de minerales presentes en las hojas y fue diferente ($P<0.05$) con valores mínimos 8.53 y máximos de 16.92%, registrados para los genotipos B-6 y B-4, respectivamente. El contenido de cenizas de tallos fue diferente ($P<0.05$) varió 6.76 a 8.16% para B-7 y B-1, respectivamente. Mostraron diferentes contenidos ($P<0.05$) de digestibilidad *in vitro* de MS de 76.03 a 70.01% en hojas de los genotipos B-6 y B-3, respectivamente. Morales (2003), evaluó el contenido nutricional de 85 genotipos de pasto Buffel, encontró diferencias ($P<0.05$) para PC con un intervalo de 7 a 9%, para el contenido de FDN encontró diferencias ($P<0.05$), la media fue de 73% en un intervalo de 67 a 79%, la FDA tuvo valores de 42 a 53% con una media de 47%, encontró diferencias ($P<0.05$) para el contenido de cenizas, la media fue de 14% con un intervalo de 11 a 18%, y la digestibilidad *in situ* la media fue de 57%, con un intervalo de 50 a 71%. Alba (2000), evaluó el valor nutritivo y digestibilidad *in vitro* de MS de hojas y tallos de tres variedades de pasto Buffel, Común, Nueces y Llano en primavera, verano e invierno, registrando diferencias ($P<0.01$) entre las tres variedades, el Común presentó valores más bajos de PC y digestibilidad en tallos y hojas en las tres épocas del año; la variedad Nueces presentó valores más elevados ($P<0.01$) de cenizas en tallos y hojas en todas las épocas del año, las hojas tuvieron mayor concentración de nutrientes que los tallos, en las tres variedades y los valores más elevados de PC y digestibilidad se presentaron en verano.

Cuadro 6.6. Rendimiento de materia seca (kg MS ha⁻¹) para hoja, tallo, inflorescencia, material muerto y relación hoja:tallo de ocho genotipos de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) durante la estación de lluvias, en Salinas de Hidalgo, SLP.

Genotipos	Kg MS ha ⁻¹					Relación Hoja:tallo
	Hoja	Tallo	Inflorescencia	M. muerto	MS total	
B-1	909 ^b	1551 ^b	83 ^c	325 ^b	2868 ^{ab}	0.59 ^c
B-2	884 ^b	1715 ^{ab}	229 ^a	357 ^{ab}	3185 ^a	0.52 ^d
B-3	749 ^b	944 ^c	145 ^b	217 ^c	2055 ^{cd}	0.79 ^b
B-4	1255 ^a	1709 ^{ab}	86 ^c	377 ^{ab}	3427 ^a	0.73 ^b
B-5	749 ^b	1634 ^b	143 ^b	330 ^b	2856 ^{ab}	0.46 ^{de}
B-6	861 ^b	2033 ^a	151 ^b	403 ^a	3448 ^a	0.42 ^e
B-7	422 ^c	859 ^c	73 ^c	175 ^c	1529 ^d	0.49 ^d
B-Frío	909 ^b	951 ^c	158 ^b	231 ^c	2249 ^{bc}	0.96 ^a
Media	842	1451	134	302	2702	0.59
EEM	46.27	88.35	10.56	16.71	139.7	0.03
Sig.	**	**	**	**	**	**

EEM= Error estándar de la media; Sig.= Significancia, * = (P<0.05), ** = (P<0.01).

^{a,b,c,d,e} Medias con distinta literal entre filas son diferentes (P<0.05).

6.6. Conclusiones

Los siete nuevos genotipos de pasto Buffel fueron tetraploides ($2n=4x=36$) y el cultivar Frío pentaploide ($2n=5x=45$), todos los genotipos presentan múltiples sacos embrionarios y su tipo de reproducción es por apomixis apospórica. Existe variabilidad morfológica, de rendimiento y calidad nutritiva entre los ocho genotipos de pasto Buffel tolerantes al frío; las variables altura de planta, altura de forraje, diámetro de tallo, largo de inflorescencia, materia seca de tallos y total se correlacionaron positivamente con FDN, FDA y lignina, pero negativamente con relación hoja:tallo, proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de MS. Se clasificaron en 3 grupos: el grupo uno, se formó por los genotipos B-1, B-2, B-4, B-5 y B-6, estos se correlacionaron positivamente con las variables rendimiento de MS total, pero presentaron menor calidad de MS; el grupo dos, se constituyó por B-3 y B-Frío se asociaron con variables de calidad del forraje, pero presentaron menor rendimiento de MST; el grupo tres se conformó por el genotipo B-7, que presentó características morfológicas diferentes principalmente asociadas al rendimiento de semilla.

Cuadro 6.7. Contenido de PC, FDN, FDA, lignina, cenizas y digestibilidad *in vitro* de MS (%) de hoja y tallo de siete nuevos genotipos y el cultivar “Frío” de *Cenchrus ciliaris* L., tolerantes a frío.

Genotipos	Hoja						Tallo					
	PC	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	DIV	PC	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	DIV
B-1	8.02 ^e	70.8 ^{ab}	42.43 ^a	6.22 ^{ab}	16.65 ^a	70.58 ^{cd}	3.15 ^c	82 ^a	56.71 ^a	14.54 ^a	8.16 ^a	41.42 ^{de}
B-2	9.63 ^{cd}	69.09 ^{bc}	41.11 ^b	6.72 ^{ab}	16.51 ^a	72.75 ^b	2.77 ^c	81.07 ^a	50.99 ^b	14.06 ^{ab}	6.92 ^b	40.78 ^e
B-3	10.85 ^{bc}	68.11 ^c	36.16 ^e	6.76 ^{ab}	13.82 ^c	76.3 ^a	4.29 ^c	78.44 ^c	46.29 ^d	11.31 ^{cd}	6.88 ^b	46.83 ^b
B-4	9.94 ^{cd}	64.76 ^d	39.38 ^d	6.65 ^{ab}	16.92 ^a	71.66 ^{bc}	4.19 ^b	78.14 ^{cd}	48.69 ^c	12.89 ^{bc}	7.21 ^b	45.58 ^c
B-5	8.74 ^{de}	69.55 ^{bc}	40.69 ^{bc}	6.08 ^b	14.75 ^b	75.25 ^a	4.1 ^b	79.89 ^b	44.34 ^e	11.02 ^d	7.25 ^b	45.36 ^c
B-6	13.72 ^a	72.63 ^a	39.63 ^{cd}	5.91 ^b	8.53 ^d	70.68 ^{cd}	4.36 ^b	78.69 ^c	47.11 ^d	11.31 ^{cd}	6.87 ^b	45.54 ^c
B-7	11.75 ^b	63.88 ^d	33.23 ^f	6.72 ^{ab}	8.59 ^d	70.01 ^d	6.82 ^a	77.29 ^e	42.22 ^f	10.82 ^d	6.76 ^b	42.12 ^d
B-Frío	11.6 ^b	65.34 ^d	33.76 ^f	7.38 ^a	13.21 ^c	71.32 ^{bcd}	6.87 ^a	74.09 ^e	41.89 ^f	8.76 ^e	6.93 ^b	49.59 ^a
Promedio	10.53	68.02	38.29	6.55	13.62	72.32	4.57	78.7	47.28	11.84	7.12	44.65
EEM	0.37	0.62	0.68	0.12	0.66	0.46	0.29	0.48	0.96	0.38	0.09	0.59
Sig	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**

PC= Proteína Cruda; FDN= Fibra Detergente Nueutro; FDA= Fibra Detergente Ácido; DIV= Digestibilidad *in vitro* de MS EEM= Error estándar de la media; Sig= Significancia, * = (P<0.05), ** = (P<0.01).

^{a,b,c,d,e} Medias con distinta literal entre filas son diferentes (P<0.05).

6.7. Literatura Citada

- Alba, A. J. A. 2000. Dinámica estacional del valor nutritivo y cinética ruminal de la planta completa, hojas y tallos del zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Alimenticios y Producción Acuícola. UANL. 101 p.
- Alcalá, G. C. H. 1995. Origen y distribución mundial. Guía practica para el establecimiento, manejo y utilización del zacate Buffel. PATROCIPES. Sonora, Méx. pp: 1-10.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (15 Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1230 p.
- Arshadullah, M. A. M., M. Muhammad, M. Rasheed, G. Jilani, F. Zahoor, and S. Kaleem. 2011. Seasonal and genotypic variations influence the biomass and nutritional ingredients of *Cenchrus ciliaris* L. Grass Forage. Int. J. Agric. Biol. 13(1): 120-124.
- Asker, S. E., and L. Jerling. 1992. Apomixis in plants. Published by CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 298 p.
- Bogdan, A. V. 1997. Pastos tropicales y plantas de forraje. A. G. T. Editor, S. A. México, D. F. 461 p.
- Burson, B. L., and H. W. Bennett. 1971. Chromosome number, microsporogenesis, and mode of reproduction of seven *Paspalum* species. Crop Sci. 11: 292-294.
- Burson, B. L. 1994. Cytological mechanism of apospory and diplospory. In: Apomixis: exploiting hybrid vigor in rice. International Rice Research Institute. Manila, Philippines. pp: 35-39.
- Christinck. A., K. Vom-Brocke, K. G. Kshirsagar, E. Weltzien, and P. J. Bramel-Cox 2000. Participatory methods for collecting germoplasm: Experiences with farmers in Rajasthan, India. Plant Genetic. Resour. Newsletter. 121: 1-9.
- Escobar, H. A., D. E. Troyo, H. J. L. García, C. H. Hernández, A. B. Murillo, y A. R. López. 2005. Potencial forrajero del pasto Salado *Distichlis spicata* L. (Greene) en ecosistemas costeros de Baja California Sur, México por el método de "Componentes principales". Téc. Pecu. Méx. 43(1): 13-25.
- Estrada, J. A. 2002. Pastos y forrajes para el trópico Colombiano. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 506 p.

- Fisher, W. D., E. C. Bashaw, and E. C. Holt. 1954. Evidence for apomixis in *Pennisetum ciliare* and *Cenchrus setigerus*. *Agron. J.* 46: 401-404.
- Franco, T. L., y R. Hidalgo. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Franco, T. L., R. Hidalgo, (Eds.). Boletín Técnico Núm. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- García, V. A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 144 p.
- García, D. G. J., L. R. Ramírez, R. Foroughbakhch, y R. R. Morales. 2003. Valor nutricional y digestión ruminal de cinco líneas apomícticas y un híbrido de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). *Téc. Pecu. Méx.* 41(2): 209-218.
- García, D. G. J., L. R. Ramírez, R. R. Morales, and D. G. Garcia. 2007. Ruminal digestion and chemical composition of new genotypes of Buffelgrass *Cenchrus ciliaris* L. under irrigation and fertilization. *Interciencia.* 32(5): 349-353.
- Gómez, B. F. D. 2005. Practicultura. Universidad Politécnica de Valencia. España. 250 p.
- Goëring, K. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. *Agricultural Handbook No. 379.* ARS. USDA.
- Griffa, S., A. Ribotta, C. Luna, G. Bollati, C. E. López, E. Tommasino, E. Carloni, M. Quiroga, y K. Grunberg. 2011. Evaluación morfológica del cultivar de Buffelgrass "Lucero INTA-PEMAN" en condiciones de sequía. *Rev. Inv. Agropecuaria.* 37(1): 86-91.
- Hatch, S. L., y M. A. Hussey. 1991. Origen, taxonomía y oportunidades de mejorar genéticamente al Buffel y especies afines. *In:* A. Aguirre, E. Candanosa y E. Gómez. Aprovechamiento integral del zacate Buffel. Simposio Internacional. Séptimo congreso nacional sobre manejo de pastizales. SOMMAP. Cd. Victoria, Tamps. México. pp: 3-13.
- Hernández, C. R. E., R. J. Martínez, V. M. H. Reyes., D. J. R. González, y S. H. Díaz. 2007. Caracterización morfológica y de césped de ecotipos de zacate Búfalo [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Englem.]. *Rev. Fitotecnia Mexicana.* 30(4): 381-390.

- Hignight, K. W., E. C. Bashaw, and M. A. Hussey. 1991. Cytological and morphological diversity of native apomictic Buffelgrass, *Pennisetum ciliare* (L.) Link. Bot. Gaz. 152(2): 214-218.
- Hussey, M. A., and E. C. Bashaw. 1985. Influence of clipping height on the yield and quality of winter hardy Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) germoplasm. Forage Research in Texas. Texas A&M University System. USA. pp: 37-38.
- Hussey, M. A., and E. C. Bashaw. 1996. Performance of Buffelgrass germplasm with improved winter. Survival. Agron. J. 88: 944-946.
- Hussey, M. A., and B. L. Burson. 2005. Registration of 'Frío' Buffelgrass. Crop Sci. 45: 411-412.
- Ibarra, F. F. A., R. M. Martín, M. A. Hussey, B. L. Burson, B. F. Denogean, M. S. Moreno, y A. F. Ayala. 2011. Variedades de zacate Buffel tolerantes al frío. Publicación Técnica No. 3. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Sonora, Méx. 34 p.
- InfoStat. 2008. Manual del usuario. Ed. Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- INIFAP. 2012. Red nacional de estaciones agroclimatológicas. Estación: Yoliatl - Municipio: Villa de Ramos. Disponible en: <http://clima.inifap.gob.mx/redclima/clima/est.aspx?numest=36319>. Consultado el 11 de Enero de 2012.
- Mansoor, U. H., A. Mansoor, A. Wahid, and A. R. Rao. 2002. Ecotypic variability for drought resistance in *Cenchrus ciliaris* L. germplasm from Cholistan Desert in Pakistan. Int. J. Agric. Biol. 4(3): 392-397.
- Martín, M. A., J. R. Cox, and F. A. Ibarra. 1995. Climatic effects on Buffelgrass productivity in the Sonora Desert. J. Range Manange. 48(1): 60-63.
- Manzelli, M., S. Benedettelli, and V. Vecchio. 2005. Agricultural biodiversity in Northwest Somalia an assessment among selected Somali Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] germoplasm. Biodiversity and Conservation. 14(14): 3381-3392.
- Marshall, V. M., M. M. Lewis, and B. Ostendorf. 2011. Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris*) as an invader and threat to biodiversity in arid environments: A review. Journal of Arid Environments. 78: 1-12.
- Mayers, W. M. 1947. Cytology and genetics of forage grasses. The botanical Review. Springer on behalf of New York Botanical Garden Press. 13: 369-421.

- Morales, N. C. R., C. A. R. Quero, P. J. Pérez, G. A. Hernández, y O. Le Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto Banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia*. 42(7): 767-775.
- Morales, N. C. R., C. A. Melgoza, G. P. Jurado, S. M. Martínez, y A. C. H. Avendaño. 2012. Caracterización fenotípica y molecular de poblaciones de zacate Punta blanca [*Digitaria californica* (Benth.) Henr]. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3(2): 171-184.
- Morales, R. R. 2003. Producción de materia seca y digestibilidad *in situ* del forraje de 85 genotipos de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Alimenticios y Producción Animal. UANL. 61 p.
- Núñez, H. G., y B. J. Cantú. 2000. Producción, composición química y digestibilidad del forraje de Sorgo x Sudán de nervadura café en la región norte de México. *Téc. Pecu. Méx.* 38(3): 177-187.
- Quero, C. A. R., J. F. Q. Enríquez, N. C. R. Morales, y L. J. Miranda. 2010. Apomixis y su importancia en el mejoramiento en la selección y mejoramiento de las gramíneas tropicales. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 1: 25-41.
- Rencher, A. C. 2002. *Methods of multivariate analysis*. Second Edition. Wiley-Interscience. USA. 708 p.
- SAS. 1999. *User's guide*. Statistics, version 6. Sixth edition. SAS Inc. Cary, North Carolina, USA. 1686 p.
- Savidan, Y. H. 2000. Apomixis: Genetics and breeding. *Plant Breed Rev.* 18: 13-81.
- Schultze-Kraft, R. 1990. Caracterización y evaluación preliminar de germoplasma de las plantas forrajeras. *In: Dialogo XXVIII*. Introducción, conservación y evaluación de germoplasma forrajero. ICCA. Uruguay. pp: 316-319.
- Sherwood, R. T., and D. L. Gustine. 1994. Modifying embryo sac development and strategies for cloning the apomixes gene from Buffelgrass. *In: Apomixis: exploiting hybrid vigor in rice*. International Rice Research Institute. Manila, Philippines. pp: 47-50.
- Sierra, P. J. O. 2005. *Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros*. 2^{da} Edición. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 246 p.
- Snyder, L. A., A. R. Hernandez, and H. E. Warmke. 1955. The mechanism of apomixis in *Pennisetum ciliare*. *Bot. Gaz.* 116: 209-221.

- Valladolid, A., B. Blas, y R. González. 2004. Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. *In: Raíces Andinas: contribución al conocimiento y a la capacitación.* Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. pp: 95-100.
- Visser, N. C., J. J. Spies, and H. J. T. Venter. 2000. Apomictic embryo sac development in *Cenchrus ciliaris* (Panicoideae). *Bothalia*. 30: 103-110.
- Villegas, D. G., M. A. Bolaños, y P. L. Olguín. 2001. La ganadería en México. 1.5.1. I. Textos monográficos: 5. Economía. Temas selectos de geografía de México. Instituto de Geografía. UNAM. 158 p.
- Warmke, H. E. 1954. Apomixis in *Panicum maximum*. *Am. J. Bot.* 41: 5-11.
- Winger, C. L. J. 1984. Cytology and genetics of mode of reproduction in a facultatively apomictic accession of Buffelgrass. Ph. D. Thesis. Texas A&M Univ., College Station. Texas, EEUU. 150 p.
- Woodward, W. T. 1980. Performance of Buffelgrass cultivars for south Texas Agricultural Experimental Station Bulletin MP-1460 Texas A&M University System College Station Texas. pp: 17-22.
- Wouw, V. M., J. Hanson, and S. Nokoe. 1999. Observation strategies for morphological characterization of forages. *Genet. Resour. Crop Evol.* 46: 63-71.