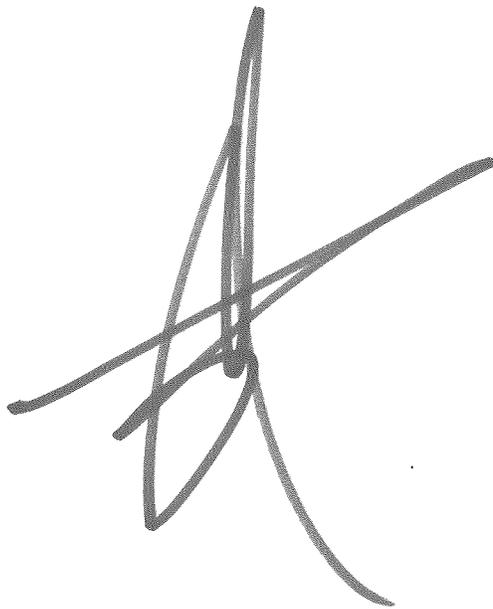


**Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de la
diversidad genética para usos múltiples (Proyecto IP-5)**



Informe Anual 1997

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)
Apartado Aéreo 6713
Cali, Colombia

Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de la diversidad genética para usos múltiples
(Proyecto IP-5)

Coordinador: C. E. Lascano
Fax: (57-2) 445 0073
E-mail: C.Lascano@CGNET.COM

Documento de Trabajo no. 174
Tiraje: 150 ejemplares
Mayo de 1998

Coordinación: Alberto Ramírez
Julia Gómez Quintero

Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de la diversidad genética para usos múltiples
(Proyecto IP-5). 1998. Informe Anual 1997. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT),
Cali, Colombia. Documento de trabajo no. 174. 112p.

Contenido

	Pág.
Resumen del Proyecto	i
Estructura y Distribución de Trabajo	ii
Plan de Trabajo	iii
Aspectos Sobresalientes de Investigación en 1997	iv
Progresos hacia la Optimización de la Diversidad Genética para Usos Múltiples	ix
Producto 1. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Atributos de Calidad Reconocidos	1
Subproducto 1.1. Función de los factores antinutricionales en la digestión de gramíneas y leguminosas y en el metabolismo de rumiantes	1
Subproducto 1.2. Nichos ambientales para el crecimiento de leguminosas herbáceas y arbustivas con taninos, utilizadas como recursos forrajeros	15
Subproducto 1.3. Sinergismo en parámetros de calidad entre forrajes contrastantes	19
Subproducto 1.4. Calidad de Leguminosas herbáceas y arbustivas seleccionadas y producción animal	23
Producto 2. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Diversidad Conocida en las Interacciones de la Simbiosis Hospedante/Parásito	25
Subproducto 2.1. Se conocen las relaciones de la planta hospedera, la ecología y la dinámica de población de salivazo	25
Subproducto 2.2. Resistencia a salivazo en genotipos evaluados y caracterizados de <i>Brachiaria</i>	40
Subproducto 2.3. Genotipos de <i>Brachiaria</i> identificados y reconfirmados como resistentes a salivazo	47
Subproducto 2.4. Control genético y marcadores moleculares para identificar resistencia a salivazo y apomixis en <i>Brachiaria</i>	48
Subproducto 2.5. Papel de endófitos en gramíneas tropicales reconocidas	49
Subproducto 2.6. Interacciones entre hospedante y patógeno en especies forrajeras clave	54
Subproducto 2.7. Información sobre diversidad genética de <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i> relacionada con limitaciones bióticas	67

Producto 3. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Adaptación Conocida Limitaciones Edáficas y Climáticas	68
Subproducto 3.1. Genotipos de <i>Brachiaria</i> , <i>Panicum</i> y <i>Arachis</i> caracterizados e identificados por adaptación a suelos de baja fertilidad	68
Subproducto 3.2. Genotipos identificados y caracterizados de <i>Brachiaria</i> , <i>Arachis</i> y <i>Calliandra</i> con tolerancia a la sequía	84
Subproducto 3.3. Genotipos de <i>Brachiaria</i> y <i>Paspalum</i> identificados y caracterizados con adaptación a suelos mal drenados	88
Subproducto 3.4. Genotipos identificados y caracterizados de especies de leguminosas arbustivas con tolerancia a baja temperatura y a la sequía	92
Subproducto 3.5. Interacciones genotipo:ambiente en el desempeño de <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i>	96
Subproducto. 3.6. Información sobre diversidad genética de <i>Brachiaria</i> , <i>Arachis</i> y leguminosas arbustivas seleccionadas, asociada con adaptación ambiental	97
 Producto 4. Diversidad de Gramíneas y Leguminosas Superiores Entregadas para Evaluación	 98
Subproducto 4.1. Liberación y entrega a productores en diferentes sistemas de producción de cultivares de gramíneas y leguminosas a través de los socios en la investigación	98
Subproducto 4.2. Definición de nichos para cultivares seleccionados de gramíneas y leguminosas, con base en el análisis de interacciones genotipo x ambiente	102
Subproducto 4.4. Comunicación efectiva de resultados de investigación a través de boletines informativos, revistas y talleres	103
Publicaciones	104
Donantes	108
Colaboradores	109
Personal del Proyecto	111

Proyecto IP-5: Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de la diversidad genética para usos múltiples

Objetivo

Identificar acervos genéticos superiores de gramíneas y leguminosas para sistemas agrícolas sostenibles en trópicos húmedos y subhúmedos.

Resultados

Diversidad genética en atributos de calidad, interacciones simbióticas hospedante-parásito y adaptación a limitaciones edáficas y climáticas, no solo de leguminosas sino también de especies de gramíneas seleccionadas. Gramíneas seleccionadas y un rango amplio de leguminosa herbáceas y arbustivas evaluadas con socios en investigación, las cuales están disponibles para la producción animal, conservación y mejoramiento de suelos.

Avances

Diversidad genética definida en gramíneas y especies de leguminosas seleccionadas por atributos de calidad, resistencia a enfermedades y plagas, y adaptación ambiental. Utilidad reconocida de germoplasma seleccionado de gramíneas y leguminosas en sistemas de producción. Gramíneas y leguminosas nuevas que contribuirán a una mayor producción de leche para la población y flujo de caja para pequeños productores de leche, a la vez, que se conserva y mejoran los recursos naturales.

Logros

- 1998 Se identificarán nuevas accesiones de *Arachis pintoi* con tolerancia a la época seca y persistentes en asociación con gramíneas agresivas. Estarán a disposición de los productores, leguminosas arbustivas adaptadas a ecorregiones subhúmedo (*Cratylia argentea*) y húmedas (*Codariocalyx gyroides*).
- 1999 Se dispondrá de acervos genéticos de *Brachiaria* identificados con resistencia a salivazo, adaptados a suelos de baja fertilidad y pobremente drenados. Se desarrollarán métodos para detectar endofitos en especies de *Brachiaria* y *Panicum*.
- 2000 Utilizando técnicas bioquímicas y moleculares se logrará caracterizar la diversidad genética de germoplasma de *Brachiaria*, *Arachis* y *Cratylia*.

Usuarios

Organizaciones gubernamentales, no gubernamentales y de productores en todos los trópicos subhúmedos y húmedos que necesitan gramíneas adicionales y recursos genéticos de leguminosa con potencial mejorado para intensificar y mantener la productividad de sistemas agropecuarios.

Colaboradores

Organizaciones nacionales, gubernamentales y de investigación agrícola, y organizaciones de desarrollo. Organizaciones especializadas de investigación (U. Höhenheim; Cornell U., IGER, OFI, CSIRO).

Vínculos con el sistema CGIAR

Perfeccionamiento y Mejoramiento (20%); Sistemas de Producción Pecuaria (15%); Protección del Ambiente (15%); Diversidad Biológica (40%); Fortalecimiento de Instituciones Nacionales de Investigación (NARS) (10%). Participación en Centros Internacionales de Investigación (ILRI).

Vínculos con Proyectos del CIAT

Con el Proyecto Conservación de Recursos Genéticos (SB-1) se desarrollarán acervos genéticos superiores, usando, cuando sea necesario, técnicas moleculares (Proyecto SB-2). Con el Proyecto Evaluación de Gramíneas y Leguminosas seleccionadas en sistemas de producción (PE-5) en colaboración con socios nacionales (SN-2).

Estructura y Distribución del Trabajo en el Proyecto
Proyecto IP-5. Gramíneas y leguminosas tropicales: Optimización de la diversidad genética para usos múltiples

<p align="center">Finalidad del Proyecto</p> <p align="center">Identificar acervos genéticos superiores de gramíneas y leguminosas tropicales tomando como base la caracterización de la diversidad genética en atributos de la planta que contribuyen a la producción ganadera y agrícola y a la protección del ambiente en zonas y húmedas y subhúmedas</p>	
<p>Acervo genético de gramíneas y leguminosas con atributos de calidad conocidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la función de factores antinutricionales en gramíneas (p. ej., saponinas) y leguminosas (p. ej., taninos) en la digestión y metabolismo de rumiantes • Definir las interacciones genotipo x ambiente en la calidad del forraje de <i>Brachiaria</i>, <i>Arachis</i> y el germoplasma de <i>Calliandra</i> • Definir sinergismos en atributos de calidad entre forrajes contrastantes • Medir el potencial de producción de leche de accesiones seleccionadas de <i>Brachiaria</i>, <i>Arachis</i>, <i>Cratylia</i> y <i>Calliandra</i>
<p>Acervo genético de gramíneas y leguminosas con diversidad conocida en interacciones huésped/parásito/simbiosis</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estudiar la bioecología de especies de salvazo en ambientes contrastantes • Identificar hospederos resistentes a salvazo en gramíneas • Dilucidar la función de los endofitos en gramíneas forrajeras tropicales • Definir las interacciones entre hospedero y agente patógeno (hongo, bacteria, virus) en <i>Brachiaria</i>, <i>Arachis</i> y <i>Stylosanthes</i> • Vínculos de información de la diversidad genética de limitaciones bióticas en <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i>
<p>Acervo genético de gramíneas y leguminosas con adaptación conocida a limitaciones edáficas y climáticas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Identificar genotipos de <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i> con adaptación a suelos de baja fertilidad • Identificar accesiones de <i>Brachiaria</i>, <i>Arachis</i> y <i>Calliandra</i> con tolerancia a la época seca • Identificar accesiones de <i>Brachiaria</i> y <i>Paspalum</i> con adaptación a suelos mal drenados • Identificar accesiones de leguminosas arbustivas que toleren temperaturas frías y secas • Definir interacciones genotipo x ambiente en el comportamiento de <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i> • Vínculos de información de la diversidad genética y la adaptación ambiental de <i>Brachiaria</i> y <i>Arachis</i>
<p>Gramíneas y leguminosas superiores entregadas a socios en investigación para evaluación</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Desarrollar alianzas con Centro Internacionales e Instituciones Nacionales en América Latina y el Caribe, y en África para emprender la evaluación de un amplio rango de gramíneas y leguminosas multipropósito • Seleccionar gramíneas y leguminosas para nichos ecológicos específicos, en base a las interacciones genotipos x ambiente • Identificar socios para promocionar germoplasma superior de gramíneas y leguminosa en sistemas de producción contrastantes • Desarrollar sistemas expertos para diversidad biológica de la leguminosa por vinculación de información geográfica con datos biológicos • Facilitar comunicación a través de boletines informativos, revistas y talleres

P R O D U C T O A C T I V I D A D E S

Plan de Trabajo del Proyecto

Proyecto IP-5. Gramíneas y Leguminosas Tropicales: Optimización de diversidad genética para usos múltiples

Finalidad del Proyecto

Identificar acervos genéticos superiores de gramíneas y leguminosas tropicales tomando como base la caracterización de la diversidad genética en atributos de la planta que contribuyen a la producción ganadera y agrícola y a la protección del ambiente en zonas y húmedas y subhúmedas

Subproyecto 1	Subproyecto 2	Subproyecto 3	Sub-proyecto 4
<p>Producto 1: Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Atributos de Calidad Reconocidos</p> <p>1.1 Se identificó el papel de los factores antinutricionales en gramíneas y leguminosas en la digestión y metabolismo de rumiantes (CEL)</p> <p>1.2 Se definieron nichos ambientales para cultivar leguminosas herbáceas y arbustivas con taninos, como recursos forrajeros (CEL)</p> <p>1.3 Se identificó el sinergismo de parámetros de calidad entre forrajes contrastes (CEL)</p> <p>1.4 Se reconoció la calidad y el potencial de producción animal conocido de especies de gramíneas y leguminosas herbáceas y arbustivas (CEL)</p>	<p>Producto 2: Acervo de Gramíneas y Leguminosas con Diversidad Reconocida en las Interacciones Simbiosis Hospedante/parásito</p> <p>2.1 Se entendieron las relaciones hospedante-planta, ecología y dinámica de población del salvazo (DP)</p> <p>2.2 Se evaluó y caracterizó la resistencia a salvazo en genotipos de Brachiaria (CC)</p> <p>2.3 Se identificó y reconfirmó la resistencia a salvazo de genotipos de Brachiaria</p> <p>2.4 Se identificaron el control genético y marcadores moleculares resistencia a salvazo y apomixis en Brachiaria (JWM)</p> <p>2.5 Se dilucidó el papel de los endofitos en gramíneas tropicales (SK)</p> <p>2.6 Se identificaron las interacciones entre hospedero y agente patógeno para especies clave de forrajes (SK)</p> <p>2.7 Se obtuvo información sobre diversidad genética de Brachiaria y Arachis asociada con limitaciones bióticas (JWM)</p>	<p>Producto 3: Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosa con Adaptación Reconocida a Limitaciones Ambientales</p> <p>1. Identificación y caracterización de genotipos de Brachiaria, Panicum y Arachis con adaptación a suelos de baja fertilidad (TMI)</p> <p>2. Identificación y caracterización de genotipos de Brachiaria, Arachis y Calliandra con tolerancia a época seca (TMI, JWM)</p> <p>3. Identificación y caracterización de genotipos de Brachiaria y Paspalum con adaptación a suelos mal drenados (TMI, JWM)</p> <p>4. Identificación y caracterización de genotipos de leguminosa arbustivas con tolerancia a temperaturas bajas y secas (TMI, JWM)</p> <p>5. Se definieron las interacciones genotipo x ambiente en el comportamiento de Brachiaria y Arachis (JWM)</p> <p>6. Información sobre diversidad genética de Brachiaria, Arachis y leguminosas arbustivas seleccionadas asociada con su adaptación ambiental (JWM)</p>	<p>Producto 4: Entrega de Gramíneas y Leguminosas Superiores para Evaluación con Socios en la Investigación</p> <p>4.1 Distribución y promoción entre productores en diferentes sistemas de producción de cultivos exitosos de gramíneas y leguminosas, a través de socios en investigación (CEL)</p> <p>4.2 Nichos definidos para gramíneas y cultivos de leguminosas seleccionados con base en análisis de la interacción G x A (JWM)</p> <p>4.3 Sistemas en diversidad biológica de forrajes mediante el vínculo de información geográfica con datos biológicos (JWM)</p> <p>4.4 Comunicación eficaz de resultados de investigación a través de boletines informativos, revistas y talleres (CEL)</p>



Aspectos Sobresalientes de Investigación en 1997

Producto 1. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Atributos de Calidad Reconocidos

- Las diferencias en calidad dentro de las especies de leguminosas no están relacionadas únicamente con taninos, sino también con el potencial de degradabilidad de los constituyentes de la pared celular.
- Los taninos condensados ligados al forraje tienen un mayor efecto sobre la digestión que los taninos condensados solubles.
- Diferencias en nivel y tipo de taninos condensados entre proveniencias de *C. calothyrsus* cultivadas en sitios contrastantes.
- Variación en taninos solubles y ligados entre accesión de *C. argentea* y definición del tipo de taninos presentes.
- Los taninos condensados solubles en hojas de *D. ovalifolium* aumentan linealmente con el crecimiento de las plantas hasta 6 meses de edad y la reactividad de los taninos con proteína también aumenta hasta alcanzar un máximo a los 5 meses, pero posteriormente desciende.
- Las técnicas de presión de gas en transductor y de espectrometría infrarrojo (NIRS, su sigla en inglés) son útiles para estudiar cambios en atributos de calidad de leguminosas debidos a genotipo y ambiente.
- La calidad de genotipos de *D. ovalifolium* varía con la aplicación de fertilizantes y las condiciones ambientales definidas por suelo y clima.
- El nivel y la frecuencia de alimentación con suplementos basados en leguminosas pueden aumentar significativamente la retención de nitrógeno en ovinos alimentados con una dieta basal de baja calidad.
- El rendimiento de leche de vacas en pastoreo puede aumentar significativamente al suministrar suplementos de energía basados en leguminosas en proporción adecuada.
- El rango de aceptabilidad de leguminosas arbustivas con calidad contrastante fue similar con ovinos y caprinos.

Producto 2. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Diversidad Conocida en las Interacciones de la Simbiosis hospedante/ parásito

- Se iniciaron los primeros estudios sobre la biología y los hábitos de las tres especies más frecuentes en zonas del trópico bajo.
- Se iniciaron los primeros estudios sobre el comportamiento de comunicación vibracional entre adultos de salivazo.
- Se establecieron metodologías para iniciar estudios comparativos sobre el desarrollo de huevos y la incidencia de diapausa.
- Se encontraron seis especies de salivazo relacionadas con pastos en tierras bajas de Colombia.
- En tres sitios con sequía estacional se encontró que una especie de salivazo abundaba y predominaba coincidiendo con la estación lluviosa.
- Tres especies de salivazo son simpátricas en sitios húmedos y parece que su abundancia desciende con la mayor precipitación; la mayor diversidad de especies, la abundancia y la precipitación corresponden con una mayor presencia de enemigos naturales.
- La abundancia de ninfas y adultos de salivazo no varía entre pasturas de solo *Brachiaria* y de *Brachiaria* asociada con *Arachis pintoi*.
- Hay evidencia que la divergencia en preferencias de hábitat contribuye al fraccionamiento del hábitat entre las dos especies simpátricas principales de salivazo.
- La liberación de hembras de salivazo adulto merece consideración adicional sobre la infestación artificial en ensayos de resistencia en el campo.
- Se desarrolló, probó e implementó una nueva técnica de invernadero, más simple, rápida y confiable para la selección de genotipos de *Brachiaria* por resistencia a salivazo.
- Se lograron avances significativos en el desarrollo de un método confiable y uniforme de infestación artificial con salivazo para selección de genotipos de *Brachiaria* en condiciones de campo.
- Con la utilización de la nueva metodología de selección fue posible identificar genotipos de *Brachiaria* con resistencia antibiótica a salivazo.
- Las nuevas metodologías de selección por resistencia a salivazo en *Brachiaria* han hecho posible los estudios genéticos.

- Se mejoraron aún más los protocolos de detección de endófitos dentro de los tejidos de la planta y semillas utilizando varios métodos de tinción.
- En especies de *Brachiaria* se identificaron nuevos endófitos, que se asemejan a aquellos reconocidos en gramíneas de zonas templadas.
- Se iniciaron nuevos métodos de inoculación para introducir estos endófitos en diversas especies y accesiones de *Brachiaria*
- Se están desarrollando antisueros específicos para detección rápida de endófitos en tejidos de gramíneas.
- Se inició un trabajo de tesis a nivel graduado en biología de un endófito aislado de *Brachiaria arrecta*.
- Dos estudiantes del Universidad del Tolima completaron un trabajo de capacitación intensivo de 2 meses de duración en la detección y en métodos de caracterización de endófitos en el laboratorio de patología de forrajes del CIAT.
- Conjuntamente con la Universidad de Rutgers se está trabajando en el perfil de alcaloides en hongo endófitos aislados de especies de *Brachiaria*.
- Se establecieron contactos y se iniciaron investigaciones colaborativas con laboratorios especializados en Nueva Zelandia y Estados Unidos.
- Se identificaron genotipos de *Stylosanthes* con resistencia a una variedad amplia de aislamientos.
- Se detectaron diferencias en reacción de hospedantes a *Lasioidiplodia theobromae*, el agente causal de enfermedad "muerte descendente" de *Stylosanthes* spp.
- Existe información de isoenzimas en *Brachiaria* y *Arachis* y datos de marcadores moleculares para *Brachiaria*.

Producto 3. Acervos Genético de Gramíneas y leguminosas con Adaptación Conocida a Limitaciones Edáficas y Climáticas

- Los ápices de la raíz de *B. decumbens* acumulan P en presencia de Al y suministro escaso de nutrimentos en solución, lo que podría contribuir al mecanismo de tolerancia a este último elemento en suelos ácidos de baja fertilidad.
- Dos recombinantes genéticos de *Brachiaria* (BRN093/3204, FM9201/1873) sobresalieron por su adaptación a condiciones de suelos ácidos de baja fertilidad.

- *Arachis pintoii* CIAT 18748 sobresalió por su adaptación en condiciones de baja aplicación de nutrimentos en el suelo, tal como lo demuestran el grado de distribución de N en hojas y el mantenimiento de una mayor concentración de P inorgánico en las hojas.
- Varios atributos de la planta de *Brachiaria* fueron afectados por el genotipo y la aplicación de fósforo en el suelo.
- La secreción de fitasa en raíces de *Brachiaria decumbens* y *Stylosanthes guianensis* es un mecanismo importante para la absorción de fósforo a partir de fuentes orgánicas presentes en el suelo.
- *Stylosanthes capitata* está menos adaptado a Oxisoles franco-arcillosos debido a que sus raíces son más gruesas y tienen menos puntos terminales, lo que contribuye a reducir la absorción de calcio, cuando se compara con *S. guianensis* y *A. pintoii*.
- El establecimiento de *A. pintoii* fue más rápido cuando se asoció con *Panicum maximum* que crece formando matos, que cuando se asoció con *Brachiaria dictyoneura* que es estolonífera.
- Se identificaron dos recombinantes genéticos de *Brachiaria* con mejor comportamiento en la época seca que el cultivar comercial *B. decumbens* cv. Basilisk.
- La accesión *B. brizantha* CIAT 26110 sobrevivió en suelos inundados mediante la producción de raíces adventicias, la estratificación de raíces a lo largo de la superficie del nivel freático y el desarrollo de tejido arénquima en la corteza de la raíz.
- El cultivar comercial *B. brizantha* CIAT 6780 cv. Marandú también sobrevivió a condiciones de inundación al desarrollar tejido arénquima y la estratificación de las raíces a lo largo de la superficie del nivel freático.
- Tanto *B. brizantha* CIAT 26110 como *B. brizantha* cv. Marandú sobrevivieron mejor en condiciones de inundación que en suelos con estrés por falta de agua; mientras que *B. dictyoneura* cv. Llanero se adapta a cualquiera de estas condiciones mediante la modificación de las células corticales en los espacios intercelulares y la lignificación del cilindro vascular.
- Se liberaron nuevas colecciones de accesiones de *Paspalum* para establecimiento de ensayo de campo en CIAT-Quilichao.
- Se registraron diferencias en rendimientos de MS, capacidad de rebrote, retención de hojas en la época seca y tolerancia al insecto plaga Psyllid en nuevas especies y líneas de *Leucaena*.
- Se encontraron especies de leguminosas arbustivas (*Rhynchosia*, *Calliandra* y *Flemingia*) que se desarrollan bien en zonas de laderas de altitud media.

Producto 4. Diversidad de Gramíneas y Leguminosas Superiores Entregadas para Evaluación

- Entrega de especies forrajeras seleccionadas a socios a través de consorcios como TROPILECHE y proyectos de desarrollo de ganadería y pasturas en la región.
- Lanzamiento oficial en Panamá de una mezcla de accesiones de *A. pintoi* CIAT 18744 y 17434 como cv. Maní Forrajero.
- Para mayo de 1988 se tiene planeado el lanzamiento oficial por el MAG en Costa Rica de *A. pintoi* CIAT 18744 como cv. Porvenir.
- Contratos para la multiplicación de gramíneas y leguminosas seleccionadas con el objeto de mantener el desarrollo de proyectos ganaderos coordinados por CORPOICA
- Contratos para la multiplicación de ecotipos seleccionados de *A. pintoi* para evaluación en fincas y para apoyar su lanzamiento y distribución en Costa Rica
- Se multiplicó, para distribución en América Central, semilla básica y experimental de ecotipos altamente promisorios de *A. pintoi*, *C. argentea* y *B. brizantha*
- Por solicitud de los socios en las instituciones nacionales, durante el período octubre de 1996 y octubre de 1997, se entregaron 343 kg de semillas experimental y básica de gramíneas y leguminosas promisorias.
- Selección preliminar de nuevas accesiones de *A. pintoi* con atributos superiores en relación con el cultivar comercial
- Publicación de un boletín informativo por el equipo del Proyecto de Forrajes y continuación de la publicación de la revista Pasturas Tropicales.



Progresos hacia la Obtención de Logros

Producto 1: Acervos de Gramíneas y Leguminosa con Atributos de Calidad Reconocidos

Listado de especies y genotipos de leguminosas con atributos conocidos de calidad. Los resultados obtenidos durante 1997 permiten avanzar hacia la producción un listado de especie de leguminosas herbácea y arbustivas sobre la base de atributos de calidad de forraje. Es ahora claro que los protocolos para la evaluación de calidad de leguminosas tropicales tienen que considerar esquemas de muestreo adecuados, niveles y tipos de tanino, composición y degradabilidad de la pared celular por microorganismos del rumen.

Parámetros en fertilidad de suelo y clima asociados con atributos de calidad. El análisis inicial de los estudios sobre la interacción genotipo x ambiente en *D. ovalifolium*, utilizada como una especie patrón, ha permitido en términos generales definir los efectos del ambiente (suelo y clima) en los atributos de calidad. Los análisis posterior de los datos recopilados permitirá definir mejor los factores ambientales asociados con diferencias en calidad de forraje y palatabilidad entre genotipos, por tanto, se podrán recomendar genotipos específicos de *Desmodium* y posiblemente otras leguminosas con taninos para una localidad determinada.

Modelos de regresión para predecir la producción de leche de vacas con el uso de recursos forrajeros alternativos. Un objetivo principal del trabajo en el Proyecto es ajustar modelos forrajeros existentes para predecir la producción de leche de vacas con el uso de recursos forrajeros alternativos. Los resultados obtenidos durante 1997 proveen información básica de comparación sobre interacciones entre respuestas animales (retención N, rendimiento de leche) y cantidad y calidad de los recursos forrajeros tropicales, lo que será útil para ajustar modelos de nutrición animal ya existentes

Nivel de incremento del rendimiento de leche en vacas alimentadas con gramíneas y leguminosas mejoradas. Una de las metas en el Proyecto es poder definir el potencial de diferentes especies de la leguminosa para mejorar el comportamiento de rumiantes en diferentes sistemas de producción. A través de metodologías sencillas, como el método de consumo a corto plazo, ahora es más fácil hacer la selección de especies de leguminosas que se deben estudiar con más detalle y analizar los costos de producción animal.

Producto 2: Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Diversidad Conocida en las Interacciones de la Simbiosis Hospedante /Parásito

Géneros y especies de salivazo totalmente identificados. Se han logrado avances significativos en la descripción de géneros y especies de salivazo en ambientes contratantes de Colombia.

Biología de principales especies de salivazo. Se está recopilando información sobre los estados de la plaga, como incubación de huevos puntos máximos de abundancia de ninfas y épocas de postura . Los estudios en bioecología proveerán la información necesaria para confirmar la resistencia a otras especie de salivazo diferentes de *Aeneolamia varia*. Las mayores posibilidades para aumentar la eficiencia de alternativas culturales, químicas y de biocontrol residen en una comprensión detallada de la variación, así como los patrones de la biología, el comportamiento y la ecología de la plaga.

Método de invernadero confiable para evaluar especies de *Brachiaria* por resistencia a salivazo. Se desarrolló un nuevo método de invernadero que es 50% más rápido y requiere 70% a 80% menos recursos materiales. Con el nivel actual de recursos, la capacidad anual para evaluar genotipos ha aumentado de 200 a 2000, lo que constituye un avance significativo para el programa de mejoramiento de *Brachiaria*. El aspecto más importante del nuevo método selectivo es el mejoramiento en la cantidad y calidad de la información generada, que no sólo produce más información precisa sobre resisten del huésped, sino también permite evaluar simultáneamente tanto la tolerancia como la resistencia antibiótica.

Desarrollo de métodos selectivos y confiables para el muestreo de salivazo en el campo. Un reto importante, que ya se está enfrentando con éxito, es el desarrollo de métodos de muestreo exactos de infestación de salivazo y el mejoramiento de los métodos de infestación con masas de la plaga en el campo para asegurar una evaluación más realista de la resistencia de la planta. Se han logrado avances en la caracterización del complejo de salivazo, que es crítico para evaluación en el campo de resistencia de nuevos genotipos de *Brachiaria*.

Desarrolló de un modelo para explicar el progreso de infestación` de salivazo. La información sobre el estado de la plaga, generada en diferentes ambientes a través del tiempo, es útil para establecer correlaciones entre su aparición, la abundancia y la sincronización de las etapas de vida con los datos meteorológicos.

Identificación de genotipos de *Brachiaria* resistentes a salivazo . Con el desarrollo de un método de invernadero rápido y confiable ha sido posible identificar nuevos recombinantes genéticos de *Brachiaria* con resistencia a antibióticos.

Cálculos de heredabilidad de resistencia a salivazo en *Brachiaria* a partir de la identificación de hermanos medios. Ahora se ha conformado una población apropiada por mejoramiento sexual. Los avances recientes en metodología de evaluación selectiva para salivazo posibilitan los estudios genéticos propuestos. Las familias apropiadas de hermanos medios se formarán durante 1998, y se evaluarán en 1999.

Potencial de uso de marcadores de selección por resistencia a salivazo. Para alcanzar este objetivo es necesario disponer de nuevos fondos de financiamiento. Se han hecho contactos con la Federación Colombiana de Ganaderos (FEDEGAN) con NESTLE para obtener fondos tendientes a desarrollar esta línea de investigación.

Desarrollo de métodos de detección de endófitos y protocolos en gramíneas tropicales. Los protocolos de detección de endófitos dentro de los tejidos de la planta y en semilla se encuentran en etapas avanzadas de mejoramiento. El desarrollo de un método de inoculación para introducir endófitos en diversos genotipo de *Brachiaria* s es una prioridad actualmente.

Identificación de endófitos de origen tropical. En especie de *Brachiaria* se han identificado endófitos nuevos, que se asemejan a aquellos identificados en gramíneas de zonas templadas. Este descubrimiento permitirá probar el efecto de los endófitos en la adaptación de gramíneas a estrés ambiental, resistencia a plagas y enfermedades y producción animal.

Datos de caracterización isoenzimática integrados con información sobre limitación biótica basada en información geográfica. Existen datos sin analizar. Se espera que un nuevo investigador visitante se dedique a esta actividad.

Producto 3: Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Adaptación Conocida a Limitaciones Edáficas y Climáticas

Metodología mejorada para evaluar gramíneas forraje y leguminosas forrajeras por adaptación a suelos de baja fertilidad. Utilizando una solución que simula el estrés de suelo ácido, se ha encontrado que la adaptación sobresaliente de *B. decumbens* a suelos ácidos de baja fertilidad podría deberse a su capacidad para acumular fósforo en los ápices de la raíz. La evaluación adicional de este fenómeno ayudará a desarrollar metodologías sencillas de evaluación selectiva para diferencias en adaptación a suelos ácidos entre recombinantes genéticos y accesiones de germoplasma de *Brachiaria*.

En colaboración con la Universidad de Hokkaido en Japón, también se encontró que el grado de exudación de fitasa de las raíces es un atributo importante de la planta, que contribuye a la adaptación de las gramíneas y leguminosas forrajeras a la baja disponibilidad de fósforo. Aún es necesario evaluar diferencias genotípicas en este atributo de la planta y, de esta manera, poder desarrollar una metodología de evaluación selectiva para identificar genotipos de gramíneas y leguminosas con adaptación superior a niveles bajos de fósforo en el suelo.

Los estudios de invernadero y de campo muestran que dos atributos de la planta son críticos para la adaptación a suelos ácidos de baja fertilidad. Estas son la producción de área foliar y el desarrollo del sistemas radicular. Actualmente se están probando métodos no destructores para calcular la producción de foliar en condiciones de campo. Es necesario probar la utilidad de 'minirhizotrones' para identificar diferencias genotípicas en el desarrollo de raíces, en particular en leguminosas forrajeras.

Lista de accesiones de *Brachiaria* y *Arachis* para ambientes específicos. A partir datos de ensayos multilocacionales se ha identificado un número pequeño de accesiones elite de *Brachiaria*. A partir del análisis completo de los datos de ensayos multilocacionales, será posible tener una lista

definitiva de accesiones elite de *Arachis*. Sin embargo, sobre la base de observaciones preliminares se ha elaborado una lista de accesiones de *Arachis* para multiplicación de semillas y evaluación adicional.

Lista de accesiones de *Brachiaria*, *Arachis* y *Calliandra* con tolerancia a la época seca. En 11 sitios se han establecido ensayos agronómicos de *Brachiaria*. Se han completado dos series de ensayos con accesiones de *Arachis* y en Quilichao se encuentra en evaluación una colección de *Calliandra* proveniente de OFI. Los análisis de datos existentes de ensayos multilocacionales ayudará a identificar accesiones con comportamiento particularmente sobresaliente durante períodos de estrés de humedad.

Lista de accesiones de *Brachiaria* y *Paspalum* seleccionadas para suelos mal drenados. En Quilichao se estableció una nueva colección de *Paspalum*. Además, varias accesiones de *Brachiaria* se encuentran incluidos en ensayos multilocacionales en Colombia para observar en forma preliminar su comportamiento en condiciones de suelos mal drenadas.

Lista de accesiones de leguminosas arbustivas seleccionadas para tolerancia a bajas temperaturas. Los resultados hasta la fecha en dos sitios de zonas de ladera en el Cauca (Colombia) indican que varias leguminosas arbustivas tienen un buen potencial, por tanto, debe iniciarse la multiplicación de semillas para futuros ensayos en explotaciones agropecuarias.

Producto 4: Gramíneas y Leguminosas Superiores Entregadas a Socios para Evaluación

Proyectos colaborativos con instituciones nacionales de investigación agropecuaria para la evaluación y utilización de nuevas gramíneas. A través del establecimiento de vínculos con proyectos en fincas como TROPILECHE (Costa Rica, Perú, Nicaragua y Honduras), NESTLE en el Caquetá (Colombia) y el Plan de Modernización de la Ganadería (Colombia), el germoplasma forrajero elite seleccionado por el Proyecto ha llegado a los campos de los productores. Además, *A. pintoii* fue liberado en Panamá y hay planes para la distribución de un genotipo seleccionado de esta leguminosa en Costa Rica durante 1998.

Lista de accesiones forrajeras para diferente sistemas agroecológicos. Se han completado los ensayos multilocacionales con *Desmodium ovalifolium* y *A. pintoii* y los resultados se encuentran en análisis para determinar las interacciones genotipo por ambiente

Instituciones y personas que contribuyen y reciben publicaciones de investigación en forrajes. A través del Boletín Informativo que publica el Proyecto de Forraje y de la revista periódica Pasturas Tropicales se ha logrando informar a un gran número de socios en la región los progreso en investigación en forrajes en el CIAT y otras instituciones.

Producto 1. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Atributos de Calidad Reconocidos

Subproducto 1.1. Función de los factores antinutricionales en la digestión de gramíneas y leguminosas y en el metabolismo de rumiantes

Un número considerable de especies de leguminosas tropicales herbáceas y leñosas tiene altos niveles de taninos condensados (TC), que como se sabe pueden afectar negativamente el consumo, la digestión y utilización de nitrógeno por los rumiantes. Para desarrollar procedimientos de investigación selectiva y para definir mejor las estrategias para la utilización de estas leguminosas en sistemas de alimentación, es necesario comprender cómo estos taninos y otros factores de anticalidad afectan la nutrición de los rumiantes.

Durante los 2 últimos años el Proyecto ha colaborado con el Instituto de Pasturas e Investigación Ambiental (IGER, su sigla en inglés) del Reino Unido a través de un proyecto sobre reducción de factores anticalidad en leguminosas tropicales, el cual es financiado por el Departamento para el Desarrollo Internacional (DFID, su sigla en inglés) y llevado a cabo por R. Barahona, un estudiante de posgrado en la Universidad de Reading. Además, durante 1997 se iniciaron los trabajos colaborativos con el Instituto de Silvicultura de Oxford (OFI, su sigla en inglés) a través de un proyecto para la investigación de los factores que afectan el valor nutritivo de la hoja de *Calliandra calothyrsus* cuando se utiliza en ramoneo por rumiantes. Este proyecto también es financiado por el DFID. Para llevar a cabo las investigaciones, se han realizado trabajos experimentales in vitro tendientes a estudiar el

efecto de los TC y la composición de la pared celular en la calidad del forraje de especies de leguminosa contrastantes: *Desmodium ovalifolium*, *Flemingia macrophylla*, *Leucaena leucocephala*, *L. pallida*, *L. macrophylla*, *Calliandra calothyrsus*, *Clitoria fairchildiana* y *Cratylia argentea*.

Los resultados previos mostraron diferencias entre especies de leguminosas en: (1) proporción de taninos solubles y ligados; (2) grado de digestión y productos finales de fermentación por microorganismos del rumen; y (3) tipos de tanino condensado (proantocianidinas) según lo indican las diferentes relaciones de cianidina, delfinidin, pelarganidina y fisetinidina.

Actividad 1.1.1. Estudios sobre la influencia de taninos condensados en la calidad del forraje de un amplio número de leguminosas herbáceas y arbustivas

Aspectos sobresalientes

- Las diferencias en calidad dentro de las especies de leguminosas no están relacionadas únicamente con taninos, sino también con el potencial de degradabilidad de los constituyentes de la pared celular.
- Los taninos condensados ligados al forraje tienen un mayor efecto sobre la digestión que los taninos condensados solubles.

Composición de polisacáridos no amilosos (PNA) en leguminosas y pérdidas después de la fermentación (R. Barahona, M. Theodorou, P. Morris, E. Owen y C. Lascano)

Justificación. Las investigaciones anteriores, realizadas en el CIAT con leguminosas tropicales ricas en taninos indicaron que, para comprender los factores relacionados con su valor nutritivo era necesario estudiar no sólo la composición de aquellos, sino también la composición de la fibra. Se ha sugerido que los métodos gravimétricos para determinar fibra en la dieta, por ej., FDN y FAD, pueden dar lugar a pérdidas variables de uno o varios de los componentes de los PNA y conducir a una subestimación de la fibra alimenticia presente en un alimento determinado. Las técnicas que miden los monómeros individuales de la fracción PNA evitan la pérdida de estos grupos constitutivos.

Métodos. Se midió el contenido de PNA en muestras de hojas maduras e inmaduras de *D. ovalifolium*, *F. macrophylla*, *L. leucocephala*, *L. pallida*, *L. macrophylla*, *C. calothyrsus* y *C. fairchildiana*, en estados pre y posincubación con microorganismos del rumen, utilizando la técnica del transductor de presión (PTT, sus iniciales en inglés) desarrollada en IGER.

Los azúcares neutrales en PNA se midieron usando un cromatógrafo 'Varian 3400' equipado con un muestreador automático 'Varian 8000' y un detector de llama de ionización, conectado a un computador personal 'Dell' con el software de integración Dionex A1-450. Los ácidos urónicos en los hidrolisatos fueron determinados por un método colorimétrico.

Resultados. Los resultados obtenidos en la determinación de la composición de PNA

aparecen en el Cuadro 1. El contenido de PNA varió desde 109 mg/g en *L. pallida* inmadura hasta 269 mg/g en *D. ovalifolium* inmaduro. La composición de PNA varió grandemente entre especies de las leguminosas, no obstante, la glucosa y los ácidos urónicos fueron los carbohidratos constituyentes de la pared celular más abundantes en todas las muestras y su combinación alcanzó 67 a 79% de los PNA.

El contenido y la composición de PNA fue similar entre *L. leucocephala*, *L. pallida* y *C. calothyrsus*. En contraste, en *L. macrophylla* fueron diferentes al de las otras especies de *Leucaena*, especialmente en lo que se refiere a glucosa, xilosa y contenido de arabinosa. Pareciera que no existen mayores diferencias entre leguminosas en el contenido y composición de PNA debido al estado de madurez, excepto en el caso de *D. ovalifolium*.

La pérdida del total de PNA (PPNA; mg/g de PNA) después de la incubación con microorganismos del rumen por 144 h fue variable entre leguminosas, con un rango desde 206 en *F. macrophylla* madura hasta 711 en *L. leucocephala* inmadura (Cuadro 2).

Se encontró una relación positiva entre PPNA y la acumulación de gas a 144 h ($r = 0.73$), determinada por la técnica del transductor de presión.

Las pérdidas de PNA en *L. leucocephala* y *L. pallida* no variaron notablemente. Por el contrario, la PPNA de *L. macrophylla* fue mucho menor que el de las otras especies *Leucaena*. Las pérdidas de ácidos urónico tendieron a ser mayores que las de los otros elementos que constituyen los PNA.

Cuadro 1. Polisacáridos no amilosos (PNA) que se encuentran como constituyentes de hojas maduras e inmaduras (partes terminales) de siete leguminosas tropicales (en mg/g de MS).

Especie	Estado	Componentes PNA							Total PNA ^b
		Ramnosa	Arabinosa	Xilosa	Manosa	Galactosa	Glucosa	UAC ^a	
<i>D. ovalifolium</i>	Inmaduro	0.0	7.0	26.2	14.6	7.7	174.2	39.3	268.9
	Maduro	0.0	6.9	25.3	11.6	6.5	154.0	33.7	238.1
<i>F. macrophylla</i>	Inmaduro	0.0	9.9	24.4	5.7	9.8	123.4	34.3	207.5
	Maduro	0.0	9.8	26.4	6.2	9.4	122.2	32.9	206.9
<i>L. leucocephala</i>	Inmaduro	6.1	10.4	6.4	3.5	11.4	40.0	45.5	123.3
	Maduro	6.5	10.3	5.5	2.8	11.6	37.8	45.6	120.1
<i>L. pallida</i>	Inmaduro	1.2	10.2	3.6	2.8	11.5	35.8	44.1	109.1
	Maduro	3.9	9.5	4.6	2.9	11.2	45.9	47.5	125.5
<i>L. macrophylla</i>	Inmaduro	0.0	17.3	29.4	4.2	10.8	98.7	40.4	200.7
	Maduro	0.0	17.2	29.2	3.4	10.6	86.9	35.7	183.0
<i>C. calothyrsus</i>	Inmaduro	3.6	7.5	4.4	4.6	9.8	55.0	34.7	119.6
	Maduro	5.5	5.4	4.7	2.9	7.3	45.5	37.5	108.7
<i>C. fairchildiana</i>	Inmaduro	0.0	15.0	29.1	4.9	13.8	126.1	28.5	217.2
	Maduro	0.0	14.3	27.3	4.3	10.0	122.1	35.1	213.1

- a. Los ácidos urónicos (AUC) se determinaron mediante un método colorimétrico (Scott, 1979).
 b. Los polisacáridos no amilosos (PNA) se determinaron por cromatografía de gas (Englyst y Cummings, 1984). El total de ellos se calculó sumando los azúcares neutros y los AU.

Por otro lado, xilosa fue, en promedio, la fracción de PNA menos digestible. Sin embargo, entre leguminosas se observó una gran variabilidad en la digestibilidad de elementos constitutivos de PNA. Por ejemplo, las pérdidas de ramnosa fueron más grandes en especies de *Leucaena* que en *C. calothyrsus*. La comparación sobre la base de madurez de la hoja mostró que cuando éstas eran inmaduras tendieron a presentar mayores PPNA que sus contrapartes maduras en tres de las siete leguminosas estudiadas.

Discusión. Se observó una mayor variabilidad en la pérdida de PNA y sus elementos constitutivos entre especies de leguminosa que aquella que podría predecirse en función de la composición de PNA.

Por ejemplo, las pérdidas de PNA y sus elementos constitutivos (Cuadro 2) en *C.*

calothyrsus fueron menores que las correspondientes en *L. leucocephala* o *L. pallida*, a pesar de la gran semejanza en contenido de PNA y en composición entre estas tres leguminosas (Cuadro 1). Conclusiones similares se pueden sacar cuando se examina la PPNA de *F. macrophylla* y *C. fairchildiana*.

Estas diferencias podrían estar relacionadas con factores como sustitución de cadenas adyacentes y enlace de TC con componentes de la pared celular.

Estos resultados sugieren que la ausencia de TC en leguminosas tropicales no garantiza la mayor digestibilidad de la pared celular de la planta, como se demostró en el caso de *L. macrophylla* que no contiene tanino cuantificable, pero que tiene baja digestibilidad.

Cuadro 2. Pérdida de polisacáridos no amilosos (PNA) en hojas maduras e inmaduras (partes terminales) de siete leguminosas tropicales. (En mg/g de PNA o constituyente de PNA).

Especie	Estado	Componente PNA							Total PNA ^b
		Ramnosa	Arabinosa	Xilosa	Manosa	Galactosa	Glucosa	UAC ^a	
<i>D. ovalifolium</i>	Inmaduro	—	579	475	564	568	574	504	553
	Maduro	—	588	524	476	543	546	500	535
<i>F. macrophylla</i>	Inmaduro	—	97	222	8	117	289	432	280
	Maduro	—	-5	147	10	11	196	446	206
<i>L. leucocephala</i>	Inmaduro	866	612	424	617	637	635	846	711
	Maduro	717	558	257	485	547	584	855	671
<i>L. pallida</i>	Inmaduro	900	720	522	542	621	617	648	638
	Maduro	733	558	502	422	519	649	639	618
<i>L. macrophylla</i>	Inmaduro	—	291	159	240	282	361	616	368
	Maduro	—	132	130	32	236	338	630	404
<i>C. calothyrsus</i>	Inmaduro	-49	495	139	147	280	378	468	363
	Maduro	26	510	120	285	219	547	522	445
<i>C. fairchildiana</i>	Inmaduro	—	443	311	310	512	475	522	456
	Maduro	—	299	317	198	260	334	513	353

a. Los ácidos urónicos (AUC) se determinaron mediante el método colorimétrico (Scott, 1979).

b. Los polisacáridos no amilosos (PNA) se determinaron por cromatografía de gas en muestras antes y después de incubación con microorganismos del rumen. La pérdida total de PNA y de sus componentes se determinan por substración del residuo después de 144 h de incubación de la cantidad presente antes de la incubación.

Cinética de la fermentación en leguminosas tropicales que contienen taninos

condensados (R. Barahona, M. Theodorou, P. Morris, E. Owen y C. Lascano)

Justificación. Para predecir mejor la disponibilidad de nutrientes para rumiantes alimentados con leguminosas ricas en taninos es necesario determinar no sólo los puntos finales de la digestión, p. ej., la extensión, sino también la cinética, es decir, las tasas de degradación microbiana de aquellas forrajeras en el rumen. La técnica del transductor de presión desarrollada en IGER puede proveer cálculos razonables de tasas de degradación de forraje y tiene un extraordinario potencial como herramienta para investigar los procesos mecanísticos importantes en la degradación de

forraje por microbios del rumen.

Métodos. Según la técnica de transductor de presión, en cada uno de dos experimentos, durante 144 h se fermentaron muestras de 1 g de siete especies de leguminosas en tres botellas séricas con capacidad de 165 ml. Las muestras de contenido ruminal se tomaron en carneros alimentados con heno de gramíneas, antes de la alimentación de la mañana (8 a.m.) y se transportaron al laboratorio en un termo de vacío precalentado a 39 °C.

Cada botella sérica recibió 10 ml de inóculo microbiano, 85 ml de solución buffer y 4 ml de un agente reductor. Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo de

France, según la ecuación de la forma siguiente:

$$Y = A \{ 1 - e^{-[b(t-T) - c(L/\sqrt{T})]} \},$$

donde Y es la producción acumulada de gas (ml), A es la asíntota (p. ej. reserva de gas), T es el intervalo de tiempo, b (h^{-1}) y c ($h^{-0.5}$) son tasas constantes de deterioro o caída. La tasa fraccionada y combinada (h^{-1}) de producción de gas (μ) se calculó como:

$$\mu = b + c / 2\sqrt{t},$$

donde t es el tiempo de incubación (h).

Resultados. Se encontraron considerables diferencias entre los perfiles de acumulación de gas de las leguminosas (Figura 1). Las hojas de *L. leucocephala* produjeron la mayor cantidad de gas y las de *F. macrophylla* la menor. En sólo tres leguminosas (*F. macrophylla*, *L. leucocephala* y *L. macrophylla*) más de 50% del gas se produjo dentro de las 24 primeras horas de fermentación.

No se encontró un efecto específico de la madurez de la leguminosa en los perfiles de acumulación de gas. En una leguminosa la acumulación de gas a 144 h disminuyó y en las otras dos aumentó a medida que la maduración de la muestra era mayor.

Sin embargo, la acumulación de gas en las 25 primeras horas, como una proporción de la acumulación a 144 h, fue mayor en muestras maduras que en muestras inmaduras de tres de las siete leguminosas. Además, en comparación con las muestras inmaduras, el volumen de gas (ml) fue al menos 15% mayor a las 25 h en muestras maduras de cuatro de las siete leguminosas.

Discusión. La comparación de los datos de

acumulación de gas con niveles de tanino condensado (ver Informe Anual-1996, CIAT) y contenido de PNA (ver Cuadro 1) en las leguminosas estudiadas, sugiere que taninos de diferentes leguminosas tropicales tienen efectos nutricionales diferentes.

Por ejemplo, la fermentación in vitro de *L. leucocephala* y *L. pallida* inmaduras difiere enormemente (producción de gas a 144 h: 139 vs. 127 ml; DIVMS: 62 vs. 44%), a pesar de la composición similar de PNA (123 vs. 109 g/kg) y del contenido de TC (96 vs. 88 g/kg). Asimismo, en *L. pallida* se encontró un mayor porcentaje de TC ligado a pared celular que en *L. leucocephala*.

Determinación de la cinética de la unión de los taninos condensados a la pared celular de gramíneas (R. Barahona, M. Theodorou, P. Morris, E. Owen y C. Lascano)

Justificación. Los taninos se conocen por su capacidad de unirse a proteína, fibra y otras moléculas. En el tejido de la planta se encuentran en forma soluble (extractables con solventes) y en forma ligada. Esta distribución cambia según factores como especie de la planta, estado de madurez, temperatura durante el crecimiento, etc.

Los métodos tradicionales para determinar la actividad biológica de los taninos incluyen varios ensayos de precipitación proteica. Mediante el uso de tales técnicas se puede obtener información valiosa, aunque está principalmente limitada a los efectos nutricionales posibles de taninos solubles en la dieta. El conocimiento de la capacidad de los taninos para unirse a las paredes celulares de gramíneas sería de gran beneficio para comprender la función nutricional de los TC en rumiantes.

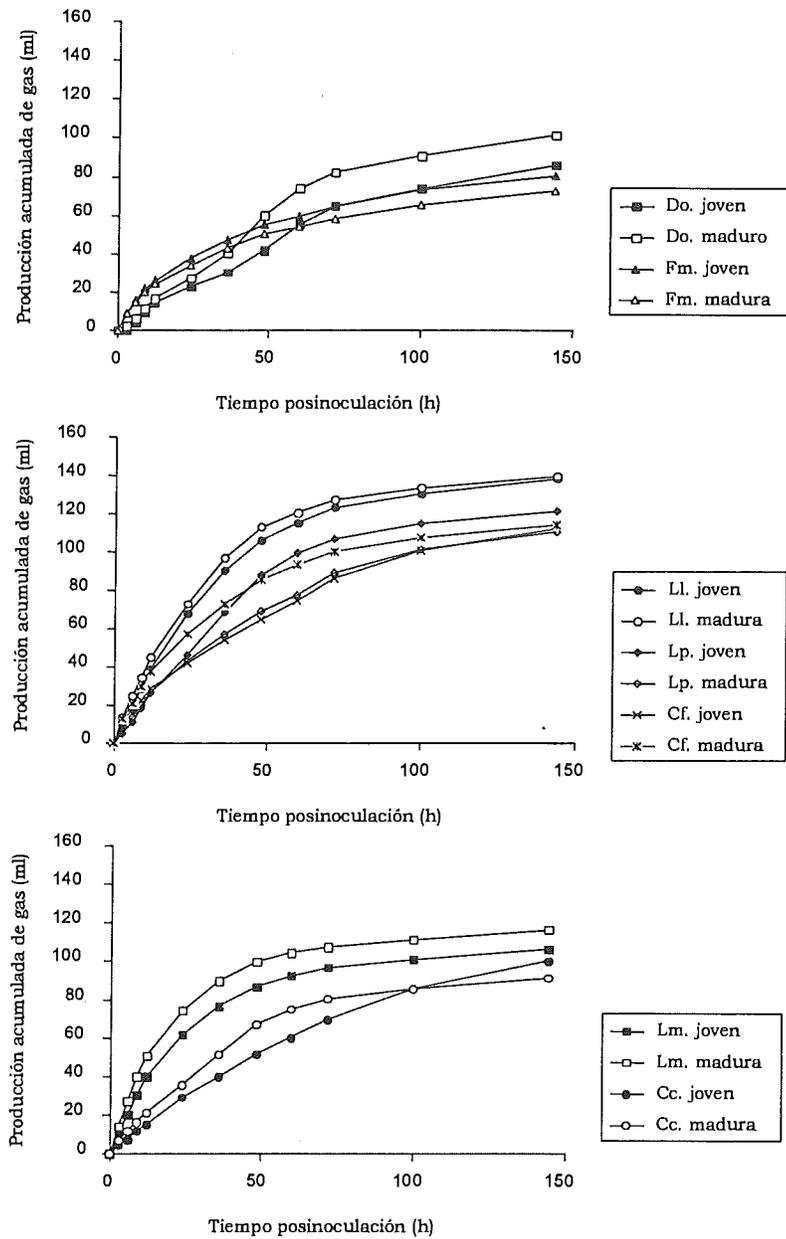


Figura 1. Perfiles de producción acumulada de gas (ml) a partir de la fermentación de muestras maduras e inmaduras de siete leguminosas tropicales (Do = *D. ovalifolium*; Fm = *F. macrophylla*; Ll = *Leucaena leucocephala*; Lp = *L. pallida*; Cf = *C. fairchildiana*; Lm = *L. macrophylla*; Cc = *C. calothyrsus*).

Métodos. Para determinar la cinética de la unión de los TC a la pared celular de gramíneas, se realizó un ensayo con células de *Festuca arundinacea*. Los taninos utilizados habían sido previamente aislados de las especies de leguminosa incluidas en los estudios en CIAT. Doce fuentes diferentes de TC fueron agregadas a muestras triplicadas de 25 mg de células de la gramínea en cinco niveles diferentes (1%, 2%, 4%, 7% y 10% de MS de células de la planta). Las paredes de las células se rehidrataron previamente en 1 ml de agua destilada y el TC se agregó a razón de 1 ml disuelto en una solución de metanol acuoso al 25%.

Después de agitar en forma fuerte, la mezcla se dejó reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente. Luego, a medida que se agitaba, se adicionaron 4 ml de agua destilada y la mezcla resultante permaneció a 4 °C durante toda la noche hasta la mañana siguiente. Al término de este período, después de agitar y centrifugar a 2500 rpm durante 5 min, se recogió una alícuota de 2 ml del sobrenadante. El complejo pared celular-CT (PCTC) resultante se recuperó por filtración de vacío a través de una tela "Mira" y se lavó abundantemente con agua destilada.

El PCTC recuperado se congeló a -20 °C y posteriormente se liofilizó a peso constante. El contenido de tanino se determinó en alícuotas duplicadas del sobrenadante (0.5 ml) y el de los complejos PCTC (5 mg) usando el procedimiento Butanol-HCl.

Resultados. Se presentan sólo los resultados obtenidos con los TC de *D. ovalifolium* y *F. macrophylla* (Figura 2). Entre los diferentes tipos de tanino se observaron grandes diferencias en la afinidad de los TC con la pared celular. Los niveles más altos de afinidad (% de MS de la pared de celular) se observaron con TC extraídos de plantas jóvenes de *D. ovalifolium*,

con un rango de afinidad de 0.92 a 4.44 mg por 1 a 10 mg de adición, respectivamente. Por otra parte, los niveles más bajos de unión ocurrieron con TC extraídos de plantas jóvenes de *F. macrophylla*, con un rango entre 0.19 y 2.12. Se encontraron, igualmente, diferencias en la unión de TC con las paredes celulares debidas al estado de madurez de la muestra.

En cuatro de las seis especies de la leguminosa, los TC extraídos de hojas maduras presentaron niveles más altos de unión que los TC extraídos de sus contrapartes inmaduras. Lo contrario, ocurrió en el caso de los taninos extraídos de *D. ovalifolium* y *C. fairchildiana*.

Discusión. Estos resultados corroboran hallazgos anteriores que indican que los TC de *D. ovalifolium* son más activos biológicamente que los TC de *F. macrophylla*, lo que podría asociarse con una alta relación cianidina:delfinidina en la estructura química de la fracción de tanino. Sin embargo, se debe señalar que en leguminosas de zonas templadas la reactividad de los TC con proteína se ha asociado con aumentos de la relación delfinidina:cianidina y/o el peso molecular de taninos, así, por ej., a mayor peso molecular menos reactividad. Las interacciones entre tipo de tanino y pesos moleculares con la reactividad de taninos debe ser aclarada en el caso de leguminosas tropicales.

Las diferencias en unión de los TC a paredes celulares no se relacionaron con los niveles reales de TC observados en hojas liofilizadas. Por ejemplo, el nivel de TC ligado en hojas fue mayor en *F. macrophylla* que en *D. ovalifolium*. Para explicar estas diferencias se pueden citar dos razones, primero, la extractabilidad de taninos en acetona acuosa

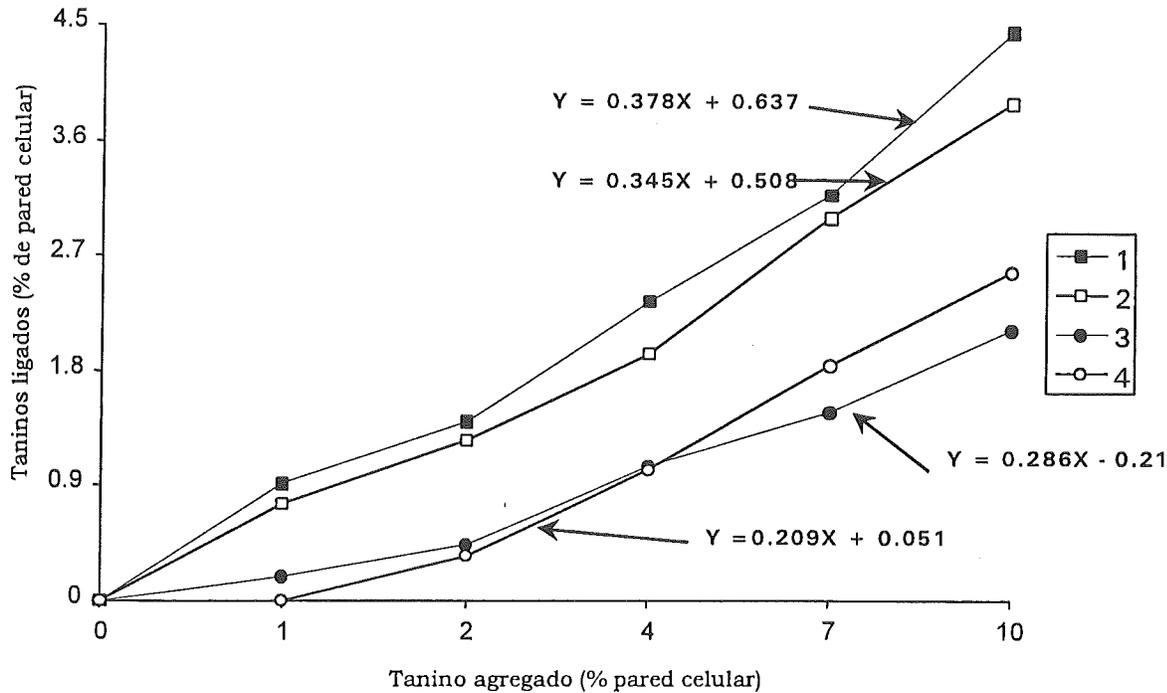


Figura 2. Cinética de la unión taninos condensados a células de la gramínea *Festuca arundinacea*. Fuentes de TC: 1 = *Desmodium ovalifolium* joven, 2 = *D. ovalifolium* maduro, 3 = *macrophylla Flemingia* joven, 4 = *F. macrophylla* madura.

a 70% quizás no refleje la solubilidad real de TC en otros solventes más naturales y, segundo, se ha sugerido que los TC en células intactas de la planta se encuentran contenidos en vacúolas. En consecuencia, la extractabilidad de taninos en acetona sólo puede reflejar esta 'compartimentalización' y no está relacionado con la capacidad de los TC para ligarse.

Efecto de taninos condensados solubles y ligados sobre la fermentación de substratos por microorganismos del rumen (R. Barahona, M. Theodorou, P. Morris, E. Owen y C. Lascano)

Justificación. Aunque el límite entre TC extractables y ligados puede parecer arbitrario, es evidente que ambas fracciones sí existen en tejidos de la planta. El hecho que en la mayoría de las leguminosas hay una fracción de tanino

que permanece asociada con proteína y/o componentes de fibra de la pared celular después de la extracción con acetona acuosa al 70% es indicativo de tal acontecimiento. Se puede formular una hipótesis según la cual debido a las diferencias en posición y en flexibilidad para interactuar con otras moléculas, los TC solubles y ligados difieren en su modo de acción y en su importancia biológica. Sin embargo, muy poco se sabe acerca del impacto nutricional relativo de estas fracciones de TC.

Métodos. Se condujeron tres experimentos diferentes de producción de gas para elaborar modelos de los efectos nutricionales de diferentes concentraciones de TC extractables y ligados. Todas las pruebas de producción de gas (PTT) se hicieron por triplicado en

botellas séricas con capacidad para 75 ml, cada una de las cuales recibió 42.5 ml de medio de digestión, 2 ml de solución reductora y 5 ml de inóculo de líquido ruminal. El TC purificado usado en todas pruebas de PTT descritas en esta sección se obtuvieron de *D. ovalifolium*

Experimento 1. Taninos condensados solubles y fermentación de D-glucosa

Se realizaron dos pruebas de PTT para examinar los efectos de diferentes adiciones de TC sobre la fermentación de D-glucosa por microorganismos del rumen. En la segunda prueba, muestras por triplicado recibieron 0 (control), 200, 400, 800, 1400 y 2000 g de TC/kg de D-glucosa que se encubaron a 39 °C durante 30 h. D-glucosa fue la principal fuente de carbono presente en el medio de digestión. El medio se preparó de tal manera que, una vez mezclados todos los componentes de las soluciones, la concentración final de D-glucosa fue de 0.25 g/lit de medio.

Experimento 2. Taninos condensados solubles y fermentación de células de gramíneas

En este experimento se agregaron 0.5 ml de solución que contenía TC disuelto en metanol acuoso al 50% a botellas séricas que contenían células de *F. arundinacea* intactas (sin TC). Las concentraciones finales de TC obtenidas fueron 0 (control), 6.25, 12.5, 25, 50, 87.5 y 125 g/kg de células de MS de la planta. En esta prueba de PTT, las muestras se fermentaron por 144 h.

Experimento 3. Taninos condensados ligados y fermentación de células de gramíneas

En este experimento se estudió la cinética de fermentación de los diferentes complejos de TC ligados a la pared celular PCTC obtenidos en estudios anteriores. El peso de la muestra

incubada osciló entre 100 y 200 mg por cada botella sérica y el contenido de TC ligado varió entre 0 (control) y 60 g/kg de MS de células de la planta, siendo el periodo de fermentación de 120 h.

Resultados. Para facilidad de comparación, la acumulación de gas en cada prueba de presión en el transductor se expresa como un porcentaje de su tratamiento control respectivo. Tal comparación de porcentaje de acumulación de gas durante 24 h posinoculación se ilustra en Figura 3.

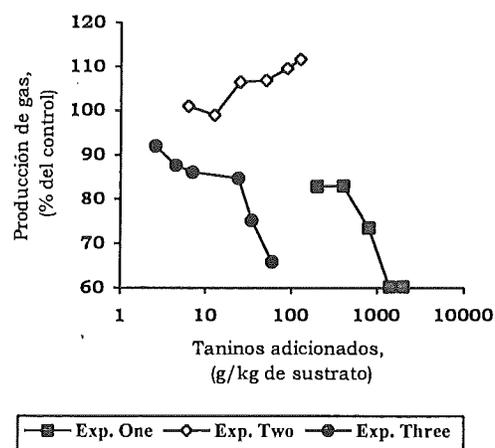


Figura 3. Comparación del efecto relativo de taninos condensados solubles vs. ligados de *D. ovalifolium* maduro. Experimentos: 1 = TC soluble, desde 0 hasta 2000 g/kg de D-glucosa; 2 = TC soluble desde 0 hasta 125 g/kg de paredes celulares de *Festuca arundinacea*; 3 = TC ligados desde 0 hasta 60 g/kg de paredes celulares de *F. arundinacea*. El eje X está en escala logarítmica.

Los resultados muestran que la eficiencia en la inhibición de fermentación por microorganismos del rumen fue más alta en los TC ligados que en los TC solubles. A una máxima concentración de 60 g/kg de MS de la pared celular, los TC ligados inhibieron, en aproximadamente 35%, la fermentación (acumulación de gas) de la pared de celular

de las gramíneas. Por otra parte, los TC solubles en concentraciones de 125 g/kg de MS de la pared celular no produjeron efecto inhibitorio sobre la fermentación de las células de las gramíneas. Para inhibir la fermentación de D-glucosa en una tasa cercana al 40% del testigo se requirió un ratio TC soluble:glucosa mucho mayor (2:1). Los resultados también indicaron que la inhibición en la fermentación de células de gramíneas causada por TC ligados disminuye con el tiempo (Figura 4).

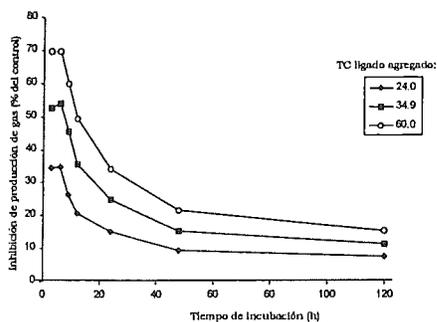


Figura 4. Efecto de diferentes cantidades de taninos ligados de *Desmodium ovalifolium* sobre la fermentación de las células de *Festuca arundinacea*. Los datos se expresan en relación con células de gramíneas sin taninos ligados a ellas. La unión de taninos a la célula de la gramínea se llevó a cabo antes de la fermentación.

Discusión. Los taninos condensados pueden actuar como inhibidores de la degradación microbiana de la MS, bien sea, precipitando las enzimas microbianas, por toxicidad directa a los microorganismos del rumen (alterando la integridad de la membrana) o sencillamente actuando como una barrera contra actividad microbiana (aislando el sustrato). Los TC solubles son libres para interactuar aleatoriamente con otras moléculas, por tanto, tienen mayor probabilidad de actuar en las dos primeras maneras. Los TC ligados, por otro lado, probablemente actúan previniendo el acceso de los microbios del rumen o sus enzimas a la MS del forraje al formar una superficie protectora entre ellos. Dentro de ese

razonamiento, los datos aquí obtenidos indican claramente que, el aislamiento del sustrato es la manera más eficaz de inhibir la degradación de la MS por microorganismos del rumen. Las disminuciones observadas en el efecto inhibitorio de TC ligados a medida que el tiempo de incubación aumenta podrían, probablemente, ser explicadas mediante la separación de los TC de la pared celular a medida que el tiempo de incubación aumentó. Tal respuesta apoyaría la sugerencia de la eficiencia superior de los TC ligados para prevenir la degradación de la MS en comparación con los TC solubles.

En investigación relacionadas con este tema se ha evaluado el efecto de los TC solubles sobre la actividad de enzimas microbianas y los resultados indican que hay una disminución significativa en actividad de la enzima como respuesta a la presencia de TC solubles. Sin embargo, las mayores reducciones en la actividad de las enzimas se registraron cuando los TC estaban ligados al sustrato que cuando cantidades similares de TC soluble se agregaron al medio de reacción.

Actividad 1.1.2. Identificación de taninos presentes en leguminosas arbustivas seleccionadas

Aspectos sobresalientes

- Diferencias en nivel y tipo de taninos condensados entre proveniencias de *C. calothyrsus* cultivadas en sitios contrastantes.
- Variación en taninos solubles y ligados entre accesión de *C. argentea* y definición del tipo de taninos presentes.

Atributos de calidad en proveniencias de *Calliandra calothyrsus* (N. Narváez, C. Lascano y J. Stewart)

Justificación: *Calliandra calothyrsus* (Caliandra) es una leguminosa arbustiva nativa de México y Centroamérica, de interés en todos los trópicos húmedos y subhúmedos debido a su crecimiento rápido y tolerancia a suelos con pH bajo. Sin embargo, los informes sobre su valor como alimento varían ampliamente debido, aparentemente, a interacciones de manejo poscosecha del forraje con TC. Varios investigadores han encontrado una reducción grande en digestibilidad y consumo cuando el forraje de esta leguminosa se suministra en forma seca, en comparación con la forma fresca.

El mecanismo de este cambio está, probablemente, relacionado con cambios en la polimerización de los taninos presentes. Por otro lado, muy poco se sabe acerca de los efectos ambientales sobre la calidad de

Caliandra. Por lo anterior, dentro de un proyecto colaborativo OFI/CIAT se está estudiando el efecto de la proveniencia, el ambiente y el manejo sobre la calidad del forraje de esta leguminosa.

Métodos. Durante 1996 se plantaron en Palmira y Quilichao dos proveniencias (Guatemala [Patulul-CIAT 22316] y Nicaragua [San Ramón-CIAT 22310]) de *C. calothyrsus* seleccionadas en OFI sobre la base de diferente calidad de forraje, principalmente, digestibilidad y taninos. El forraje cosechado de cada proveniencia en ambos sitios se utilizará en 1998 para ensayos de alimentación con ovinos en la estación CIAT-Quilichao. Los resultados de la caracterización química preliminar de hojas inmaduras secas y congeladas se presentan a continuación.

Resultados. Los resultados indican que los TC soluble en Caliandra fueron muy altos y variaron más entre sitios que entre proveniencias (Cuadro 3).

Cuadro 3. Calidad (%) de hojas jóvenes de *Calliandra calothyrsus* cultivadas en dos sitios de Colombia.

Proveniencia (CIAT No.)	PC	DIVMS	FDN (%)	FDA	TCS	TCI
Quilichao						
San Ramón (22310)	21.3	36.8	25.7	20.3	15.8	12.2
Patulul (22316)	17.2	22.2	35.6	29.3	10.5	10.9
Palmira						
San Ramón (22310)	16.8	36.1	25.1	20.7	27.9	15.1
Patulul (22316)	18.2	38.7	22.8	20.2	31.9	13.4

Las hojas cosechadas en Quilichao tenían casi la mitad de la cantidad de TC soluble que las hojas cosechadas en Palmira. Las diferencias entre proveniencias en TC soluble se observaron en Quilichao, pero no en Palmira. Sin embargo, fue interesante señalar que las diferencias en digestibilidad in vitro entre proveniencias no estaban relacionadas con TC solubles, sino más bien con el contenido de la pared de celular (FDN y FAD). También se analizaron los tipos

de TC soluble presentes, por ej., la relación de proantocianidina en las dos proveniencias de Caliandra y se encontró una mayor proporción de cianidina que de delfinidin, con la excepción de *C. calothyrsus* CIAT 22316 que creció en Quilichao (Cuadro 4).

Discusión. Estos resultados iniciales confirman la idea de que la producción de taninos en leguminosas está estrechamente

asociada con las condiciones de cultivo. Por razones no claras, las dos proveniencias de Caliandra se establecieron más rápido y mejor en Quilichao que en Palmira.

Por otro lado, es evidente que los taninos en esta leguminosa tienen una alta relación cianidina:delfinidin lo que, como se ha indicado, podría significar que los taninos en Caliandra son muy reactivos con proteína. Sin embargo, no está claro del porqué el cambio en la relación cianidina:delfinidin en la proveniencia cultivada en Quilichao comparada con la cultivada en Palmira.

Cuadro 4. Relación de proantocianidina en taninos condensados purificados de dos proveniencias de *Calliandra calothyrsus*, cultivadas en dos sitios

Proveniencias (No. CIAT)	Relación de proantocianidina:	
	Cianidina	Delfinidin
Quilichao		
San Ramón (22310)	89.8	10.2
Patulul (22316)	24.9	75.1
Palmira		
San Ramón (22310)	88.7	10.0
Patulul (22316)	74.4	25.6

Niveles y tipos de taninos condensados en *Cratylia argentea* (N.Narváez y C. Lascano)

Justificación. *Cratylia argentea* es una leguminosa arbustiva con extraordinario potencial como fuente de proteínas para la época seca en sistemas pecuarios en zonas subhúmedas. Durante los últimos años se han estudiado los atributos de calidad de diferentes accesiones de *Cratylia* y se ha llegado a la conclusión que las hojas inmaduras son pobremente consumidas debido a algún factor de anticalidad desconocido. Sin embargo, pruebas recientes indican que el bajo consumo de forraje inmaduro de esta leguminosa podría asociarse con taninos condensados. Las pruebas iniciales para taninos en *Cratylia* no

habían mostrado la presencia de estos compuestos secundarios, debido a que se estaba usando metanol acuoso como un solvente en lugar de acetona acuosa. Este último parece ser más apropiado cuando se tratan plantas que tienen bajos niveles de taninos, como es el caso de *Cratylia*. Debido a la presencia de taninos, se decidió estudiar qué niveles y tipos de taninos estaban presentes en diferentes accesiones de esta leguminosa.

Métodos. Se cosecharon hojas inmaduras de ocho accesiones de *C. argentea* cultivadas en parcelas en la estación Quilichao las que, una vez secas y congeladas, se sometieron a análisis de taninos. Los taninos purificados se obtuvieron utilizando columnas de "sephadex" y los taninos de las muestras se extrajeron usando una solución acuosa de acetona del 70%. El nivel y el tipo (relación de proantocianidina) de taninos se obtuvieron con Butanol-HCl y HPLC, respectivamente.

Resultados. Se encontró una considerable variación entre accesiones en relación con los niveles de TC solubles y ligados. Los TC solubles variaron entre 0.5 y 3.5% de MS, mientras que los TC ligados variaron entre 4.1 y 7.8% de MS. Por otro lado, el tipo de tanino predominante en las accesiones de *Cratylia* evaluadas fue delfinidin, seguido de cianidina (Cuadro 5).

Discusión. Los resultados indican que los niveles de TC en *Cratylia* son bajos, pero que hay un marco para seleccionar accesiones con base en el nivel de taninos solubles y ligados. Por otro lado, está claro que una proporción muy alta de TC en la leguminosa están ligados (73% del total), lo que podría asociarse con los niveles de digestibilidad

Cuadro 5. Nivel y tipo de taninos condensados solubles presentes en hojas inmaduras de diferentes accesiones de *Cratylia argentea* cultivadas en Quilichao.

Accesión (no. CIAT)	Taninos condensados (%)*		Relación proantocianidina:		
	Soluble*	Ligado	Cianidina	Delfinidín	Desconocido
18676	0.5	3.9	15.1	84.9	—
18516 ¹	0.6	7.8	13.7	81.5	4.8
18667	1.1	4.1	19.7	76.9	3.4
18675	1.2	4.2	24.8	75.2	—
18674	1.4	4.7	27.4	68.5	4.1
18666	1.7	7.0	14.4	81.9	3.7
18557	3.3	4.3	18.9	74.5	6.6
18671	3.5	5.9	15.5	77.0	7.5

* La extracción de taninos se hizo utilizando una solución acuosa de acetona al 70%.

media (45 % a 55%) comúnmente encontrados en las hojas. Es también interesante observar que la mayor fracción de tanino encontrada en *Cratylia* fue delfinidín, que se considera menos reactivo con proteínas que cianidina. Los bajos niveles de TC y la alta relación delfinidín:cianidina encontrada en los TC solubles en hojas es consistente con resultados anteriores, que indicaron que la fracción proteica de *Cratylia* es sumamente degradable y, en consecuencia, resulta en altos niveles de amoníaco en el rumen.

Actividad 1.1.3. Estudios sobre el efecto del desarrollo de plantas de *Desmodium ovalifolium* sobre la producción de taninos condensados (J. Martínez, A. Schmidt, N. Narváez, C. Lascano y R. Schultze-Kraft)

Aspectos sobresalientes

- Los taninos condensados solubles en hojas de *D. ovalifolium* aumentan linealmente con el crecimiento de las plantas hasta 6 meses de edad y la reactividad de los taninos con proteína también aumenta hasta alcanzar un

máximo a los 5 meses, pero posteriormente desciende.

Justificación. Aunque los TC se encuentran en muchas leguminosas tropicales, existe aún un conocimiento limitado de cómo el desarrollo y el crecimiento de las plantas afectan la producción de aquellos. Esta comprensión es clave para el desarrollo de métodos de muestreo tendientes a evaluar leguminosas tropicales que contienen taninos, lo cual es el objetivo principal en trabajos de calidad de forrajes. Por tanto, se iniciaron estudios para determinar parámetros de calidad en *D. ovalifolium* en diferentes etapas de crecimiento.

Métodos. Se seleccionaron cinco ecotipos de *D. ovalifolium* (CIAT 350, 3788, 13110, 13305 y 33058) para realizar un ensayo en invernadero con tres repeticiones por accesión. Las semillas se pregerminaron y las plántulas se trasplantaron en macetas con capacidad para 40 kg, conteniendo suelo de la estación Quilichao. Se aplicó un nivel alto de fertilizante (kg/ha) (100 P, 100 K, 500 Ca, 20 S, 2 Zn y 0.5 B) para estimular el crecimiento de las plantas. Durante el ensayo las plantas se regaron con frecuencia para evitar el estrés. Se tomaron seis muestras a partir de los 30

días después de la aparición de las plántulas y posteriormente cada 30 días hasta los 6 meses de edad. Para determinar la edad de las hojas, se marcaron los estolones de plantas individuales en la última hoja que emergía 30 días antes del muestreo. En cada período de muestreo, las hojas jóvenes menores de 30 días se separaron de los tallos, se molieron y se congelaron en forma seca para los análisis químicos posteriores. Las variables medidas incluyeron: altura de la planta, diámetro, índice de área foliar, peso específico de hoja, proteína cruda, DIVMS, P, S, TC soluble y ligado, astringencia de taninos y contenido de pared de células (FDN y FAD).

Resultados. Debido a que se encontró una diferencia muy pequeña y no significativa entre ecotipos en las variables de respuesta medidas, los resultados representan sólo un promedio de los cinco ecotipos incluidos en el estudio. Se observó que en las hojas jóvenes el TC soluble aumentó linealmente durante el período de crecimiento de 6 meses, comenzando desde menos de 1% de la MS y alcanzando hasta 6.7% de MS a los 6 meses (Figura 5). En contraste, la fracción de TC ligados varió poco con el desarrollo de las plantas (intervalo entre 2.6 y 2.4% de MS).

En consecuencia, la proporción de TC soluble en relación con los TC totales aumentó con la edad de la planta, mientras que la de los TC ligados disminuyó.

La astringencia de taninos también aumentó durante las etapas iniciales de crecimiento, alcanzando un máximo en hojas de 5 meses, edad a partir de la cual empezó a descender, tal como se observa en los datos ajustados al modelo cuadrático que aparece en la Figura 6.

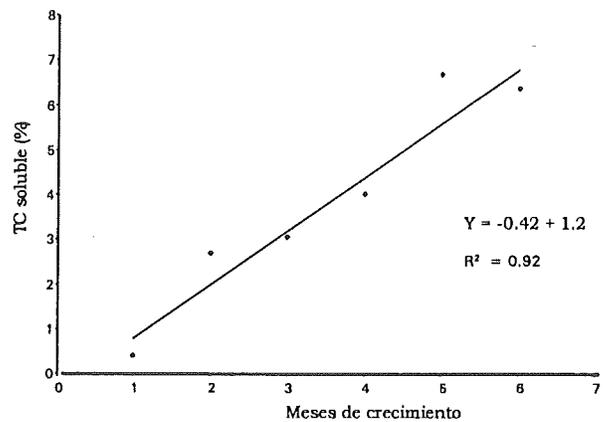


Figura 5. Efecto del crecimiento después de la germinación en la concentración de taninos condensados solubles en hojas jóvenes de *Desmodium ovalifolium*.

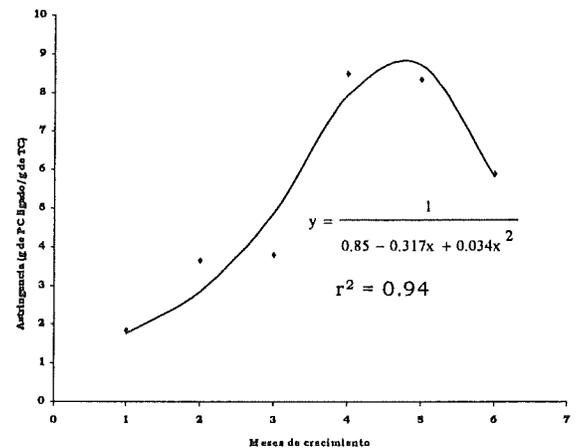


Figura 6. Efecto del crecimiento después de la germinación en la astringencia (reactividad con proteína) de taninos condensados solubles en hojas jóvenes de *Desmodium ovalifolium*.

Como era de esperar, otros parámetros de calidad, tales como PC y DIVMS disminuyeron con la edad. La DIVMS se correlacionó negativamente ($r = -0.8$) con el nivel de TC soluble en el tejido de la hoja. Por otro lado, el análisis de correlaciones no mostró una asociación fuerte entre parámetros de calidad y peso específico de la hoja (grosor) o índice de área foliar.

Discusión. Los resultados indican claramente que *D. ovalifolium* comienza a sintetizar taninos en las etapas tempranas de su desarrollo, probablemente como un mecanismo para proteger sus tejidos jóvenes contra el ataque de plagas y enfermedades.

Fue interesante observar que la astringencia de los taninos, un indicativo de su reactividad con proteína, también aumentó rápidamente en hojas jóvenes durante los 5 primeros meses de crecimiento de las plantas, pero posteriormente comenzó a descender. Esto sugiere que, a medida que las plantas se desarrollan hay cambios no sólo en el nivel de tanino sino también en la estructura química de estos.

Los estudios químicos más detallados, incluyendo pesos moleculares y composición de taninos, ayudarán a comprender mejor los cambios observados en la astringencia de estos compuestos.

En hojas de *D. ovalifolium* cosechadas en el campo a diferentes edades se ha encontrado un nivel relativamente constante de TC ligado. Sin embargo, en los resultados aquí presentados no está clara la significancia que estos TC ligados tienen en la calidad del forraje. Una conclusión de estos resultados sugiere que es necesario tener mucho cuidado cuando se toman muestras de leguminosas para análisis de taninos.

El hecho de que el nivel de estos cambia rápidamente con el crecimiento de las plantas, señala que el muestreo debe hacerse en tejidos de hojas con una edad fisiológica bien definida para sacar conclusiones válidas acerca de la cantidad de estos compuestos presentes en una especie determinada de la leguminosa.

Subproducto 1.2. Nichos ambientales para el crecimiento de leguminosas herbáceas y arbustivas con taninos, utilizadas como forrajeras

Está bien documentado que la producción de taninos en leguminosas tropicales puede ser afectada por las condiciones de crecimiento del cultivo. Las plantas cultivadas bajo estrés de deficiencias nutricionales o de nutrimentos en el suelo tienen niveles de tanino mayores que cuando se cultivan sin estrés. Por tanto, para definir nichos para especies específicas de leguminosas es importante cuantificar el efecto del estrés debido al suelo y al clima sobre la producción de aquellos y la calidad del forraje en general.

Para lograr estos objetivos, se está ejecutando un proyecto especial financiado por BMZ/GTZ de Alemania. Este trabajo lo está desarrollando Axel Schmidt, estudiante posgraduado de la Universidad de Höhenheim. Se ha completado el tercer año de estudios sobre el efecto de la interacción genotipo x ambiente en la productividad y calidad de *D. ovalifolium*. En total, se establecieron 18 genotipos de esta leguminosa en seis sitios contrastantes en Colombia, que representan ecosistemas principales (laderas subhúmedas y húmedas, sabanas y bosques marginales) y suelos de textura y fertilidad diferentes. Los resultados esperados del proyecto son: (1) la cuantificación de los efectos de cambios en fertilidad del suelo y el clima (precipitación y temperatura) en parámetros de calidad de diferentes genotipos de *Desmodium*, y (2) la selección de genotipos de esta leguminosa adecuados para diferentes nichos ecológicos.

Actividad 1.2.1. Estudios sobre el efecto del

ambiente sobre la calidad de leguminosas

Aspectos sobresalientes

- Las técnicas de presión de gas en transductor y de espectrometría infrarrojo (NIRS, su sigla en inglés) son útiles para estudiar cambios en atributos de calidad de leguminosas debidos a genotipo y ambiente.
- La calidad de genotipos de *D. ovalifolium* varía con la aplicación de fertilizantes y las condiciones ambientales definidas por suelo y clima.

Uso de la presión en el transductor y la técnica de NIRS en estudios sobre la interacción genotipo x ambiente (R. Barahona, A. Schmidt, N. Narváez y C. Lascano)

Justificación. Debido al alto número de muestras generadas en el estudio colaborativo Universidad Honheim-CIAT sobre la interacción genotipo x ambiente en *D. ovalifolium*, se evaluaron las técnicas de presión en transductor y NIRS como herramientas para medir la calidad nutricional de la leguminosa cuando crecía bajo diferentes ambientes.

Métodos. Se realizaron dos ensayos de producción de gas para evaluar la calidad nutritiva de cinco accesiones seleccionadas de *D. ovalifolium* (CIAT 350, 3788, 13125, 23618 y 33058) plantadas en cuatro sitios con dos niveles de fertilidad y cosechadas durante la estación seca. Los valores de NIRS de las 39 muestras se registraron con un escáner NIRS

6500. Las ecuaciones de predicción se desarrollaron relacionando la reflectancia obtenida y los datos de acumulación de gas.

Resultados. Se observaron grandes diferencias en los perfiles de acumulación de gas entre accesiones, que se correlacionan con digestibilidad. Esto se debió a cambios en el ambiente, encontrándose el menor perfil de acumulación en las accesiones establecidas en la finca La Rueda en suelos ácidos de márgenes de bosque del Caquetá (Colombia) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Producción final acumulada de gas después de 144 h de incubación de cinco accesiones de *Desmodium ovalifolium* crecieno en cuatro sitios contrastantes y dos niveles de fertilización.

Accesión	Fert.	Sitios de Colombia			
		Chinchiná	Macagual	La Rueda	Alcancia
Baja					
350		137.9	138.9	118.7	128.2
3788		146.7	139.3	115.7	109.7
13125		136.0	139.1	95.6	107.2
23618		119.7	137.5	92.1	105.3
33058		173.3	167.3	93.9	122.9
Prom.		142.7	144.4	103.2	114.6
Alta					
350		150.4	157.9	124.8	180.3
3788		—	167.3	112.2	177.1
13125		147.4	160.2	120.7	170.8
23618		138.1	147.2	121.9	175.9
33058		164.9	165.9	102.5	187.0
Prom.		150.2	159.7	116.4	178.2

Chinchiná = Laderas de zonas húmedas. Alcancia = Sabanas bien drenadas. Macagual y La Rueda = Márgenes de bosque

En el caso de la fertilización, el efecto más notable sobre producción de gas se observó en aquellas accesiones plantadas en La Alcancia, un sitio de sabana bien drenada de la estación Carimagua. En el Cuadro 7 se muestran los parámetros que presentan el ajuste de las ecuaciones de NIRS a la acumulación de gas en diferentes momentos. Exceptuando la acumulación para 6 h de incubación, el r^2 para los valores predichos y observados fue > 0.85 .

Cuadro 7. Estadísticas para las ecuaciones de predicción generadas mediante comparación de los espectros infrarrojos y los parámetros de producción de gas de muestras de cinco accesiones de *Desmodium ovalifolium* cultivadas con dos niveles de fertilización en cuatro sitios contrastes en Colombia.

	Horas	EEC ^a	R ²	Valor F	EEP ^b
Gas	6	1.484	0.699	9.31	1.741
Gas	12	2.324	0.853	25.86	3.001
Gas	24	5.388	0.911	8.20	7.117
Gas	48	8.116	0.928	18.61	9.933
Gas	144	6.359	0.942	8.41	8.542
Des. MS ^c	144	2.289	0.898	9.07	3.206

a. Error estándar de la calibración. b. Error estándar de la prueba cruzada. c. Desaparición de la MS a 144 h

Discusión. Estos resultados sugieren la posibilidad de utilizar tanto el transductor de presión como la técnica del NIRS para medir la calidad nutricional de leguminosas ricas en taninos y cultivadas en ambientes contrastantes. Las implicaciones son grandes en términos de costos y tiempo, en particular para examinar la calidad de colecciones de un gran número de leguminosas.

Estudios del efecto del ambiente (suelos y clima) sobre la calidad de *Desmodium ovalifolium* (A. Schmidt, C. Lascano, N. Narváez y R. Schultze-Kraft)

Cuadro 8. Localización y características de los sitios en Colombia donde se realizan los estudios del efecto de la interacción genotipo x ambiente en *Desmodium ovalifolium*.

Sitio	Latitud	Longitud	Elevación (m.s.n.m.)	Epoca seca (estrés)	Suelo		
					Acidez	Al (sat.)	Fertilidad
Melcho, Cauca	02°44'23"N	76°33'34"O	1555	Alto	Moderada	Baja	Moderada
La Romelia-Chinchiná	04°58'20"N	75°39'58"O	1360	Bajo	Moderada	Baja	Moderada
Macagual-Caquetá	01°29'59"N	75°39'33"O	190	Bajo	Alta	Alta	Baja
La Rueda-Caquetá	01°26'10"N	75°25'47"O	180	Bajo	Alta	Alta	Baja
Alcancia-Carimagua	04°34'37"N	71°21'09"O	150	Alto	Alta	Alta	Baja
Maquenque-Carimagua	04°31'17"N	71°15'41"O	150	Alto	Alta	Alta	Baja

Justificación. Se ha demostrado que la concentración de taninos en los tejidos de la planta varía con la especie, y con la parte y el estado de maduración de la planta y la fertilidad del suelo. Se ha observado que, la calidad y la aceptabilidad del forraje de *D. ovalifolium* por rumiantes en pastoreo cambian de un ambiente a otro y esto podría estar relacionado con cambios en contenido de TC. Habiendo definido el efecto del suelo y el clima sobre la producción y calidad de *Desmodium*, es posible, entonces, seleccionar de manera fácil genotipos para regiones determinadas en los trópicos.

Métodos. En seis sitios de Colombia con ambientes contrastantes se estableció un experimento para evaluar el comportamiento agronómico y la calidad de una colección central de *D. ovalifolium* (Cuadro 8). Entre abril y junio de 1995 se establecieron en cada sitio 108 parcelas experimentales (6 m x 5 m cada una), que representaron 18 genotipos, dos niveles de fertilidad y tres repeticiones. Se evaluó la emergencia de plántulas, 15 semanas después de la siembra. Las siguientes mediciones se hicieron cada 6 semanas, e incluyeron la altura de la planta y el desarrollo lateral, la cobertura de suelo, el vigor de la planta, la incidencia de plagas y enfermedades, y la floración.

Durante 1996 se tomaron 1224 muestras de hojas en los seis sitios para realizar análisis de calidad. Después de un corte de uniformización, cada 6 a 8 semanas se tomaron muestras durante períodos de alta y baja precipitación. El muestreo consistió en recolectar 50 g de hojas frescas, que se congelaban inmediatamente y posteriormente se secaban y molían para el análisis. Todas las muestras se analizaron para calidad utilizando NIRS con ecuaciones de calibración derivadas de métodos radicales de laboratorio.

Resultados. Los datos recopilados en el estudio aún se encuentran en evaluación. No obstante, se presentan resultados de las evaluaciones preliminares sobre el efecto de la aplicación de fertilizantes y de sitio sobre el promedio de la calidad de las accesiones de *D. ovalifolium*. Se encontró que, con la aplicación de un nivel de fertilizante alto aumentaron la DIVMS, la PC, el P y el S en los tejidos de la hoja de la leguminosa, pero disminuyeron los TC solubles y ligados (Cuadro 9).

El efecto general de sitios en los parámetros de calidad de *D. ovalifolium* se presenta en Cuadro 10. En Chinchiná, Caldas, (suelos fértiles en laderas húmedas) los valores de DIVMS fueron más altos (45.4%), mientras que en La Rueda (suelos ácidos infértiles en

margen de bosque) fueron más bajos (39.4%). Las diferencias en DIVMS de las hojas de *D. ovalifolium* no estuvieron relacionadas con el contenido de la pared celular. La PC también varió entre sitios, con niveles más altos en Macagual (suelos moderadamente fértiles en márgenes de bosque) y más bajos en suelos infértiles en laderas secas de Melcho (departamento del Cauca).

Contrariamente a lo que se esperaba, se encontró que el nivel de TC soluble cambiaba poco (rango entre 6.8 y 7.5% de MS) entre sitios (Cuadro 10). Por el contrario, la astringencia o reactividad de taninos con proteínas varió considerablemente entre sitios, siendo mayor en Melcho y menor en Macagual. Los niveles de P y S en el tejido de la hoja también variaron entre ambientes.

Discusión. Los resultados preliminares indican una reducción del contenido de taninos y un aumento de la DIVMS y la PC en hojas de *D. ovalifolium* debidas a la aplicación de fertilizantes. Estos hallazgos confirman los resultados obtenidos en el CIAT en los cuales se encontró un aumento en el contenido de taninos en esta misma leguminosa cultivada en suelos ácidos deficientes en azufre.

Cuadro 9. Diferencias en la calidad del forraje (%) de *Desmodium ovalifolium* debidas a la aplicación de niveles de fertilización alta y baja (promedios a través de sitios).

Fertilización	FAD	DIVMS	PC	TCS ^a	TCL ^b	Astringencia	P	S
Alta	35.2 a*	40 b	13.9 b	7.7 a	2.7 a	8.8 a	0.14 b	0.27 b
Baja	34.7 b	45.4 a	15.4 a	6.8 b	2.6 b	7.2 b	0.17 a	0.29 a

a. Taninos condensados solubles. b. Taninos condensados ligados.

* Promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente ($P < 0.01$), prueba de Duncan.

Cuadro 10. Diferencias en calidad de forraje de (%) *Desmodium ovalifolium* en relación con sitios (promedio a través de niveles de fertilización).

Sitios	DIVMS	PC	TCS ^a	TCL ^b	Astringencia	P	S	FAD
Chinchiná	45.4 a*	14.7 c	6.8 b	2.56 c	9.2 b	0.16 b	0.21 e	33.6 c
Melcho	40.7 d	13.5 d	6.8 b	3.49 a	10.7 a	0.15 bc	0.26 d	31.7 d
Alcancia	44.1 ab	15.5 b	7.3 a	2.44 d	7.2 d	0.14 c	0.30 b	35.6 b
Maquenque	42.3 c	14.2 c	7.4 a	2.55 c	8.7 c	0.19 a	0.27 cd	34.1 c
Macagual	43.6 bc	16.6 a	7.5 a	2.56 c	6.3 e	0.13 d	0.33 a	35.4 b
La Rueda	39.4 d	13.4 d	7.4 a	2.69 b	6.6 e	0.15 bc	0.28 c	38.5 a

a. Taninos condensados solubles. b. Taninos condensados ligados.

• Promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente ($P < 0.01$), según la prueba de Duncan

Por otro lado, es evidente que la calidad de *D. ovalifolium* varió entre sitios en términos de DIVMS, PC, contenido de minerales y astringencia de taninos; pero no en TC solubles, como se esperaba. Por tanto, será interesante determinar si los cambios observados en parámetros de calidad debidos a sitio se correlacionan con la palatabilidad de los diferentes genotipos de *D. ovalifolium* incluidos en el estudio.

Subproducto 1.3. Sinergismo en parámetros de calidad entre forrajes contrastantes

En sistemas de producción pecuaria los nuevos forrajes se suministran a los animales en diferentes combinaciones con los recursos forrajeros existentes. Por tanto, es importante comprender cómo los forrajes introducidos pueden combinarse con los disponibles para superar las deficiencias nutricionales en diferentes grupos de animales.

Para identificar algunos principios de cómo combinar recursos forrajeros, en la estación CIAT-Qulichao se realizaron ensayos con ovinos en jaulas metabólicas y con vacas de ordeño en pastoreo. Los estudios con ovinos han recibido apoyo financiero de COLCIENCIAS mediante una beca otorgada a

Wilson Quiñonez quien fue el responsable de los tratamientos de alimentación de los animales.

Actividad 1.3.1. Estudios in vivo sobre complementariedad entre diferentes dietas a base de forrajes y suplementos

Aspectos sobresalientes

- El nivel y la frecuencia de alimentación con suplementos basados en leguminosas pueden aumentar significativamente la retención de nitrógeno en ovinos alimentados con una dieta basal de baja calidad.
- El rendimiento de leche de vacas en pastoreo puede aumentar significativamente al suministrar suplementos de energía basados en leguminosas en proporción adecuada.

Estudios con ovinos en jaulas metabólicas

(W. Quiñonez, P. Avila y C. Lascano)

Justificación. Los resultados anteriores de ensayos de alimentación en confinamiento indicaron que, en las fuentes de forraje disponibles para superar las deficiencias nutricionales en rumiantes es importante sincronizar el suministro de un suplemento

forrajero de alta calidad con el forraje de la dieta basal para garantizar que la energía y la proteína estén conjuntamente disponibles. Por otro lado, el sinergismo entre forrajes puede variar, no sólo con los tipos de estos sino también con la forma como se suministren (nivel y frecuencia).

Métodos. Ocho carneros tipo africano (24 kg de PV) alimentados con una dieta basal de gramínea de baja calidad, se sometieron al azar a una dieta consistente en cuatro tratamientos de suplementación con caña de azúcar (60%) y caña mezclada con *Cratylia argentea* (40%). Los tratamientos, dispuestos en un diseño de Cuadrado Latino de 4 x 4 fueron los siguientes:

- T1. Bajo nivel de suplementación (0.5% de PV) suministrado una vez al día (a.m.),
- T2. Alto nivel de suplementación (1% de PV) suministrado una vez al día (a.m.),
- T3. Bajo nivel de suplementación (0.5% de PV) suministrado dos veces al día (a.m.+p.m.),
- T4. Alto nivel de suplementación (1% de PV) suministrado dos veces al día (a.m.+p.m.).

Las mediciones incluyeron la calidad de

la dieta basal y del suplemento ofrecido, el consumo, la digestibilidad y el balance de nitrógeno.

Resultados. La baja calidad de la gramínea en la dieta basal se caracterizó por un contenido de PC de 4.8% y un alto contenido de pared celular (79% de FDN y 44% de FAD). Por otro lado, la caña de azúcar comercial y utilizada como suplemento de energía fue baja en PC (3.1%), pero tenía un contenido bajo de la pared celular (FDN de 39% y 24% de FAD). Las hojas de *Cratylia* suministradas tenían alta PC (21%) y altos niveles de pared celular (67% de FDN y 37% de FAD). Por lo tanto, el suplemento fue alto en energía y medio en proteína (10% de MS). El consumo de la dieta basal no varió entre tratamientos, pero sí se observaron diferencias en consumo del suplemento debidas a tratamientos (Cuadro 11). Como se esperaba, el consumo de caña de azúcar y *Cratylia* tendió a ser mayor cuando se suministraron en niveles altos. Sin embargo, es interesante observar que cuando los suplementos se ofrecieron al nivel más alto, el consumo de ambos aumentó más cuando se suministraron dos veces al día en comparación con el suministro una vez al día (Cuadro 11).

Cuadro 11. Efecto del nivel y la frecuencia de suplementación en el consumo y digestibilidad de una gramínea de baja calidad suministrada a ovinos.

	Frecuencia y nivel de administración de suplementos ^a				EE ^d
	a.m. ^b (0.5%PV)	a.m. (1%PV)	a.m./p.m. ^c (0.5%PV)	a.m./p.m. (1%PV)	
Consumo (g MS/kg PV/día)					
Dieta basal	25.7	25.2	25.2	25.7	0.8
Caña de azúcar	2.5 b*	3.3 ab	2.8 b	4.0 a	0.4
Cratylia	2.0 c	3.1 b	2.0 c	3.6 a	0.1
Digestibilidad (%)					
MS	53.0	53.0	55.4	56.6	1.7
FDN	54.1	54.3	57.7	57.1	1.8
FAD	51.6	50.7	54.3	53.1	1.9

a. Caña de azúcar (60%) + hojas de *C. argentea*.

b. Suplementación una vez al día en niveles de 0.5% y 1% del peso vivo (PV).

c. Suplementación dos veces al día en niveles de 0.5% y 1% del peso vivo (PV).

d. Error estándar.

* Promedios en una misma hilera seguidos de letras iguales, no difieren significativamente ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

Estas diferencias en consumo de suplementos no se reflejaron en cambios significativos en digestibilidad de la MS o de la pared celular. No obstante, existió una tendencia hacia una mayor digestibilidad con la alimentación dos veces al día en ambos niveles de suplementación. El consumo de N fue más alto con el mayor nivel de suplementación

(Cuadro 12); sin embargo, en el nivel alto de suplementación el consumo de N fue mayor cuando el suplemento se proporcionó dos veces al día. Debido a que el N fecal y urinario no cambió con los tratamientos, la retención de N fue mayor cuando los ovinos recibieron los suplementos en el nivel alto dos veces al día (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto del nivel y la frecuencia de suplementación en la utilización de nitrógeno por ovinos en una gramínea de baja calidad.

	Frecuencia y nivel de administración de suplementos ^a				EE ^d
	a.m. ^b (0.5%PV)	a.m. (1%PV)	a.m. + p.m. ^c (0.5%PV)	a.m. + p.m. (1%PV)	
N consumido (g/día)	5.6 a	6.2 b	5.6 c	6.7 a	0.01
N fecal (g/día)	3.5	3.5	3.3	3.5	0.1
N fecal, % de N consumido	62.5 a	57.1 a,b	59.9 a	52.0 b	2.0
N en orina (g/día)	1.4	1.5	1.5	1.6	0.2
N en orina, % de N consumido	25.4	25.8	28.6	24.7	3.7
Retención de N (g/día)	0.8e	1.2 d,e	0.8 e	1.6 a	0.2

a. Caña de azúcar (60%) + hojas de *C. argentea*.

b. Suplementación una vez al día en niveles de 0.5% y 1% del peso vivo (PV).

c. Suplementación dos veces al día en niveles de 0.5% y 1% del peso vivo (PV).

d. Error estándar.

* Promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

Discusión. Fue evidente que el nivel y la frecuencia de alimentación tienen un efecto en la utilización de nitrógeno por ovinos en crecimiento. Sin embargo, los resultados indican que la alimentación dos veces al día sólo se justificaría cuando se ofrecen altos niveles de suplemento basados en forrajes. Cuando el nivel alto (1% de PV) de caña de azúcar/*Cratylia* se suministró dos veces al día se encontró un aumento de 33% en la retención de N en relación con el suministro de la misma cantidad de suplemento una vez al día. Esto no ocurrió cuando se suministró el nivel bajo (0.5% de PV).

Estudios con vacas lactantes en pastoreo (P. Avila y C. Lascano)

Justificación. En las zonas de laderas con clima estacional seco de Centroamérica, la mayor limitación para aumentar la producción

de leche es la falta de forrajes en las pasturas naturalizadas durante la estación seca. El ganado bovino pierde peso y se moviliza al bosque natural en zonas escarpadas de las explotaciones agropecuarias, resultando nulos los intentos de reforestación en ellas.

La introducción de leguminosas arbustivas para uso como suplemento en las épocas secas ayudaría a superar la escasez de forraje y a reducir el exceso de pastoreo en las laderas. Por tanto, un objetivo principal de los trabajos en el Proyecto de Gramíneas y Leguminosas Tropicales del CIAT es determinar el grado de complementariedad o sinergismo de los suplementos energéticos y proteicos basados en forrajes con otros recursos forrajeros usados para producir leche con vacas en pastoreo y generar normas para el manejo de dichos suplementos.

Métodos. El experimento se llevó a cabo en la estación CIAT-Quilichao y su objetivo fue estudiar el efecto de niveles crecientes de la leguminosa arbustiva *Cratylia argentea* en combinación con caña de azúcar sobre la producción de leche de vacas mantenidas en una pastura de baja calidad. Cuatro vacas con alto grado de cruce Holstein y un número igual con cruce Cebú pastorearon en *Brachiaria decumbens* con una alta carga animal (2.7 UA/ha). Cada grupo se suplementó en un diseño Cuadrado Latino 4 x 4 con los tratamientos siguientes:

- T1 Caña de azúcar (100%),
- T2 Caña de azúcar (75%) y *Cratylia* (25%),
- T3 Caña de azúcar (50%) y *Cratylia* (50%), y
- T4 Caña de azúcar (25%) y *Cratylia* (75%).

Todos los suplementos se ofrecieron a razón de 1.5% de MS/kg de PV dos veces al día en las instalaciones después del ordeño. La producción de leche se midió durante 7 días consecutivos en cada uno de los cuatro períodos experimentales, después de una fase de ajuste de 7 días.

Resultados. Se encontró una alta interacción de genotipo animal x suplementación para producción de leche (Cuadro 13).

Con vacas cruzadas con Cebú no se encontró respuesta a la inclusión de diferentes niveles de hojas de *Cratylia* en el suplemento. En contraste, con los animales cruzados con Holstein se encontró una respuesta lineal al aumentar los niveles de la leguminosa en combinación con caña de azúcar.

Con la combinación de caña (25%) y *Cratylia* (75%) ocurrió un aumento de 25% (1.6 lt/vaca por día) en la producción de leche en relación con el suministro de solo caña de azúcar.

Cuadro 13. Efecto de diferentes niveles de *Cratylia argentea* y caña de azúcar (cs) (MS) en la producción de leche de vacas con alto grado de Holstein y vacas Cebú de inferior potencial en pasturas de *Brachiaria decumbens*. Estación CIAT Quilichao.

Tratamiento	Consumo de suplemento (kg /v/día)	Producción de leche (kg, v/día)
Vacas Holstein^a		
100% de cs	5.0	6.6 b,c
75% de cs y 25% <i>Cratylia</i>	4.5	7.4 a, b
50% de cs y 50% <i>Cratylia</i>	4.0	7.8 a
25% de cs y 75% <i>Cratylia</i>	5.1	8.2 a
Promedio	4.6 a*	
Vacas Cebú^a		
100% de cs	3.8	5.9 c,d
75% cs-25% <i>Cratylia</i>	3.1	5.8 c,d
50% de cs y 50% <i>Cratylia</i>	3.5	5.5 d
25% de cs y 75% <i>Cratylia</i>	4.3	5.4 d
Promedio	3.7 b	

^aCarga animal = 2.7 UA/ha.

* Promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan

Discusión. Se confirmó una vez más que la respuesta en producción de leche debido al mejoramiento de los recursos alimenticios depende del potencial de las vacas. Las implicaciones son significativas, ya que en la mayoría de las explotaciones con sistema de doble propósito en América Latina predominan vacas con un bajo potencial genético para producción de leche.

Por otro lado, los resultados también indican que hay un sinergismo fuerte entre la suplementación de forrajes ricos en energía y proteína, lo que debe considerarse al establecer normas de manejo de la alimentación para que los productores hagan un mejor uso de suplementos para vacas lecheras.

Subproducto 1.4. Calidad de leguminosas herbáceas y arbustivas seleccionadas y producción animal

Las especie de leguminosa pueden contribuir significativamente al aprovechamiento sostenible de la tierra, ya que ayudan a la regeneración de los suelos degradados y agregan N al sistema. Sin embargo, se postula que la adopción por los agricultores de leguminosas multipropósito herbáceas y arbustivas continuará dependiendo, en gran medida, de la repercusión de éstas en la producción pecuaria a nivel de finca.

Por tanto, para seleccionar nuevas especies de leguminosa es interesante definir los factores asociados con atributos de calidad como consumo voluntaria, producción de leche y aumento de peso vivo.

Actividad 1.4.1. Estudios sobre consumo de leguminosas arbustivas seleccionadas por ovinos y caprinos (Yi Kexian, P. Avila y C. Lascano)

Aspectos sobresalientes

- El rango de aceptabilidad de leguminosas arbustivas con calidad contrastante fue similar con ovinos y caprinos.

Justificación. En sistemas de pequeños productores, en particular en Asia y África, los rumiantes menores son un componente importantes en la economía doméstica. Se sabe que los ovinos y los caprinos tienen altos requerimientos de proteína por unidad de peso corporal y que, además, son altamente selectivos. En el CIAT se han seleccionado varias leguminosas arbustivas de calidad contrastante y con adaptación variable en suelos ácidos. Por tanto, existe interés en determinar

las diferencias en consumo entre leguminosas arbustivas seleccionadas para alimentar ovinos y caprinos.

Métodos. En la estación CIAT-Quilichao se hizo un experimento a corto término sobre el consumo de leguminosas arbustivas por ovinos y caprinos en crecimiento. Para el efecto, en un Cuadrado Latino 3 x 3 se sometieron tres ovinos y un número igual de caprinos a un régimen de alimentación basal con gramíneas en períodos cortos, utilizando las siguientes especies de leguminosas arbustivas:

T1 *Cratylia argentea*

T2 *Desmodium velutinum*

T3 *Flemingia macrophylla*

En cada período experimental el consumo se registró durante 4 días consecutivos, en la mañana y en la tarde (durante 0.5 h), previo período de ajuste de 7 días. Las muestras del forraje ofrecido, principalmente hojas y tallos finos, se congelaron y posteriormente se secaron y molieron para análisis de laboratorio.

Resultados. En el Cuadro 14 se presentan los parámetros de calidad de las especies de leguminosas en el ensayo.

Cuadro 14. Parámetros de calidad (%) de leguminosas arbustivas contrastantes utilizadas para alimentar ovinos y cabras.

Parámetro	Leguminosas		
	<i>D. velutinum</i>	<i>C. argentea</i>	<i>F. macrophylla</i>
DIVMS	54.4	48.4	22.9
PC	20.2	21.1	17.9
FDN	38.8	58.9	48.6
FAD	29.4	36,7	36.8
N-FAD	0.53	1.32	1.26
Taninos extractables	0.53	1.32	1.26

El consumo en el corto plazo varió entre especies de leguminosas arbustivas, siendo más Se observaron grandes diferencias entre especies en DIVMS, FDN y FAD; pero no en PC. *Desmodium velutinum* presentó la DIVMS más alta, que se asoció con contenido bajo de la pared celular y no con taninos condensados. La DIVMS más baja se registró en *F. macrophylla*, la cual presentó un contenido de pared celular intermedia, pero un alto contenido de tanino. *Cratylia argentea* presentó una DIVMS intermedia, que se asoció con niveles altos de pared celular. alto en *D. velutinum* y *C. argentea* y más bajo para *F. macrophylla*. En promedio, los caprinos consumieron 28% más leguminosas que los ovinos, aunque el rango de consumo de éstas fue el mismo con ambas especies animal (Cuadro 15).

Discusión. El consumo en el corto plazo medido en este estudio refleja, principalmente, la digestibilidad de las leguminosas suministradas, lo cual no necesariamente está relacionado con el consumo en el largo plazo y la producción animal en general.

Cuadro 15. Consumo (g de MS/PV^{0.75}/h) en el corto plazo de leguminosas arbustivas contrastantes por ovinos y caprinos.

Tipo de animal	Leguminosas arbustivas			Prom.
	<i>D. velutinum</i>	<i>C. argentea</i>	<i>F. Macrophylla</i>	
Ovino	24.9	31.8	17.4	24.7b*
Caprino	35.1	34.3	25.7	31.7 a
Prom.	30.0 c	33.1 c	21.5 d	

*Promedios en una misma columna o hilera seguidos de letras iguales, no difieren significativamente (P<0.05), según la prueba de Duncan.

No obstante, el menor consumo en el corto plazo de *F. macrophylla* por ovinos y caprinos, en relación con otras especies de leguminosas, es comparable con su nivel alto de taninos condensados y baja digestibilidad.

Por tanto, se puede esperar un bajo comportamiento animal cuando se suministra *F. macrophylla* sola o en combinación con otra forrajera a ovinos o caprinos. Por el contrario, un buen comportamiento animal puede esperarse cuando se suministra *D. velutinum*

Producto 2. Acervo Genético de Gramíneas y Leguminosas con Diversidad Conocida en las Interacciones de la Simbiosis Hospedante/Parásito

Subproducto 2.1. Se conocen las relaciones de la planta hospedera, la ecología y la dinámica de población del salivazo

El salivazo de los pastos Homoptera: Cercopidae) es el mayor limitante biológico para la producción de gramíneas forrajeras en los neotropicos. Los ataques de estos insectos nativos que succionan los nutrimentos del xilema reducen especialmente la calidad del forraje, causando una disminución en la productividad y persistencia de las pasturas, y limitando el establecimiento de especies mejoradas como *Brachiaria decumbens*. Aún no existe un programa de manejo integrado de esta plaga. En parte, el problema nace en la tendencia a generalizar las semejanzas entre las diversas especies y géneros. Esto es agravado por una comprensión deficiente de la biología el comportamiento básico del insecto, así como. por la falta de estudios detallados en sitios específicos de su ecología y el hecho que el salivazo ataca pasturas a través de una amplia variedad de zonas ecológicas. A pesar de las semejanzas en bioecología y hábitat de las pasturas, la naturaleza de su impacto en los forrajes varía fundamentalmente entre regiones, dada la diversidad taxonómica del grupo sobreimpuesto en este rango de ambientes. La presente investigación aborda los componentes bioecológicos más relevantes para una interpretación del estado de la plaga, mediante una elaboración detallada de los determinantes taxonómicos, estacionales, locales y regionales de su abundancia y distribución.

En septiembre de 1996, con la llegada de D. Peck, se inició un programa de investigación sobre la biología y la ecología comparativa del salivazo en pasturas de los departamentos ganaderos de Colombia. Peck lidera un programa de estudios en bioecología como parte de un proyecto especial financiado por el Fondo Nacional de Ganado, apoyado por la Regional 2 de la Corporación Colombiana para la Investigación (CORPOICA) con sede en el Centro de Investigaciones de Turipaná, Montería (departamento de Córdoba). El CIAT y la Organización de Estados Americanos (OEA) financian el 50% de la posición y los gastos operativos los sufraga Nestlé.

El grupo cuenta actualmente con la participación de 16 investigadores. Los estudios sobre la dinámica poblacional, que son básicos para otras actividades, se realizan en Montería (Córdoba), Corozal (Sucre), Villavicencio (Meta) y Florencia (Caquetá) con la participación y colaboración de CORPOICA y las universidades departamentales.

Actividad 2.1.1. Estudios sobre la biología y el comportamiento básico de las principales especies de salivazo

Aspectos sobresalientes

- Se iniciaron los primeros estudios sobre la biología y los hábitos de las tres especies más frecuentes en zonas de trópico bajo. Esta actividad es facilitada por una nueva unidad de cría.

- Se iniciaron los primeros estudios sobre el comportamiento de comunicación vibracional entre adultos de salivazo.

Unidad de cría para facilitar estudios sobre la biología y el ciclo de vida de salivazo (U. Castro, D. Peck, R. Pareja)

Justificación. Las diferencias geográficas en los rangos de especies colombianas del insecto previenen el establecimiento de colonias en el CIAT, ya que existe el riesgo de introducir las en regiones donde actualmente no ocurren. En consecuencia, los estudios sobre la biología y el ciclo de vida de estas especies deben tener lugar in situ. Una de las dificultades que esto representa es el mayor costo y necesidad de mano de obra adicional para establecer colonias similares a las existentes en el CIAT, para asegurar el acceso a los tres estados de vida del insecto durante todo el año, especialmente en la estación seca cuando el salivazo desaparece del campo durante unos pocos meses. Además, los estudios de biología reproductiva requieren de grupos numerosos de adultos recientemente emergidos (tenerales), que son muy difíciles de obtener en el campo.

Métodos. Se busca desarrollar una unidad de cría que facilite los estudios biológicos in situ de salivazo, la cual debe ser adecuada para diferentes géneros y especies; requerir poco espacio, materiales y mano de obra; además de funcionar sin capacitación especializada para mantener con éxito una colonia. Es también importante investigar sobre una unidad que elimine uno de los mayores "cuellos de botella" existente en el CIAT para la cría masiva de colonias de insectos: la aprehensión individual de adultos recientemente emergidos desde macetas de crianza de ninfas, para su liberación en cámaras de oviposición. El prototipo se encuentra en evaluación en cuatro

sitios con un número igual de especies de salivazo: (1) en Montería con *Aeneolamia reducta*, (2) en Villavicencio con *Zulia pubescens*, (3) en Florencia con *Mahanarva* sp.; y (4) en el CIAT con *A. varia*. Actualmente se conducen en el CIAT ensayos para medir la eficiencia de adultos de *A. varia* en la producción de huevos con el objeto de comparar este sistema con otras estrategias en programas de cría masiva.

Resultados. La clave en la unidad es la combinación de cámaras para cría de ninfas y ovoposición de huevos. Básicamente se compone de una bandeja con plantas hospederas enraizadas para facilitar el desarrollo de las ninfas. Esta bandeja encaja en la parte superior de un marco de aluminio de 61.6 cm x 32.3 cm x 31.4 cm sobre cuatro soportes de 15.5 cm cada uno. Existe otra bandeja que contiene sustrato de oviposición en el fondo del marco, el cual se cubre con una malla de nailon negro formando paredes que reducen la luz, aumentan la humedad y evitan el escape del insecto.

Las necesidades de la unidad incentivaron un nuevo método para la cría de ninfas. Se encontró que, tallos jóvenes de *Brachiaria*, cuando se plantan en una capa de suelo de 3 cm, que se encuentra en una bandeja de 60.7 cm x 30.5 cm x 3.6 cm con una serie de orificios en el fondo, producen raíces listas para infestación con huevos en aproximadamente 3 semanas. Las raíces forman una alfombra entre la bandeja que contiene las plantas y una segunda bandeja que se coloca debajo. Estas raíces son infestadas cuando se reemplaza la bandeja superior sobre la inferior que contiene papel de filtro con huevos listos para emerger. Las ninfas forman masas y se alimentan de las raíces durante el desarrollo de sus cinco instares. Si la capa de suelo es demasiado

delgada, los insectos se escapan hacia la superficie de la parte superior a través de las fisuras presentes en él. Diez días antes de la emergencia de los adultos, la bandeja con raíces se coloca en un marco de madera de 10 cm de altura que permite el descenso de ellas. Cuando los adultos están listos para emerger, esta bandeja se coloca en la parte superior de la cámara, y una bandeja con sustrato de oviposición se coloca debajo en la parte inferior. Las hojas para la alimentación de los adultos se introducen a través de perforaciones laterales. Los nuevos adultos se alimentan, copulan y depositan huevos que posteriormente son recolectados.

Los datos iniciales con *A. varia* indican un desarrollo exitoso de adultos a partir de ninfas alimentadas exclusivamente con las raíces descendientes, no obstante, la emergencia de adultos se prolonga por aproximadamente 1 semana. A partir de un sustrato de ovoposición en una bandeja con ninfas se obtuvieron hasta 4100 huevos con un número inicial no registrado de huevos y adultos resultantes. En otros tres ensayos, la relación de huevos recuperados:huevos utilizados en infestación fue de 1.08, 2.01 y 2.04, demostrando una eficiencia que promete la continuidad de la colonia y el uso de individuos en exceso para otros estudios.

Discusión. Aunque esta unidad de crianza se encuentra en evaluación con otras tres especies, los ensayos iniciales con *A. varia* han mostrado ser promisorios para el mantenimiento del insecto durante todo el año con el fin de estudiar su biología y ciclo de vida. La unidad es plegable, ocupa poco espacio, requiere volúmenes pequeños de suelo y mano de obra reducida, y combina las cámaras de mejoramiento y oviposición en una unidad que elimina la necesidad de recolectar y transferir todos los adultos emergentes. La

principal desventaja es la prolongación del estado ninfal. La eficiencia se aumentará con los ajustes en el diseño para reducir el escape de adultos y con un mejor entendimiento de cuándo infestar las raíces. Los estudios actuales medirán la eficiencia de la unidad en el caso de *A. varia* y, de esta forma, su potencial para uso en programas de cría masiva para evaluaciones de resistencia al insecto.

Biología y hábitos de las tres principales especies de salivazo (D. Peck, W. Medina, B. León, C. Gallego y Y. Ballesteros)

Justificación. Un entendimiento incompleto de la biología básica y del comportamiento de la mayoría de las especies de salivazo contribuye a su manejo ineficiente. Para cuatro de las seis especies principales existentes en las zonas de tierras bajas de Colombia se carece de información sobre los aspectos de biología que son relevantes a su control, entre ellos, la duración de los estados de vida, la fecundidad, los sitios de oviposición y los períodos de preoviposición. *Aeneolamia varia* ha sido bien estudiado debido a su condición de plaga en caña de azúcar; mientras que en el CIAT se han hecho algunos estudios en *Z. colombiana*.

Métodos. Los estudios para caracterizar la biología, los hábitos y la morfología de los estados de vida del salivazo se iniciaron con *A. reducta* en Montería, *Z. pubescens* en Villavicencio y *M. fimbriolata* en Florencia, tomando como datos comparativos los recolectados en el CIAT para *A. varia* y *Z. colombiana*. Las observaciones en los estados de desarrollo de los huevos, instares de las ninfas y sexo de adultos son acompañados por mediciones de su duración bajo condiciones de laboratorio, y de tamaño y otras características morfológicas distintivas. En grupos de adultos

recientemente emergidos se harán estudios sobre biología reproductiva, incluyendo periodos de precopulación y preoviposición, fecundidad, duración y frecuencia de copulación, y longevidad. La selección de los sitios de oviposición se hará con adultos en plantas cultivadas en macetas dentro de jaulas de malla.

Resultados. Los estudios propuestos se encuentran en la fase inicial y se continuarán rápidamente una vez que las colonias en el laboratorio estén completamente establecidas. Las mediciones del ancho de la cápsula de la cabeza en ninfas de *A. reducta* (Figura 7) han permitido comprobar la existencia de cinco instares que son morfológicamente diferenciables cuando el tamaño es acompañado por características de los muñones de las alas, las antenas y los ojos.

Discusión Estos estudios conducirán a una descripción de los aspectos de biología y comportamiento que son más relevantes a una interpretación exacta del estado de plaga del salivazo y su asociación con el hábitat de las pasturas. Los resultados con las cuatro especies descritas anteriormente se compararán con *A. varia* y *Z. colombiana* para ampliar el criterio sobre el grado de variación dentro de esta compleja plaga.

Aspectos biológicos de comunicación de sustrato en adultos de *Zulia colombiana* (F. López, D. Peck y P. Calatayud)

Justificación. La comunicación por medio de vibraciones es un aspecto fundamental de comportamiento del salivazo que no se ha estudiado en detalle, más allá de la grabación de sonidos y observaciones personales que comprueban su existencia. Entre insectos relacionados, se sabe que la bioacústica desempeña un papel importante en la biología

de la reproducción y en la diferenciación de especies, siendo ambas características mal entendidas y críticas para el conocimiento básico del salivazo.

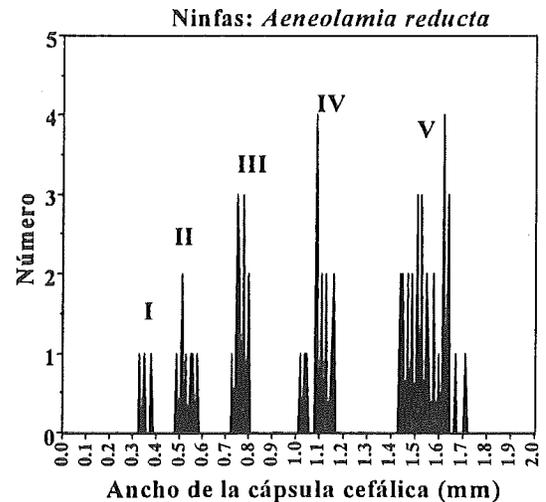


Figura 7. Determinación de los instar ninfal de *Aeneolamia reducta* mediante la medición de la cápsula cefálica

Métodos. Se adaptaron aparatos para producir gráficos de penetración eléctrica (EPG, sigla en inglés) que permiten registrar y visualizar las vibraciones producidas por *Z. colombiana*. Se determinará si los insectos de esta especie se comunican principalmente vía aire o por producción de vibraciones. Se describirán y clasificarán las características físicas de estas llamadas, y se evaluará su papel en el comportamiento de recopulación.

Resultados y discusión. Los resultados de estos estudios iniciales constituirán la primera descripción de este comportamiento entre cercópidos. La información detallada sobre la forma de comunicación en *Z. colombiana* será el punto de inicio de estudios adicionales sobre la diferenciación de especies, lo que servirá para comparar el comportamiento entre especie y géneros.

Actividad 2.1.2. Efectos de las condiciones ambientales en el desarrollo de huevos de salivazo

Aspecto sobresaliente

- Se establecieron metodologías para iniciar estudios comparativos sobre el desarrollo de huevos y la incidencia de diapausa

Morfología comparativa y desarrollo de huevos de salivazo (D. Peck y U. Castro)

Justificación. El comportamiento en el estado de huevo relaciona la fenología y la sincronización de las poblaciones iniciales de salivazos con los datos meteorológicos. En consecuencia, la interpretación del comportamiento comparativo de la población (ver 2.1.3) es complementada con estudios básicos sobre la morfología del huevo y el desarrollo de las especies relevantes de salivazo. Esta información aún no se tiene para la comprensión de la biología básica y el comportamiento de muchas especies.

Métodos. Se están realizando estudios en condiciones controladas de temperatura y humedad para describir y comparar estados de desarrollo de huevos de las especies principales de salivazo. Los objetivos de estos estudios son: medir la duración, el tamaño y la morfología externa de los estados de desarrollo del huevo en seis especies; determinar el estado que se prolonga en diapausa; y comparar la variación en desarrollo dentro y entre tres géneros de salivazo. También se realizaron estudios piloto para probar una metodología para medir la respuesta de huevos en diapausa a las variaciones en la duración de las condiciones de sequía.

Resultados. Los datos han sido obtenidos con *A. reducta*. De 3248 huevos recolectados en noviembre de 1996 de poblaciones en el campo y mantenidos en condiciones de humedad permanente, el 88.2% se desarrollaron inmediatamente, con un promedio de incubación de 20.7 días después de la oviposición (Figura 8).

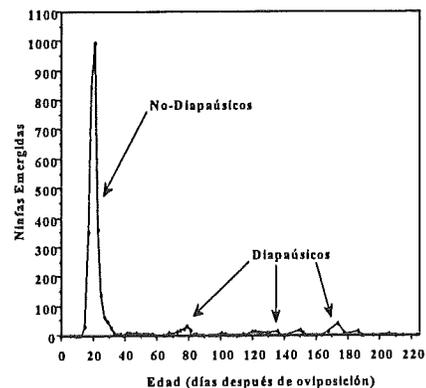


Figura 8. Patrón de eclosión de huevos de *Aeneolamia reducta* en condiciones húmedas.

Los huevos restantes entraron en diapausa y eclosionaron esporádicamente entre 39 y 206 días más tarde. Los cambios morfológicos que acompañaron el desarrollo de estos huevos fueron similares a los de otras especies. Los huevos aumentaron en tamaño, especialmente después de la ruptura del corión al comienzo del estado S3 (Figura 9). Un grupo de 235 huevos en diapausa (con 35 días de edad) de *A. reducta* se dividieron en cinco tratamientos sin replicaciones para simular condiciones de sequía con duración de 0, 5, 10, 25, 50 días, seguidos por condiciones de humedad permanente. Aparentemente, la mortalidad aumentó con la sequía, siendo de 20.8, 34.4, 28.3, 56.6 y 61.2%, respectivamente, mientras que el promedio del tiempo de desarrollo varió poco (110, 103, 111, 116, 119 días).

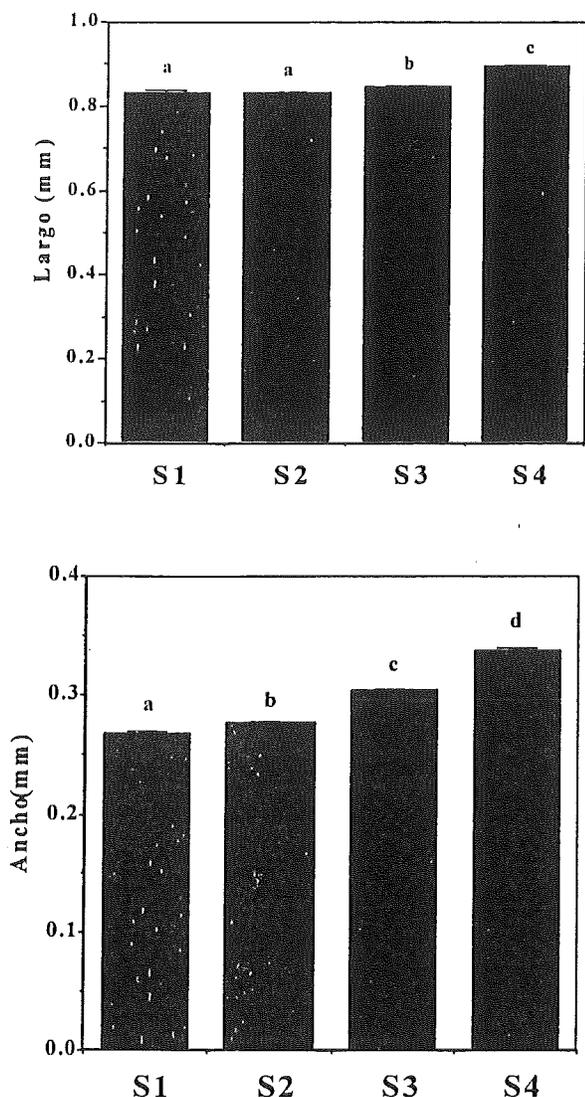


Figura 9. Cambios en el tamaño de huevos de *Aeneolamia reducta* durante cuatro estados de desarrollo

Discusión. Los estudios iniciales con *A. reducta* muestran que es factible comparar ciertas características, taxonomicamente variables, de desarrollo y morfología de huevos entre las especies en estudio. Estas mediciones incluyen el tamaño y la descripción física, los cambios externamente visibles que acompañan el desarrollo, el estado prolongado en diapausa y la duración de estados en condiciones controladas; además del impacto de la sequía en la mortalidad de huevos y la duración de la diapausa. Conjuntamente con estudios paralelos sobre el comportamiento de la oviposición y biología reproductiva, esta

información nueva ofrecerá detalles básicos para comprender fenómenos que aún no se conocen en la mayoría de las especies de salivazo.

Variación estacional en la incidencia de diapausa del huevo de salivazo (U. Castro y D. Peck)

Justificación. La diapausa de huevos permite la sincronización de poblaciones de salivazo con la estación húmeda, durante la cual son posibles el crecimiento y desarrollo del insecto. Se sabe que la incidencia de la diapausa o porcentaje de huevos que no está en desarrollo inmediato es, en algunas especies, más baja entre hembras al comienzo de la estación húmeda y más alta entre aquellas en generaciones posteriores antes del comienzo de la estación seca. En consecuencia, una descripción de los cambios estacionales en incidencia de diapausa y su variación entre especies, es un elemento esencial en la comprensión y predicción de la sincronización y llegada de la población de ninfas al inicio de la estación.

Métodos. Las metodologías de incubación y recolección se probaron en uno de los tres sitios donde se realizarán en 1998 los estudios detallados. Los huevos para el estudio se obtuvieron en julio y septiembre de 1997 en grupos de hembras recolectadas en el campo en el C. I. La Libertad de CORPOICA, cerca a Villavicencio (departamento del Meta), que es un sitio de observación de la población de salivazo. De cada mitad de tres parcelas de observación se recolectó un grupo entre 15 y 25 hembras de *A. varia*, las que permanecieron en oviposición durante 3 días en papel de filtro húmedo, colocado en el fondo de platos petri que contenían cada uno de los seis grupos (repeticiones). Después de ser enviados en forma rápida al CIAT, los huevos se mantuvieron húmedos en cajas petri bajo las

condiciones ambientales del laboratorio (julio) o en incubación (septiembre) y se registraron los coriones vacíos (eclosión de ninfas) dos veces por semana. Debido a que las poblaciones en el campo se iniciaron en marzo (ver 2.1.3) estos adultos sólo representaron la segunda mitad de la estación de ataque de salivazo.

Resultados. Las hembras pusieron entre 43 y 399 huevos por grupo. La incidencia de diapausa fue baja en cada fecha de colección ($0.86 \pm 0.53\%$ y 0.37 ± 0.17), en julio y septiembre, respectivamente, y no difirió significativamente ($P = 0.199$). El promedio de días a la eclosión del huevo fue 18.12 ± 0.23 y 16.72 ± 0.19 , respectivamente, y la diferencia ($P = 0.0004$) se debió, probablemente, a diferentes regímenes de incubación.

Discusión. La metodología es apropiada para la recolección de huevos de hembras en el campo y su desarrollo y observación exitosa en el laboratorio. En 1998 este experimento incluirá dos sitios adicionales (Florencia y Montería) y tres especies adicionales (*A. reducta*, *M. fimbriolata* y *Z. pubescens*). Las recolecciones se harán bimensual durante toda la estación de ataque de salivazo. Esta metodología permitirá medir la incidencia de diapausa en diferentes períodos de la estación húmeda, correlacionar cambios con el avance de la estación húmeda, describir las diferentes categorías de huevo (diapausa de larga y corta duración, sin diapausa) y comparar el comportamiento de la diapausa entre cuatro especies de salivazo y entre poblaciones de *A. varia* en tres sitios.

Actividad 2.1.3. Ecología de población de salivazo en cuatro regiones de trópico bajo

Aspectos sobresalientes

- Se encontraron seis especies de salivazo relacionadas con pastos en el trópico bajo de Colombia.
- En tres sitios con sequía estacional se encontró que una especie de salivazo abundaba y predominaba coincidiendo con la estación lluviosa.
- Tres especies de salivazo son simpátricas en sitios húmedos y parece que su abundancia desciende con la mayor precipitación; la mayor diversidad de especies, la abundancia y la precipitación corresponden con una mayor presencia de enemigos naturales.

Comparación de la dinámica poblacional de salivazo: variación local y regional en composición de especies, abundancia, fenología y sincronización (D. Peck, W. Medina, A. Pérez, F. Gamboa, J. Hincapie, Y. Ballesteros, C. Gallego y C. Mantilla)

Justificación. Existen pocos estudios detallados y específicos sobre la dinámica poblacional del salivazo. Una interpretación exacta de lo que ocurre en un lugar específico depende de muestreos frecuentes y a largo plazo que enfatizan la diferenciación de los cinco instares ninfales, el sexo y las especies de adulto. Las metodologías de muestreo idénticas empleadas en diferentes sitios también pueden permitir una comparación de medidas de comportamiento de población, incluyendo abundancia, fenología, sincronización y composición de especies. La comprensión de los patrones y la variación en estas mediciones es crítica para evaluar y predecir los estados de la plaga.

Cuadro 16. Sitios, gramínea común y fecha de inicio de las observaciones sobre poblaciones de salivazo.

Departamento (ciudad)	Sitio	Gramínea predominante	Fecha de inicio
Córdoba (Montería)	Fincas Bella Luz y El Olivo	<i>B. pertusa</i>	Octubre 1 de 1996 y enero 1 de 1997
Sucre (Corozal)	Finca Tarapacá	<i>B. pertusa</i>	Septiembre 26 de 1996
Meta (Villavicencio)	C.I. La Libertad	<i>B. decumbens</i>	Enero 31 de 1997
Caquetá (Florencia)	C.I. Macagual	<i>B. decumbens</i>	Enero 24 de 1997

Métodos. La dinámica poblacional de salivazo se estudió en cuatro sitios del trópico bajo en los departamentos más afectados por este insecto. Se escogieron fincas con antecedentes de ataque de salivazo en pasturas de *Bothriochloa pertusa* (colosuaná) en Córdoba y Sucre, y *Brachiaria decumbens* en Meta y Caquetá (Cuadro 16). En cada una de las fincas se marcaron tres parcelas de 0.5 ha en diferentes pastos y se subdividieron en cuatro secciones para facilitar la toma de submuestras. El conteo de ninfas se hizo en dos marcos de 0.25 m² por sección. En cada masa se removieron los habitantes para determinar el instar de ellos. Para las observaciones en adultos se hicieron 50 pases utilizando una jama para su captura; se determinó el sexo y la especie de cada uno. Ambos muestreos se realizaron dos veces por semana durante la estación húmeda y menos frecuentemente durante la estación seca cuando las poblaciones se habían reducido.

Resultados. En estos tres sitios se encontraron cinco especies: *A. lepidior*, *A. reducta*, *A. varia*, *Mahanarva* sp. y *Z. pubescens* (Cuadro 17). *Zulia colombiana* se encontró en los alrededores de Florencia, pero no en el sitio de observación. En todos los sitios, una especie principal estuvo acompañada por la presencia de una o dos especies diferentes; excepto en Florencia donde se presentaron tres especies simpátricas, dos de ellas en mayor abundancia. *Mahanarva* sp. es aún una especie indeterminada, pero parece

estar relacionado con *M. fimbriolata* que ocurre al sur de Brasil. En tres sitios con sequía estacional—Montería, Corozal y Villavicencio— la abundancia de salivazo coincidió con la estación lluviosa, y la de adultos se presentó inmediatamente después de la de ninfas. Ambos estados de vida desaparecieron al final de la estación húmeda y reaparecieron al comienzo de la estación lluviosa (Figura 10).

Cuadro 17. Composición de especies en los sitios de muestreo de poblaciones de salivazo. Colombia.

Especies	Abundancia de adultos (%/sitio)			
	Montería	Corozal	Vcio.	Florencia
<i>A. lepidior</i>	1	< 1 ^a	-	-
<i>A. reducta</i>	99	100	1	-
<i>A. varia</i>	-	-	98	71
<i>M. fimbriolata</i>	-	-	-	1
<i>Z. colombiana</i>	-	-	-	< 1 ^a
<i>Z. pubescens</i>	-	-	1	21

a. Especie encontrada en la vecindad, pero no en el sitio de muestreo.

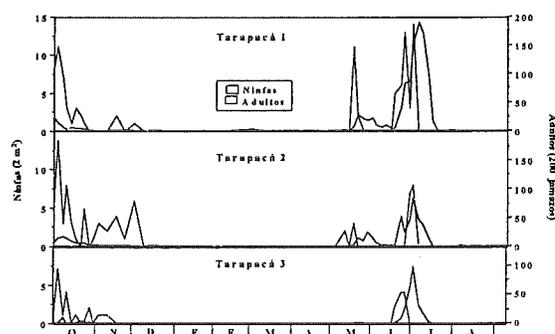


Figura 10. Abundancia de ninfas y adultos de *Aeneolamia reducta* en tres parcelas localizadas en Tarapacá,

La baja densidad de población de salivazo en la Costa Norte durante 1997 estuvo, probablemente, relacionada con la presencia relativa de la estación lluviosa asociada al fenómeno de El Niño (Cuadro 18); la mayor densidad de *A. reducta* en Montería ocurrió en noviembre de 1996. La variación en abundancia del insecto a nivel de finca puede ser medida por el área limitada por la curva de población; la abundancia de ninfas y adultos varió 3.7 y 3.5 veces, respectivamente, entre las tres parcelas localizadas en Corozal. La identificación de instares permite una visión más detallada de la dinámica de la población local de salivazo que el análisis de ninfas totales. Con este sistema es posible evidenciar la fenología, la sincronización de la población y el número de generaciones entre parcelas.

Cuadro 18. Abundancia máxima de ninfas/2 m² y 200 pases de jama en cada sitio de muestreo de salivazo. Colombia

Ninfa/adulto	Mont.	Corozal	V/cio.	F/cia.
Ninfas (total)	14	14	75	158
<i>A. lepidior</i>	6	0	0	0
<i>A. reducta</i>	597	189	9	0
<i>A. varia</i>	0	0	370	88
<i>Mahanarva</i> sp.	0	0	0	2
<i>Z. pubescens</i>	0	0	4	25

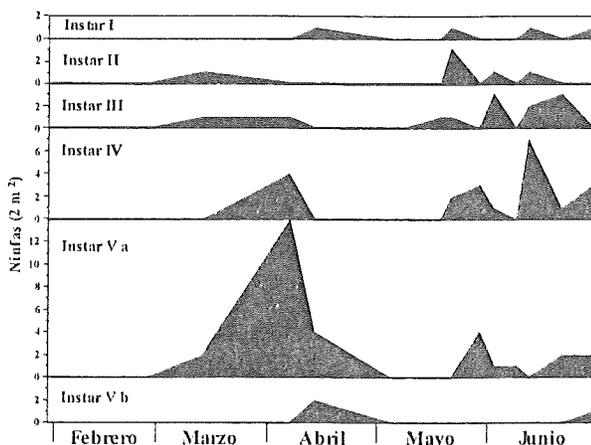


Figura 11. Abundancia de ninfas y adultos de *Aeneolamia varia* en parcelas localizadas en La Loma, CI. La Libertad (Villavicencio, Colombia). 1997.

Por ejemplo, entre marzo y abril en la parcela La Loma del CI. La Libertad se encontró una alta generación de ninfas y adultos de *A. varia* (Figura 11). La progresión de abundancia a partir de los primeros y hasta los últimos instares es evidente para la sincronización de la alta población de ninfas que aparece después de mayo. En la parcela El Retoño del mismo sitio se experimentó una pequeña generación inicial entre febrero y marzo y una segunda entre abril y mayo (Figura 12).

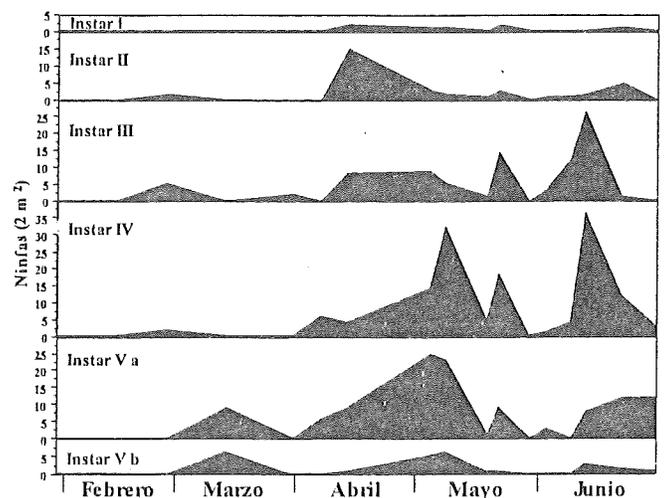


Figura 12. Abundancia de ninfas y adultos de *Aeneolamia varia* en parcelas localizadas en El Retoño, CI-La Libertad (Villavicencio, Colombia). 1997.

En Florencia, las poblaciones adultas de tres especies mostraron un patrón similar de disminución en febrero y de resurgimiento en abril (Figura 13). A diferencia de los otros sitios, la reducción de poblaciones de salivazo no se relacionaron con condiciones secas. Esta localidad recibe un promedio de 3500 mm de precipitación anual y aunque tiene períodos de menor precipitación no tiene una estación seca diferenciada, como sí ocurre en los otros sitios. La precipitación en febrero (252.5 mm) y marzo (274.7 mm) fue mayor que en enero (79.8 mm) y como resultado la reducción de salivazo coincidió con períodos de mayor precipitación.

Discusión. Las evaluaciones detalladas que distinguen entre todos los estados de vida, sexos y especies, ofrecen la resolución necesaria para una interpretación de la dinámica de la población local y para medir la variación a nivel de productor y regional en abundancia, fenología, sincronización, número de generaciones y composición de especies del insecto. Esta información ayudará en la predicción de la magnitud y en la sincronización de los brotes iniciales de acuerdo con los datos meteorológicos, y en la comprensión de nuevos factores determinantes de la diapausa de los huevos.

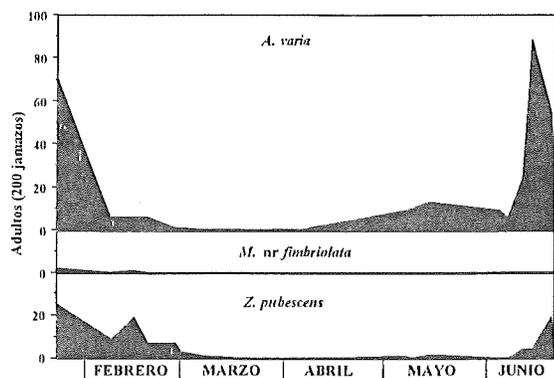


Figura 13. Abundancia de adultos de *Aeneolamia varia*, *M. nr fimbriolata* y *Zulia pubescens* en parcelas del sitio La Loma, CI Macagual, Caquetá, 1997.

Identificación, abundancia y fenología de enemigos naturales asociados con salivazo (D. Peck, W. Medina, A. Pérez, F. Gamboa, J. Hincapie, Y. Ballesteros, C. Gallego, C. Mantilla y A. Morales)

Justificación. La identificación, abundancia, distribución e impacto de los enemigos naturales de salivazo no se han estudiado en Colombia. Los muestreos poblacionales intensivos permiten la recolección simultánea de datos sobre la ocurrencia de enemigos naturales incluyendo la identificación de especies, el estado de vida del insecto al momento del ataque, la abundancia,

estacionalidad y el potencial para consideración en el futuro como agentes de control biológico. Hasta ahora, los únicos enemigos naturales promisorios para el control biológico de salivazo pertenecen a una diversidad estrecha de hongos entomopatógenos, en particular *Metarrizhium anisopliae*.

Métodos. En estudios sobre dinámica poblacional, realizados en cuatro sitios del trópico bajo, se recolectaron enemigos naturales a partir de muestreos con jama y de las masas de espuma formadas por el insecto. En las masas se removieron larvas depredadoras de *Salpingogaster nigra* (Diptera: Syrphidae) las que atacan ninfas y adultos tenerales. En la jama entomológica se recolectaron moscas adultas. Las ninfas y los adultos recolectados se almacenaron en condiciones secas dentro de microampollas para el posterior aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos asociados. También se registró la presencia en las muestras de ácaros parasitarios y nematodos entomopatógenos.

Resultados. Se encontraron cuatro variedades de enemigos naturales: larvas depredadoras de la moscas sírfide, nematodos y hongos entomopatógenos y ácaros parasitarios (Cuadro 19). En Florencia se registró la mayor abundancia y diversidad de enemigos, lo que podría atribuirse a una, o a todas, de las siguientes características distintivas de la región: presencia continua de salivazo, alta diversidad del insecto y alta humedad ambiental con ausencia de una época seca severa. Todos los hongos entomopatógenos aislados pertenecen a muestras tomadas en Florencia, pero aún faltan por examinar las muestras procedentes de Villavicencio.

Cuadro 19. Incidencia de enemigos naturales asociados con salivazo en tres sitios de Colombia.

Sitio	Enemigo	Especie de salivazo atacada	Estado de vida del salivazo atacado	Meses de registro
Corozal	Nematodo	<i>A. reducta</i>	Adulto	Junio
	Acaro parasitario	<i>A. reducta</i>	Adulto	Julio
Villavicencio	Nematodo	<i>A. varia</i>	Ninfa, adulto	Junio
	Acaro parasitario	<i>A. varia</i>	Adulto	Junio, julio
	<i>Salpingogaster nigra</i>	<i>A. varia</i>	Ninfa	Junio
Florencia	Nematodo	Desconocido	Ninfa	Febrero
	Acaro parasitario	<i>A. varia</i>	Adulto	Mayo, junio
	<i>S. nigra</i>	Desconocido	Ninfa	Enero, junio
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>A. varia</i>	Adulto	Febrero
	<i>M. anisopliae</i>	Desconocido	Ninfa	Febrero
	<i>Metarrizhium</i> sp.	Desconocido	Ninfa	Enero
	<i>Paecilomices</i> sp.	<i>Z. pubescens</i>	Adulto	Enero
<i>Paecilomices</i> sp.	Desconocido	Ninfa	Febrero	

Hasta ahora, se han aislado los géneros *Fusarium*, *Metarrizhium* y *Paecilomices*. La presencia de *S. nigra* no es sorprendente dada su amplia distribución panneotropical y la utilización de una amplia gama de variedades de especies de salivazo. Esta mosca aún no se ha encontrado en la Costa del Norte debido, probablemente, a la estación lluviosa atípica que ocurrió en 1997. Los adultos, pupas y larvas se han registrado en otros sitios, pero su presencia es extremadamente baja.

Los estados de vida de esta especie se han encontrado sólo ocho veces en todas las evaluaciones realizadas hasta ahora. Los nemátodos se encontraron en los cuatro sitios, pero todavía no se ha hecho su identificación. Estos enemigos pueden alcanzar alta abundancia; así, en un estudio (no publicado) se encontraron 12 nemátodos en 90 hembras de *A. varia* recolectadas en Villavicencio y mantenidas en cautiverio durante 3 días.

Discusión. La diversidad de hongos entomopatógenos recolectada hasta ahora indica que los estudios sobre control biológico del salivazo son promisorios. El trabajo

intenso del personal en el campo con seis especies de salivazo, permitirá tener una colección de diversas especies y aislamientos. Este material es valioso para los estudios de biocontrol que enfatizan una diversidad muy estrecha de especies y aislamientos.

Actividad 2.1.4. Efecto de prácticas de manejo en la abundancia de salivazo

Aspectos sobresalientes

- La abundancia de ninfas y adultos de salivazo no varía entre pasturas de solo *Brachiaria* y de *Brachiaria* asociada con *Arachis pintoi*.
- Hay evidencia que la divergencia en preferencias de hábitat contribuye al fraccionamiento del hábitat entre las dos especies simpátrica principales de salivazo.
- La liberación de hembras de salivazo adulto merece consideración adicional sobre la infestación artificial en ensayos de resistencia en el campo.

Respuesta de salivazo a las asociaciones gramíneas/leguminosas (D. Peck, W.

Puentes, C. Ramírez, G. Ruiz y C. Troncoso)

Justificación. A pesar de los beneficios de las asociaciones gramíneas/leguminosas, su adopción dependerá de cómo afectan la abundancia e impacto de salivazo. Los cambios del hábitat que pueden acompañar la diversificación de la pastura, tales como la mayor densidad de enemigos naturales y la menor densidad de plantas hospederas de salivazo, sugieren una abundancia inferior de la plaga en respuesta a las asociaciones. Sin embargo, igualmente es posible que a mayor disponibilidad de nitrógeno las gramíneas sean más atractivas para el salivazo, pero también más tolerante al ataque. En este estudio se evalúan los cambios en la abundancia, en lugar de impacto, del salivazo en pasturas asociadas y solas.

Métodos. En seis ensayos a nivel de finca en el Caquetá se evaluaron las diferencias en abundancia de salivazo. En cada una de ellas se tienen parcelas adyacentes de solo *Brachiaria* y de este género asociadas con *A. pintoi* establecidas como parte de los trabajos

en el Proyecto Nestlé (Cuadro 20). En cada tratamiento se demarcaron parcelas de 0.5 ha que se dividieron en 10 subparcelas para facilitar el muestreo de ninfas y adultos. Aproximadamente una vez cada mes y en 2 días consecutivos, se hicieron muestreos de masas de espuma y de adultos con pase de jama. Las observaciones se hicieron en forma similar a los estudios poblacionales, excepto que los recuentos de ninfas se hicieron en un total de 20 marcos de 0.0625 m² cada uno y los adultos se recolectaron en 10 series de 20 pases de la jama por tratamiento.

Resultados. Las asociaciones con *Arachis* no causaron cambios significativos en las mediciones en ninfas de salivazo ni en la abundancia de adultos (Cuadro 21). En cada finca, sin embargo, se encontró una tendencia hacia la existencia de diferencias estacionales y consistentes en abundancia del insecto, de tal manera que un tratamiento fue, en forma individual, preferido de un mes a otro sobre su tratamiento adyacente (Figura 14). Esto indica que otras características del hábitat, diferentes de la asociación de *Arachis*, fueron más importantes para determinar la abundancia de salivazo.

Cuadro 20. Descripción de sitios experimentales y composición de especies de salivazo capturadas.

Sitio	Siembra (año)	Especie	Composición de especies adultas (%)			
			<i>A. varia</i>	<i>M. nr fimbriolata</i>	<i>Z. colombiana</i>	<i>Z. pubescens</i>
Sur de Florencia:						
Diamante	1995	<i>B. decumbens</i>	30.7	3.2	0	66.2
Norglandia	1995	<i>B. decumbens</i> , <i>B. humidicola</i>	29.4	3.3	0	67.3
Villa Clarita	1995	<i>B. brizantha</i> , <i>B. decumbens</i>	18.1	0	0	81.9
Norte de Florencia:						
Caña Brava	1995	<i>B. humidicola</i>	100	0	0	0
Higuerón	1989	<i>B. decumbens</i>	79	0.3	19.4	1.2
Primavera	1995	<i>B. decumbens</i>	34.3	0	0	65.7

La separación de las especies adultas mostró que las especies dominantes, *A. varia* y *Z. pubescens*, aparentemente se distribuyeron espacialmente, prefiriendo tratamientos opuestos en las tres fincas donde fueron más abundantes (Figura 14). Este patrón curioso probablemente se relaciona con preferencias divergentes de hábitat. En la región sur de Florencia se presentó la mayor presión de salivazo. Durante los meses del experimento, el número promedio de ninfas en 1.25 m² y de adultos en 200 muestreos fue 49.3 y 88.5 en el sur y de 14.1 y 24.1 en el norte. La composición global de especies de adultos no varió con un patrón claro entre el sur y el norte ni entre tratamientos (ver Cuadros 20 y 21). *Zulia colombiana* se encontró en un sólo sitio; *Mahanarva* sp. se encontró en tres. Se registraron las cuatro clases de enemigos naturales, pero su número no fue suficiente para evaluar diferencias de abundancia entre tratamientos.

Discusión. Las observaciones se continuarán mensualmente hasta enero de 1998. Hasta ahora, aparentemente la abundancia de ninfas y adultos no depende de la pastura asociada. Aunque el establecimiento de mezclas de gramíneas/leguminosas no aumenta el número de salivazos, sí puede aumentar el impacto, ya que el mismo número de insectos está atacando un componente reducido de la gramínea. En los análisis y estudios futuros se empezará a evaluar el efecto de las

asociaciones en el impacto del salivazo, manteniendo en mente los factores opuestos de aumento en la atractividad y tolerancia de las gramíneas cuando se acompañan de la fijación de nitrógeno

Evaluación de alternativas para el control de salivazo en el Caquetá (J. Barreto, M. Milena, B. Giraldo y D. Peck)

Justificación. Aunque la resistencia varietal debe servir, en último término, como base para un mejor manejo del salivazo, es necesario continuar utilizando las variedades susceptibles. Además, mientras que las variedades mejoradas no estén disponibles, los productores requieren nuevas alternativas de manejo y la validación de aquellas actualmente en uso. A pesar de la importancia de la producción de forraje y el impacto del salivazo en el Caquetá, no se han evaluado alternativas para su manejo en esa área.

Métodos. En dos parcelas localizadas en una finca cerca de Florencia se estableció un experimento para determinar el efecto de la fertilización, los correctivos en el suelo y los hongos entomopatógenos sobre la abundancia de salivazo y la producción de forraje. La aplicación de los fertilizantes (N, P y K) y el correctivo (cal) se hará de acuerdo con el análisis de suelos y el hongo comercial se aplicará según las recomendaciones de laboratorio.

Cuadro 21. Densidad media de estados de vida de salivazo en pasturas solas y asociadas.

Medida de abundancia (combinada por meses)	<i>Brachiaria</i> Prom ± E.E.	<i>Brachiaria/Arachis</i> Prom ± E.E.	Significancia ^a
Ninfas totales por 1.25 m ²	27.3 ± 6.64	36.2 ± 8.99	0.427
Adultos totales por 200 muestreos	59.0 ± 13.46	53.6 ± 11.21	0.866
Total <i>A. varia</i> adultos	20.5 ± 7.75	21.4 ± 4.21	0.102
Total <i>Mahanarva</i> sp. adultos	1.0 ± 0.45	1.3 ± 0.48	0.608
Total <i>Z. pubescens</i> adultos	36.5 ± 10.64	28.1 ± 9.37	0.555

a. Probabilidad > t; prueba de t pareada. E.E. Error estándar.

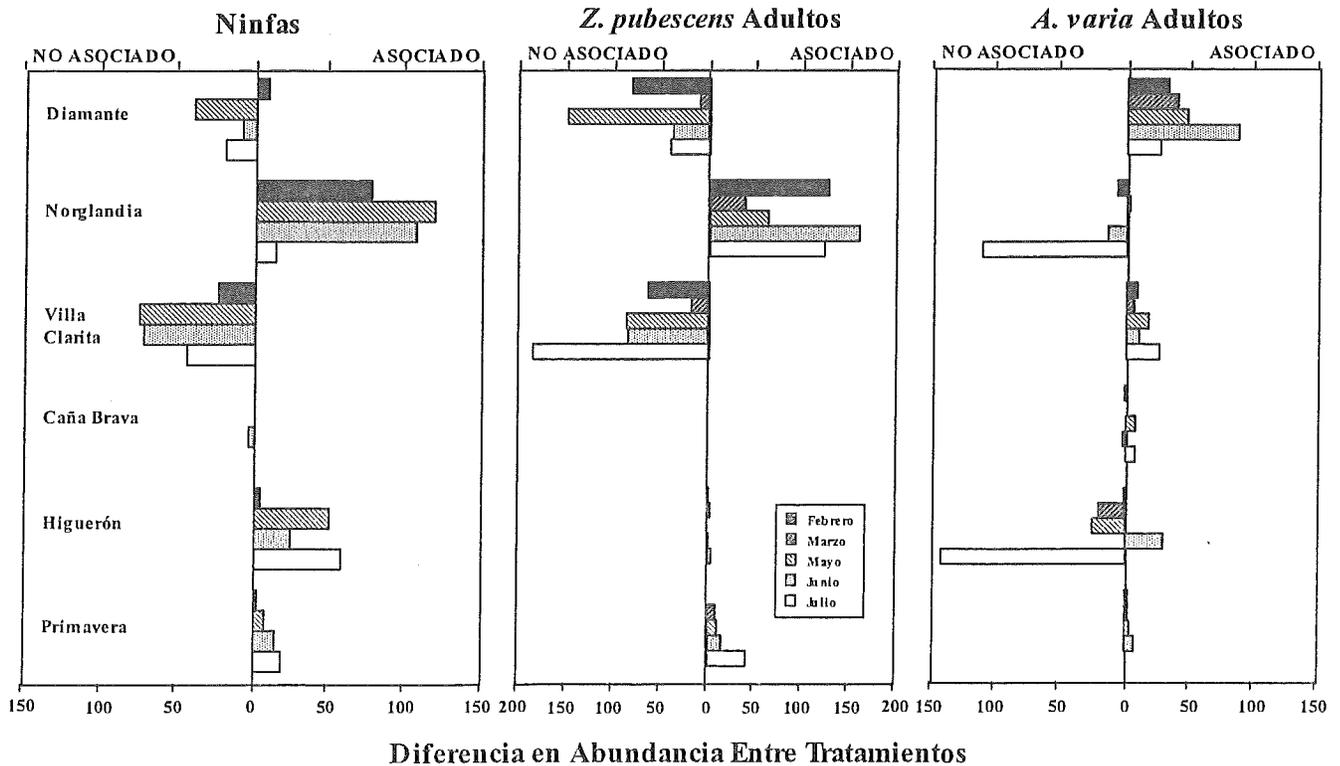


Figura 14. Abundancia de ninfas y adultos de *Zulia pubescens* y adultos de *Aeneolamia varia* en pasturas pareadas de *Brachiaria* y de *Brachiaria/Arachis pintol* en seis fincas durante 7 meses de 1997. Los datos corresponden a la diferencia en el total de abundancia entre tratamientos pareados por fecha de muestreo.

Se incluirá un tratamiento testigo sin aplicación de fertilizantes ni hongo. En las evaluaciones mensuales se determinarán la densidad de ninfas y adultos, la composición de plantas y la producción de forraje.

Resultados. Este experimento se inició al final de 1997 y se conducirá durante 12 meses.

Infestación de campos mediante la liberación de hembras adultas de salivazo
(D. Peck y W. Medina)

Justificación. Ha sido difícil evaluar en el campo la resistencia de nuevo germoplasma de *Brachiaria* a salivazo, debido a la ocurrencia espacial esporádica y estacional, y a las variaciones en su abundancia. La evaluación adecuada requiere una dispersión uniforme y alta densidad de insectos. Aunque todavía no se pueden predecir tales condiciones, si es

posible crearlas artificialmente. Los intentos anteriores para aumentar las poblaciones en el campo utilizando huevos han fracasado, debido a la depredación por artrópodos; por otra parte, se considera que el aumento con ninfas puede ser demasiado laborioso. En consecuencia, la liberación de hembras adultas sigue siendo una opción válida debido a la fidelidad de las hembras preñadas por los sitios y a su habilidad para colocar huevos en lugares protegidos de depredadores y del clima adverso.

Métodos. En una finca del municipio de Ciénaga de Oro (departamento de Córdoba) se probó una metodología para aumentar el número de adultos. Se esperaba incrementar el número de ninfas en parcelas experimentales al inicio de la época de abundancia mediante la liberación de hembras en forma tardía y temprana, las cuales habían

completado las etapas con y sin diapausa, respectivamente, lo que contribuiría a un brote inicial más grande de ninfas durante el inicio de la estación lluviosa en mayo. Se colocó una reja de 49 en parcelas de 2 m x 2 m en una combinación de cuatro tratamiento y siete repeticiones, más un testigo: densidad de adultos de (40 u 80) y liberación a final y comienzo de época húmeda (noviembre y mayo). Debido a la época húmeda inusualmente seca impuesta por el fenómeno de El Niño, no fue posible obtener adultos para liberación en mayo. En noviembre se recolectaron adultos de *A. varia* (en relación de sexos 1:1, aproximadamente) en los alrededores y fueron liberados el primero de noviembre en el centro de cada una de las parcelas asignadas. El conteo de ninfas en cada parcela se hizo en dos fechas al inicio de la estación lluviosa.

Resultados. La nueva estación lluviosa fue extremadamente seca debido al fenómeno de El Niño. Las poblaciones de salivazo fueron escasamente detectables en un sitio cercano para muestreos poblacionales. Las ninfas se contaron en dos fechas, pero debido a que sólo se encontraron unos pocos individuos fue imposible comparar densidades entre el tratamiento testigo y las parcelas de liberación.

Discusión. Las condiciones atípicas de la época lluviosa hicieron imposible probar la efectividad de la liberación de adultos para aumentar las poblaciones de ninfas en el campo. Sin embargo, la recolección de estos en áreas circundantes y su liberación en sitios de evaluación, parece ser una opción sencilla para aumentar artificialmente la infestación, en lugar de liberar ninfas o huevos. Las hembras preñadas son menos aptas para volar y pueden colocar huevos de una manera uniforme cerca de los sitios de liberación y en micrositios apropiados para la protección

contra la sequía y los depredadores. El uso de adultos recolectados localmente evita la cría masiva de ninfas en condiciones de laboratorio y las dificultades para su liberación debido a sus requerimientos especiales de microhábitat. Los huevos en diapausa colocados al final de la época húmeda, más aquellos del desarrollo inmediato agregados por los primeros adultos recolectados al inicio de la estación en áreas donde aparecen más temprano, estarán listos para eclosionar al comienzo de la nueva estación lluviosa. Como inconvenientes se puede mencionar que la liberación de adultos requiere una exploración de la región para encontrar poblaciones recolectables y, además, puede requerir irrigación de las parcelas de evaluación para asegurar las mejores condiciones para la eclosion de huevos y supervivencia de ninfas.

Actividad 2.1.5 Eventos de capacitación. Taller sobre la bioecología y manejo del salivazo de los pastos (D. Peck)

Justificación. En Colombia, a pesar del estado de plaga del salivazo en pasturas, existe muy poca experiencia sobre su biología y manejo. El acceso a información es aún extremadamente limitado, porque no existe un texto que resuma el estado de conocimientos sobre la familia Cercopidae y las guías existentes sobre esta plaga en pasturas están desactualizadas, son incorrectas e ignoran la bioecología a nivel de familia. El establecimiento de un nuevo grupo de investigación sobre bioecología del salivazo, requiere, en consecuencia, un medio que ofrezca a los colaboradores una base común de conocimientos en el tema en estudio.

Métodos. En el Primer Taller sobre la Bioecología y Manejo del Salivazo de los Pastos se celebró en el CIAT entre el 20 y el 26 de abril de 1997. El objetivo del taller fue reunir

durante 1 semana a todos los participantes involucrados en el proyecto de bioecología de salivazo. Se realizaron conferencias intensivas, prácticas de laboratorios y discusiones con el objeto de establecer métodos de evaluación de población, reforzar el nuevo equipo de investigación y adquirir bases sólidas sobre el insecto, su hábitat y manejo. Fue también la oportunidad para hacer propuestas de proyectos de tesis, familiarizarse con las actividades de investigación del CIAT y adquirir literatura relevante a proyectos específicos.

Resultados. En el taller participaron 18 personas de cinco instituciones, incluyendo 10 personas involucradas directamente con el Subproducto 2.1 sobre estudios bioecológicos de salivazo en Corozal, Montería, Villavicencio y Florencia. Los ocho participantes restantes asistieron por iniciativa propia y su interés de participar o involucrarse en proyectos relacionados. Las conferencias centrales sobre diversidad, biología, comportamiento y ecología fueron complementadas con notas y diagramas, y una lista de referencias. Los conferencistas invitados se refirieron a la resistencia de la planta hospedante (*C. Cardona*) y al mejoramiento de *Brachiaria* (*M. Escandón*). Se preparon notas para las prácticas de laboratorio en taxonomía I y II, y en biología y comportamiento del insecto. Como prácticas adicionales se realizaron giras de estudio a la estación CIAT-Quilichao, visitas a la colección de entomología de frijol y a la biblioteca. Cada una de las actividades se complementó con discusiones sobre cría masiva de salivazo, evaluación de resistencia, manipulación de huevos y manejo integrado de plagas. A cada participante se le proporcionó un paquete de 20 lecturas clave en temas básicos y aplicados de la familia Cercopidae.

Discusión. El taller se repetirá en 1998 y años posteriores, ya que es una actividad necesaria para el trabajo en equipo. Las notas se publicarán como una guía de la ecología y biología del salivazo en pasturas y estarán disponibles para estudiantes e investigadores que soliciten dicha información. Finalmente, este taller servirá como una plataforma para el Curso Internacional sobre Métodos para Evaluar Genotipos de *Brachiaria* por Resistencia a Salivazo, que se celebrará en el CIAT en 1998.

Subproducto 2.2. Resistencia a salivazo en genotipos evaluados y caracterizados de *Brachiaria*

Aspectos sobresalientes

- Se desarrolló, probó e implementó una nueva técnica de invernadero, más simple, rápida y confiable para la selección de genotipos de *Brachiaria* por resistencia a salivazo.
- Se lograron avances significativos en el desarrollo de un método confiable y uniforme de infestación artificial con salivazo para selección de genotipos de *Brachiaria* en condiciones de campo.

Actividad 2.2.1. Desarrollo de una nueva técnica de invernadero, más simple, rápida y confiable para la selección de genotipos de *Brachiaria* por resistencia a salivazo

Justificación. La evaluación de resistencia a salivazo bajo condiciones de campo es extremadamente difícil, debido a la ocurrencia focal e impredecible del insecto. Las técnicas de invernadero anteriormente desarrolladas en el CIAT eran confiables pero ineficientes, lentas y engorrosas. En el mejor de los casos,

en un año se podían evaluar 250 genotipos por resistencia, una producción que estaba, obviamente, lejos de las necesidades corrientes de mejoramiento actual. En consecuencia, el principal objetivo de investigación en 1997 fue desarrollar mejores alternativas para selección masiva por resistencia a salivazo en condiciones de invernadero.

Métodos. Los pasos en esta investigación fueron los siguientes: (1) Desarrollar una unidad experimental pequeña y sencilla. (2) Estudiar la posibilidad de detectar resistencia a *A. varia* en plantas individuales y jóvenes de *Brachiaria*; para este objetivo, la investigación se realizó en dos áreas principales: (a) el efecto de la edad de la planta y el nivel de infestación con adultos en la expresión de resistencia; y (b) el efecto de la edad de la planta y el nivel de infestación con ninfas en expresión de resistencia. (3) Estudiar el papel de la no-preferencia (antixenosis) en la resistencia a salivazo. (4) Estudiar la confiabilidad del nuevo sistema para la detección de antibiosis y tolerancia, como mecanismos fundamentales de resistencia a salivazo. (5) Estudiar el efecto de la fertilización y la técnica de selección en la expresión de resistencia. (6) Implementar la nueva técnica en la rutina de selección masiva de genotipos originados de actividades de mejoramiento.

Resultados y discusión

Nueva unidad experimental para evaluación de resistencia a salivazo en invernadero (C. Cardona y G. Sotelo). Como se indicó en el Informe Anual-1996, se compararon varias posibilidades. Una alternativa para el trabajo futuro puede llamarse ensayo de "tubo sencillo". Consta de un tubo de PVC de 6 cm de ancho por 10 cm

de largo cubierto con una tapa con un orificio de 2.5 cm a través del cual se coloca un solo tallo de planta. La unidad también puede utilizarse para promover el crecimiento superficial de raíces en las plantas al invertirlas 15 a 20 días antes de la infestación con huevos. Esta metodología ha demostrado ser exitosa para promover la proliferación de raíces superficiales y en la provisión de humedad y las condiciones la sombra adecuadas que son necesarias para el desarrollo ninfal. En genotipos susceptibles, la supervivencia ninfal puede ser tan alta como 100%, mientras que en genotipos resistentes, la antibiosis se expresa plenamente. La característica favorable más importante de la nueva metodología es que permite la medición del daño ninfal con precisión, algo que era virtualmente imposible con el ensayo de macetas estándar anteriormente utilizado.

Efecto de la edad de la planta y el nivel de infestación con salivazos adultos en la expresión de resistencia (C. Cardona y G. Sotelo). Debido a que la nueva técnica de selección implica la evaluación de plantas individuales jóvenes de *Brachiaria*, es necesario estudiar el efecto de la edad de la planta (15 vs. 30 días) y el nivel de infestación (rango entre 0 y 12 adultos por planta) en la expresión de resistencia. Se compararon un genotipo susceptible (*B. ruziziensis* CIAT 0654) y uno resistente (*B. brizantha* CIAT 6294). No se encontraron diferencias significativa debido a las edades de la planta. Se escogieron plantas de 30 días de edad, porque la proliferación de raíces y el comportamiento de la planta a esta edad fue mejor. La regresión de niveles de infestación de adultos y el puntaje de daño visual para el genotipo susceptible fue :

$$Y = 1.05 + 0.348X \quad (r = 0.879, P < 0.01).$$

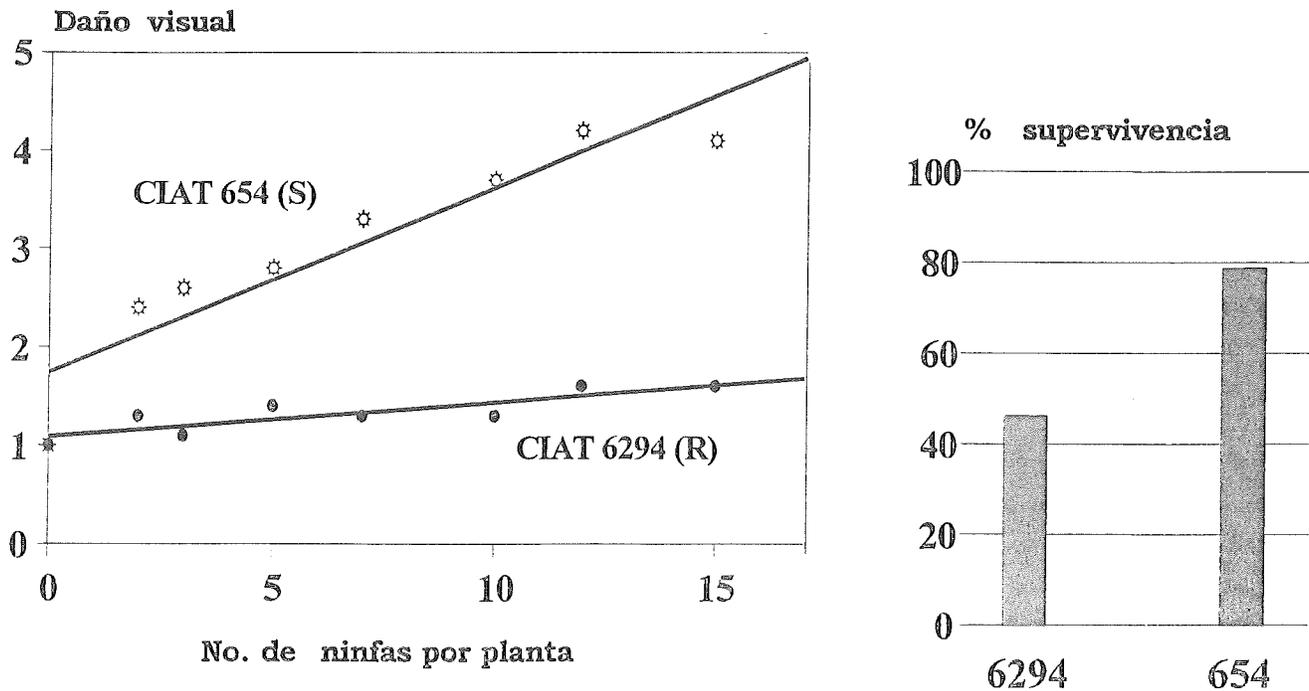


Figura 15. Relación entre el nivel de infestación con ninfas de salivazo y el daño causado en dos variedades CIAT de *Brachiaria*. Se muestra también el nivel de antibiosis en *B. brizantha* CIAT 6294.

Esta ecuación se utilizó para calcular el nivel de infestación necesario para obtener un puntaje de daño visual de 3, que es discriminatorio entre susceptibilidad y resistencia. El nivel óptimo de infestación, por tanto, se fijó en 6 adultos por planta.

Efecto de la edad de la planta y el nivel de infestación con ninfas de salivazo en la expresión de resistencia (C. Cardona y G. Sotelo). Para determinar los niveles óptimos de infestación con ninfas, se infestaron plantas de 30 días de edad del genotipo susceptible (*B. ruziziensis* CIAT 0654) y del genotipo resistente (*B. brizantha* CIAT 6294) con niveles crecientes entre 0 y 15 ninfas por planta. Se registraron puntajes de daño y supervivencia ninfal. La regresión de los niveles de infestación con ninfas y los puntajes de daño visual (Figura 15) para la variedad susceptible fue:

$Y = 1.824 + 0.179x$ ($r = 0.984$; $P < 0.01$), lo que significa que para obtener un puntaje de daño de 3.5 en una escala visual de 1 a 5, cada planta tendría que ser infestada con 9.4

ninfas. Por tanto, se eligió un nivel estándar de 10 ninfas por planta. Las pruebas también indicaron que la nueva metodología de selección permite una medición precisa de antibiosis en términos de porcentaje de supervivencia de ninfas (Figura 15).

El papel de la antixenosis en la resistencia a salivazo (M. Cruz, C. Cardona, G. Sotelo). El papel de los mecanismos antixenóticos o de no-preferencia en la resistencia a salivazo se estudió por primera vez en 1997. Para estudiar la preferencia de alimentación y ovoposición de adultos se utilizaron cuatro genotipos seleccionados por niveles variables de resistencia; para el efecto, se utilizaron niveles de infestación de 6 adultos por planta. Los resultados (Cuadro 22) de tres pruebas indicaron que el insecto no mostró una marcada preferencia en la alimentación en cualquiera de las variedades probadas. Fue interesante observar el nivel reducido de ovoposición que ocurrió en la accesión *B. humidicola* CIAT 0679. Esto sugiere que la

Cuadro 22. Prueba de libre elección para las preferencias de alimentación y ovoposición de *Aeneolamia varia* en *Brachiaria*.

Genotipo (no. CIAT)	Especie	Registro de resistencia	Siete adultos/ planta (no.)	Huevos/planta (no.)
CIAT 6294	<i>B. brizantha</i>	Resistente	5.8 a*	155.3 a
CIAT 6133	<i>B. dictyoneura</i>	Intermedio	6.4 a	168.8 a
CIAT 0679	<i>B. humidicola</i>	Intermedio	5.3 a	108.6 b
CIAT 0606	<i>B. decumbens</i>	Susceptible	6.3 a	135.7 a

*Promedios en una columna seguidos por letras iguales no difieren significativamente ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

antixenosis en la oviposición puede desempeñar un papel en la resistencia de ciertos genotipos, un aspecto que merece atención en el futuro.

Confiabilidad del nuevo sistema en la detección de antibiosis y tolerancia como mecanismos fundamentales de resistencia a salivazo

(C. Cardona, G. Sotelo y J. W. Miles). Una vez que se establecieron los niveles de infestación con adultos y ninfas, se procedió a realizar una prueba en gran escala con la nueva metodología para determinar la viabilidad del sistema para la detección de resistencia y para la caracterización adicional de los mecanismos que son la base de resistencia a salivazo. De acuerdo con los resultados anteriores, se eligieron 40 genotipos con niveles conocidos de resistencia. Se incluyeron en ellos accesiones de germoplasma e híbridos mejorados por resistencia a salivazos y por su comportamiento agronómico. En pruebas replicadas, en las cuales la identidad de los materiales solo las conocía el mejorador, se expusieron simultáneamente dos conjuntos de los genotipos al ataque de adultos o ninfas. Los que sobrevivían la prueba con adultos se expusieron luego al ataque ninfal, y los que sobrevivían la prueba con ninfas se sometieron a ataque de adultos. Los principales objetivos del estudio eran identificar genotipos que tuvieran resistencia a adultos (tolerancia), a ninfas (antibiosis) o ambos, para ver la

relación entre estos mecanismos y comprobar hasta qué grado la nueva metodología permitiría discriminar con precisión entre diferentes niveles de resistencia y/o susceptibilidad.

Algunos de los aspectos sobresalientes de este estudio se pueden resumir de la manera siguiente: (1) La correlación entre puntajes de daño por adultos y por ninfas fue de 0.248 (no significativo), lo que puede explicarse en términos de independencia de mecanismos de resistencia. (2) La correlación entre puntajes de daño por ninfa y porcentaje de supervivencia de éstas ($r = 0.567$, $P < 0.05$) puede ser sesgada por el predominio de materiales susceptibles entre los genotipos incluidos en el ensayo, sin embargo, es una indicación de la importancia de la antibiosis en la reducción de daño ninfal a la planta. 3) Se encontró una correlación negativa y significativa ($r = -0.774$, $P < 0.05$) entre el daño por ninfas y el porcentaje de éstas mal desarrolladas; lo que podría ser útil en pruebas a gran escala en el futuro, ya que sugiere que todos los materiales susceptibles podrían descartarse con base en el puntaje de daño ninfal. Además, los recuentos ninfales para medir antibiosis se podrían realizar sólo en aquellos materiales que muestran poco daño, lo cual ahorraría considerable trabajo y tiempo gastado en los recuentos ninfales. Más importante es el hecho que el sistema sí discrimina claramente entre genotipos

resistentes y susceptibles. Como se muestra en la Figura 16, los materiales pueden ser separados en cuatro categorías, entre ellas, los resistentes que aparecen en el cuadrante izquierdo inferior de la figura, muestran baja supervivencia ninfal (antibiosis) y poco daño debido a la alimentación de los adultos (tolerancia). Este es el caso del testigo resistente *B. brizantha* cv. Marandú y un híbrido nuevo (BR93NO/1371). Los genotipos que poseen alguna tolerancia al daño por adultos y no tienen antibiosis ocupan el cuadrante izquierdo superior de la figura. Los materiales susceptibles ocupan los otros dos cuadrantes. La baja supervivencia ninfal en algunos de estos genotipos puede explicarse en términos de su susceptibilidad extrema al daño por adultos, lo que afecta la planta hasta el punto de no permitir el desarrollo ninfal, debido al agotamiento del alimento. Cuando se comparan el daño ninfal y el porcentaje de supervivencia de ninfas (Figura 17), nuevamente aquellos materiales que combinan tolerancia y/o antibiosis como una respuesta

al ataque ninfal, aparecen en el cuadrante inferior izquierdo de la figura. Las experiencias a través de los años, sugieren que un enfoque seguro para seleccionar por niveles altos de resistencia a salivazo sería elegir aquellos materiales que muestran puntajes de daño de 2 o menos y valores de supervivencia ninfal de 40% o menos (Figura 17). Los puntajes de resistencia obtenidos en el ensayo se compararon con aquellos obtenidos en años anteriores utilizando el ensayo tradicional en macetas (Cuadro 23).

Cuadro 23. Comparación de 40 genotipos de *Brachiaria* por resistencia a *A. varia* utilizando dos metodologías de selección.

Genotipos	Resistencia ^a	
	Método tradicional	Nuevo método
BP-BRCUC1016-009	R	I
BP-BRCUC1027-0110	R	S
CIAT 6294 (cv. Marandú)	R	I
BR93NO/1371	R	R
4 Híbridos	I	S
32 Híbridos	S	S

R=Resistente, I= Intermedio, S=Susceptible.

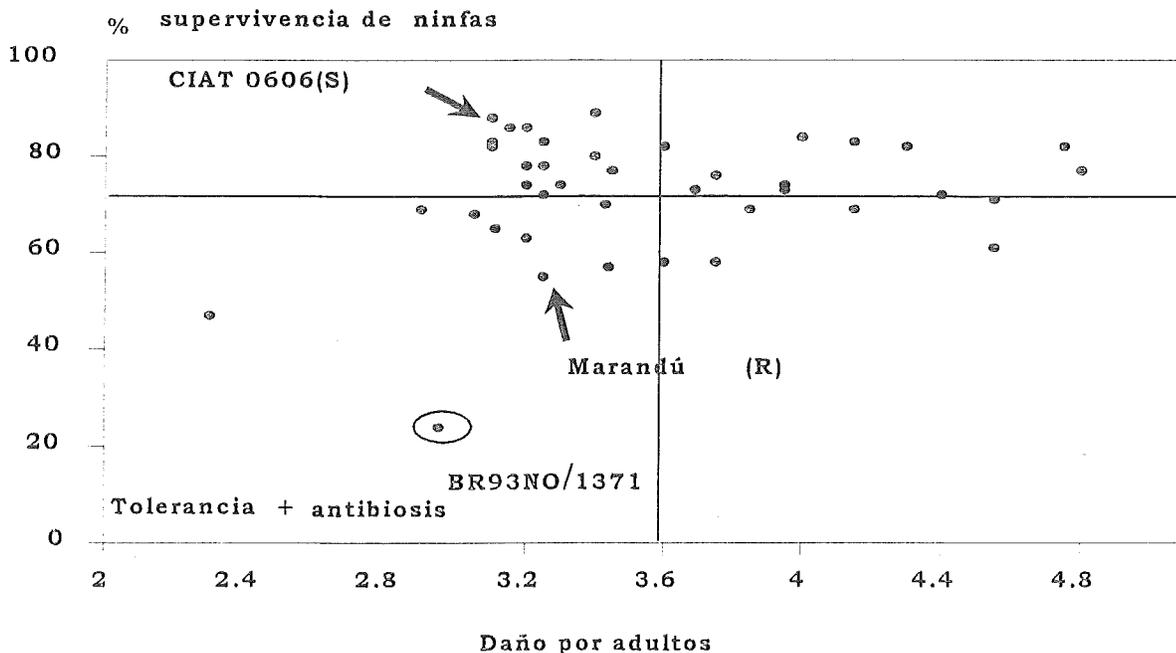


Figura 16. Relación entre nivel de daño por adultos y porcentaje de sobrevivencia de ninfas en 40 genotipos de *Brachiaria* evaluados por resistencia a salivazo.

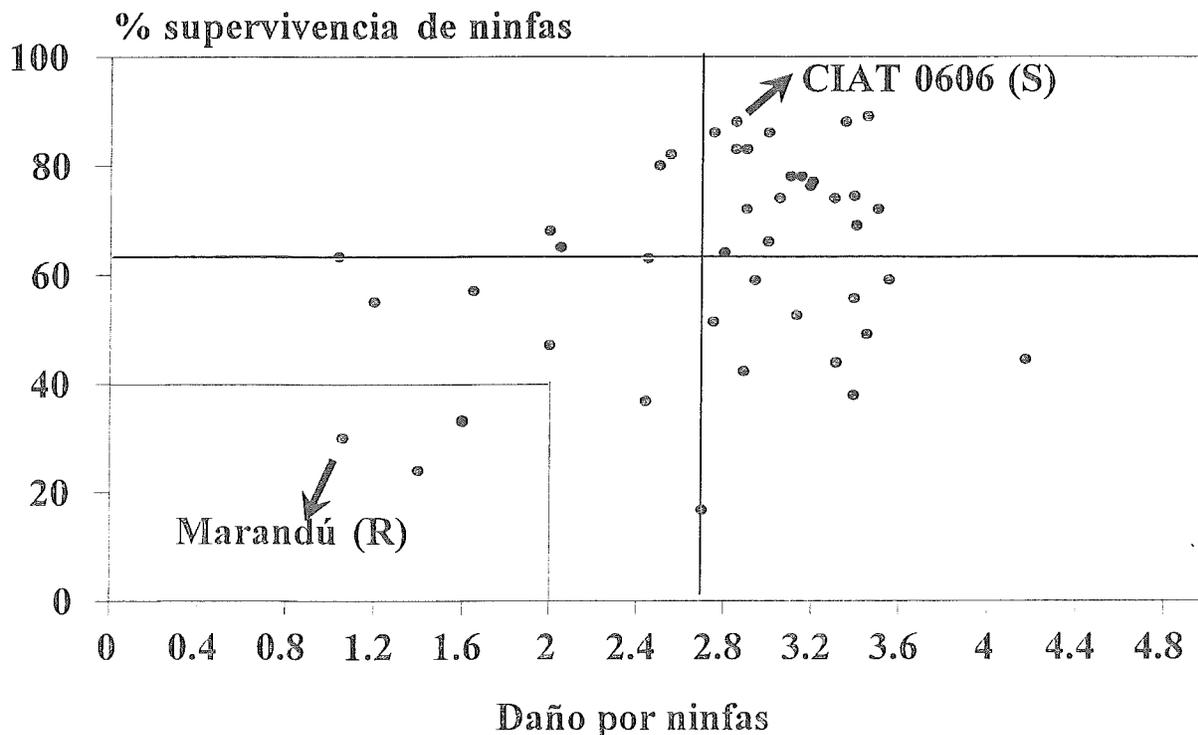


Figura 17. Relación entre el nivel de daño (tolerancia) por adultos y porcentaje de sobrevivencia de ninfas (antibiosis) en 40 genotipos de *Brachiaria* evaluados por resistencia a salivazo.

Todos los materiales susceptibles se aparearon. De aquellos calificados como resistentes utilizando el método tradicional, dos se catalogaron como intermedios y uno se encontró susceptible utilizando la nueva metodología. Esto sugiere que la técnica nueva puede ser rigurosa en la discriminación de genotipos. Las ventajas de la nueva metodología se pueden resumir de la manera siguiente:

1. Es más rápida que la anterior (60 vs. 120 días entre infestación con ninfas y obtención del puntaje final de calificación) (Figura 18).
2. Ocupa 70% menos espacio y requiere entre 70% y 80% menos recursos.
3. Permite identificar antibiosis, tolerancia y antibiosis + tolerancia en cualquier genotipo.

4. Permite calificar por daño de ninfas, lo cual no es posible con el método tradicional.
5. El número de genotipos evaluado por año puede incrementarse de 200 ó 300 hasta 2000, sin problemas de contaminación.

Efecto de la fertilización y la técnica de evaluación en la expresión de la resistencia (C. Cardona, G. Sotelo y J. W. Miles).

En algunos casos, la aplicación de fertilizantes puede tener efecto en la expresión de la resistencia a salivazo. Para refinar la nueva técnica en desarrollo, se hicieron tres experimentos con el fin de estudiar las posibles interacciones entre genotipo, fertilización y metodología de evaluación. En genotipos susceptibles, la aplicación de fertilizantes tiene un efecto significativo en la sobrevivencia de las ninfas (Cuadro 24).

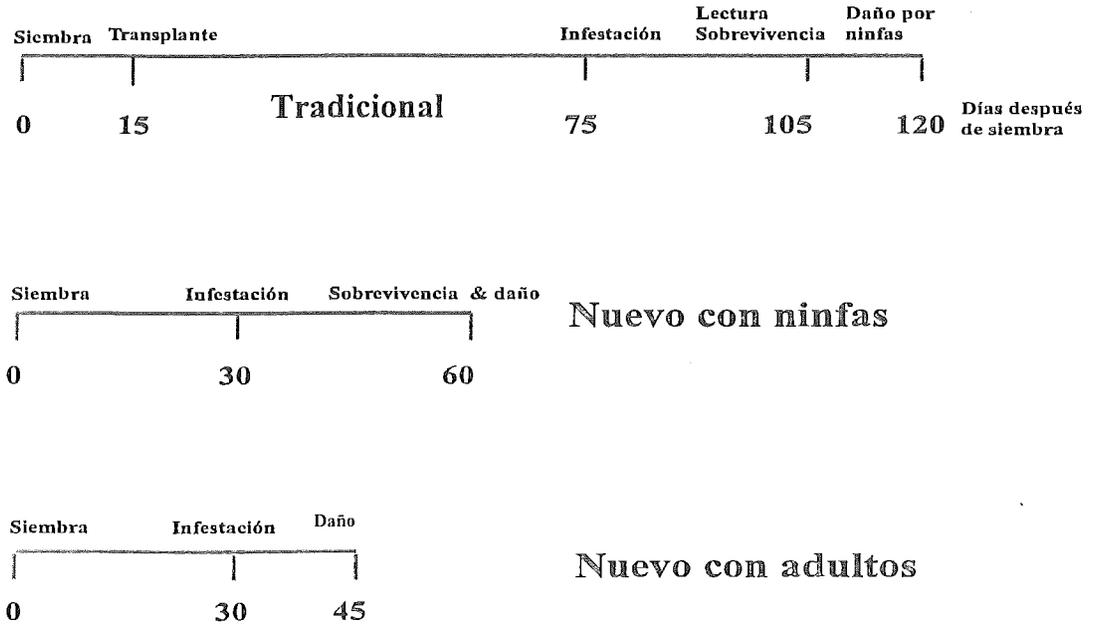


Figura 18. Secuencia de eventos y tiempo (días) necesarios para evaluar *Brachiaria* spp. por resistencia asalivazo, utilizando dos metodologías

Esto puede explicarse en términos de su susceptibilidad extrema al daño ninfal, lo que hace que la planta no sea apta para el desarrollo de las ninfas por falta de alimento, y al aumento en la mortalidad de aquellas debido a la competencia. Este efecto fue más pronunciado cuando no se agregaron fertilizantes. No se encontró efecto significativo en los genotipos resistentes. La aplicación de niveles moderados de N, P y K se ha tomado como una práctica estándar para prevenir lecturas falsas de antibiosis en genotipos susceptibles.

Actividad 2.2.2. Desarrollo de un método artificial de infestación con salivazo para evaluación en campo (C. Cardona, G. Sotelo y J. W. Miles)

Justificación. Como se ha afirmado, la evaluación de resistencia a salivazo bajo condiciones de campo ha sido imposible debido a la ocurrencia focal e impredecible del insecto.

Cuadro 24. Efecto de la fertilización y la metodología de evaluación en la sobrevivencia de ninfas en tres genotipos de *Brachiaria* en estudios por resistencia a *Aeneolamia varia*.

Metodología de Selección	Genotipos de <i>Brachiaria</i>								
	CIAT 0606 (S) ^a			BR93 NO/1371 (R)			CIAT 16531 (R)		
	Con fert.	Sin fert.	Dif.	Con fert.	Sin fert.	Dif.	Con fert.	Sin fert.	Dif.
	Sobrevivencia de ninfas (%) ^b								
Tradicional	71.5	55.0	16.5*	11.5	2.5	9.0 ns	13/5	16/5	-3.0 ns
Mejorada	60.0	31.0	29.0*	10.0	5.0	5.0 ns	8.0	10.0	-2.0 ns
Diferencia	11.5 ns	24.0*		1.5 ns	-2.5 ns		5.5 ns	6.5 ns	

^a Puntajes de resistencia: (S)= Susceptible; (R)= Resistente

^b Promedio de 10 repeticiones; P<5%; ns= No significativo

Sin embargo, en 1997 se condujo con resultados satisfactorios un trabajo intensivo sobre el desarrollo de una técnica de infestación artificial para evaluaciones en el campo.

Métodos. Para desarrollar una metodología de infestación uniforme con salivazo en el campo, se consideraron tres aspectos principales: (1) la fuente de infestación; (2) la planta hospedante y la creación de un microambiente en su base que sea apropiada (proliferación de la raíces, sombra y alta humedad) para el desarrollo adecuado de ninfas; y (3) un vehículo para transferir miles de instares iniciales en estado vivo a los materiales en prueba. Todos estos aspectos se estudiaron en 1997 en el CIAT y en la estación de CORPOICA en Macagual (Caquetá).

Resultados y discusión. No se han encontrado problemas con la fuente de infestación. Las técnicas de crianza masiva desarrolladas en años anteriores en el CIAT permiten producir todos los insectos necesarios. Mediante ajustes simples y reafinando los procedimientos, se ha desarrollado la capacidad suficiente para atender las necesidades futuras para evaluaciones con infestaciones masivas en el campo. Un aspecto sobresaliente de este trabajo en 1997 fue el establecimiento de una instalación para crianza masiva del insecto en el Caquetá.

Utilizando la técnica de ensayo y error se encontró que, mediante la colocación de secciones de bambú alrededor de la base de la planta es posible crear las condiciones necesarias para el desarrollo completo de ninfas de salivazo. El desarrollo de un "vehículo" para transferir las primeras ninfas al campo ha sido más difícil. Se evaluaron como substrato para alimentar los instar

iniciales plántulas de arroz, sorgo, maíz y trigo; encontrándose que las plántulas de maíz pueden mantener niveles de infestación de hasta 100 ninfas por plántula (promedio = 87.8 ninfas). Cuando los diferentes componentes se probaron bajo condiciones simuladas en el campo, se encontró que las ninfas fácilmente se mueven de las plántulas de maíz hacia las raíces de *Brachiaria* y colonizan las plantas. Sin embargo, el porcentaje promedio de supervivencia de las ninfas al cuarto o quinto instar era de 36, lo que no es suficiente para inducir síntomas en las plantas en evaluación. No es claro, en este momento, si la baja tasa de supervivencia ninfal después de su transferencia al campo se debe a interferencia por hormigas y organismos que podrían estar actuando como depredadores de instares tempranos, o si hay un problema nutricional que afecta la capacidad de las ninfas para desarrollarse. La presencia de ninfas mal desarrolladas en recuentos finales, sugiere que este puede ser el caso. Actualmente se tienen ensayos en marcha para aclarar este aspecto crítico.

Subproducto 2.3. Genotipos de *Brachiaria* identificados y reconfirmados como resistentes a salivazo (J.W. Miles , C. Cardona y G. Sotelo)

Aspecto sobresaliente

• Con la utilización de la nueva metodología de selección fue posible identificar genotipos de *Brachiaria* con resistencia antibiótica a salivazo.

Justificación. El mejoramiento por resistencia a salivazo es uno de los principales objetivos de los esfuerzos de mejoramiento dentro del Proyecto Gramíneas y Leguminosas

Tropicales del CIAT. La sección de Entomología proporcionó apoyo continuo mediante selección de materiales para resistencia al insecto.

Métodos. Utilizando las metodologías esbozadas anteriormente, se evaluaron 77 híbridos mejorados y tres testigos.

Resultados y discusión. En términos de supervivencia ninfal, el híbrido FM9503/SO15/010 resultó más resistente que *B. brizantha* cv. Marandú, utilizado como control resistente estándar. Los híbridos FM9503/SO57/014, FM9503/SO94/011 y FM9503/SO75/028 fueron intermedios para la sobrevivencia de ninfas y resistentes en términos de puntajes de daño ninfal. El resto fueron susceptibles.

Subproducto 2.4. Control genético y marcadores moleculares para identificar resistencia a salivazo y apomixis en *Brachiaria*

Aspecto sobresaliente

- Las nuevas metodologías de selección por resistencia a salivazo en *Brachiaria* han hecho posible los estudios genéticos.

Actividad 2.4.1. Estimaciones de heredabilidad para resistencia a salivazo (W.J. Miles, M.L. Escandón, C. Cardona)

Justificación. Los resultados obtenidos (Miles et al., 1995) muestran un fuerte componente genético en resistencia salivazo. Se propone un estudio detallado para cuantificar más rigurosamente la heredabilidad de resistencia en las poblaciones de mejoramiento. La estimación de

componentes de variancia a partir de familias de hermanos medios será un enfoque apropiado, debido a la población mejorada sexualmente disponible.

Resultados: En el momento no se tienen avances en esta actividad. Las familias de hermanos medios no estarán disponibles antes de 1999.

Actividad 2.4.2. Locus de apomixis molecular (P. Rocha, J. Vargas, A. Bernal, M. Escandón, J. Miles y J. Tohme)

Justificación. Un marcador molecular fuertemente ligado a un gen solo y dominante de reproducción apomictica sería extremadamente útil para evaluar el modo reproductivo en poblaciones segregantes híbridas de *Brachiaria*.

Métodos. El fenotipo de los individuos híbridos de progenies individuales es determinado mediante el análisis de sacos embrionarios. Se está investigando con los marcadores moleculares: (RFLP) que incluye 45 pruebas de cDNA en arroz, dos en maíz y cuatro en avena; RAPD y AFLP asociados el fenotipo apomictico.

Resultados. El análisis de conglomerado reveló una región del genoma de *Brachiaria*, correspondiendo al cromosoma-1 en arroz, relacionado con el gen de apomixis ligado a RFLP, AFLP y a un marcador SCAR. El gen de apomixis fue rodeado por dos marcadores RFLP, RZ413 y RZ995, presentes en cromosoma-1 de arroz. Ambos marcadores de RFLP se encontraban a una distancia aproximada de 5 cM (centiMorgam) del gen de apomixis. Un tercer marcador, nuevamente RFLP, del cromosoma-1 de arroz se encontró, aproximadamente, a 10 cM a partir del gen

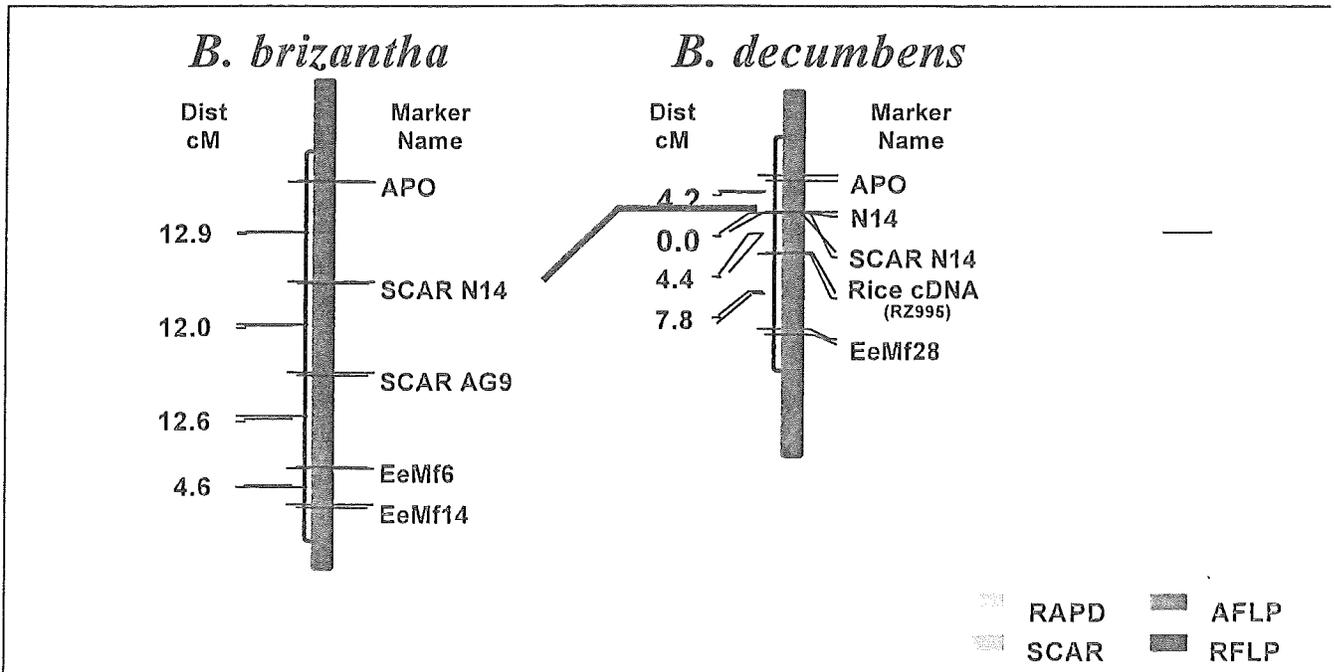


Figura 19. Mapa preliminar de vínculos en la apomixis de *Brachiaria*

de apomixis. Otros dos marcadores, SN14 del marcador SCAR y PdMg4 de AFLP, se encontraron a 6 y 7 cM del gen de apomixis, respectivamente. Un marcador AFLP adicional, EeMf28, se encontró a 22 cM de distancia del gen de apomixis. En la Figura 19 se muestra un mapa tentativo de la región cromosómica relevante en *B. brizantha* y en *B. decumbens*.

Discusión. Los resultados hasta el presente revelan la existencia de un vínculo entre marcadores RFLP, AFLP y SCAR y el gen de la apomixis correspondiente al cromosoma-1 de arroz.

Subproducto 2.5. Papel de endófitos en gramíneas tropicales reconocidas

Aspectos sobresalientes

- Se mejoraron aún más los protocolos de

detección de endófitos dentro de los tejidos de la planta y semillas utilizando varios métodos de tinción.

- En especies de *Brachiaria* se identificaron nuevos endófitos, que se asemejan a aquellos reconocidos en gramíneas de zonas templadas.
- Se iniciaron nuevos métodos de inoculación para introducir estos endófitos en diversas especies y accesiones de *Brachiaria*
- Se están desarrollando antisueros específicos para detección rápida de endófitos en tejidos de gramíneas.
- Se inició un trabajo de tesis a nivel graduado en biología de un endófito aislado de *Brachiaria arrecta*.
- Dos estudiantes del Universidad del Tolima completaron un trabajo de capacitación

intensivo de 2 meses de duración en la detección y en métodos de caracterización de endófitos en el laboratorio de patología de forrajes del CIAT.

- Conjuntamente con la Universidad de Rutgers se está trabajando en el perfil de alcaloides en hongo endófitos aislados de especies de *Brachiaria*. Se establecieron contactos y se iniciaron investigaciones colaborativas con laboratorios especializados en Nueva Zelanda y Estados Unidos.

Actividad 2.5.1. Inspección de la presencia de endófitos en campos de Colombia (S.

Kelemu, A. C. Bolaños, C. E. Posso, M. X. Rodríguez)

Justificación. Es necesario hacer inspecciones de campo en gramíneas nativas y cultivadas para documentar el grado de distribución de endófitos en condiciones tropicales naturales. Estas inspecciones proporcionan un grupo diverso de endófitos para trabajos de investigación en el futuro.

Métodos. Se recolectaron muestras de tejido de plantas en varias partes de Colombia (Quilichao, Popayán, Caquetá y Carimagua) y en el invernadero del Programa de Mejoramiento de Forraje en el CIAT-Palmira. Estas muestras se estudiaron de inmediato en el laboratorio utilizando protocolos de tinción de tejidos para detección de endófitos, de lo contrario, se almacenaron en solución de "Carnoy" (6:3:1 partes de alcohol etílico:cloroformo:ácido acético glacial de 85%) durante 12 semanas o menos. Las muestras con presencia de hongos endófitos se colocaron en diversos medios de cultivo para aislarlos en estado puro. También se determinó la presencia de endófitos en semillas obtenidas de los bancos de

germoplasma forrajero mantenido en la Unidad de Recursos Genéticos del CIAT, en el Proyecto de Gramíneas y Leguminosas Tropicales y en campos en Carimagua y Santander de Quilichao.

Resultados y discusión. Los materiales examinados para presencia de endófitos aparecen en Cuadro 25.

Cuadro 25. Listado de las especies de gramíneas evaluadas para presencia de endófitos y lugar de recolección.

Hospedante y Accesión No. CIAT	Lugar de recolección ^a
<i>B. brizantha</i> 6294	Sección Semillas, PFT
<i>B. brizantha</i> 6780	Sección Semillas, PFT
<i>B. brizantha</i> 16827	Sección Semillas, PFT
<i>B. brizantha</i> 16338	Sección Semillas, PFT
<i>B. brizantha</i> 6297	URG, CIAT
<i>B. brizantha</i> 16767	URG, CIAT
<i>B. brizantha</i> 16829	URG, CIAT
<i>B. jubata</i> 16203	URG, CIAT
<i>B. jubata</i> 16531	URG, CIAT
<i>B. humidicola</i> 6705	Sección Semillas, PFT
<i>B. humidicola</i> 6133	Sección Semillas, PFT
<i>B. humidicola</i> 675	URG, CIAT
<i>B. ruziziensis</i> 26156	Santander de Quilichao
<i>B. decumbens</i> 606	Sección Semillas, PFT
<i>B. arrecta</i> 16843	Santander de Quilichao
<i>B. arrecta</i> 16845	Santander de Quilichao
<i>B. arrecta</i> 16846	Santander de Quilichao
<i>B. arrecta</i> 6020	Santander de Quilichao
<i>B. arrecta</i> 16844	Santander de Quilichao
<i>B. brizantha</i> 16327	Carimagua
<i>B. brizantha</i> 16328	Carimagua
<i>B. brizantha</i> 16767	Santander de Quilichao
<i>B. nigropedata</i> 16902	Santander de Quilichao
<i>B. dictyoneura</i> 16508	Santander de Quilichao
<i>B. dictyoneura</i> 16509	Santander de Quilichao
<i>B. dura</i> 26638	Santander de Quilichao
<i>Andropogon bicornis</i>	Carimagua
<i>Panicum rudgei</i>	Carimagua
<i>Lolium multiflorum</i>	Comercial, Colombia
<i>B. brizantha</i> 26110	Carimagua
<i>B. decumbens</i> 606	Carimagua

^aLas semillas obtenidas de la URG fueron recolectadas en Popayán, Quilichao y Carimagua.

Pocos materiales, entre otros: *B. brizantha* CIAT 6780 y 6294, y *B. arrecta* CIAT 16845, mostraron la presencia de hongos endófitos tanto en hojas como en semilla. La Figura 20 muestra una fotografía escáner en microscopio electrónico (EME) de un endófito en *B. brizantha* CIAT 6780. Esto indica que los endófitos existen tanto en gramíneas de

zonas templadas como de zonas tropicales. El trópico puede proporcionar cepas nuevas de endófitos con beneficio para la agricultura, pero aún falta mucha investigación antes que esto sea una realidad.

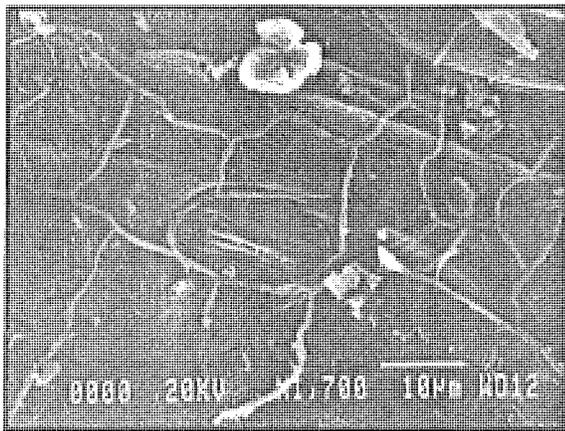


Figura 20. Hongo endófito de *B. brizantha* CIAT 6730

Actividad 2.5.2. Estudios histológicos en tejido foliar de gramíneas (S. Kelemu, A. C. Bolaños, C. E. Posso, M. X. Rodríguez)

Justificación. Los estudios histológicos dan información sobre las interacciones hospedante-parásito. Estos estudios pueden ayudar a una mejor comprensión de los hongos endófitos y su coexistencia con el hospedante.

Métodos. Se procesaron muestras para análisis en EME. Se evaluaron varios métodos de tinción de tejidos para estudios histológicos. El método utilizado para muestras de *Brachiaria* es el siguiente:

1. Pedazos pequeños de tejido de la planta se colocan en solución "Carnoy" por un mínimo de 24 h a temperatura ambiente.
2. Con el objeto de eliminar la clorofila, los tejidos se transfieren a una solución acuosa de etil alcohol al 70% durante 24 h. Este procedimiento se repite dos veces.

3. Los tejidos se cortan en pedazos pequeños de 0.5 a 1.0 cm y se tiñen con azul de anilina (2:1 azul de anilina en alcohol etílico acuoso a 70%: ácido láctico de 85%). El tiempo de tinción es de 18 h para muestras de tejidos viejas, 8 h para tejidos de plantas jóvenes y 5 h si los tejidos provienen de cultivo in vitro.

Los tejidos teñidos se limpian mediante su transferencia en secuencia en las soluciones siguientes:

- alcohol etílico al 100%, por 60 min
- alcohol etílico al 100%, por 60 min
- 1:3 alcohol salicilato:ethyl alcohol, por 60 min
- 1:1 alcohol salicilato:ethyl alcohol, por 60 min
- 3:1 alcohol salicilato:ethyl alcohol, por 60 min

Resultados. Los estudios de microscopía electrónica mostraron el crecimiento de los hongos endófitos en tejidos de *Brachiaria* (Figura 21).

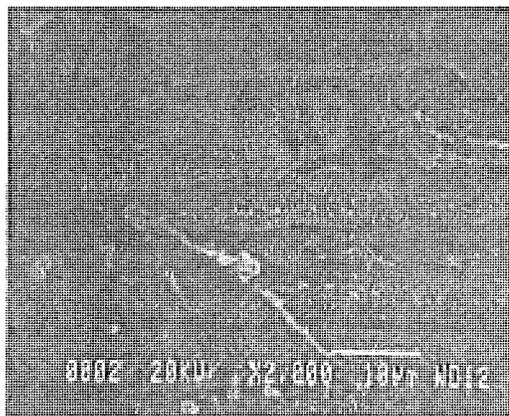


Figura 21. Escáner de microscopio electrónico de un hongo endófito en la vaina de la hoja de *Brachiaria*

Aunque la eficiencia de los métodos varía de una especie a otra de *Brachiaria*, en

general, funcionan bien. Tanto las conidias como los micelios de crecimiento se observaron en tejidos en tejidos de la gramínea. El diámetro de las hifas fue variable (Figura 22).

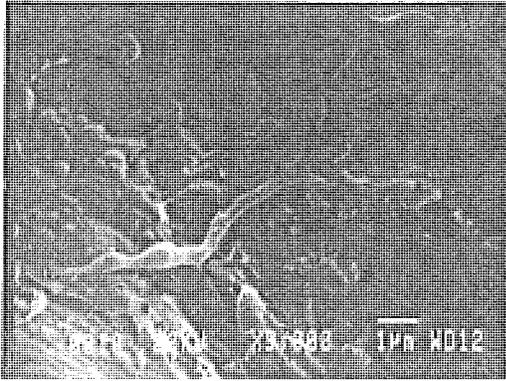


Figura 22. Diámetro variable de hifas de un hongo endófito en tejidos de *Brachiaria*

Actividad 2.5.3. Aislamiento e identificación de endófitos en especies de gramíneas (S. Kelemu, A. C. Bolaños, C. E. Posso, M. X. Rodríguez)

Justificación. El aislamiento de cultivos puros es esencial para el estudio e identificación de hongos endófitos y subsecuentemente para inocular plantas. Debido a que los hongos endófitos crecen lentamente, es necesario disponer de técnicas adecuadas que prevengan el crecimiento de otros microorganismos. El aislamiento de estos hongos en cultivos puros es esencial para todos los estudios posteriores de las interacciones hospedante-endófitos y del papel de estos últimos en los estrés biótico y abiótico.

Métodos. Para aislar endófitos en cultivo puro, se procedió de la manera siguiente: trozos de 5 mm de largo de vainas, lámina de hojas y tallos por un tiempo variable, dependiendo de la especie (p. ej., 10 min para *B. arrecta* y entre 15 y 17 min para *B.*

brizantha) se desinfectaron en hipoclorito de sodio (3.25%) y en etanol (70%) por 1 min; a continuación se enjuagaron tres veces con agua destilada removiendo el exceso de agua por medio de papel de filtro estéril. Los pedazos de tejido se colocaron en incubación durante 4 a 6 semanas a 28 °C en platos que contenían seis medios diferentes: papa-agar-dextrosa, glucosa-citrato-agar, almidón-leche-agar, azúcar-triptona-agar, extracto de levadura-gluco-agar y extracto de malta-harina integral de maíz-agar.

Resultados. Entre los materiales evaluados hasta ahora se han aislado endófitos en *B. arrecta* CIAT 16845, y *B. brizantha* CIAT 6780 y 26110. También se detectaron en tejidos y semillas de *B. brizantha* CIAT 6294. Las colonias presentaron un crecimiento lento y generalmente tardaron entre 4 y 6 semanas para alcanzar una apariencia blanca y algodonosa (Figura 23). Las conidios son hialinos y unicelulados como se observa en la Figura 24.

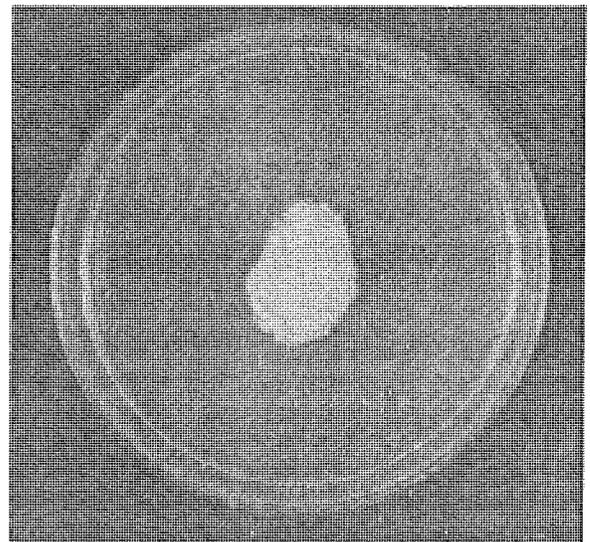


Figura 23. Cultivo de hongos endófitos aislados de *Brachiaria arrecta* CIAT 16845 en medio dextrosa-papa-agar, después de 27 días de incubación a 28 °C.

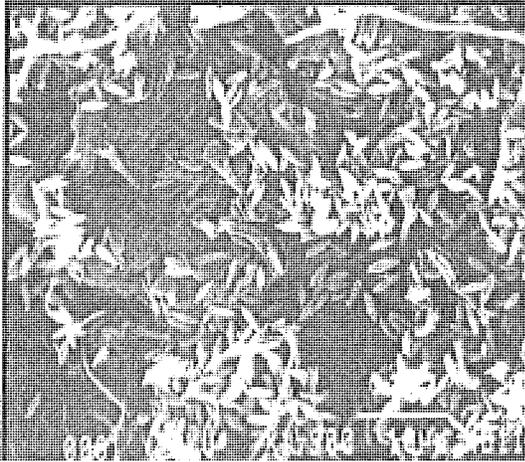


Figura 24. Conidia de un hongo endófito aislado de *Brachiaria arrecta* CIAT 16845.

Discusión. Los hongos endófitos se distribuyen, probablemente, en gramíneas de zonas tropicales de una manera más amplia de lo que anteriormente se pensaba. Aún se debe identificar si estos endófitos son similares o muy diferentes de aquellos descritos en gramíneas de zonas templadas en relación con perfiles de alcaloides, protección de plantas, biología y otras características.

Actividad 2.5.4. Métodos de detección (ELISA, PCR) de endófitos (S. Kelemu, A. C. Bolaños, C. E. Posso, M. X. Rodríguez)

Justificación. Los métodos de detección actualmente en uso son lentos y dispendiosos. Si se desarrollan métodos de detección rápidos y confiables, será posible procesar un gran número de muestras para identificar endófitos. Es fundamental desarrollar técnicas efectivas para estudiar *in vitro* y en la planta la simbiosis gramíneas-endófitos. Los antisueros del endófito pueden ser útiles para estudiar las relaciones taxonómicas entre endófitos y para las detecciones en tejidos de la planta. Los métodos de reacción en cadena de polimerasa (PCR, su sigla en inglés) pueden proporcionar una manera rápida de detección si se diseñan marcadores específicos.

Métodos. Hasta la fecha no hay pruebas específicas basadas en ADN que puedan utilizarse para detectar endófitos en gramíneas de zonas templadas o tropicales. Con el uso de la prueba de ELISA es posible obtener antisueros específicos para detectar estos

hongos. El laboratorio Bioworld de E.U. está de acuerdo en desarrollar antisueros específicos para aislar endófitos en *Brachiaria*.

Actividad 2.5.5. Desarrollo de métodos de inoculación (S. Kelemu, A. C. Bolaños, C. E. Posso, M. X. Rodríguez)

Justificación. Plantas del mismo genotipo, sin endófitos y uniformemente infectadas por estos son esenciales para estudiar las respuestas fisiológica y morfológica, y sus efectos en el estrés biótico y abiótico de las plantas. Aunque hay diversos métodos de inoculación para gramíneas de zonas templadas y sus endófitos respectivos, no existe un método de inoculación para *Brachiaria*

Métodos. En gramíneas de zonas templadas, el método de inoculación más ampliamente utilizado involucra la aplicación de micelios de cultivos puros del hongo en la región meristemática, mediante una pequeña incisión en plántulas jóvenes. Otros métodos de inoculación incluyen el uso de cultivos de tejido y embriones somáticos derivados del cultivo de meristemas. La tasa de infección es variable en todos estos métodos. Sin embargo, no se sabe si alguno de ellos trabaja en *Brachiaria* y sus endófitos. Actualmente se están evaluando los métodos de inoculación de plántulas y algunas modificaciones de ellos utilizados para introducir endófitos en especies de *Brachiaria* spp. libres del hongo.

Se tomaron semillas de *B. brizantha* cv. Marandú, originarias de diversos lotes (Popayán 1995, 1996; Carimagua 1989; Brazil 1985, 1988), las cuales una vez desinfectadas se colocaron en agar-agua y en medio Murashige & Skoog para obtener plántulas jóvenes para inoculación. Con estas plántulas a diferentes edades se hicieron tres experimentos, utilizando protocolos disponibles sobre inoculación de plántulas.

Resultados y discusión. Se inocularon más de 350 plantas y más del 50% de ellas se tornaron amarillentas y murieron con el tiempo. Un poco más de 100 plantas inoculadas se encuentran aún disponibles para la evaluación adicional del éxito del método. Se observó que los protocolos publicados sobre tratamiento de semillas para generar plántulas de gramíneas de zonas templadas libres de endófitos afectan severamente la viabilidad de las semillas de *B. brizantha* cv. Marandú. Actualmente se están haciendo experimentos utilizando fungicidas sistémicos (propiconazole, benlate, folicur) que se han utilizado con éxito para erradicar endófitos en gramíneas de zonas templadas.

Subproducto 2.6. Interacciones entre hospedante y patógeno en especies forrajeras clave

La antracnosis, causado por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., es una enfermedad importante de *Stylosanthes guianensis* con una distribución a nivel mundial. El hospedante, *S. guianensis*, es una leguminosa forrajera tropical y subtropical de gran potencial distribuida naturalmente en América Central y del Sur.

Las pérdidas de la materia seca pueden llegar a 100% y, en Colombia se han reportado

pérdidas en la calidad nutritiva de la leguminosa, como resultado del ataque de este hongo. *Colletotrichum gloeosporioides* es una especie heterogéneas y compleja consistente en diversas poblaciones con especificidad por el hospedante, y que tiene una extrema variabilidad en patogenicidad de y morfología .

La información sobre variabilidad patógena y genética entre aislamientos del patógeno es un elemento clave en programas de mejoramiento efectivos para resistencia a antracnosis y desiminación de la resistencia. Uno de los factores limitativos en el estudio de la variabilidad patógena en poblaciones sudamericanos del patógenos ha sido la falta de hospedantes diferenciales apropiados. Recientemente se describió un nuevo conjunto de diferenciales para clasificar patotipos (Kelemu et al., 1996).

Aspectos sobresalientes

- Se identificaron genotipos de *Stylosanthes* con resistencia a una variedad amplia de aislamientos.
- Se detectaron diferencias en reacción de hospedantes a *Lasiodiplodia theobromae*, el agente causal de enfermedad "muerte descendente" de *Stylosanthes* spp.
- Se desarrollaron métodos de inoculación para algunas enfermedades foliares de *Arachis*.

Actividad 2.6.1. Evaluación de poblaciones de *Stylosanthes* por reacciones a antracnosis (J. W. Miles, J. L. Badel y S. Kelemu)

Justificación. El daño causado por antracnosis es una limitante principal en la persistencia y producción de forraje de

Stylosanthes. La resistencia de hospedantes es el método más barato y limpio de control de enfermedades. La resistencia puede romperse debido a variabilidad de los patógenos y la evolución de cepas nuevas con el transcurso del tiempo. La identificación de diversas fuentes de resistencia, en áreas donde la diversidad de patógenos es grande, es una manera ideal para obtener una resistencia confiable. Los estudios en la sección de Patología de Plantas del Proyecto Gramíneas y Leguminosas Tropicales revelan que la población de patógenos en el CI. Carimagua es extremadamente diversa, indicando que esta localidad es ideal para realizar las evaluaciones para a resistencia a antracnosis.

Métodos. Para los estudios de evaluación con antracnosis se incluyeron diez accesiones paternas de *S. guianensis* (FM-037, -028, -054, -053, -056, -032 -052, -036, -089, más una que se perdió debido a falta de semilla) y productos de recombinación genética incluyendo una forma de selección (Avanmas/01-06). El rango comprendió plantas desde el inicio hasta fases avanzadas de maduración (Cuadro 26). También se incluyeron los derivados de híbridos *S. guianensis* CIAT 11833 y 11844.

Las diez accesiones paternas se seleccionaron por su comportamiento en el campo de Carimagua durante 1979. Se realizaron todos los 45 cruzamientos biparental posibles y se sembraron los individuos F1 resultantes. Las dos líneas mejoradas fueron el resultado de una selección simple de plantas en las generaciones F2 y F3. La línea F4 seleccionada se tiene como reserva disponible. Una parte de la semilla F2 fue sembrada en Carimagua al principio de la estación lluviosa (finales de abril e inicio de mayo) de 1983 y, entre finales septiembre de ese año y principio de marzo del año siguiente,

se cosecharon en forma masiva semillas en subparcelas en 12 fechas diferentes, para formar un número igual de subpoblaciones.

Cuadro 26. Rangos promedios de antracnosis en genotipos de *Stylosanthes guianensis*, en campos del CI-Carimagua.

Hospedante	Rango ^a	Hospedante	Rango
FM-023	0.0	FM-104	2.0
FM-037	7.9	FM-103	7.0
FM-028	0.0	CIAT 11833	0.0
FM-054	3.6	CIAT 11844	0.0
FM-053	8.7	AVANMAS/01	4.1
FM-056	0.0	AVANMAS/02	6.2
FM-032	0.0	AVANMAS/03	5.3
FM-052	5.5	AVANMAS/04	0.0
FM-036	0.0	AVANMAS/05	0.0
FM-089	0.0	AVANMAS/06	7.9

^a Reacción a la enfermedad basada en el rango de calificación visual de necrosis, mediante la escala de Horsfall-Barratt: 0=0%; 9=95-100%

Estas poblaciones se han mantenido durante años sucesivos mediante siembra y cosecha a granel en la fecha correspondiente a cada subpoblación. Con el transcurso de los años se perdieron seis poblaciones debido a sus rendimientos de semilla extremadamente bajos, así que sólo las tres primeras y las tres últimas poblaciones han sobrevivido. Los tres testigos fueron seleccionados por susceptibilidad reconocida (FM-104 y FM-103) o por resistencia (FM-23) a antracnosis. Los puntajes de enfermedad se aplicaron tal como lo propusieron Kelemu et al. (1996).

Resultados y discusión. En el Cuadro 26 se muestran los promedios de los puntajes de enfermedad de cada genotipo. Los híbridos mejorados *S. guianensis* CIAT 11833 y 11844 no mostraron síntomas de antracnosis. Las poblaciones Avanmas/04 y 05 se comportaron como el progenitor más resistente utilizado en el cruzamiento, mientras que las otras

poblaciones, en general, se comportaron mejor que el progenitor más susceptible.

Esta es una indicación que los métodos de selección, tanto por familia como recurrente, son adecuados para mejoramiento por resistencia a antracnosis en *Stylosanthes*. Sería interesante saber si otros rasgos agronómicos también se mejoraron en estos materiales.

Actividad 2.6.2. Diversidad espacial en resistencia de *Stylosanthes* a antracnosis (J. Badel, M. J. Charchar (EMBRAPA/CPAC), J. W. Miles y S. Kelemu)

Justificación. Debido a las diferencias en composición de las poblaciones de patógenos en diferentes localidades, la resistencia desarrollada en una localidad no necesariamente es de naturaleza global. En este estudio, se probaron bajo condiciones de campo en tres localidades algunos materiales avanzados de *S. guianensis*.

Métodos. En Carimagua y Caquetá (Colombia) y Planaltina (Brasil) se evaluaron por resistencia a antracnosis materiales desarrollados y proporcionados por la sección de Mejoramiento. Las evaluaciones se hicieron según la metodología descrita anteriormente.

Resultados y discusión. Todos los materiales fueron desarrollados y seleccionados en Carimagua. En el Cuadro 27 se muestra la reacción de genotipos de *S. guianensi* a antracnosis. El puntaje más alto de la enfermedad para la mayoría de los genotipos probados se observó en el Centro de Pesquisa Agropecuaria (CPAC/EMBRAPA) en Planaltina, Brasil. La intensidad de la enfermedad fue menor en el Caquetá. Las parcelas del campo en CPAC continuarán bajo evaluaciones por

varios años más. Es posible que en este sitio exista una alta acumulación de inóculos, gran diversidad de patógenos y condiciones ambientales óptimas para una alta incidencia de antracnosis. Por otra parte, las parcelas en el Caquetá fueron recientemente sembradas con *Stylosanthes*. En general, con pocas excepciones, las reacciones de las plantas en Carimagua y Planaltina son similares.

Cuadro 27. Reacción^a de genotipos de *Stylosanthes* a la antracnosis en tres localidades de Colombia.

Hospedante (FM)	Localidad		
	Carimagua	Caquetá	Planaltina
10E	0.0	0.0	ND ^b
12E	8.5	3.0	4.8
13D	0.0	0.0	ND
2E	0.0	0.0	6.7
42G	3.8	4.5	5.8
4E	1.3	2.3	4.3
6E	0.0	0.0	4.9
7D	2.5	2.5	5.1
8E	2.4	0.0	ND
9205 Parcela 1	5.4	5.3	6.5
9205 Parcela 2	6.2	6.0	5.8
9205 Parcela 3	6.0	5.0	6.4
9205 Parcela 5	4.6	1.0	4.3
9205 Parcela 6	3.0	1.0	4.6
9D	0.0	0.0	6.7

^a Rango de la enfermedad basado en la calificación visual de necrosis, 0=ausencia, 9=95-100%

^b No determinado

Actividad 2.6.3. Análisis molecular de diversidad de patógenos de antracnosis (C. X. Moreno, M. X. Rodriguez y S. Kelemu)

Justificación. Se ha encontrado que la amplificación aleatoria del polimorfismo del ADN (RAPD, su sigla en inglés) utilizando la reacción en cadena de polimerasa (PCR, su sigla en inglés) tiene diversas aplicaciones, tales como la detección de patógenos, diferenciación de razas o especies, o poblaciones genéticas. La técnica utiliza "primers" de oligonucleótidos cortos para amplificar fragmentos de ADN a partir de cantidades pequeñas de él mediante la reacción en cadena polimerasa, produciendo "fingerprints" de ADN. En la sección de

Patología de Plantas se utiliza este método para evaluar el grado de diversidad genética entre aislamientos de *C. gloeosporioides* en América del sur. Los polimorfismos de longitud fragmentada detectan variaciones en secuencias de ADN entre secciones homólogas de cromosomas. Se han reportado varios estudios de hongos patógenos sobre marcadores RFLPs en ADN del núcleo. Un proyecto colaborativo con la Universidad de Queensland, Australia, dio lugar al aislamiento de un elemento repetitivo, denominado CgT1 (*Colletotrichum gloeosporioides* "transposon-1"), el cual se dispersa en el genoma del hongo y presente cerca de 30 copias. El CgT1 probó detectar polimorfismo en aislamientos que causan antracnosis del hongo específico en *S. guianensis*. En este estudio, se utilizó CgT1 DNA probado para analizar la complejidad de la población de patógenos principalmente en América del Sur. Los objetivos de este estudio fueron:

- Determinar la variabilidad en patogenicidad de aislamientos sudamericanos de *C. gloeosporioides*.
- Medir la cantidad de diversidad genética mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) de ADN, y el análisis de RFLP.
- Evaluar las correlaciones posibles entre la diversidad genética, medida por polimorfismo amplificado (RAPD) o por RFLP, y raza definida por el patrón de patogenicidad en diferentes genotipos del hospedante. Se han presentado algunos datos relacionados con este trabajo (Kelemu et al. 1995, 1996, 1997).

Métodos. Todos los aislamientos de *C. gloeosporioides* utilizados en este estudio se recolectaron durante el período 1980-1994 en

diversas regiones de América del Sur, a partir de plantas infestadas. Los cultivos monoconidial de cada aislamiento se obtuvieron de acuerdo con el método anteriormente descrito (Kelemu et al., 1996). La incubación de cultivo se hizo a 28 °C. Para aislar ADN, los cultivos fúngicos crecieron en medio líquido V-8 fresco durante 3 días a 28 °C, agitando a 200 rpm. El DNA del genoma (3 a 5 µg) de cada aislamiento se digirió con EcoRI a 37 °C como lo recomienda el fabricante de la enzima (Gibco BRL). Los fragmentos de ADN fueron separados mediante electroforesis en agarosa (0.8%) en bufer de 1 x TBE a 33 V por 48 h y secados sobre Hybond N+ (Amersham) por transferencia alcalina. La detección de bandas hibridadas y la prueba de marcadores de pCHB1 que contiene un elemento repetitivo, se hicieron utilizando el sistema ECL para la detección directa de ácido nucléico (Amersham), tal como lo recomienda el fabricante.

Para la ampliación del trabajo con PCR se utilizaron nueve "primers" de base 10 de oligonucleotidos. Los "primers" fueron: 5'-TGCCGAGCTG-3', 5'-AGTCAGCCAC-3', 5'-GTCGGAGTGG-3', 5'-ACGGCACGCA-3', 5'-AGGGTCCGGTC-3', 5'-AGGTCGGCGT-3', 5'-TCGCAGCGAG-3', 5'-GTGAGGCGTC-3', y 5'-GTCGCCGTCA-3'. Los productos de amplificación se resolvieron en electroforesis en un gel de agarosa (Bio-RAD) al 1.2%, se marcaron con bromuro ethidium y se fotografiaron bajo luces ultravioletas. La comparación de cada perfil de banda para cada "primer" se realizó según la presencia o ausencia (1, 0) de productos de RAPD del mismo tamaño. Las bandas del mismo tamaño se registraron como idénticas. Para evaluar el número probable de genotipos ligados presentes se hizo un análisis de la variación genética sobre el conjunto de datos totales presente. Primero, se calcularon los

coeficientes de disimilitud (coeficiente 1 de Jaccard) para todas las combinaciones de aislamientos, utilizando la programación lineal descrita en PROC IML. Para los datos de distancia se hizo un análisis de correspondencias múltiples (MCA). Se realizó, también, un análisis de conglomerados utilizando el programa PROC -Cluster con varios métodos de la agrupación y parámetros. Se graficaron: las estadísticas de la agrupación, los criterios de agrupación cúbica (CAC), y pseudo F y pseudo t^2 . El consenso de las tres estadísticas (máxima local de CAC y pseudo F, concomitantes con un mínimo local de pseudo t^2 [SAS, 1989#11] página 98) se utilizó como indicación del número de conglomerados modal presente en el conjunto de datos. El consenso de los diversos métodos de agrupación en el número de presente de conglomerados fue aceptado como una indicación del número de linajes genéticos diferenciados representados en el conjunto de datos. Para la representación visual de las asociaciones se construyó un gráfico tridimensional de las primeras tres dimensiones del análisis de MCA, utilizando la plataforma de rotación del software JMP (SAS, 1994) (Figura 25).

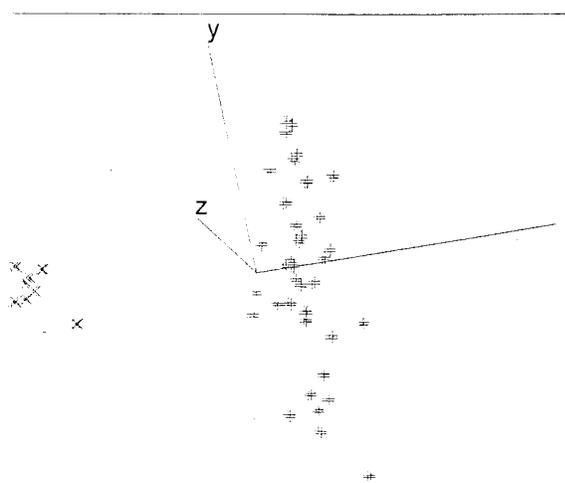


Figura 25. Aislamientos de *C. gloeosporioides* agrupados por su origen geográfico.

El paso siguiente, para probar la reproductividad estadística de las asociaciones encontradas, se realizó mediante la combinación del análisis de conglomerados con la técnica "boots trapping", consistente en la construcción de 130 x 80 conjuntos de datos mediante muestreo al azar, con reemplazo del conjunto de datos originales; seguido del análisis de conglomerado utilizando el método de TWOSTAGE con $K = 4$ en los datos del nuevo conjunto. Se tabularon las asignaciones del conglomerado de cada aislamiento y el proceso se repitió 1000 veces. Los aislamientos que se colocaron en el mismo conglomerado en más de 90% de las 1000 veces, se muestrearon de nuevo y se les hizo un análisis iterativo de conglomerados para representar un linaje genético distintivo. El número total de linajes representado se estimó a partir del número de grupos únicos formados por este criterio del 90%. Este criterio supone que los fragmentos de RAPD considerados como del mismo tamaño tienen un solo origen histórico y que el método de agrupamiento utilizado es suficiente para detectar linajes únicos.

Resultados. La cantidad de diversidad genética en aislamientos de *C. gloeosporioides* originados de los genotipos de *S. guianensis* se midió a nivel molecular mediante la reacción en cadena de polimerasa de amplificaciones de ADN, utilizando "primers" de base-10 y marcadores RFLP con una secuencia de ADN "retrotransposon". En general, los aislamientos se agruparon juntos por su origen geográfico (Figura 25), probablemente indicando un solo evento de introducción. En conglomerados donde los aislamientos de varias regiones se agruparon, la mayoría de ellos tenía origen en un genotipo hospedante idéntico. La población de patógenos del muestreo en Carimagua, un ecosistema de sabana donde la leguminosa se ha mejorado y

seleccionado durante un largo tiempo, fue altamente diverso, con muy pocos aislamientos relacionados por similitud en más 40% de los perfiles del fragmento de RAPD. El análisis "Southern" de los aislamientos reveló una variación bastante conservadora. Se encontró un total de 23 fragmentos de hibridación, resultando 41 morfotipos entre 130 aislamientos. De los aislamientos probados, 63 comprendieron 13 linajes distintivos con un criterio de 90%. Se asignaron cuatro aislamientos a dos linajes, lo que implicaba la existencia de divergencia entre ellos. Un linaje se definió como un grupo de aislamientos asignados al mismo conglomerado en 90% o más del muestreo iterativo. Ninguno de los aislamientos restantes fue agrupado con otro aislamiento en más de este porcentaje, lo que sugiere que los aislamientos eran únicos o intermedios entre conglomerados en perfiles de fragmento RAPD y podrían haber sido parte de más de un conglomerado con más o menos igual probabilidad. De estos resultados se concluye que aislamientos de *C. gloeosporioides* recolectados en áreas geográficas próximas son muy similares, lo que indica, probablemente, un solo suceso de introducción. Por otra parte, algunos

conglomerados de aislamientos constan de recolecciones de áreas geográficas diversas y/o diferentes fechas de recolección, indicando que los perfiles de fragmento de RAPD utilizados (Figura 26) fueron capaces de revelar genotipos que han llegado a ser ampliamente dispersos, y/o persistentes en la naturaleza durante períodos prolongados de tiempo. En el CI. Carimagua existe una colección sorprendente de aislamientos diversos. Estando los más similares relacionados con una distancia genética de 0.34. Otros pares de aislamientos de *C. gloeosporioides* difirieron por distancias genéticas de 0.47 a 0.94, con un promedio total de 0.77. De los aislamientos recolectados de la misma accesión de hospedante, cinco de ellos, provenientes de *S. guianensis* CIAT 184, fueron genéticamente diferenciados con una distancia genética mínima de 0.47 y un máximo de 0.94; siendo el promedio de 0.73. Por lo tanto, no parece que exista influencia del genotipo del hospedante en la constitución genética de aquellos cinco aislamientos. Es difícil juzgar cuántos linajes genéticos diferenciados se representaron en la colección de 36 aislamientos de Carimagua.

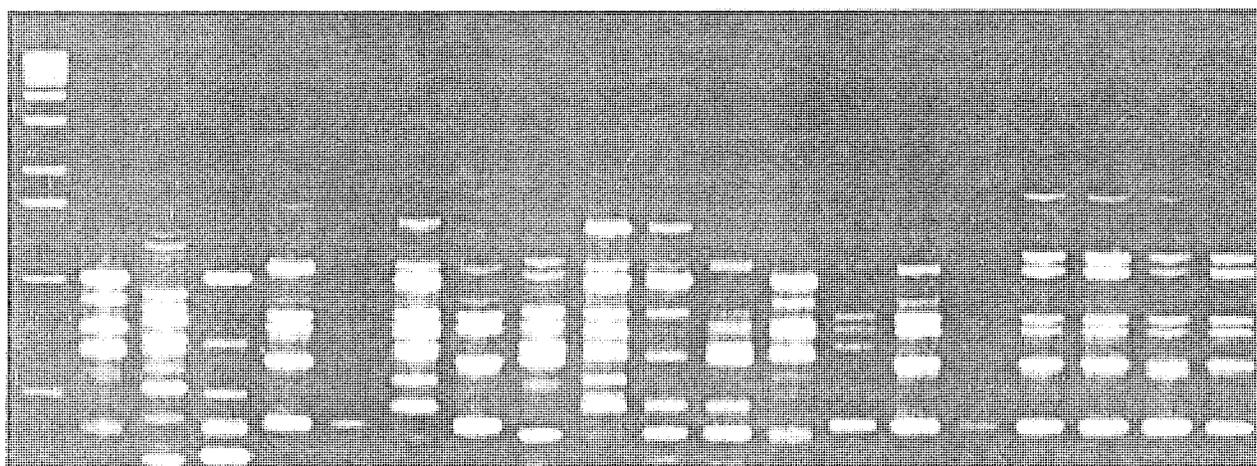


Figura 26. Perfiles de fragmentos RAPD de algunos aislamientos representativos de *C. gloeosporioides*

Parece improbable que haya existido diversificación genética en el grado observado de una sola introducción del hongo; es más probable que muchos genotipos únicos de *C. gloeosporioides* son endémicos en el área.

En resumen, la situación genética de poblaciones de *C. gloeosporioides* capaces de causar antracnosis en *S. guianensis* parece indicar que muchos sitios son invadidos por poblaciones endémicas bastante homogéneas que han experimentado diversificación a algún nivel, generalmente manifestado como menor que la diferencia de 30% en perfiles de fragmento de RAPD. Hay también un número apreciable, cerca de 20% de la población, que son muy diferentes del grueso de ella, lo que sugiere la ocurrencia de introducciones múltiples en un sitio. Esta clase de patrón fue evidente en Campo Grande (Brasil), y Quilichao y el Caquetá (Colombia).

En el caso de Carimagua, el muestreo de la población fue altamente diverso, con escasos aislamientos relacionados por similitud en más de 40% en perfiles de fragmento de RAPD. Esto puede ser debido a que en este sitio *S. guianensis* ha sido

cultivado por tiempo más largo que en los demás sitios, lo cual permite una mayor diversificación del patógeno. También es probable que en esta área ocurrieron numerosas introducciones de *C. gloeosporioides*. Los resultados de los análisis de RFLP de los aislamientos con una prueba pCHB1 revelaron variaciones conservadoras. Se encontraron en total 23 fragmentos de hibridación, resultando 41 morfotipos entre los aislamientos. Veintitrés de los 130 aislamientos no tenían fragmentos que se hibridaban en la prueba (Figura 27), indicando una falta del elemento repetitivo. De estos 23 aislamientos, seis provenían de una diversidad de localidades y 17 se aislaron en una colección en Carimagua que de 14 años, entre 1980 y 1994. Este resultado indicó que una población del hongo que careció del elemento repetitivo persistió en el área durante varios años. Cinco de estos aislamientos se recolectaron el 16 de junio de 1994. Sin embargo, otros seis aislamientos de Carimagua recolectados en ese mismo día, todos portadores del elemento pCHB1, hibridaron a patrones idénticos que constaban de 19 de los 23 fragmentos.

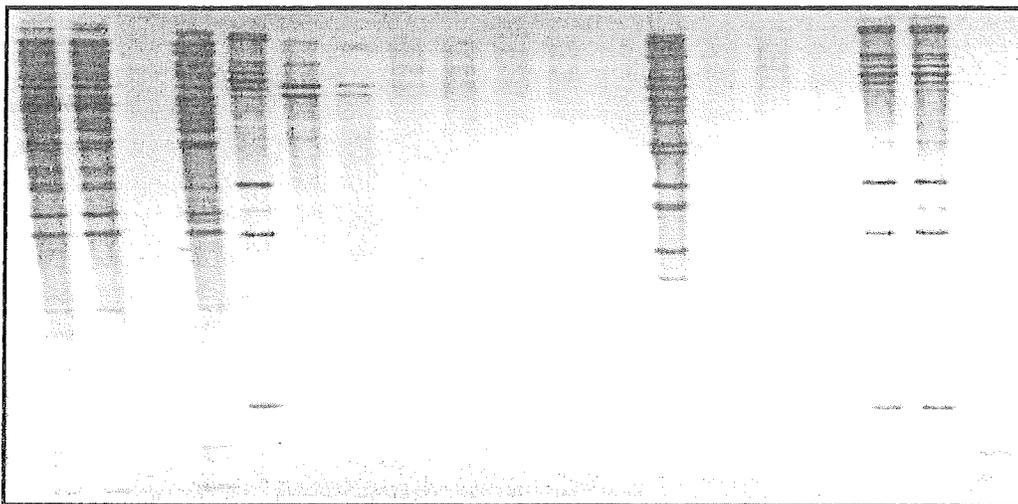


Figura 27. Prueba de análisis de hibridación de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides*, utilizando pCHB1

Esta es una evidencia clara de una segunda introducción del hongo en el área de Carimagua. Los análisis de RFLP, confirman nuevamente que Carimagua parece constar de una variedad amplia de morfotipos (14).

Discusión. En este trabajo se estudiaron patotipos y polimorfismos RFLP y PCR para evaluar las relaciones y la diversidad genética en un intento por comprender la población suramericana de *C. gloeosporioides*. Se ha demostrado que los aislamientos de este hongo originarios de América del Sur y que infectan *S. guianensis* poseen una variedad amplia de diversidad genética. La variación patógena basada en diferenciales del hongo revelaron una variedad amplia de patotipos existente entre los aislamientos probados. Se detectaron nuevos patrones de virulencia entre estos aislamientos. Los resultados de este estudio muestran que la población de *C. gloeosporioides* en la región es altamente heterogéneo. Esto confirma, aún más, las observaciones anteriores en el sentido que América del Sur contiene una población diversa de *C. gloeosporioides* (Kelemu et al. 1995, 1996, 1997). Se observó una correspondencia general entre los grupos del aislamiento y su origen geográfico.

Actividad 2.6.4. Análisis bioquímico del patógeno que produce la antracnosis
(M. S. Sánchez, M. X. Rodríguez y S. Kelemu)

Justificación. Las enzimas que destruyen la pared celular degradando los componentes no celulósicos de la planta desempeñan un papel importante en las enfermedades causadas por bacterias y hongos necrotrofos. Las enzimas producidas, principalmente, por patógenos en dicotiledóneas son poligalacturonasas, liasas de pectato y liasas de pectina que degradan las paredes de las células y matan los

protoplastos. Las enzimas pectolíticas contribuyen a la penetración micótica y a los estados iniciales de infección de la planta. Las enzimas pecto-degradantes producidas por varios patógenos maceran el tejido de la planta, causando pérdida de electrólitos y la muerte de las células. Aunque en especies del género *Colletotrichum* se han identificado enzimas que degradan la pared celular, no se ha reportado la producción de liasas de pectato en *C. gloeosporioides* infectando *Stylosanthes* spp., lo que puede contribuir a una mayor patogénesis y virulencia.

Métodos. Para producir plantas en condiciones estériles, las semillas de *Stylosanthes* se esterilizaron, primero, suspendiéndolas en etanol al 70% con agitación leve por 7 min. A continuación, se transfirieron a una solución de 30% de clorox y 0.025% de Triton X-100 agitando por 15 min. Por último, se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se transfirieron a papeles de filtro estériles para eliminar el exceso de agua. Entre cinco y 10 de estas semillas se sembraron en vasos de magenta que contenían 50 ml de medio de MS. Los vasos se incubaron en un fitotrón a 24 °C con un fotoperíodo 12 h e iluminación fluorescente. Las plantas se inocularon con suspensiones conidiales del hongo como se mencionó antes (Kelemu et al., 1996).

Se obtuvieron muestras de enzima de tejidos de plantas infectadas de *Stylosanthes*. Estas muestras se recolectaron en tubos estériles con un volumen aproximadamente igual de agua estéril, se trituraron utilizando morteros de vidrio estériles y se centrifugaron a 13.000 x g. Para las extracciones de líquidos de cultivo, se removieron partes fúngicas de *C. gloeosporioides* (de 12 días de edad, incubado a 28 °C y removido con agitación a 200 rpm) del cultivo en jugos V-8 mediante

centrifugación de líquidos a 5000 x g por 10 min. Los fragmentos fúngicos residuales fueron removidos mediante el paso del sobrenadante a través de membranas de acetato de celulosa con poro de 0.22 mm. En todas las preparaciones de la enzima se eliminaron los solutos de bajo peso molecular y se concentraron varias veces (por lo menos 10) por ultrafiltración con tubos 'Centricon' de membrana-10 (10.000-molecular-cut-off). Para los ensayos con enzimas, la actividad enzimática fue monitoreada por ensayos A_{232} de espectrofotometría. Los perfiles de isoenzima fueron determinados por geles isoelectricos en actividad de poliacrilamida ultradelgada y capa manchada con pectato-agarosa de 0.4 mm.

Resultados. Se exploró la producción de enzimas pectolíticas por *C. gloeosporioides* en medio líquido. Todos los cultivos se cosecharon después de 8 días de incubación. Los experimentos preliminares han revelado que en las condiciones de cultivo utilizadas, la actividad enzimática más alta se encontró 8 días después de inoculación. Los extractos de tejidos de *Stylosanthes* artificialmente infectados mostraron mayor nivel de actividad que extractos de fluidos de cultivo. Utilizando un bufer para la actividad de pectato de liasa (Pel) (Tris-HCl a pH 8.5) se revelaron varios rangos de isoenzimas Pel desde ácido a alcalino pIs. Muchos de los aislamientos utilizados produjeron, con pocas excepciones, patrones idénticos (Figura 28).

Los extractos de tejidos de la planta sana (control) no mostraron isoenzimas. Las preparaciones de la enzima tenían casi cuatro veces menos actividad en pectina metil-esterificada al 93% que en ácido poligalaturónico. No se observaron mayores diferencias en el nivel de actividad, tanto en

pectinas metil-esterificadas del 31% como del 68%.

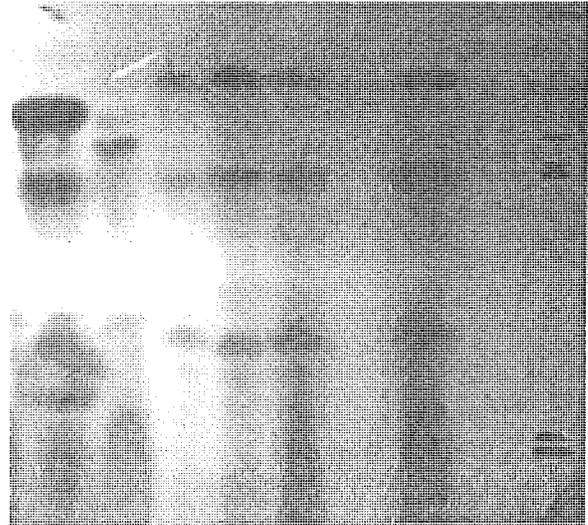


Figura 28. Perfil de la isoenzima pectato liasa en *Colletotrichum gloeosporioides* infectando *Stylosanthes* sp.

Cuando las preparaciones estériles de enzima extraídas de tejidos infectados se infiltraron en hojas sanas de plantas de *Stylosanthes*, las lesiones tipo quemazón oscura aparecieron en los primeros 3 días siguientes.

Discusión. Los "Pels" han mostrado tener un papel en la virulencia de bacterias que producen putrefacción, como *Erwinia* spp. En la patogénesis de esta bacteria se ha demostrado que ciertas isoenzimas son más importantes para el desarrollo de enfermedades que otras. Es posible que alguna o todas las isoenzimas que se detectaron en *C. gloeosporioides* sean esenciales para la virulencia del patógeno. Todos los aislamientos patógenos que se han examinado hasta la fecha produjeron isoenzimas de pel. Sin embargo, el papel de estas isoenzimas en virulencia puede ser evaluado con precisión mediante la creación de mutaciones identificadas en los genes "pel" correspondientes.

Actividad 2.6.5. Ocurrencia de enfermedades en *Arachis forrajero* (M. X. Rodriguez y S. Kelemu)

Justificación. Se hicieron algunas observaciones de enfermedades en *Arachis* para evaluar la severidad de algunas de ellas. Los resultados de estas observaciones se utilizan para priorizar las necesidades de investigación en enfermedades de esta leguminosa.

Métodos. Las observaciones se hicieron en parcelas de *Arachis* localizadas en Popayán, Carimagua, Palmira y Caquetá. Las muestras se recolectaron de varias accesiones en estas localidades y se procesaron en laboratorio utilizando protocolos estándar de aislamiento.

Resultados. La enfermedad más prevalente de *Arachis* en 1997 fue antracnosis causada por *C. gloeosporioides*. Aunque ocurrieron otras enfermedades foliares, su incidencia fue muy baja y no ocasionaron daño severo en las accesiones en estudio.

Actividad 2.6.6. Desarrollo de métodos de inoculación para enfermedades de ocurrencia común en *Arachis* (M. X. Rodriguez y S. Kelemu)

Justificación. Anteriormente se informó sobre el desarrollo de un método exitoso de inoculación para añublo foliar en *Arachis* causado por *Rhizoctonia solani*. En el pasado, se intentaron varios métodos de inoculación—incluyendo el método utilizado para aislamientos de *C. gloeosporioides* en *Stylosanthes* spp.

Debido a que para la identificación de fuentes de resistencia son necesarios métodos confiables de inoculación artificial, se continúa con el trabajo tendiente al desarrollo

de métodos de inoculación para el patógeno de la antracnosis en *Arachis*.

Métodos. Se recolectaron hojas maduras y sanas de *Arachis*, que se esterilizaron con NaOCl (1%) por 2 min, seguido por etanol (70%) por 1 min y enjuagues tres veces en agua estéril. Se colocaron tres hojas trifoliadas de cada accesión en macetas con arena estéril más solución nutritiva de Hoagland que contenía N, P, K, Ca, Mg, Fe y microelementos.

Cada accesión se replicó tres veces. Las macetas se transfirieron a un fitotrón con un fotoperiodo de 12 h, a 25 °C y una humedad relativa de 90% por 24 h. Después de este período, las hojas se inocularon con suspensión conidial (2×10^6 conidias/ml de agua destilada estéril). Las macetas se cubrieron con una plástico transparente colocado en la parte posterior del fitotrón. Este método de inoculación fue adaptado de un método desarrollado para otras enfermedades foliares de plantas de mani.

Resultados y discusión. Las evaluaciones de las reacciones a la enfermedad se hicieron 2 semanas después de las inoculaciones. Los síntomas aparecieron, generalmente, en la forma de manchas foliares pardas a negras. En algunos casos, aparecieron manchas de colores claros en el centro y rodeadas de manchas pardas.

El método permitió el procesamiento de un número alto de materiales en un área relativamente pequeña. Las reacciones de la enfermedad fueron reproducibles para las interacciones de cada uno de los aislamientos del genotipo hospedante. Este método, probablemente, es útil para otras enfermedades foliares de *Arachis*.

Actividad 2.6.7. Selección de accesiones de *Arachis* por reacción a ciertos patógenos (F. Muñoz, M. X. Rodríguez y S. Kelemu)

Justificación. Aunque no se han reportado enfermedades de proporción epidémica en *Arachis* forrajero, la antracnosis causada por *C. gloeosporioides* se está convirtiendo en un problema predominante en parcelas en el campo en Carimagua, Caquetá y Popayán. En estudios anteriores, se ha indicado que los aislamientos del patógeno en *Arachis* eran virulentos en *Stylosanthes* spp. y viceversa. La antracnosis es la enfermedad más importante en *Stylosanthes*. La complejidad y gran diversidad mostrada en los estudios de la antracnosis en *Stylosanthes* indican que el patógeno es un candidato potencial para causar una epidemia en *Arachis*. En este estudio, se evaluaron las reacciones de pocas accesiones de *Arachis* a aislamientos de *C. gloeosporioides*.

Métodos. Se utilizaron 183 aislamientos de *C. gloeosporioides* recolectados de varias accesiones de *Arachis* infectadas naturalmente para inocular cinco accesiones cultivadas de esta leguminosa (*A. pinto* CIAT 17434, 18744, 18748, 22160 y la accesión original de la cual provinó el aislamiento). Las plantas se inocularon utilizando el método descrito para *Arachis*. Los aislamientos y el mantenimiento de los cultivos se hicieron siguiendo la metodología utilizada en las interacciones *Stylosanthes*-*C. gloeosporioides*.

Resultados y discusión. De los 183 aislamientos utilizados, 74 produjeron síntomas de antracnosis en algunas o en todas las accesiones probadas (ver síntomas en Figura 29). Las reacciones de las accesiones probadas con 25 de los 14 aislamientos patógenos aparecen en el cuadro 28. Es importante notar que las reacción diferencial

se expresa en las interacciones de la accesión con el aislamiento. Por tanto, es posible utilizar diferentes conjuntos de hospedante para evaluar la composición de razas en la población de patógenos. Con esta información se pueden desarrollar estrategias mejoradas para crear poblaciones de *A. pinto* resistentes a la antracnosis.

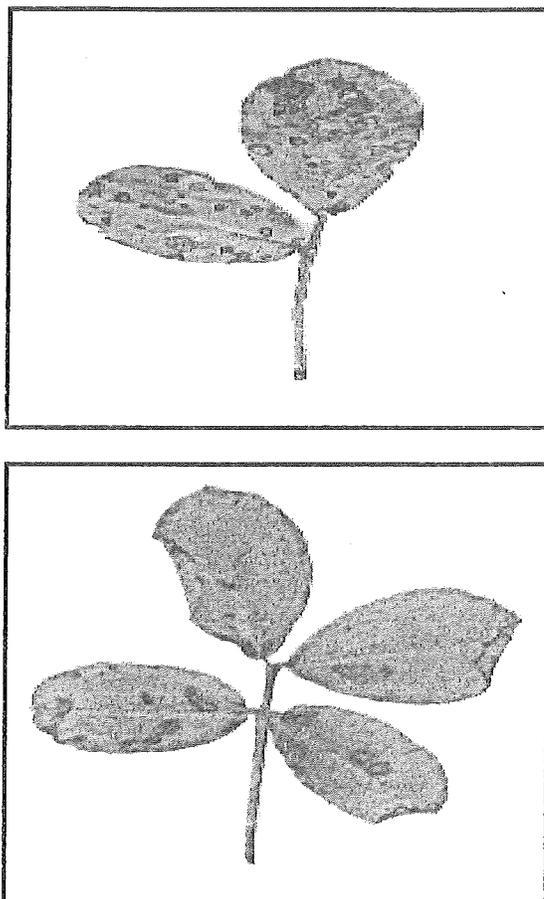


Figura 29. Síntomas de antracnosis en hojas de *Arachis*. Arriba infestación natural; abajo infestación artificial

Actividad 2.6.8. Desarrollo de métodos de inoculación de la enfermedad "muerte descendente" de *Stylosanthes* (J. Badel, C. Fernandes [EMBRAPA/CNPGC, Brasil] y S. Kelemu)

Justificación. Para la identificación de fuentes de resistencia confiables es necesario disponer de un método seguro y rápido de inoculación artificial.

Cuadro 28. Reacción de *Arachis pintoi* a la inoculación con aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Aislamiento (No.)	Accesión hospedante (No. CIAT)				Hospedante original	Accesión hospedante original (No. CIAT)
	17434	18744	18748	22160		
16240	+	-	+	-	ND	ND
16457	-	-	+	+	-	17434
16568	-	-	-	+	-	18744
16321	-	+	+	-	+	18748
16572	+	-	-	+	+	20826
16448	+	+	-	+	+	22153
16476	-	-	+	+	-	22155
16481	+	+	+	+	+	22160
16330	-	-	+	-	+	22163
16576	+	-	+	-	+	22175
16495	+	+	-	-	-	22176
16578	+	-	-	+	+	22232
16504	-	-	+	-	+	22233
16508	-	-	+	-	+	22234
16513	+	-	+	-	+	22235
16518	-	-	-	-	+	22236
16519	+	-	+	-	+	22238
16525	-	-	-	-	+	22239
16586	+	-	-	-	+	22240
16590	+	-	+	+	+	22241
16541	-	+	+	+	+	22259
16542	-	+	-	+	-	22262
16544	+	+	+	-	+	22264
16560	-	+	-	-	-	22269
16555	+	-	+	-	+	22270

+ = Presencia de antracnosis;

- = Ausencia de antracnosis;

ND= No determinado

En estudios anteriores se desarrolló un método de inoculación artificial del patógeno *Lasiodiplodia theobromae*, causante de la enfermedad conocida como "muerte descendente" en *Stylosanthes*. Este método se ha mejorado aún más para aumentar su eficiencia y consistencia.

Métodos. Plántulas con 5 días de edad se transplantaron en el campo y 7 semanas (16 semanas para plantas adultas) después se punzaron con una aguja en la base del tallo a nivel del suelo y con el uso de un palillo estéril se inocularon con micelios tomados de discos de 14mm de diámetro, provenientes de una colonia del hongo de 12 días de edad cultivado en agar. Las plantas control se inocularon en la misma forma anterior. Los puntos de

inoculación se recubrieron con una capa de parafina. Las plantas permanecieron en invernadero bajo luz natural entre 19 y 30 °C hasta que aparecieron los síntomas de la enfermedad.

Resultados. Los síntomas de la enfermedad aparecieron entre 8 y 10 días después de las inoculaciones en las plantas provenientes de plántulas, y hasta 1 mes después en plantas adultas. La variabilidad en reacción entre plantas del mismo genotipo se redujo sustancialmente cuando se utilizó inóculo fresco y se aplicó la misma cantidad de inoculante. La virulencia del inóculo se redujo cuando el hongo fue transferido varias veces en medios de cultivo y cuando se mantuvo por tiempo prolongado. En la Figura 30 aparece

un conidio típico de paredes gruesas y estriado de *L. theobromae*

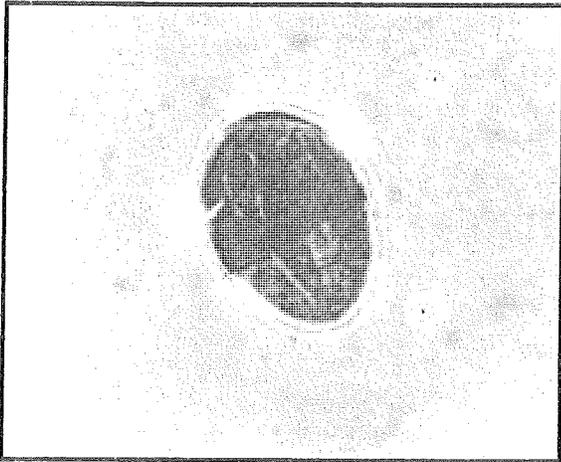


Figura 30. Conidia de *Lasiodiplodia Theobroma* (contraste 2500X)

Actividad 2.6.9. Selección de accesiones de *Stylosanthes* por reacción a la enfermedad "muerte descendente" (M. Satizabal y S. Kelemu)

Justificación. Anteriormente se identificó a *L. theobromae* como el agente causante de la enfermedad "muerte descendente" de *Stylosanthes*. El patógeno es virulento, no especializado, facultativo con distribución mundial y con más de 500 plantas diferentes que le sirven de hospedante. La enfermedad se ha tornado importante en años recientes. Este estudio se realizó con el fin de buscar fuentes de resistencia entre genotipos comunes y en poblaciones mejoradas y avanzadas

Métodos. Las inoculaciones de las plantas se realizaron siguiendo el procedimiento antes descrito. Las pruebas se dispusieron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Cada repetición contenía 10 plantas. Las pruebas de patogenicidad se repitieron por lo menos una vez para comprobación. La longitud de lesiones en el

tallo en cada planta se midió entre 8 y 10 días después de las inoculaciones. Para medir la longitud de las lesiones vasculares se hicieron cortes longitudinales en los tallos. El peso seco de las raíces en la parte superior se midió cortándolas con bisturí a nivel del suelo. Las raíces se lavaron, se colocaron en toallas de papel para secado inicial y, posteriormente, se colocaron en bolsas de papel y se secaron durante 65 h a 60 °C, antes de determinar su peso seco. Los análisis estadísticos se hicieron utilizando la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Resultados. Los síntomas de la enfermedad incluyen marchitamiento de plántulas, muerte descendente completa de ramas en plantas adultas y decoloraciones pardas vasculares en plantas tanto adultas como en estado de plántula. En la mayoría de los genotipos susceptibles, la planta total muere con el tiempo. Plantas adultas inoculadas expresaron síntomas de muerte descendente 25-30 días después de inoculaciones, mientras que plántulas de los mismos genotipos mostraron síntomas de marchitamiento 8 a 10 días después de la inoculación. Los genotipos de *S. guianensis* probados en este estudio variaron en sus reacciones a infecciones por el patógeno (Cuadro 29).

Cuadro 29. Reacción de plántulas seleccionadas de genotipos de *S. guianensis* a la inoculación con *L. theobromae* en invernadero^a.

Hospedero	Altura de la lesión radicular (cm)	Decoloración vascular (cm)
Mineirao	3.84 a*	4.02 a
FM 53	2.79 b	3.10 b
FM 56	1.18 cd	1.31 c
FM 37	0.67 de	0.83 cd
FM 36	0.65 de	0.79 cd
FM 123	0.15 e	0.45 d
FM 54	0.09 e	0.33 d
FM 52	0.04 e	0.32 d

a. Promedios de tres repeticiones. * $P < 0.05$.

Discusión. Como patógeno, el hongo puede tener acceso rápido al hospedante a través del ganado en pastoreo o de la maquinaria. Los síntomas del avance de la enfermedad en estados avanzados pueden confundirse con ciertos tipos de estrés abióticos producidos por sequía o daño causado por larvas barrenadoras. El síntoma más distintivo de esta enfermedad, sin embargo, es la decoloración vascular. Aunque no se sabe cual es el mecanismo de resistencia al patógeno, se ha demostrado que en *S. guianensis* existen fuentes de resistencia. Las mediciones de la lesión en los tallos se han correlacionado bien con las lesiones vasculares. La resistencia a *L. theobromae* puede, por tanto, evaluarse utilizando mediciones rápidas de la lesión en el tallo de *S. guianensis*.

Subproducto 2.7. Información sobre diversidad genética de *Brachiaria* y *Arachis* relacionada con limitaciones bióticas

Aspecto sobresaliente

- Existe información de isoenzimas en *Brachiaria* y *Arachis* y datos de marcadores moleculares para *Brachiaria*.

Actividad 2.7.1. Diversidad genética a través de isoenzimas en *Brachiaria* y *Arachis* (B.L. Maass, J.W. Miles).

Justificación. La comprensión de la diversidad genética dentro de los géneros *Brachiaria* y *Arachis* ayudaría, por ejemplo, en la elección de materiales paternos para un programa de hibridación y para seleccionar un banco de germoplasma central para pruebas regionales.

Métodos. Se han completado análisis de isoenzimas en colecciones, tanto de *Brachiaria* como de *Arachis*. Estos datos están disponibles para análisis.

Resultados. Durante 1997 no se hicieron avances en esta investigación.

Discusión. Un análisis riguroso y adecuado de los datos existentes requerirá recursos humanos y financieros adicionales.



Producto 3. Acervo Genético de Gramíneas y leguminosas con Adaptación Conocida a Limitaciones Edáficas y Climáticas

Subproducto 3.1. Genotipos de *Brachiaria*, *Panicum* y *Arachis* caracterizados e identificados por adaptación a suelos de baja fertilidad

El bajo suministro de nutrimentos es una limitación principal para la adaptación y producción de forraje en suelos ácidos tropicales de baja fertilidad. La adopción generalizada de cultivares forrajeros depende de la absorción eficiente de nutrimentos del suelo y su utilización para crecimiento. Las plantas adaptadas tienen atributos que están relacionadas con la capacidad de adquirir nutrimentos en ambientes caracterizados por un pH bajo y alta saturación de aluminio alto (Al). La comprensión de estos atributos es fundamental para desarrollar procedimientos eficaces de evaluación selectiva. La adaptación de forrajeras mejoradas a suelos infértiles sin pérdida de rendimiento o calidad contribuirá al uso de menor cantidad de insumos, menores costos de producción animal y menos problemas ambientales por degradación de los suelos.

La investigación anterior había indicado que: (1) La adaptación de los genotipos de *Brachiaria* a suelos ácidos de baja fertilidad está relacionado con atributos de la planta como producción de área foliar, longitud de la raíz y eficiencia de absorción de fósforo (P) por unidad de longitud de la raíz; (2) la baja persistencia de *Brachiaria ruzizensis* en suelos ácidos infértiles puede deberse a su capacidad limitada para alterar el fraccionamiento de la materia seca (MS) entre raíces y parte aérea;

(3) la variación genotípica en producción de área foliar y porcentaje de nitrógeno (N) en hojas de *Brachiaria* es mayor que la variación en la absorción de este nutrimento a partir del suelo; (4) la eficiencia de absorción de nutrimentos, especialmente P, por leguminosas forrajeras fue marcadamente mayor que el de las gramíneas, mientras que la eficiencia en utilización de nutrimentos para crecimiento fue mayor en estas últimas; y (5) la absorción de calcio (Ca) por leguminosas forrajeras en suelos ácidos infértiles se asoció con la arquitectura de la raíz, en particular, con el número de puntos de crecimiento.

Actividad 3.1.1. Estudios sobre mecanismos de tolerancia de *Brachiaria* a suelos ácidos

Aspecto sobresaliente

- Los ápices de la raíz de *B. decumbens* acumulan P en presencia de Al y suministro escaso de nutrimentos en solución, lo que podría contribuir al mecanismo de tolerancia al segundo elemento (Al) en suelos ácidos de baja fertilidad.

Justificación. Con la colaboración de la Academia Austríaca de Ciencias y de la Unidad de Biotecnología en el CIAT, el Centro Nacional de Aceleración de Partículas en Faure (Sudáfrica) y la Universidad de Viena (Austria) se realizó un trabajo de tesis con un estudiante de posgrado (Ph.D.). El objetivo de este proyecto fue investigar sobre los mecanismos de tolerancia a suelos ácidos de tres especies de *Brachiaria* —*B. decumbens* cv. Basilisk (bien

adaptado), *B. brizantha* cv. Marandú (menos adaptado) y *B. ruziziensis* cv. Común (mal adaptado)— que se utilizan como parentales en un programa de mejoramiento en el CIAT.

Métodos: Dos hechos importantes determinaron el enfoque de investigación elegido. En primer lugar, las diferencias en adaptación a suelos ácidos entre los cultivares de *Brachiaria* llegan a ser evidentes sólo después de uno o varios años de utilización de la pastura, cuando el crecimiento de las especies menos adaptadas es cada vez más reducido. Esto indica diferencias muy pequeñas en adaptación edáfica que dan lugar a un efecto acumulativo. En segundo término, la importancia relativa de los factores simultáneos de estrés, que constituyen el denominado "síndrome de suelo ácido" (toxicidad de Al y bajo suministro de P, N, Ca, Mg y K) para el caso de especies de *Brachiaria* es aún un tema de discusión. Por tanto, se diseñó una solución nutritiva de estrés múltiple basada en las concentraciones de nutrientes medidas en soluciones de dos suelos ácidos de baja fertilidad del ecosistema de sabana colombiana. La validez de esta solución para simular condiciones de suelo ácido se confirmó mediante comparaciones del crecimiento obtenido con ella y el alcanzado en el campo.

En una segunda fase, la solución nutritiva se empleó como un tratamiento estándar para investigar varios rasgos que podrían contribuir a la adaptación diferencial de cultivares de *Brachiaria* a suelos ácidos, lo cual se espera sea un rasgo multigénico. Simultáneamente, se condujo un estudio sobre diferencias en adaptación a deficiencias en P y N —los dos factores principales que comúnmente se supone que participan en la degradación de pasturas— haciendo énfasis en la arquitectura del sistema radicular. Como

un enfoque complementario, se construyó una genoteca de cDNA de genes inducidos por estrés de suelos ácidos a partir de los cultivares mejor adaptados de *B. decumbens*, con la intención de aislar en un futuro cercano genes involucrados en la adaptación diferencial a estos suelos, utilizando para ello resultados de experimentos fisiológicos como un punto de partida.

Resultados y discusión

Solución nutritiva de estrés múltiple para simular el "síndrome de suelo ácido" (P. Wenzl, L. I. Mancilla, I. M. Rao, J. E. Mayer y R. Albert).

La solución de suelo se considera la aproximación más cercana del medio que está en contacto con las raíces de plantas y que determina la absorción de nutrientes. Los análisis indicaron que las concentraciones de nutrientes de una solución nutritiva de baja fuerza iónica que comúnmente se utiliza para estudios de toxicidad de Al (ver solución 'control' en la mitad izquierda de la Figura 31) fueron mayores que las encontradas en soluciones de suelos de la sabana colombiana. Por tanto, se bajaron las concentraciones de nutrientes y se adicionó Al (ver solución 'estrés + Al' en la parte media izquierda de la Figura 31) para evaluar el crecimiento relativo a corto plazo de los cultivares de *Brachiaria*. Las diferencias de crecimiento entre los cultivares pobremente y bien adaptados fueron similares a los datos de campo (ver Figura 31, mitad derecha).

Se concluyó que el tratamiento diseñado fue útil para simular estrés de suelo ácido y, por tanto, se ha aplicado para experimentos posteriores. Al comparar el efecto tóxico del aluminio (Al) bajo condiciones adecuadas de nutrición (solución nutritiva completa) y en

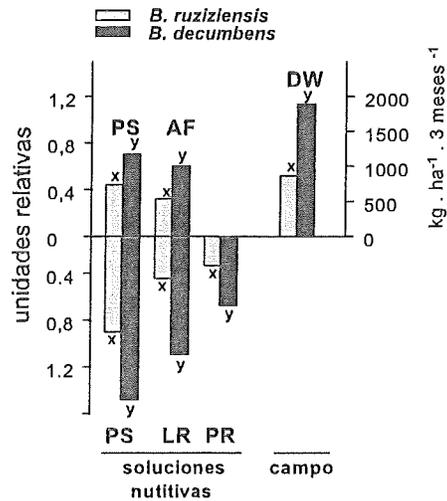
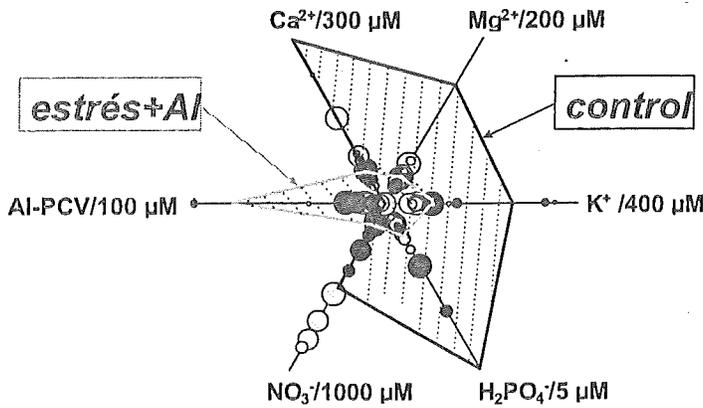


Figura 31. Izquierda: comparación de la concentración de nutrientes en la solución del suelo (símbolos) con la concentración en una solución seleccionada (líneas). La concentración de nutrientes está representada en seis ejes separados con el valor máximo al final de cada uno. Solución en el suelo: símbolos grises = Oxisol franco-arcilloso; símbolos negros = Oxisol franco-arenoso. El tamaño del símbolo es inversamente proporcional al tiempo de incubación antes de la extracción de la solución del suelo. Solución nutritiva: Los valores conectados con líneas negras se utilizaron para la solución control y los conectados con líneas grises se utilizaron para la solución estrés + Al. Derecha: Producción relativa de dos cultivares contrastantes de *Brachiaria* en la solución seleccionada (estrés + Al-control) comparando la producción de MS de la parte aérea 1 año después de la siembra y promediando varios sitios en América Latina. rSDW = Peso seco relativo de la parte aérea, rLA = área foliar relativa, rRDW = peso seco relativo de la raíz, rRI = longitud relativa del sistema radicular, rRT = número total de puntos de crecimiento de la raíz.

condiciones limitantes (solución nutritiva limitantes (solución nutritiva incompleta) se encontró que *B. ruziziensis*, que no se adapta bien a suelos ácidos, fue significativamente menos tolerante a Al en condiciones limitantes que *B. decumbens*, que sí está adaptada (Figura 32). En consecuencia, se investigaron mecanismos que podrían estar relacionados con la tolerancia de *B. decumbens* a este elemento.

El ácido cítrico participa en la tolerancia de *Brachiaria* al aluminio (P. Wenzl, A. L. Chaves, J. E. Mayer, I. M. Rao y R. Albert).

La exudación de ácidos orgánicos, como málico y cítrico, por los ápices de la raíz excluye los iones tóxicos Al^{3+} del simplasto mediante la quelación en la rizosfera.

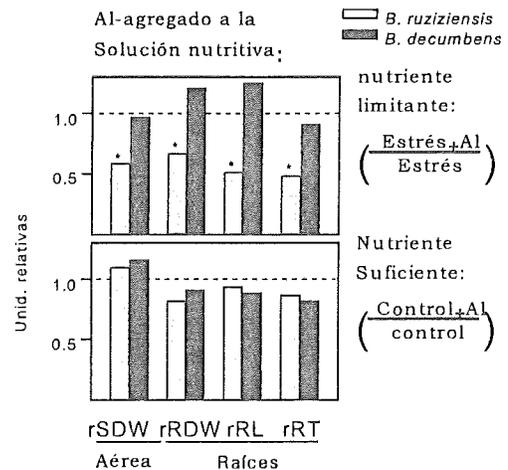


Figura 32. Obsérvense las diferencias en la tolerancia a Al en condiciones de oferta limitada de nutrientes (mitad superior) y el comportamiento similar de dos especies de *Brachiaria* en condiciones de nutrición adecuada (mitad inferior). Abreviaturas: rSDW = peso seco relativo de la parte aérea; rRDW = peso seco relativo de la raíz; rRL = longitud relativa del sistema radicular; rRT = número relativo de ápices radiculares.

En forma alterna parece que los ácidos orgánicos se emplean para detoxificar el Al en el simplasto, probablemente depositando el Al en las vacuolas. Un análisis de ácidos orgánicos en el tejido de las raíces de *Brachiaria* demostró claramente que el Al estimula el aumento masivo de la concentración de ácido cítrico, especialmente en condiciones de bajo suministro de nutrimentos (Figura 33).

Aún no es claro si también se exuda ácido cítrico. Sin embargo, la alta concentración de este ácido encontrada en todo el sistema radicular indica que no se acumula exclusivamente en los ápices radiculares. La acumulación de ácido cítrico en porciones maduras de las raíces podría desempeñar una función importante en la desintoxicación interna de Al. No se detectaron diferencias significativas en acumulación de ácido cítrico en los cultivares evaluados. Lo anterior indica que los mecanismos alternativos de tolerancia a Al pueden ser la base de las diferencias interespecíficas de crecimiento observadas anteriormente (Ver Figura 32).

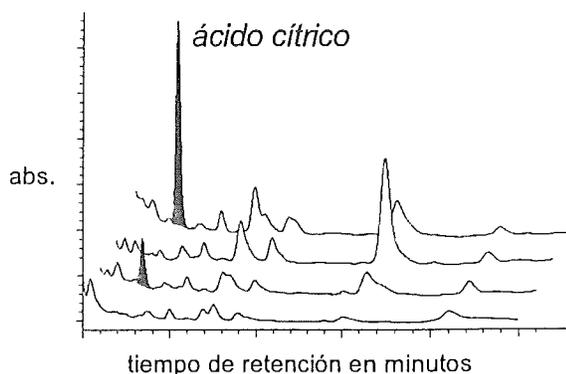


Figura 33. Ácidos orgánicos en el sistema radicular de *Brachiaria decumbens*, analizados por HPLC. De arriba a abajo, los cromatogramas corresponden a plantas que crecieron en: soluciones control, control + Al, estrés y estrés + Al.

Interacciones aluminio-fósforo en ápices radiculares de la planta (P. Wenzl, C. A. Pineda, I. M. Rao y J. E. Mayer).

Cuando los diferentes cultivares crecieron en presencia de Al, las raíces tendieron a aumentar su contenido de P, con excepción de *B. ruziziensis* en una solución que contenía Al en condiciones limitantes de nutrimentos (ver solución de estrés + Al, Figura 34, mitad izquierda). Recientemente se ha sugerido que la exudación de fosfato por los ápices de la raíz actúa como un mecanismo de exclusión del Al en el trigo y el maíz. Por tanto, existe interés en determinar si la acumulación de P, que es estimulada por el Al, está localizada en los ápices radiculares, de donde podría ser exudado como fosfato inorgánico, si fuera necesario. Para tal efecto, se empleó la emisión de rayos X inducida por protones (PIXE) para ubicar la distribución de nutrimentos en los ápices radiculares. Los resultados preliminares indican que al parecer ese fenómeno ocurre, por lo menos, en *B. decumbens* (ver Figura 34, mitad derecha). Actualmente se están realizando experimentos para determinar la intensidad de la exudación de fósforo por los ápices radiculares.

Posible relación entre toxicidad de Al y capacidad de absorción de nutrimentos (P. Wenzl, L. I. Mancilla, A. L. Chaves, I. M. Rao y J. E. Mayer).

La aplicación de Al con suministro adecuado de nutrimentos no afectó el crecimiento de las plantas. Sin embargo, cuando se aplicó en condiciones limitantes inhibió significativamente el crecimiento de *B. ruziziensis*, pero no el de *B. decumbens* (Figura 35). La relación causal, base de esta interacción en *B. ruziziensis* no es obvia, porque tanto la toxicidad del Al como el deterioro en la capacidad de absorción de

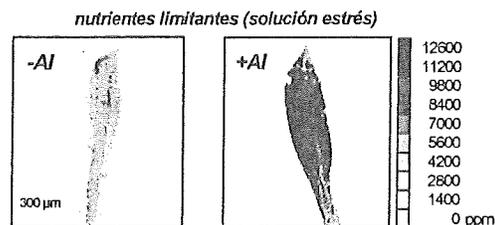
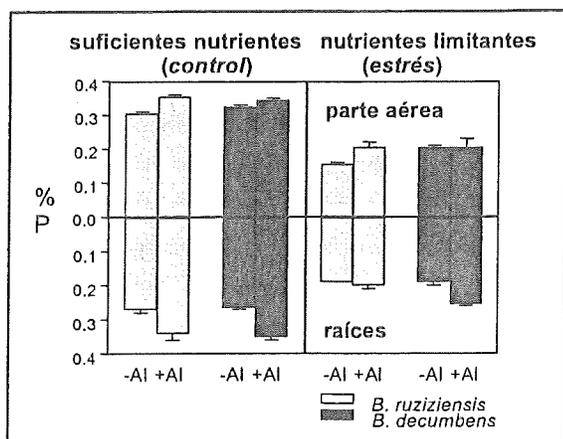


Figura 34. Mitad izquierda: Contenido de P en las raíces y en la parte aérea de dos cultivares contrastantes de *Brachiaria* cultivados en condiciones adecuadas y limitativas de nutrición, con y sin Al. Mitad derecha: Distribución de P (según tono de gris, ver escala) en los ápices radiculares de *B. decumbens* cultivado en condiciones limitantes de nutrición, con y sin Al, visualizada mediante PIXE.

nutrimentos bajo el estrés de Al, pueden haber reducido el crecimiento. Para investigar la última hipótesis, se estudió una relación posible entre ambos componentes de estrés: (MP) MP H^+ -ATPasa de la membrana plásmática. Esta enzima crea el gradiente de protón que se usa para la absorción de nutrimentos y es también un sitio de unión posible para los iones tóxicos Al^{3+} . Las mediciones de la actividad de la H^+ -ATPasa indicaron que: (1) el Al en el medio de

crecimiento estimuló un aumento de la actividad de la enzima; (2) en *B. decumbens* el aumento de la actividad se asoció con un mayor valor de K_m para ATP; (3) en *B. ruziziensis* ocurre un aumento similar de K_m bajo estrés de Al sólo bajo suministro adecuado de nutrimentos (ver control + Al en la Figura 35). La asociación evidente entre mantenimiento de crecimiento de las raíces bajo estrés de Al y un incremento del valor K_m (ATP) de la H^+ -ATPasa sugiere una participación de esta enzima en la tolerancia diferencial a Al entre *B. decumbens* y *B. ruziziensis*, bajo suministro limitado de nutrimentos. Podría ser que en condiciones de estrés por Al existe una expresión diferencial de isoformas con diferentes características cinéticas. Además, la mayor actividad de la H^+ -ATPasa en condiciones de estrés por Al indica que los mecanismos de tolerancia a este elemento en *Brachiaria* podrían consumir el gradiente electroquímico de protones de la membrana plasmática. También podría estar involucrada la exudación de compuestos quelantes de Al, incluyendo los ácidos orgánicos y/o fosfato.

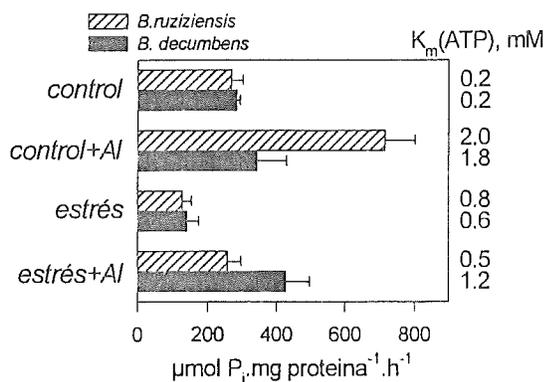


Figura 35. Actividad de la H^+ -ATPasa de dos cultivares contrastantes de *Brachiaria* creciendo en condiciones de adecuada y limitada nutrición, con y sin Al. Los valores correspondientes de K_m aparecen en el lado derecho.

Papel de la capacidad de intercambio catiónico de la raíz en la tolerancia a Al (P. Wenzl, A. Hernández, I. M. Rao y J. E. Mayer).

Se ha sugerido que la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de las raíces está involucrada en la tolerancia diferencial a Al en algunas especies. Es, probablemente, un factor importante para la absorción de cationes en presencia de iones Al^{3+} y, por lo tanto, podría desempeñar un papel significativo en el bajo rendimiento de *B. ruziziensis* en condiciones de estrés nutricional y por Al. Para evaluar las afinidades relativas de paredes celulares purificadas de células de raíces a Al^{3+} y otros cationes como Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ , éstas se cultivaron en las cuatro soluciones nutritivas básicas, se equilibraron con una solución de estrés + Al y los cationes se desorbieron con ácido. Actualmente se encuentra en proceso el análisis detallado de los resultados, utilizando isoterma de adsorción conjuntamente con un análisis termodinámico.

Identificación de metabolitos aromáticos sintetizados bajo estrés de suelo ácido (P. Wenzl, A. L. Chaves, M. Nair, I. M. Rao y J. E. Mayer).

Además de la toxicidad por Al, las simbiosis relacionadas con la absorción de ciertos nutrimentos desempeñan, probablemente, una función en la adaptación edáfica de especies de *Brachiaria*. Por ejemplo, se sabe que la absorción de P por ciertas especies de *Brachiaria* tiene una alta dependencia de las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA). Algunas otras especies de este género son anfitriones excelentes para bacterias que fijan nitrógeno en la rizósfera. En ambos casos pueden participar compuestos aromáticos secundarios, por ej., derivados del metabolismo de compuestos fenil-propanílicos, como señal del intercambio entre plantas y microorganismos. Esto motivó la investigación de los metabolitos aromáticos sintetizados en raíces bajo estrés de suelo ácido. Una evaluación selectiva inicial, utilizando soluciones nutritivas de estrés múltiple, demostró que se acumulan dos compuestos aromáticos en las raíces de *B. ruziziensis*, pero no en los otros dos cultivares investigados. El crecimiento en soluciones nutritivas de un solo factor de estrés reveló que la acumulación de ambos compuestos es estimulada por la deficiencia de P y N (Figura 36).

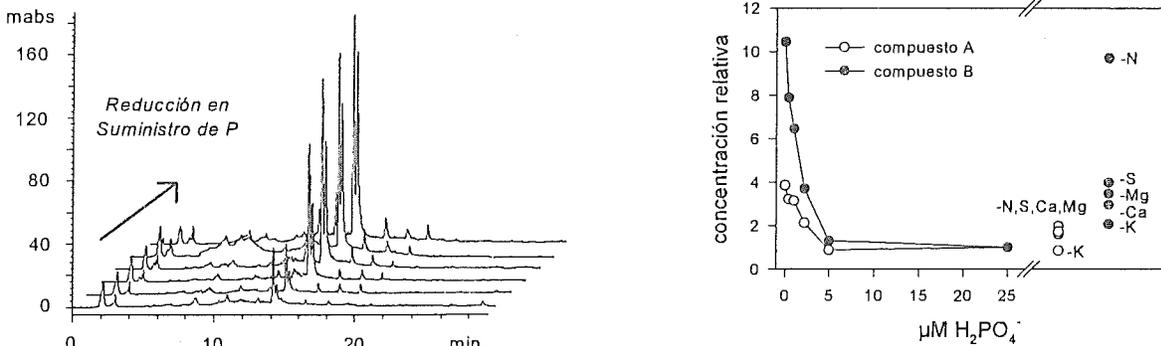


Figura 36. Síntesis de dos compuestos aromáticos secundarios en raíces de *Brachiaria ruziziensis* bajo condiciones de deficiencia de fósforo y estrés por otros nutrimentos. Izquierda: Acumulación progresiva durante una reducción gradual en el suministro de fósforo 25 μM hasta 0 μM $H_2PO_4^-$. Derecha: Cuantificación de las áreas de los 'picos' y comparación con el estrés por falta de otros nutrimentos.

Es interesante observar que todos los cultivares sintetizaron estos metabolitos cuando crecieron en suelos deficientes en P, presentando *B. ruziziensis* las concentraciones más altas. Si estos compuestos forman parte de la respuesta de la planta a la deficiencia de P, esto puede implicar que en concentraciones de este nutrimento que son todavía suficientes para los otros cultivares, *B. ruziziensis* desencadena una respuesta al estrés, o que otros cultivares necesitan un período más largo de deficiencia para reaccionar en este sentido. La revelación de la estructura molecular de estos compuestos aromáticos está en curso con la colaboración del Dr. Muralle Nair de la Universidad del Estado de Michigan, lo que permitirá desarrollar hipótesis acerca de su supuesta función en la adaptación de *Brachiaria* a suelos ácidos.

Fosfatasa ácida de la raíz como una medida de sensibilidad al bajo suministro de fósforo (P. Wenzl, I. M. Rao y J. E. Mayer).

La estimulación de la actividad de la fosfatasa ácida de la raíz es un componente característico de la respuesta de la planta a la deficiencia de P y, por tanto, podría emplearse para determinar el nivel de este nutrimento en el cual la planta empieza a reaccionar a la deficiencia. Los análisis indicaron que en condiciones nutritivas limitantes (solución de estrés), *B. ruziziensis* fue la única especie que presentó de manera significativa una mayor actividad de fosfatasa ácida en la raíz, confirmando el criterio anterior que esta especie, a diferencia de las otras dos, desencadena respuestas fisiológicas a la deficiencia de P a mayores niveles de éste. La toxicidad por Al también estimuló la actividad de la fosfatasa ácida de la raíz. En el caso de *B. decumbens*, se expresó, aparentemente, una forma isoenzimática alternativa bajo condiciones de estrés por Al, que fue más

tolerante a este elemento en condiciones in vitro. Recientemente, se ha demostrado que ciertas especies de *Brachiaria* exudan fitasa, cuando se encuentran bajo deficiencia de P. Por tanto, se harán estudios para evaluar en mayor detalle la inducción y exudación diferencial de fosfatasa ácida de la raíz y probar si la actividad medida de este compuesto es causada por la fitasa.

Adaptación a deficiencias de P y N: Función de la morfología y arquitectura del sistema radicular (P. Wenzl, N. L. Lasso, I. M. Rao y J. E. Mayer).

Una disminución en la disponibilidad de P y N en los suelos ha sido propuesta, con frecuencia, para explicar la degradación de pasturas con el transcurso del tiempo. En general, las plantas asignan más biomasa en los sistemas radiculares para explorar los suelos más eficientemente en estas condiciones. Por consiguiente, se seleccionó la deficiencia de estos dos elementos para analizar modificaciones de la morfología y arquitectura del sistema radicular. Los resultados preliminares indican que el crecimiento de las raíces de *B. decumbens* y *B. brizantha* fue mayor que el de *B. ruziziensis* bajo condiciones de suministro restringido de N.

Aislamiento de genes inducidos por el estrés de suelos ácidos (P. Wenzl, L. I. Mancilla, J. E. Mayer, E. Heberle-Bors e I. M. Rao).

Cuando se conozcan mejor las bases fisiológicas de los mecanismos de adaptación de *Brachiaria* a suelos ácidos sería de gran utilidad aislar los genes involucrados en este fenómeno, por dos razones importantes. En primer lugar, partiendo de las secuencias de los genes o de los promotores, sería posible

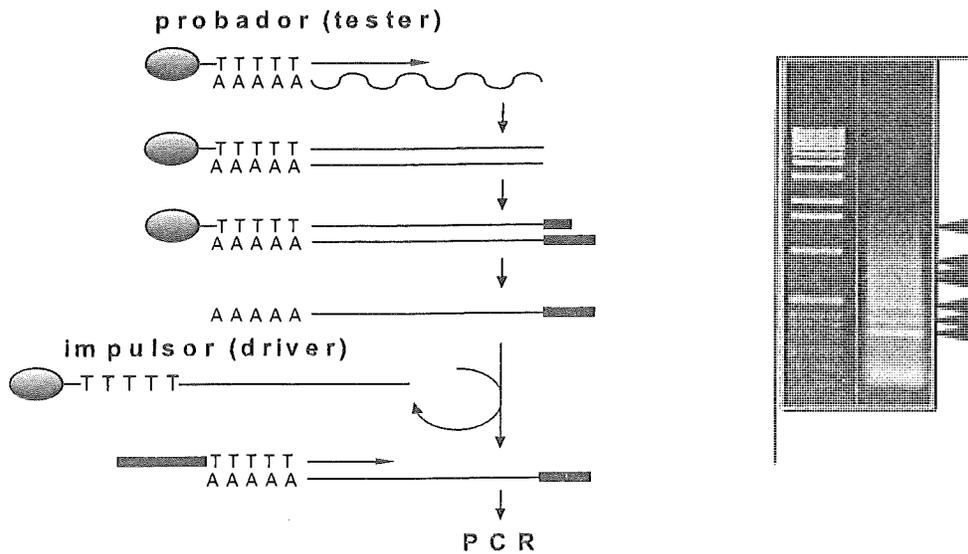


Figura 37. *Izquierda:* Hibridación sustractiva basada en PCR (reacción en cadena de la polimerasa), que se emplea para enriquecer genes inducidos por el estrés causado por los suelos ácidos. *Derecha:* ADNc sustractivo amplificado por PCR y separado en gel de agarosa. Las flechas señalan genes individuales enriquecidos que se expresan bajo condiciones de estrés de suelos ácidos.

diseñar marcadores moleculares con el fin de facilitar la selección de genotipos por adaptación a suelos ácidos. En segundo lugar, se podrían emplear genes específicos de interés para hacer transferencia directa de genes entre los cultivares de *Brachiaria*, evitando así el obstáculo de la propagación apomíctica. Para aplicar esta estrategia, se preparó una genoteca sustractiva de ADNc enriquecida en genes inducidos por estrés de suelos ácidos a partir del cultivar de buena adaptación (*B. decumbens*). La amplificación del ADNc que permanece después de la sustracción reveló varios genes inducidos por estrés, los cuales emergen como bandas del barrido difuso de ADNc no sustraído (Figura 37). Inicialmente, se escogerán cuatro genes que correspondan a bandas claramente visibles, para el análisis de secuencias que permitan entender su función. Sin embargo, cuando se concluyan los experimentos que tienen objetivos fisiológicos, será posible diseñar estrategias más específicas para seleccionar genes de esta

genoteca.

Actividad 3.1.2. Identificación de atributos de la planta de genotipos de *Brachiaria* asociados a la tolerancia de bajo suministro de nutrimentos (I. M. Rao, J. W. Miles, C. Plazas y R. Ricaurte)

Aspecto sobresaliente

- Dos recombinantes genéticos de *Brachiaria* (BRN093/3204, FM9201/1873) sobresalieron por su adaptación a condiciones de suelos ácidos de baja fertilidad.

Justificación. Mediante esfuerzos de mejoramiento se ha logrado generar varios recombinantes genéticos promisorios de *Brachiaria*. Sin embargo, su tolerancia a suelos ácidos de baja fertilidad no se ha evaluado en condiciones de campo. La

evaluación del comportamiento de plantas en estas condiciones ayudará a determinar la variación genética en adaptación a baja fertilidad, estrés por suelo ácido y a identificar atributos específicos de la planta que puedan utilizarse como criterios de selección en un programa de mejoramiento genético. En Carimagua se realiza un estudio de campo para evaluar diferencias e identificar atributos clave en adaptación edáfica y persistencia de genotipos de *Brachiaria*.

Métodos. El ensayo comprende 17 introducciones, incluyendo nueve accesiones (cuatro progenitores) y ocho recombinantes genéticos que fueron sembrados en bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas. Los dos niveles de aplicación inicial de fertilizantes como parcelas principales: bajo (kg/ha): 20 de P, 20 de K, 33 de Ca, 14 de Mg, 10 de S; y alto (kg/ha): 80 de N, 50 de P, 100 de K, 66 de Ca, 28 de Mg, 20 de S más micronutrientes. Como subparcelas se incluyen los genotipos. El ensayo es manejado con pastoreo intensivo periódico, según la oferta de forraje.

Resultados y discusión. Las mediciones de

rendimiento de forraje e índice área foliar (IAF) durante la época lluviosa (6.5 y 15 meses después de la siembra) indicaron variación genotípica marcada (Figuras 38 y 39). Con baja fertilización inicial, dos recombinantes genéticos —BRN093/3204 y FM9201/1873— sobresalieron por su rendimiento de forraje e IAF, en comparación con otras entradas. Uno de los recombinantes genéticos (BRN093/1371), que es resistente a infestación por salivazo (C. Cardona, datos no publicados), respondió a la aplicación inicial de fertilizantes en términos de producción de MS e IAF. Quince meses después de la siembra, tres genotipos —BRN093/3204, CIAT 16467 y CIAT 6780— mostraron mayor producción de área foliar con baja fertilización que con alta fertilización inicial (Figura 39B). Esto puede ser debido a la mayor utilización de forraje por animales en las parcelas que recibieron alta aplicación inicial de fertilizantes. Es necesario hacer un monitoreo de este ensayo durante 2 o más años para evaluar los atributos de la planta que contribuyen a la persistencia de los genotipos de *Brachiaria*.

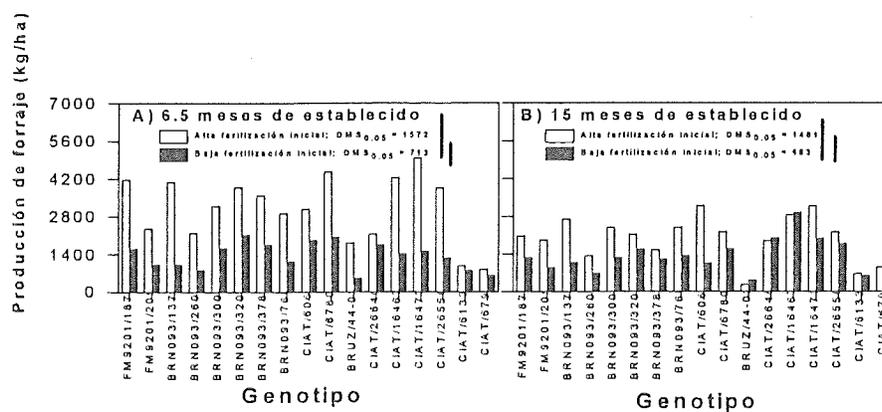


Figura 38. Efecto de la aplicación inicial de fertilizantes en la variación genotípica en producción de forraje de recombinantes genéticos, padres y otras accesiones de *Brachiaria*, después de 6.5 y 15 meses de la siembra en un Oxisol franco-arenoso de Carimagua, Colombia.

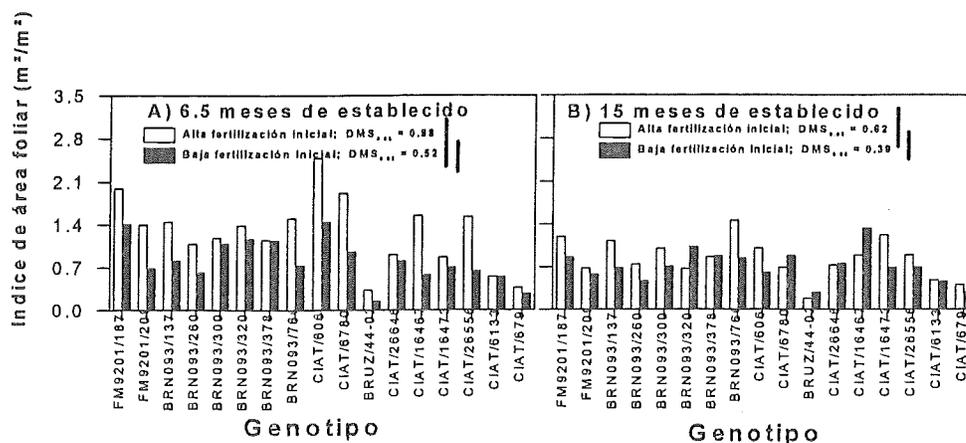


Figura 39. Efecto de la aplicación inicial de fertilizantes en la variación genotípica en índice de área foliar de recombinantes genéticos, padres y otras accesiones de *Brachiaria*, después de 6.5 y 15 meses de la siembra en un Oxisol franco-arenoso de Carimagua, Colombia.

Actividad 3.1.3. Variación genotípica en leguminosas forrajeras tropicales por tolerancia a bajo suministro de nutrimentos (I. M. Rao, J. Ricaurte y R. García)

Aspecto sobresaliente

- *Arachis pintoi* CIAT 18748 sobresalió por su adaptación en condiciones de baja aplicación de nutrimentos en el suelo, tal como lo demuestra el grado de distribución de N en hojas y el mantenimiento de una mayor concentración de P inorgánico en ellas.

Justificación: En los estudios realizados hasta ahora se ha encontrado variación intergenérica e interespecífica en la tolerancia de varias leguminosas forrajeras tropicales a baja oferta de nutrimentos, cuando se cultivan en suelos de texturas contrastantes, sin embargo, no se encontrado variación intraespecífica en esta característica.

Métodos: En un experimento de invernadero

se estudiaron las diferencias genotípicas en la tolerancia a bajos niveles de fertilización utilizando 24 genotipos de seis especies de leguminosa (cuatro genotipos de cada una de las especies: *Arachis pintoi*, *Stylosanthes guianensis*, *S. capitata*, *Centrosema macrocarpum*, *C. brasilianum* y *C. pubescens*.). Como indicadores de tolerancia a baja fertilidad se midieron los atributos de la parte aérea y de las raíces de la planta. La selección de genotipos se basó en la evaluación agronómica en el campo (genotipos comúnmente usado, muy productivo y menos productivos para cada especie). Para evaluar el crecimiento de ellos se utilizó un Oxisol franco-arenoso de Carimagua (4 kg de suelo/maceta). Los nutrimentos se aplicaron antes de la siembra en tres niveles (ausencia, bajo y alto). La aplicación baja (kg/ha) incluyó 20 P, 20 K, 33 Ca, 14 Mg y 10 S; mientras que la aplicación alta incluyó 80 N, 50 P, 100 K, 66 Ca, 28.5 Mg, 20 S y los micronutrimentos 2 Zn, 2 Cu, 0.1 B y 0.1 Mo. de crecimiento) En el momento de la cosecha (80 días se determinaron los atributos siguientes: (1)

rendimiento de forraje y relación hoja/tallo, (2) área foliar, (3) clorofila y proteína soluble en la hoja, (4) eficiencia fotoquímica del fotosistema II, (5) composición de nutrimentos de hojas y tallos, (6) índice de distribución de nutrientes de la hoja ([nutrientes en la hoja/nutrientes en la parte aérea] x 100), y (7) número y peso de nódulos.

Resultados y discusión. Los resultados indicaron que ciertos atributos de la planta son afectados por la aplicación de nutrimentos (Cuadro 30) y por el genotipo. El nivel de producción de área foliar, sin oferta externa de nutrimentos, presentó mayor variación genotípica que los demás atributos de la

planta. Como era de esperar, el aumento en la oferta de nutrimentos mejoró el rendimiento de forraje y estimuló la producción de área foliar. La variación genotípica en varios atributos de la planta fue mayor que la inducida por el nivel de oferta de nutrimentos. En el Cuadro 31 se presenta la variación genotípica en los atributos de plantas de *A. pintoi* y *S. guianensis* cultivadas con baja aplicación de nutrimentos.

Entre los genotipos de *Arachis*, *A. pintoi* CIAT 18748 fue el que mantuvo la mayor concentración de P inorgánico en las hojas y distribuyó la mayor parte de nitrógeno hacia ellas. De las accesiones de *Stylosanthes*, *S. guianensis* CIAT 11844 mantuvo la mayor concentración de P inorgánico en las hojas.

Cuadro 30. Influencia del suministro de nutrimentos en el rango de variación genotípica de atributos de la planta de seis especies tropicales de leguminosas forrajeras (24 genotipos), creciendo en macetas con 4 kg de un Oxisol franco-arenoso de Carimagua.

Atributos de la planta	Aplicación de nutrimentos		
	Sin suministro	Bajo ^a	Alto ^b
Rendimiento de forraje (g/maceta)	0.11 - 0.91	2.38 - 6.06	6.99 - 16.7
Área foliar (cm ² /maceta)	5.82 - 113	266 - 774	531 - 2085
Clorofila de la hoja (mg/m ²)	188 - 606	154 - 364	212 - 401
P inorgánico en hojas (mg/m ²)	10.8 - 62.5	15.5 - 57.9	15.5 - 46.7
Índice de distribución de N (%)	50.8 - 77.9	44.9 - 79.9	45.6 - 76.1

a. 20P, 20 K, 33 Ca, 14 Mg y 10,5 (kg/ha)

b. 40 N, 50 P, 100 K, 66 Ca, 28.5 Mg, 20 S, 2 Zn, 2 Cu, 0.1 B y 0.1 Mo (kg/ha).

Cuadro 31. Diferencias genotípicas en los atributos de planta de leguminosas forrajeras tropicales, asociados con tolerancia a baja aplicación de nutrimentos*. Cultivadas en macetas con 4 kg de un Oxisol franco-arenoso de Carimagua.

Especie	Accesión (No. CIAT)	Forraje (g/maceta)	Área foliar (cm ² /maceta)	P inorg. en hojas (mg/m ²)	Índice de distribución de N en las hojas (%)
<i>A. pintoi</i>	17434	5.01	504	15.5	52.7
	18744	4.97	438	17.6	44.9
	18748	4.64	501	24.4	64.6
	22160	5.06	492	17.9	60.5
DMS _{0.05}		NS	NS	NS	NS
<i>S. guianensis</i>	21	3.93	356	35.4	70.6
	184	3.01	295	32.4	74.8
	2950	3.72	375	33.1	79.9
	11844	3.27	315	44.6	78.0
D.M.S. _{0.05}		0.56	51	NS	4.7

a. Baja oferta de nutrimentos (kg/ha) = 20 de P, 20 de K, 33 de Ca, 14 de Mg y 10 de S.

Actividad 3.1.4. Variación genotípica en la absorción y utilización de

nutrimentos por gramíneas (I. M. Rao, J. Ricaurte y R. García)

Aspecto sobresaliente

- Varios atributos de la planta de *Brachiaria* fueron afectados por el genotipo y la aplicación de fósforo en el suelo.

Justificación. Existe la necesidad de explorar el grado de variación genotípica entre y dentro de especies para desarrollar genotipos eficientes que puedan extraer los nutrimentos para satisfacer las necesidades minerales de los rumiantes. Se realizó un experimento de invernadero para evaluar las diferencias genotípicas en absorción y utilización de P entre 15 genotipos de cinco especies de *Brachiaria* (tres genotipos de cada una de las especie: *B. decumbens*, *B. brizantha*, *B. ruziziensis*, *B. humidicola* y *B. dictyoneura*). La selección de estos se basó en la evaluación agronómica previa en el campo (genotipos comúnmente utilizados, más productivos y menos productivos)

Métodos. Para el cultivo se utilizó un Oxisol franco-arcilloso (4 kg de suelo/maceta) de Carimagua. Antes de la siembra se aplicó una mezcla (kg/ha) de: 80 N, 100 K, 66 Ca, 28.5 Mg, 20 S y micronutrimentos (2 Zn, 2 Cu, 0.1

B y 0.1 Mo). El P se aplicó en cuatro niveles (kg/ha): 0, 20, 50 y 200. En el momento de cosecha (53 días de crecimiento) se midieron varios atributos de la parte aérea y de la raíz, tales como rendimiento MS, área foliar, longitud de la raíz, absorción de P en la parte aérea, eficiencia de absorción de P por longitud de la raíz y eficiencia de uso de P (kg de forraje/g de P total absorbido).

Resultados y discusión. Los resultados mostraron que tanto el genotipo como el nivel de oferta de P en el suelo afectaron los atributos de la parte aérea de las plantas (Cuadro 32). Dos atributos de la planta —eficiencia de absorción de P y longitud de la raíz— presentaron mayor variación genotípica que los demás atributos evaluados. Como era de esperar, el aumento en la oferta de P mejoró el rendimiento de forraje al estimular la producción de área foliar. La variación genotípica en los atributos de las plantas de 15 genotipos cultivados con 20 kg/ha de P (Cuadro 33) indica que, la variación en longitud de la raíz, absorción de P por la parte aérea de las plantas y la eficiencia de absorción de P fue mayor en *B. humidicola* y en *B. dictyoneura* que en las otras tres especies. *Brachiaria humidicola* CIAT 679 se destacó por la longitud de la raíz y la absorción de P por la parte aérea, mientras que *B. ruziziensis* CIAT 26433 fue más eficiente en el uso de P que los otros genotipos.

Cuadro 32. Efecto del suministro de fósforo en el rango de variación de atributos de la planta de cinco especies de *Brachiaria* (15 genotipos) sembradas en un Oxisol franco-arcilloso de Carimagua. Las mediciones se hicieron después de 53 días de crecimiento.

Atributos de la planta	Fósforo aplicado (kg/ha)			
	0	20	50	200
Rendimiento de forraje (g/maceta)	0.92-2.74	10.4-22.9	17.7-35.9	16.4-43.2
Área foliar (cm ² /maceta)	87-265	76.7-1674	86.4-2026	776-2293
Longitud de la raíz (m/maceta)	15.6-81.9	137-334	158-381	178-584
Longitud de la raíz/área foliar (km/m ²)	1.70-7.78	1.22-4.25	1.26-2.75	1.31-2.96
Absorción de P por la parte aérea (mg/maceta)	0.15-0.57	4.38-8.59	7.56-15.5	11.6-24.9
Eficiencia de absorción de P (mg/m)	3.08-18.5	16.3-43.4	22.9-71.2	26.1-77.5
Eficiencia en el uso del P (kg/g)	1.48-5.17	2.05-3.88	1.52-2.77	1.14-1.92

Cuadro 33. Diferencias genotípicas en atributos de la planta relacionados con absorción y utilización de fósforo en cinco especies de *Brachiaria* (15 genotipos) con la aplicación de 20 kg/ha del nutrimento aplicado en macetas con 4 kg de un Oxisol franco-arcilloso de Carimagua. Las mediciones se hicieron después de 53 días de crecimiento.

Especies	Accesión No. CIAT	Rend. (g/maceta)	Area foliar (cm ² /maceta)	Long. de raíz (m/maceta)	Long. de la raíz/área foliar (km/m ²)	Absorción de P en parte aérea (mg/maceta)	Eficiencia absorción de P (mg/m)	Eficiencia de uso de P (kg/g)
<i>B. decumbens</i>	606	21.8	1649	279	1.70	6.61	24.0	3.00
	26180	22.5	1428	197	1.38	6.26	32.0	3.28
	16519	22.2	1225	227	1.85	7.59	33.5	2.80
<i>B. brizantha</i>	6780	14.9	1237	147	1.26	4.52	34.6	2.78
	26562	20.1	1072	157	1.45	6.32	43.4	2.93
	16431	20.1	1212	145	1.22	5.84	40.0	3.16
<i>B. ruziziensis</i>	655	22.6	1419	279	1.94	8.07	32.2	2.66
	16101	22.9	1674	245	1.46	5.87	24.3	3.57
	26433	22.3	1741	282	1.63	5.14	18.7	3.88
<i>B. humidicola</i>	679	22.6	804	334	4.25	8.59	25.7	2.46
	26425	22.4	1373	331	2.43	5.61	16.3	3.73
	16866	18.4	845	255	3.03	7.02	28.9	2.49
<i>B. dictyoneura</i>	6133	22.8	1109	230	2.08	7.60	33.2	2.85
	16506	17.9	942	168	1.77	5.68	35.5	2.82
	10508	10.4	768	137	1.67	4.38	38.6	2.05
Promedio		20.2	1223	227	1.94	6.34	30.7	2.96
D.M.S.0.05		6.5	346	89	0.60	1.85	15.3	0.63

Actividad 3.1.5. Secreción de fitasa de raíces en condiciones deficientes de fósforo (M. Li, M. Osaki, I. M. Rao y T. Tadano)

Aspecto sobresaliente

- La secreción de fitasa en raíces de *Brachiaria decumbens* y *Stylosanthes guianensis* es un mecanismo importante para la absorción de fósforo a partir de fuentes orgánicas presentes en el suelo.

Justificación. En un programa colaborativo de investigación con la Universidad de Hokkaido, Japón, se probaron seis accesiones de forrajeras tropicales en comparación con otros 10 cultivos comerciales y de forrajeras para medir su potencial de secreción de fitasa por las raíces en condiciones de deficiencia de P. Las raíces de la planta secretan fitasa como un mecanismo de mineralización de P a partir de P orgánico (hexafosfato de inositol) en el suelo. Debido a que los sustratos de fitasas

como fitina y otros fosfatos de inositol representan una fracción principal de P orgánico en el suelo, la secreción de fitasa de raíces de plantas bajo condiciones de deficiencia de P puede ser de importancia fundamental para proveer un mecanismo eficaz para la utilización de fosfatos orgánicos en el suelo.

Métodos. Las secreciones de fitasas se recogieron con un tubo de membrana de diálisis. La recolección se hizo durante 24 h en raíces de plantas cultivadas en un invernadero con suministro escaso o adecuado de P en soluciones nutritivas. La actividad de la fitasa se analizó midiendo la cantidad de fosfato inorgánico liberado mediante hidrólisis, utilizando fitato de sodio como sustrato.

Resultados y discusión. En las plantas de todas las especies evaluadas, la actividad secretora de fitasa, así como también de fosfatasa ácida de las raíces, fue mayor con el tratamiento bajo en P. La secreción de fitasa por las raíces en condiciones deficientes en P

fue más alta en *B. decumbens* CIAT 606 y en *Stylosanthes guianensis* CIAT 184; moderado en *B. brizantha* CIAT 6780 y *S. guianensis* CIAT 2950; y más baja en *Andropogon gayanus* CIAT 621 y *S. capitata* CIAT 10280 (Cuadro 34).

Cuadro 34. Actividad de la fitasa secretada por seis especies forrajeras tropicales, cultivadas con suministro de fósforo bajo (3 μ M) y adecuado (65 μ M).

Especie	Accesión	Actividad de la fitasa (unidades/g)		Incremento con P bajo (%)
		P	P	
		adec.o	bajo	
Gramíneas:				
<i>B. decumbens</i>	606	0.32	1.25	390
<i>B. brizantha</i>	6780	0.56	0.79	140
<i>A. gayanus</i>	621	0.18	0.36	200
Leguminosas:				
<i>S. guianensis</i>	184	0.41	1.04	250
<i>S. guianensis</i>	2950	0.53	0.74	140
<i>S. capitata</i>	10280	0.11	0.21	190

En *Brachiaria brizantha* CIAT 6780 y *S. guianensis* CIAT 2950 es posible detectar la banda proteica inmunorreactiva que reacciona con un anticuerpo policlonal proveniente de fitasa de afrecho de trigo (correspondiente a un peso molecular entre 35 y 40 kD). Estos resultados indican que la secreción de fitasa puede proveer un mecanismo eficaz para la utilización de P orgánico del suelo por *B. decumbens* CIAT 606 y *S. guianensis* CIAT 184.

Actividad 3.1.6. Diferencias genotípicas en el desarrollo de la raíz y la parte aérea de plántulas de leguminosas forrajeras tropicales (L. E. Caicedo, J. Ricaurte, R. García e I. M. Rao)

Aspecto sobresaliente

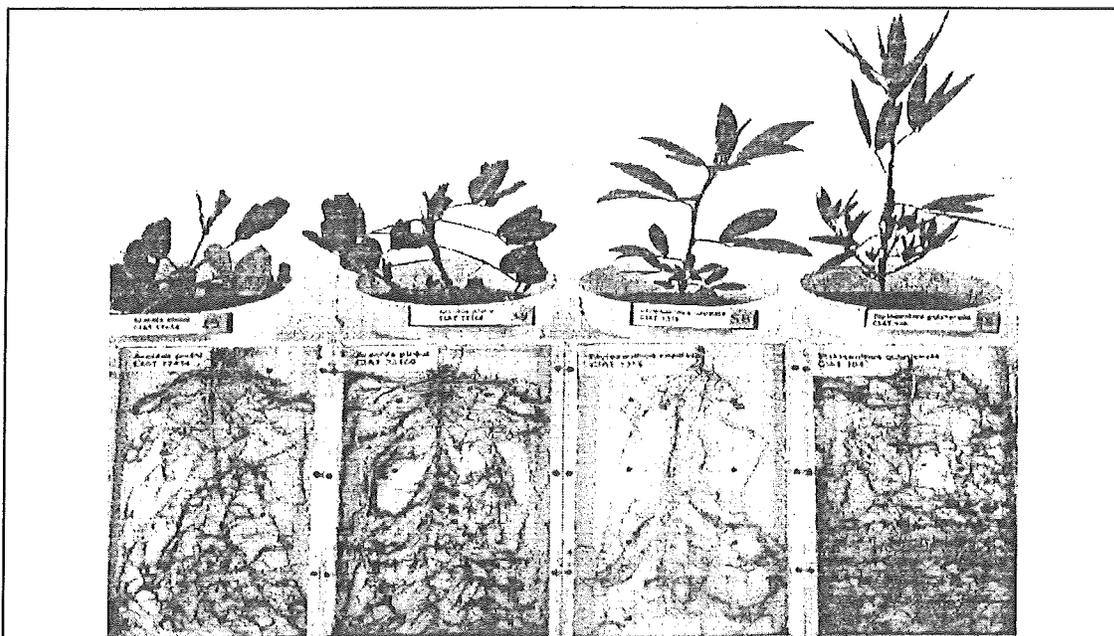
- *Stylosanthes capitata* está menos adaptado

a Oxisoles franco-arcillosos debido a que sus raíces son más gruesas y tienen menos puntos terminales, lo que contribuye a reducir la absorción de calcio, cuando se compara con *S. guianensis* y *A. pintoii*.

Justificación. En suelos ácidos de baja fertilidad la amplia adopción y utilización de leguminosas tropicales en los diferentes sistemas de producción depende del rápido establecimiento y la extracción de nutrimentos presentes. Es necesario definir si las diferencias en establecimiento de las leguminosas en suelos ácidos están o no relacionada con diferencias en: (1) la distribución de la materia seca entre raíces y parte aérea, (2) el desarrollo morfológico de las raíces, y (3) la eficiencia en absorción y utilización de nutrimentos.

La evaluación agronómica de accesiones de *Arachis pintoii* por tolerancia a la época seca en los Cerrados del Brasil permitió identificar la accesión *A. pintoii* CIAT 22160 como superior a la accesión comercial *A. pintoii* CIAT 17434. Sin embargo no se determinó si esta adaptación superior durante la época seca podría estar relacionada con el mejor desarrollo del sistema radicular. Los estudios en el campo, realizados en Carimagua, indicaron que: *S. guianensis* CIAT 184 se adapta mejor a Oxisoles franco-arcillosos que *S. capitata* CIAT 1315. Pero no se conocen los atributos de la planta que contribuyen a estas diferencias en adaptación edáfica.

Métodos. Se realizaron dos experimentos de invernadero para comparar el crecimiento y Las plantas se cultivaron en un Oxisol franco-arcilloso en el que se aplicaron niveles bajos de fertilizante (20 P, 20 K, 33 Ca, 14 Mg y 10 S kg/ha).



A. pintoii CIAT 17434 *A. pintoii* CIAT 22160 *S. capitata* CIAT 1315 *S. guianensis* CIAT 184

Figura 40. Diferencias en tamaño del sistema radicular (en minirizotrones) y en el crecimiento de la parte aérea de cuatro leguminosas cultivadas en macetas con bajo suministro de nutrimentos en un Oxisol franco-arcilloso de Carimagua.

Resultados y discusión. El empleo de minirizotrones (cajas de plexiglás) facilitó la evaluación visual de las diferencias en el desarrollo radicular. Entre las leguminosas incluidas en el estudio, *S. capitata* presentó un sistema radicular de tamaño notoriamente más pequeño (Figura 40). Además, el desarrollo de las raíces fue más lento en *S. capitata* que en *S. guianensis*.

El nivel de ramificación y la longitud total de la raíz fueron también inferiores en *S. capitata* que en las otras leguminosas. No se presentaron diferencias significativas en el tamaño del sistema radicular entre las dos accesiones de *A. pintoii*, aunque *A. pintoii* CIAT 22160 presentó mayor ramificación durante la fase de establecimiento de las plántulas. Ambas accesiones de *A. pintoii* se establecieron rápidamente debido posiblemente al mayor

tamaño y peso de la semilla (158 mg comparado con 2.3 mg de *Stylosanthes*), lo que contribuyó al rápido desarrollo de la parte aérea y la raíz (Cuadro 35). Este rápido desarrollo del sistema radicular facilitó la mayor absorción de nutrimentos en suelos ácidos de baja fertilidad, en particular el calcio (Ca). *Arachis pintoii* CIAT 22160 aparentemente se estableció más rápidamente que la accesión comercial *A. pintoii* CIAT 17434.

El establecimiento lento de *A. pintoii* en pasturas podría deberse, principalmente, a un menor número de plantas por unidad de área. Es de esperar que si se aumenta la tasa de siembra, *A. pintoii* podría superar los problemas de lento establecimiento. Pero esta estrategia aumentará los costos de establecimiento de pasturas

Cuadro 35. Diferencias en el desarrollo de sistemas radiculares y absorción de calcio entre dos accesiones de *Arachis pintoi* y dos especies de *Stylosanthes*, creciendo en macetas (500 g de suelo) en un Oxisol franco-arcilloso de Carimagua, Colombia.

Edad de la planta (días) ^a	Genotipo (accesión no. CIAT)	Biomasa aérea (mg/maceta)	Biomasa de raíz (mg/maceta)	Long. Raíz (m/maceta)	Long. específica de la raíz (m/g)	Puntas de la raíz (no./maceta)	Absorción de Ca (mg/maceta)
30	Ap 17434	359 a*	220 a	28.0 a	28.1 a	890	2.76
	Ap 22160	295 a	200 a	25.5 a	25.6 a	669	2.60
	Sc 1315	16 b	7 b	3.3 b	3.33 b	52	0.11
	Sg 184	22 b	8 b	3.2 b	3.25 b	67	17.52
60	Ap 17434	920 ab	540 a	32.5 a	32.6 a	1613	8.37
	Ap 22160	1020 a	500 a	29.9 a	29.9 a	1305	7.49
	Sc 1315	640 c	120 a	16.0 b	16.0 b	503	3.95
	Sg 184	860 b	240 a	34.3 a	34.4 a	1335	6.30

a Días después del transplante.

* Promedios seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

Ap = *Arachis pintoi*; Sc = *Stylosanthes capitata*; Sg = *Stylosanthes guianensis*.

El comportamiento superior de *S. guianensis*, comparado con *S. capitata*, en Oxisoles franco-arcillosos podría atribuirse, principalmente, al crecimiento vigoroso de sus raíces finas y abundantes que contribuyen a una mayor absorción de Ca en suelos ácidos de baja fertilidad. Los puntos de crecimiento en la raíz son los sitios más importantes para la absorción de Ca a lo largo del eje radicular. La menor absorción de Ca por *S. capitata*, comparada con *S. guianensis*, puede estar relacionada con el espesor de las raíces, es decir, el menor valor de la longitud específica de la raíz, conjuntamente con el número reducido de puntos de crecimiento de ésta. Es necesario probar si un aumento en el suministro de Ca en el suelo mejora el vigor de las plántulas de *S. capitata*.

Actividad 3.1.7. Identificación de atributos de la planta por compatibilidad y persistencia de nuevas leguminosas asociadas con gramíneas agresivas (Y. Saito, P. Kerridge, I. M. Rao, C. Plazas y J. Ricaurte)

Aspecto sobresaliente

- El establecimiento de *A. pintoi* fue más rápido cuando se asoció con *Panicum maximum* que crece formando matojos, que cuando se asoció con *Brachiaria dictyoneura* que es estolonífera.

Justificación. Se encuentra en ejecución un estudio de campo en un Oxisol franco-arenoso de Carimagua para identificar atributos de la planta que contribuyen al establecimiento rápido y a la persistencia de nuevas leguminosas forrajeras en asociación con gramíneas agresivas. En el ensayo se incluyen tres leguminosas (*A. pintoi* CIAT 22160, *S. guianensis* CIAT 11833 y *S. capitata* cv. Capica), la gramínea estolonífera *B. dictyoneura* cv. Llanero y *P. máximo* CIAT 36000, que forma matojos.

Métodos. El ensayo se plantó en junio de 1995 como un bloque completo al azar con arreglo de parcelas divididas (gramíneas como parcelas y fertilizante x leguminosas como subparcelas). La aplicación inicial de fertilizantes se hizo en dos niveles (kg/ha) (bajo: 10 P, 10 K, 33 Ca, 14 Mg, 10 S; y Alto:

40 P, 40 K, 66 Ca, 28 Mg, 20 S + micronutrientes). también se incluyó un tratamiento de gramíneas solas para evaluar el efecto de la leguminosa sobre el crecimiento de ellas. Los dos niveles de fertilización permitirán el estudio de la interacción del nivel de nutrición con la compatibilidad de las especies. Como atributos de la planta se miden la composición botánica, la producción de la parte aérea y de la raíz, la composición nutritiva y la absorción de nutrientes, después del pastoreo frecuente.

Cuadro 36. Efecto de la aplicación inicial de fertilizantes en la producción de MS (g/m²) y en la composición botánica (% de leguminosas en paréntesis) de pasturas de solo gramíneas y asociadas con leguminosas, en un Oxisol franco-arenoso de Carimagua.

Fert. inicial	Pastura*	Edad de la pastura (meses)			
		4	7.5	14.5	
Baja	Bd	116	81.4	142	
	Bd + Ap	148 (1.3) ^a	68.0 (4.3)	118 (4.1)	
	Bd + Sg	111 (35)	136 (62)	291 (56)	
	Bd + Sc	110 (22)	78.0 (28)	200 (35)	
	Pm	111	75.2	147	
	Pm + Ap	116 (0.5)	76.3 (8.1)	178 (21)	
	Pm + Sg	192 (34)	122 (76)	214 (73)	
	Pm + Sc	153 (30)	81.8 (31)	208 (58)	
	Alta	Bd	348	162	135
		Bd + Ap	270 (1.2)	144 (3.0)	131 (12)
		Bd + Sg	410 (37)	220 (59)	254 (53)
		Bd + Sc	311 (32)	161 (27)	215 (49)
		Pm	366	155	137
		Pm + Ap	241 (0.6)	96 (7.5)	195 (30)
Pm + Sg		366 (22)	199 (28)	257 (52)	
Pm + Sc		388 (16)	159 (14)	271 (47)	

*Bd= *B. dictyoneura* CIAT 6133; Pm= *P. maximum* CIAT 36000; Ap= *A. pintoii* CIAT 22160; Sg= *S. guianensis* CIAT 11833; Sc= *S. capitata* CIAT 10280.

a=Época seca

Resultados y discusión. Las mediciones de rendimiento y la composición botánica de las pasturas a 4, 7.5 y 14.5 meses después de la siembra de las gramíneas solas y en asociación

indicaron que, el establecimiento de *A. pintoii* fue más rápido cuando se asoció con *P. maximum* que cuando se asoció con *B. dictyoneura* (Cuadro 36).

Como se esperaba, *A. pintoii* respondió más que las otras dos leguminosas a la aplicación inicial del nivel alto de fertilizantes. Entre las leguminosas, *S. guianensis* fue más vigorosa en crecimiento y dominó las gramíneas, en particular, a *P. maximum* durante la fase de establecimiento con aplicación inicial baja de fertilizantes.

Subproducto 3.2. Genotipos identificados y caracterizados de *Brachiaria*, *Arachis* y *Calliandra* con tolerancia a la sequía (J. W. Miles, I. M. Rao, P. J. Argel, B. L. Maass)

Actividad 3.2.1. Variación genotípica de *Brachiaria* y *Arachis* y tolerancia a la época seca Aspecto sobresaliente

- Se identificaron dos recombinantes genéticos de *Brachiaria* con mejor comportamiento en la época seca que el cultivar comercial *B. decumbens*.

Justificación. La escasez de forraje en la época seca se encuentra entre las limitaciones importantes para la producción pecuaria en América tropical. Actualmente se están evaluando colecciones de accesiones seleccionadas de *Brachiaria* y *Arachis* en ensayos multilocacionales.

Hasta años recientes, la colección de *A. pintoii* en el CIAT se limitaba a no más de una docena de accesiones. A principios de los noventa se recibió un mayor flujo de

germoplasma de *Arachis* proveniente de Brasil (CENARGEN/EMBRAPA). Se inició, entonces, un esfuerzo concertado para probar este germoplasma con el fin de identificar material con potencial para reemplazar el cultivar comercial existente, *A. pintoi* cv. Amarillo (CIAT 17434). Este cultivar se considera bien adaptado a ambientes húmedos con más de 1500 mm de precipitación anual, pero, a menudo, se siembra en ambientes menos húmedos como cultivo de cobertura o como pastura. La persistencia de la leguminosa en ambientes secos no está bien documentada, en particular, las líneas nuevas disponibles en el banco de germoplasma.

El cultivar *B. decumbens* cv. Basilisk, ampliamente distribuido, no se desarrolla bien bajo condiciones secas estacionales. Por tanto, en épocas secas y húmedas se realizó un estudio de campo en un Oxisol de textura media en Carimagua, Colombia, para evaluar las diferencias en adaptación edáfica y tolerancia a la sequía entre 55 genotipos de *Brachiaria*. También, se probó la hipótesis de que esta tolerancia es mayor en genotipos *Brachiaria* que acumulan mayores cantidades de carbohidratos no estructurales combinados con menos cantidades de minerales (contenido de ceniza) por peso seco de unidad de hojas y tallos

Métodos

Estudios con *Arachis* en Colombia. Se terminaron los ensayos multilocacionales con accesiones élite de *Arachis*. Los resultados de estos ensayos se analizaron para identificar accesiones con comportamiento particularmente bueno durante períodos secos. Siguiendo la multiplicación inicial, se establecieron dos conjuntos de ensayos multilocacionales; el primero, en 1994 con 35 accesiones de *Arachis* en seis sitios y, el

segundo, en 1995 con 39 accesiones de *A. pintoi* en siete sitios (ver informes anteriores). En ambos conjuntos de ensayos se tuvieron siete grupos de accesiones comunes. Cada conjunto plantó en seis sitios, variando de ecosistema desde ladera en el departamento de Cauca hasta Piedemonte amazónico de tierras bajas en el Caquetá. En los ensayos realizados en 1995 se incluyó un sitio adicional en CIAT-Palmira. Se establecieron parcelas de 20 m² asociadas con *B. dictyoneura* o *B. decumbens* y manejadas bajo defoliación periódica, mediante corte o pastoreo frecuente e intenso según la disponibilidad de animales. Los datos sobre rendimiento de forraje, composición botánica y producción de semillas se tomaron durante 2 años.

Estudios con *Arachis* en Costa Rica. A mediados de 1993 se establecieron en la Escuela Centroamericana de Ganadería (ECAG), ubicada en Atenas, parcelas de multiplicación de *A. pintoi* CIAT 17434 y 18744. Este sitio es bosque tropical subhúmedo a 200 m.s.n.m. 1600 mm de precipitación anual entre mayo y noviembre y 6 meses de estación seca, la temperatura promedio es de 23.7 °C y los suelos son Inceptisoles franco-arcillosos de fertilidad media. En este sitio *A. pintoi* se defolia severamente durante la época seca y una proporción alta de sus estolones mueren, en particular, en *A. pintoi* CIAT 17434. Desde principios de 1994, 10 meses después de la siembra, se monitoreó durante 4 años la cobertura de plantas al inicio de las lluvias. Se marcaron al azar cinco repeticiones de 1 m² cada una, donde se contaron y removieron las plántulas emergentes a intervalos semanales durante 1 mes. De la misma manera se midió la cobertura en parcelas vecinas.

Estudios con *Brachiaria* en Colombia. En Carimagua se evaluaron por resistencia a

la sequía 43 genotipos de *Brachiaria*, incluyendo 43 recombinantes genéticos seleccionados de una población de fitomejoramiento, cuatro accesiones parentales y ocho accesiones de germoplasma. La aplicación baja de fertilizante (kg/ha), aplicada durante el establecimiento fue: 40 N, 20 P, 20 K, 14 Ca, 12 Mg y 12 S. En épocas seca y humedad se midieron el rendimiento de forraje, el área foliar, el área foliar específica, la absorción de nutrimentos en la parte aérea, los carbohidratos no estructurales en hojas y tallos, y el contenido de ceniza de hojas y tallos.

Resultados y discusión

Estudios con *Arachis* en Colombia. La segunda serie de ensayos multilocacionales se terminó en 1997 y los resultados se encuentran en proceso de análisis. No obstante, las observaciones preliminares han permitido identificar varias accesiones que se comportan mejor que *A. pintoi* CIAT 17434 cv. Amarillo y de las que se está multiplicando semilla (Cuadro 37). Algunas accesiones vigorosas como *A. pintoi* CIAT 22233, 22236, 22238 y 22241 parecen tener una pobre producción de semillas y sólo florecen en pocos sitios en Colombia, no obstante, pueden ser de

utilidad donde la propagación vegetativa es posible. Los resultados hasta el presente indican que hay accesiones de *A. pintoi* claramente superiores a *A. pintoi* CIAT 1743 en rendimiento de MS y persistencia. La prioridad ahora es distribuir en forma oficial estas accesiones superiores y asegurar la adopción amplia por los productores.

Estudios con *Arachis* en Costa Rica.

En el Cuadro 38 se muestra el número promedio de plántulas/m² registrado para las dos accesiones (*A. pintoi* CIAT 17434 y 18744) entre 1994 y 1997. Este número fue de 23 para *A. pintoi* CIAT 18744 y de 12 para *A. pintoi* CIAT 17434 durante el primer año. El número de plántulas aumentó a partir del segundo año y siguientes, siendo mayor para *A. pintoi* CIAT 17434 que para *A. pintoi* CIAT 18744. Al final de las observaciones, 1 mes después del comienzo de las lluvias, la cobertura del suelo por las plantas fue entre 90% y 95% en el primer año y de 100% entre 1995 y 1997. Sólo unos pocos estolones sobrevivieron la época seca, en particular en *A. pintoi* CIAT 18744 y la regeneración de la población de plántulas ocurrió a partir de semillas subterráneas.

Cuadro 37. Producción de semilla de accesiones seleccionadas de *Arachis pintoi* en Armenia, Colombia.

Especie	Accesión (no. CIAT)	Semilla clasificada (kg)	Area (ha)	Rendimiento (kg/ha)	Observaciones
<i>A. pintoi</i>	17434	643	0.25	2572	Primera cosecha
	18748	818	0.48	1704	Primera cosecha
	18744	727	0.49	1483	Primera cosecha
	18744	120	0.09	1333	Segunda cosecha
	22160	490	0.49	1000	Primera cosecha
	22159	46	0.06	758	Material vegetativo
	22155	2	0.01	210	Material vegetativo
	18747	7	0.01	690	Material vegetativo
	22172	11	0.01	1150	Material vegetativo
	18751	10	0.01	1030	Material vegetativo

Cuadro 38. Número promedio de plántulas/m² y cobertura de suelo (%) de dos accesiones de *Arachis pintoi* al comienzo de las lluvias en un sitio tropical subhúmedo en Costa Rica.

Accesión (no. CIAT)	Año de observación			
	1994	1995	1996	1997
	(Número promedio de plántulas/m ²)			
<i>A. pintoi</i> 18744	23	65	196	88
Rango	(7-45)	(20-111)	(168-236)	(54-100)
<i>A. pintoi</i> 17434	12	1013	473	1056
Rango	(4-26)	(816-1270)	(350-550)	(558-1398)
Fecha de observación	6/5-6/6	27/3-22/5	8/4-13/5	7/5-4/6
Cobertura de suelo en la última fecha (%)	95	100	100	100

En general, los resultados indican que en un ambiente subhúmedo *A. pintoi* CIAT 17434 cv. Maní Forrajero Perenne produjo más plántulas/m² durante los años de observación. Este mayor número de plántulas estuvo relacionado con los mayores rendimientos de semilla registrados con este cultivar en este y otros sitios. *Arachis pintoi* CIAT 187440 es más estolonífero y forma una alfombra espesa de tallos (estolones) que pueden obstaculizar el desarrollo de tallos florales durante la fase de frutificación y, por tanto, reducir el número de semillas en el perfil del suelo.

Se encontraron diferencias entre años en el número de plántulas registradas para cada accesión de *A. pintoi*, lo que puede estar relacionado con almacenamiento de semillas en el suelo, manejo de cultivos durante la estación lluviosa y la regularidad de suficiente lluvia durante el período de las observaciones para estimular la germinación continua. Pero, en cualquier caso el número de plántulas observado más algún rebrote que provenía de los estolones que sobrevivían fue suficiente para una cobertura total del suelo, 30 días después del comienzo de las lluvias. En resumen, los resultados indican que ambas accesiones de *A. pintoi* persisten en condiciones subhúmedas, aunque su contribución a la producción de forraje al final

de la época seca es mínima. Como ocurre con la mayoría de las forrajeras, la contribución principal de esta leguminosa al animal en pastoreo es mayor durante el período de lluvias.

Estudios con Brachiaria en Colombia.

Se observó variación genética entre las líneas de *Brachiaria* en rendimiento de forraje y carbohidratos no estructurales, y en contenido de cenizas en hojas y tallos (Cuadro 39).

Entre los recombinantes genéticos promisorios, BRN093/3009 mostró mayores niveles de carbohidratos no estructurales y de cenizas en hojas y tallos en la época seca, pero las diferencias entre recombinantes genéticos y sus progenitores, tanto en niveles de carbohidrato no estructural como en contenido de ceniza, no siempre se asociaron con diferencias en rendimiento de forraje en la época seca. Estos resultados preliminares indican que bajo condiciones de baja fertilidad en suelos ácidos, la tolerancia a la sequía quizás no está estrechamente relacionada con los niveles de carbohidratos no estructurales o minerales en hojas y tallos, tal como se había postulado, ya que el nivel de suministro de nutrimentos en el suelo puede interactuar con la tolerancia de *Brachiaria* a la sequía.

Cuadro 39. Variación genotípica en carbohidratos no estructurales y contenido de ceniza en hojas y tallos y su relación con producción de forraje entre recombinantes genéticos seleccionados, progenitores y otras accesiones de germoplasma de *Brachiaria*, creciendo durante épocas húmedas y secas en un Oxisol franco-arenoso de Carimagua, Colombia.

Genotipo	Forraje (g/planta)		Carbohidratos no estructurales (mg/g)				Contenido de ceniza (%)				
	Húmeda	Seca	Hojas		Tallos		Hojas		Tallos		
			Húmeda	Seca	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca	
Epoca:											
Recombinante:											
BRN093/1371	175	84	131	156	127	117	13.1	10.3	8.5	8.4	
FM920/1873	220	160	148	167	113	129	11.9	9.8	7.4	9.1	
BRN093/3009	234	159	167	218	139	141	12.8	11.6	9.3	9.7	
Progenitores:											
CIAT 606	246	85	156	176	105	130	9.4	6.9	8.5	9.5	
CIAT 6780	343	174	183	155	102	116	11.1	9.3	11.9	9.3	
BRUZ/44-02	59	4.7	155	166	128	134	11.1	6.6	9.6	4.9	
CIAT 26646	273	139	166	161	107	114	5.3	7.9	5.8	7.4	

La utilidad de atributos como niveles de carbohidrato no estructural, contenido de ceniza y área foliar específica para medir tolerancia a la sequía se están evaluando aún más en experimentos de campo con *Brachiaria* y *Arachis* en Atenas (Costa Rica), donde la fertilidad del suelo no es un limitante principal para tolerancia a la época seca. En el Cuadro 40 aparece el listado de germoplasma elite de *Brachiaria* y *Arachis* seleccionado.

Cuadro 40. Listado tentativo de germoplasma elite de *Brachiaria* y *Arachis* identificado en ensayos agronómicos multilocacionales.

<i>Arachis pintoi</i> (no. CIAT)	<i>Brachiaria</i> spp. (no. CIAT)
18744	16322
18744	26110
22160	26124
22159	26318
22155	16113
18747	1873 y 1737 (híbridos)
22172	—
18751	—

Actividad 3.2.2. Atributos de planta en genotipos seleccionados de *Brachiaria*, *Arachis* y *Calliandra* por tolerancia a sequía (I. M. Rao, J.W. Miles)

Justificación. La identificación de los atributos asociados con tolerancia a la época seca ayudará en la evaluación futura de germoplasma de estos y, quizás, de otros géneros planta.

Resultados. En 1997 no se realizaron trabajo en este tema.

Subproducto 3.3. Genotipos de *Brachiaria* y *Paspalum* identificados y caracterizados con adaptación a suelos mal drenados

Aspectos sobresalientes

- La accesión *B. brizantha* CIAT 26110 sobrevivió en suelos inundados mediante la producción de raíces adventicias, la estratificación de raíces a lo largo de la superficie del nivel freático y el desarrollo de tejido arénquima en la corteza de la raíz.

- El cultivar comercial *B. brizantha* CIAT 6780 cv. Marandú también sobrevivió a condiciones de inundación al desarrollar tejido arénquima y la estratificación de las raíces a lo largo de la superficie del nivel freático.
- Tanto *B. brizantha* CIAT 26110 como *B. brizantha* cv. Marandú sobrevivieron mejor en condiciones de inundación que en suelos con estrés por falta de agua; mientras que *B. dictyoneura* cv. Llanero se adapta a cualquiera de estas condiciones mediante la modificación de las células corticales en los espacios intercelulares y la lignificación del cilindro vascular.
- Se liberaron nuevas colecciones de accesiones de *Paspalum* para establecimiento de ensayo de campo en CIAT-Quilichao.

Actividad 3.3.1. Ensayos de campo para determinar la variación genotípica en *Brachiaria* y *Paspalum* para adaptación a suelos mal drenados (F. R. Casola, N. Vásquez, R. A. González, C. Henríquez, P. J. Argel, I. M. Rao, J. W. Miles)

Justificación. En los Llanos de Colombia y Venezuela es frecuente la presencia de áreas de sabanas mal drenadas. Las forrajeras tradicionales como *B. decumbens* y *B. brizantha* no se adaptan bien en estas condiciones. No obstante, existen algunas especies de *Paspalum* que tiene buen comportamiento. El Banco de Germoplasma en el CIAT no disponía de ecotipos de *Paspalum* adaptados a suelos inundados, hasta que recientemente se introdujeron algunos materiales de Brasil.

La disponibilidad comercial de los cultivares de *Brachiaria* ha aumentado durante el último decenio, en particular para las tierras tropicales bajas. Líneas de esta gramínea se adaptan a una variedad amplia de ambientes incluyendo suelos ácidos y mal drenados; sin embargo, *B. brizantha* cv. Marandú, reconocido por su calidad y resistencia a salivazo, es susceptible a suelos inundados, presentando una alta mortalidad de plantas y pérdida de productividad. Existen líneas nuevas de *Brachiaria* que están disponibles, bien sea para colección o para programas de mejoramiento, por lo tanto, es necesario estudiar y caracterizar su la tolerancia a condiciones inundación, antes de iniciar estudios más avanzados.

Métodos

Estudios en Colombia. En un ensayo multilocacional se establecieron varias accesiones de *Brachiaria*. Aunque ninguno de los sitios se seleccionó por condiciones de drenaje pobre, se espera hacer observaciones sobre adaptación a estas condiciones en alguno de ellos. En Quilichao se tienen ocho accesiones de *Paspalum* en un ensayo de parcelas pequeñas en un sitio mal drenado.

Estudios en Costa Rica. En el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, (Costa Rica) se plantaron *B. dictyoneura* CIAT 6133 cv. Llanero y de *B. brizantha* CIAT 16322, 26110 y 6780 cv. Marandú en macetas conteniendo suelo franco-arenoso (pH = 5.3, MO = 7.6%, P = 3.5 ppm y 0.12 ppm de K) .

Después de 60 días de crecimiento se aplicaron en un diseño de parcelas divididas con tres replicaciones los tratamientos siguientes de riego: (1) inferior a la capacidad del campo (estrés por falta de agua), (2)

capacidad del campo, y (3) superior a la capacidad del campo (inundación). Las mediciones se hicieron al inicio y a 9, 18 y 27 días después de la aplicación de los tratamientos. Se midieron: la anatomía de la raíz; la altura de la planta; el número de macollas; el ángulo de la hoja; la inserción de los tallos; el peso seco de hojas verdes, tallos y raíces; y el material muerto. Durante el período de observaciones las plantas en el tratamiento de estrés no recibieron agua, mientras que las condiciones de inundación se mantuvieron mediante la colocación de una bolsa plástica dentro de la maceta.

Resultados. En Costa Rica, la humedad no afectó significativamente la altura de la planta, el número de macollas ni el ángulo de inserción de la hoja en los tallos durante el período de observaciones. Sin embargo, se observó una tendencia al aumento de macollas bajo el tratamiento de capacidad de campo. Después de 20 días bajo estrés por falta de agua, *B. brizantha* CIAT 26110, 16322 y cv. Marandú mostraron hojas enrolladas y signos de mortalidad de planta, mientras que *B. dictyoneura* cv. Llanero presentó una mejor supervivencia de plantas. La proporción de material muerto; peso seco de raíces, tallos; y hojas verdes fue significativamente ($P < 0.05$) afectada por el suministro de humedad. *Brachiaria brizantha* CIAT 26110, cv. Marandú y *B. dictyoneura* cv. Llanero produjeron proporciones similares de hojas verdes cuando crecieron bajo condiciones de capacidad del campo e inundadas; mientras *B. brizantha* CIAT 16322 produjo hojas verdes sólo en condiciones de capacidad del campo. Esta última accesión no toleró la sequía ni la inundación y, en consecuencia, no se consideró para los estudios morfológicos y anatómicos.

Todas las especies de *Brachiaria*

presentaron una alta proporción de material muerto bajo condiciones de estrés por falta de agua. Bajo condiciones de saturación de agua, *B. brizantha* CIAT 26110 produjo la proporción más baja de material muerto. Esta accesión toleró mejor las condiciones de inundación que de estrés por falta de agua. El peso seco del tallo y de la raíz se redujeron significativamente ($P < 0.05$) tanto por estrés por falta de agua como por inundación, sin embargo, no se observaron diferencias en peso seco de la raíz entre especies de *Brachiaria*. La respuesta a inundación fue más notoria que a estrés por falta de agua. La anatomía de la raíz de *B. brizantha* CIAT 26110 y de *B. brizantha* cv. Marandú no se modificó bajo condiciones de estrés por falta de agua, lo que puede ayudar a la pobre supervivencia de estos genotipos. Por el contrario, las plantas de *B. dictyoneura* cv. Llanero convirtieron células de la corteza de la raíz en espacios de aire que permiten el intercambio de gas entre ésta y el ambiente. Este cultivar sobrevivió los 27 días de tratamiento de estrés por falta de agua.

Bajo saturación de agua *B. brizantha* CIAT 26110, *B. brizantha* cv. Marandú y *B. dictyoneura* cv. Llanero aumentaron rápidamente sus espacios intercelulares en la corteza de la raíz seguido de la abundante formación de tejido arénquima (adaptación anatómica). Además, *B. brizantha* CIAT 26110 empezó a producir raíces adventicias de los nudos inferiores 9 días después de iniciar los tratamientos (Figura 41). Esta accesión y *B. brizantha* cv. Marandú estratificaron sus raíces a lo largo de la superficie del agua como un mecanismo adicional de adaptación a condiciones de inundación (adaptación morfológica). Sin embargo, después de 27 días de inundación, *B. brizantha* CIAT 26110 mostró síntomas de clorosis general.



Figura 41. Raíces adventicias de *Brachiaria brizantha* CIAT 26110 formadas en condiciones de inundación (CATIE, 1997).

Los mecanismos de supervivencia bajo saturación de agua en el suelo de las especies de *Brachiaria* en estudio parece ser similar y estar relacionada con la adaptación anatómica y morfológica, tanto por la formación de tejido arénquima en la corteza de la raíz y/o el desarrollo de raíces adventicias. El tejido arénquima mejora la difusión de oxígeno atmosférico de la parte aérea a las raíces, mientras que las raíces adventicias permiten la absorción de agua después de la pérdida del sistema radicular original y contribuyen a la absorción rápida de oxígeno y nutrimentos desde la columna de agua.

Las raíces adventicias son también sitios de fermentación alcohólica acelerada que proveen energía en condiciones anaeróbicas. Las raíces adventicias aparecen más temprano en *B. brizantha* CIAT 26110 que en otras accesiones de *Brachiaria* y esto pudo ayudar en

la supervivencia adecuada de la planta en las condiciones de inundación impuestas. Sin embargo, la clorosis observada después de 27 días de inundación continua indican que esta *Brachiaria* quizás no tolere períodos prolongados de suelo saturado con agua. *Brachiaria brizantha* cv. Marandú también sobrevivió las condiciones inundadas impuestas, aunque no formó raíces adventicias. Por lo tanto, la alta mortalidad de la planta de este cultivar en suelos saturados de agua debe estar relacionada con otras causas, como sensibilidad a agentes patógenos presentes en los suelos.

Los cambios en anatomía de la raíz, como la formación de espacios intercelulares bajo condiciones de déficit de agua y la alta lignificación del cilindro vascular bajo saturación. Los cambios en anatomía de la raíz, como la formación de espacios intercelulares bajo de agua, fueron los mecanismos observados en este estudio que le permitieron a *B. dictyoneura* cv. Llanero sobrevivir, tanto en condiciones de inundación como de sequía. Esto es interesante, ya que las plantas tolerantes a inundaciones son, en general, sensibles a la sequía. Quizás otros mecanismos no considerados en este estudio son responsables del buen comportamiento de esta planta en condiciones de estrés.

Actividad 3.3.2. Colección central de *Brachiaria* y *Paspalum* con tolerancia a suelos mal drenados para multiplicación de semillas y ensayos regionales (P. J. Argel, J. W. Miles)

Justificación. El mantenimiento de una colección central de accesiones de *Brachiaria* y de *Paspalum* con tolerancia reconocida a suelos mal drenados será un recurso valioso para grandes zonas de los ecosistemas Llanos de Venezuela y Colombia, y varzeas en los

Cerrados brasileños.

Métodos. Se hicieron observaciones iniciales en ensayos de parcelas pequeñas para confirmar mediante una evaluación más rigurosa el comportamiento de especies forrajeras en condiciones de drenaje pobre.

Resultados. Se están identificando varias accesiones promisorias en condiciones controladas en Costa Rica.

Discusión. Se espera la identificación de la colección central de germoplasma y su confirmación posterior. Será posible identificar una o varias accesiones de *Brachiaria* con comportamiento superior bajo condiciones de mal drenaje. Este resultado requeriría de una confirmación posterior en condiciones más controladas. Después de la multiplicación inicial de semillas, las accesiones de *Paspalum* se probarán más rigurosamente por su comportamiento agronómico bajo condiciones de drenaje pobre, posiblemente en uno o varios sitios de la Costa Norte y en los Llanos Orientales de Colombia (por ej., en Casanare).

Subproducto 3.4. Genotipos identificados y caracterizados de especies de leguminosas arbustivas con tolerancia a baja temperatura y a la sequía

Aspectos sobresalientes

- Se registraron diferencias en rendimientos de MS, capacidad de rebrote, retención de hojas en la época seca y tolerancia al Psyllid (*Heteropsylla cubana*), insecto plaga en nuevas especies y líneas de *Leucaena*.
- Se encontraron especies de leguminosas

arbustivas (*Rhynchosia*, *Calliandra* y *Flemingia*) que se desarrollan bien en zonas de laderas de altitud media.

Actividad 3.4.1. Revisión de bibliografía sobre adaptación de leguminosas tropicales a bajas temperaturas (B. L. Maass, J. W. Miles)

Justificación. Debido al enfoque especial del CIAT en ecosistemas de ladera localizados a mayores alturas sobre el nivel del mar, es necesario disponer de nuevo germoplasma forrajero adaptado a bajas temperaturas.

Métodos. El enfoque inicial consistirá en la búsqueda de bibliografía.

Resultados. En 1997 no se adelantaron actividades en este sentido.

Discusión. Para esta tarea es necesario disponer de recursos humanos y financieros.

Actividad 3.4.2. Acceso a la colección central de *Trifolium* en el ILRI (Maass B.L., C. Guevara)

Justificación. El género *Trifolium* contiene muchas especies perennes y anuales con adaptación excelente a ambientes en zonas de ladera y de baja temperatura. El ILRI tiene una colección grande de germoplasma de *Trifolium* recolectado en los altiplanos de Africa Oriental, en ambientes que deben corresponder bien con sitios andinos montañosos en América del Sur. Gran parte de este germoplasma se ha probado en África y se han encontrado accesiones promisorias.

Métodos. Se solicitará al ILRI accesiones elite disponibles en su colección y una vez pasen por cuarentena se liberarán para ensayos de campo en zonas de ladera de Colombia y en

otros sitios en América Latina.

Resultados. En 1997 no se adelantaron actividades en este sentido.

Discusión. Algunas accesiones de *Trifolium* ya han sido enviadas al CIAT, pero aún no se encuentran disponibles para ensayos en el campo, debido al proceso de cuarentena.

Actividad 3.4.3. Ensayos en el campo para determinar variación genotípica para tolerancia a baja temperatura de leguminosas arbustivas seleccionadas (Maass B.L., E. Cárdenas, Miles J.W.)

Justificación. Una amplia variedad de leguminosas arbustivas ha sido evaluada para detectar adaptación a condiciones tropicales de tierras bajas. Parte de este germoplasma puede ser de utilidad a mayores alturas sobre el nivel del mar.

Métodos. Desde 1996 en dos sitios del departamento de Cauca (Colombia) (1200 a 1600 m.s.n.m) se están evaluando 51 accesiones que cubren una variedad amplia de especies y géneros de leguminosas arbustivas. Las plantas se trasplantaron en parcelas de una hilera. Estas parcelas han sido manejadas mediante defoliación periódica y medición del rendimiento de MS y la persistencia de plantas.

Resultados. Entre las accesiones con alto rendimiento de MS se encontraron algunas de *Rhynchosia shomburgkii*, *Calliandra houstoniana* y *Flemingia macrophylla* (Cuadro 41). Se sabe que *F. macrophylla* tiene problemas de palatabilidad, de manera que su uso como una planta forrajera es limitado. Sin embargo, puede tener otros usos diferentes como mejoramiento del suelo y como barrera para evitar la erosión. Los atributos forrajeros

de *R. shomburgkii* y *C. houstoniana* están en evaluación.

Cuadro 41 Producción de MS, incluyendo tallos finos, de leguminosas arbustivas en dos sitios de ladera de altitud media. Cauca, Colombia 1997.

	Accesión (no. CIAT)	Rendimiento (MS, g/planta)	Desviación estándar
San Vicente (17 de julio)			
Especies de árboles			
<i>Flemingia macrophylla</i>	17405	532	458
<i>Calliandra houstoniana</i>	20399	426	285
<i>Pueraria wallichii</i>	21076	327	145
<i>Calliandra sp.</i>	21420	326	208
<i>Leucaena diversifolia</i>	17271	305	186
<i>Flemingia macrophylla</i>	19457	302	168
<i>Senna Velutina</i>	18704	291	170
<i>Calliandra calothyrsus</i>	21528	241	143
<i>Senna siamea</i>	20698	178	85
<i>Clitoria fairchildiana</i>	18721	173	86
<i>Acacia farnesiana</i>	21509	170	106
<i>Clitoria fairchildiana</i>	18724	145	137
<i>Flemingia macrophylla</i>	21089	71	99
<i>Ateleia ovata</i>	7362	26	44
Promedio		254	545
Especies arbustivas			
<i>Rhynchosia shomburgkii</i>	19235	483	340
<i>Rhynchosia shomburgkii</i>	20800	364	148
<i>Flemingia macrophylla</i>	21079	105	31
<i>Flemingia macrophylla</i>	18048	72	33
Promedio		309	270
Melcho (31 de julio)			
Especie de árboles			
<i>Calliandra houstoniana</i>	20399	346	420
<i>Flemingia macrophylla</i>	19457	274	262
Promedio		317	356
Especies arbustivas			
<i>Rhynchosia shomburgkii</i>	19235	496	260

Discusión. Se están identificando accesiones de leguminosas arbustivas con potencial de adaptación a sitios de mayor altitud. Esto requiere de la multiplicación y distribución de ensayos en fincas localizadas en sitios de ladera. Aún es necesario determinar su conveniencia como forrajeras u otros usos.

Actividad 3.4.4. Evaluación de nuevas especies de *Leucaena* en condiciones subhúmedas (P. J. Argel, G. Pérez y A. Pottinger)

Justificación. *Leucaena leucocephala* es una especie reconocida por la producción de madera y forraje de buena calidad. La pobre adaptación de la especie a suelos ácidos, la poca tolerancia a la sequía y la sensibilidad al ataque del insecto Psyllid (*Heteropsylla cubana*) son razones suficientes para estudiar una variedad amplia de nuevas especies de este género. Recientemente el Instituto Forestal de Oxford (OFI), en Inglaterra, ha recolectado especies nuevas en México y Centroamérica. Estas líneas están ahora disponibles para estudio y se justifica caracterizar su rango de adaptación y calidad forrajera. Se presentan resultados preliminares de un ensayo establecido en Costa Rica.

Métodos. En 1996 se plantaron en la ECAG (Costa Rica) 19 líneas de especies diferentes de *Leucaena*. El sitio es un bosque tropical subhúmedo ubicado a 200 m.s.n.m., 1600 mm de precipitación anual, temperatura media de 23.7 °C y suelos Inceptisoles de fertilidad media. La época lluviosa comienza normalmente en mayo, y la época seca se extiende entre 5 y 6 meses a partir de noviembre. La siembra se hizo directamente en filas colocando dos semillas por sitio distanciados 0.5 m. Las plantas se ralearon posteriormente dejando una en cada sitio de siembra y 10 por parcela. Cada especie se replicó cuatro veces. Se midieron la altura y el diámetro de la planta a los 3.5 meses después de siembra, y la retención de hojas y mortalidad de plantas a los 9.8 meses, al final de 6 meses de sequía. Once meses después de siembra, las plantas se cortaron a 50 cm del suelo y la producción de MS se midió después de 8 semanas de crecimiento. La incidencia del insecto Psyllid y de enfermedades por hongos se ha sido registrada en intervalos mensuales. En este ensayo los testigos fueron una línea seleccionada de *L. leucocephala* CIAT

17263, una de *C. calothyrsus* introducida de Australia (CPI 115690) y el arbusto nuevo *Cratylia argentea* CIAT 18668.

Resultados. Los resultados del primer corte de evaluación se presentan en cuadro 42. Diez líneas diferentes alcanzaron más de 1m de altura durante los 9.8 primeros meses de crecimiento; la mayoría de las especies mostraron fuerte dominancia apical, con la excepción de *L. pallida* 79/92, *L. leucocephala* CIAT 17263 y el híbrido 1/95 de *Leucaena* que mostraron dominancia apical débil. Se ha observado considerable variación en relación con el crecimiento de plantas, rendimientos de MS y tolerancia a la sequía entre especies de *Leucaena* (ver Cuadro 42).

La capacidad de rebrote varió significativamente entre especies después del corte de uniformización. *Leucaena leucocephala glabrata* 34/92 (K636), una introducción de Waimanalo (E.U.), presentó el mayor rebrote (casi 2 m en 8 semanas), seguida de *L. collinsii* 52/88, *L. salvadorensis* 17/86, *L. macrophylla nelsonii* 47/85 y *L. diversifolia stenocarpa* 53/88. El rebrote fue muy pobre en *L. multicapitulata* 81/87, *L. esculenta* 47/87, *L. trichodes* 61/88, *L. pulverulenta* 83/87 y el control *C. calothyrsus* DPI 115690. Durante los 6 meses de la época seca, las especies *L. pallida* y *L. esculenta* 47/87 se defoliaron severamente, mientras que *L. leucocephala glabrata* 34/92 (K636), *Leucaena* híbrido 1/95, *L. macrophylla nelsonii* 47/85 y *L. shannonii magnifica* 19/84 retuvieron entre 60% y 80% del follaje verde. Sin embargo, en este sentido el control *C. argentea* CIAT 18668 fue mejor y retuvo una proporción aún mayor de hoja verde. Se han observado diferencias en tolerancia a Psyllid, aunque no se ha registrado mortalidad de plantas hasta el presente.

Cuadro 42. Altura de planta, retención de hojas y producción de MS de nuevas especies de *Leucaena*, establecidas en Atenas (Costa Rica). Promedios de la primera evaluación realizada a los 8 meses de crecimiento.

Especies	(No.)	Altura de la planta (cm) ^a	Retención de hojas (%) *	Rendimiento MS (g/planta)	
				Total	Aprovechabl
<i>L. collinsii</i>	52/88	169	3.5	91 a **	76 (84) ^b
<i>L. divers. stenocarpa</i>	53/88	141	3.1	89 a	76 (85)
<i>L.l. glabrata</i>	34/92	254	4.4	89 un	72 (81)
<i>C. argentea</i> (CIAT)	18668	119	4.5	86 ab	83 (97)
<i>L. pallida</i>	79/92	119	2.9	74 abc	64 (86)
<i>L. pallida</i>	52/87	130	1.9	71 abc	59 (83)
<i>L. salvadorensis</i>	17/86	154	3.9	69 abc	62 (90)
<i>L. diversifolia</i>	83/92	139	2.8	62 abc	51 (82)
<i>L. pallida</i>	14/96	124	3.1	59 abc	57 (97)
<i>L. 'híbrido'</i>	1/95	128	4.0	58 abc	55 (95)
<i>L. esculenta esculenta</i>	47/87	74	1.9	53 abcd	49 (92)
<i>L. lanceolata</i>	43/85	115	3.5	48 abcde	45 (94)
<i>L. macrophylla nelsonii</i>	47/85	144	4.1	48 abcde	43 (90)
<i>L. pulverulenta</i>	83/87	87	3.4	44 bcde	44 (100)
<i>L. collinsii zacapana</i>	56/88	133	3.4	43 bcde	42 (98)
<i>L. leucocephala</i>	17263	91	3.8	43 bcde	42 (98)
<i>C. calothyrsus</i> (DPI)	115690	55	2.9	39 cde	36 (92)
<i>L. shannonii magnifica</i>	19/84	124	4.0	34 cde	32 (94)
<i>L. lempirana</i>	6/91	133	3.1	33 cde	33 (100)
<i>L. trichodes</i>	61/88	83	2.5	14 de	14 (100)
<i>L. multicapitulata</i>	81/87	56	2.5	9 e	9 (100)

a. Mediciones realizadas 9.8 meses después de la siembra y al final de 6 meses de la época seca en 1997. (Escala de retención de hojas: 1= menos del 20%; 2 = 20-40%; 3 = 40-60%; 4 = 60-80% y 5 = > 80%).

**< 0.05

*** En paréntesis el porcentaje de MS aprovechable para animales con relacionado a MS total.

En la mitad de la época de lluvias, *L. multicapitulata* 81/87 presentó la mayor defoliación causada por el insecto (alrededor de 25% de defoliación de hojas jóvenes). *Leucaena collinsii zacapana* 56/88, *Leucaena* híbrido 1/95, *L. lanceolata* 43/85, *L. lempirana* 6/91, *L. l. glabrata* 34/92 (K636), *L. salvadorensis* 17/86 y *L. trichodes* 61/88, presentaron amarillamiento en hojas jóvenes cubiertas con savia. Las restantes introducciones han mostrado sólo presencia del insecto. Se observaron ataques leves del hongo *Camptomeris leucaneae* en *L. esculenta* 47/87, *L. pallida* 79/92 y 14/96.

Discusión. Las especies nuevas de *Leucaena* en evaluación tienen proveniencias diferentes que incluyen Hawai, México, Guatemala, Honduras, Panamá y Ecuador. Se introdujo una línea compuesta de Australia (*L. pallida* 14/96).

Este ensayo forma parte de un conjunto de ensayos multilocacionales, que se está estableciendo en regiones húmedas y subhúmedas de América Latina y el Caribe con apoyo de OFI. Estos resultados iniciales indican que, hay variación entre las líneas de *Leucaena* en tolerancia a Psyllid, rendimientos de MS, capacidad de rebrote después del corte y retención de hojas durante la época seca. *Leucaena collinsii* 52/88, *L. diversifolia stenocarpa* 53/88 y *L. leucocephala glabrata* 34/92 (K636) combinan buenos rendimientos de MS, rebrote adecuado después del cortar y alta retención de hojas, cualidades que son deseables en cualquier arbusto con potencial como una planta forrajera. Sin embargo, antes de sacar conclusiones definitivas es necesario analizar los resultados futuros de este y otros ensayo.

Actividad 3.4.5. Multiplicación de semillas

y evaluación regional de la colección central de leguminosas arbustivas por tolerancia al frío (J.W. Miles)

Justificación. Una vez se identifiquen especies y accesiones arbustivas promisorias por adaptación en sitios con baja temperatura, debe iniciarse la multiplicación de semillas para lanzamiento y promoción de cultivares.

Métodos. Se establecerán en gran escala parcelas de multiplicación de semillas, en un sitio apropiado [por ej., en CIAT-Popayán, a 1.800 m.s.n.m.]

Resultados: En 1997 se multiplicó semilla en pequeña escala de un grupo promisorio de accesiones de *Cajanus cajan* Varias accesiones, y plantas individuales dentro de ellas, fueron seleccionadas de un ensayo de campo realizado en Melcho, un lugar localizado en laderas del Cauca, Colombia. Estos ensayos se dejaron a polinización abierta para la recolección de semilla

Discusión. Los esfuerzos de multiplicación de semillas en gran escala deben ir acompañados de la identificación de accesiones promisorias por tolerancia a temperaturas bajas, en un amplio rango de especies de leguminosas arbustivas.

Subproducto 3.5. Interacciones genotipo:ambiente en el desempeño de *Brachiaria* y *Arachis*

Actividad 3.5.1. Ensayos multilocacionales con las colecciones centrales de *Brachiaria* y *Arachis* (J. W. Miles, B. L. Maass)

Aspecto sobresaliente

- Se terminaron ensayos multilocacionales con *Arachis* y se tienen ensayos en curso con *Brachiaria*.

Justificación. Entre 1991 y 1994 se evaluó en Carimagua una colección grande de accesiones de *Brachiaria*. De éstas se seleccionaron 18 accesiones, y durante 1995 se multiplicó semilla de estas dos accesiones testigos y un número igual de híbridos.

Métodos. Durante 1996 se establecieron ensayos multilocacionales para evaluar la adaptación de 24 accesiones en un amplio rango de ambientes. Estos trabajos se adelantan en colaboración con CORPOICA, universidades y participantes en el sector privado, dentro de un proyecto financiado por el Fondo Nacional de Ganado. Se han establecido 11 ensayos que se encuentran en progreso, en sitios localizados en la Costa del Norte, el Valle Medio del Magdalena, los Llanos Orientales y el Piedemonte amazónico.

Resultados. Los resultados de la fase de establecimiento se presentaron durante una reunión celebrada en Cartagena y los informes individuales de cada sitio se compilaron en un documento de trabajo. Se espera que a principios de 1998 se pueda identificar plenamente un número pequeño de accesiones elite (entre 5 y 6).

Discusión. A medida que se acumulan datos, será posible identificar accesiones promisorias e iniciar la multiplicación de semillas en gran escala destinada al establecimiento en 1999 de ensayos en parcelas grandes y con animales en pastoreo en fincas. Entre 1996 y 1997 se han producido cantidades pequeñas de semilla de algunas accesiones, las que pueden utilizarse para establecer dos ensayos de pastoreo a principios de 1998. Estos se plantarán, probablemente, en la región de la Costa Norte

de Colombia, debido a que allí se necesitan nuevas opciones de forrajeras y a la colaboración institucional brindada para el desarrollo de este proyecto.

Subproducto. 3.6. Información sobre diversidad genética de *Brachiaria*, *Arachis* y leguminosas arbustivas seleccionadas, asociada con adaptación ambiental

Aspecto sobresaliente

- Existe información sobre isoenzimas tanto para *Brachiaria* como para *Arachis*.

Actividad 3.6.1. Diversidad genética en germoplasma de *Brachiaria* y *Arachis* a través de isoenzimas (B.L. Maass, J.W. Miles)

Justificación. La comprensión de la organización de la diversidad genética en los géneros *Brachiaria* y *Arachis* ayudará, por ejemplo, en la elección de materiales paternos para un programa de hibridación y para seleccionar un banco de germoplasma básico para ensayos regionales

Métodos. Se han completado análisis de isoenzimas de colecciones tanto de *Brachiaria* como de *Arachis*. Los datos están en proceso de análisis estadístico.

Resultados Durante 1997 no se desarrollaron actividades en esta área.

Discusión. Un análisis de los datos requerirá recursos adicionales humanos y financieros.

Producto 4. Diversidad de Gramíneas y Leguminosas Superiores Entregadas para Evaluación

Subproducto 4.1. Liberación y entrega a productores en diferentes sistemas de producción de cultivares de gramíneas y leguminosas a través de los socios en la investigación

En el pasado la tarea de evaluación multilocacional de acervos genéticos superiores de gramíneas y leguminosas se realizó eficazmente a través de redes de investigación en Latioamérica y el Caribe (RIEPT) y en Africa Occidental (RABAOC), pero debido a la falta de ayuda financiera, estas redes no pudieron continuar operando. Sin embargo, el germoplasma forrajero seleccionado en el CIAT se está evaluando actualmente con la participación de agricultores en el Sudeste Asiático a través del Proyecto de Forrajes para Pequeños Productores financiado por ACIAR y con sede en el Proyecto de Sistemas del CIAT (PE-5).

Un objetivo importante del Proyecto de Gramíneas y Leguminosas Tropicales del CIAT es identificar socios de investigación en Latinoamérica y el Caribe que tengan interés en evaluar gramíneas y leguminosas seleccionadas para programas multipropósito en sistemas de producción.

La identificación de estos socios se está realizando través de:

1. La publicación periódica de listados de gramíneas y leguminosas para usos y agrosistemas específicos.
2. La distribución de semilla de gramíneas y leguminosas seleccionadas, según las solicitudes.
3. El establecimiento de vínculos con proyectos y consorcios del CIAT, que forman parte de iniciativas de producción animal en sistemas de pequeños productores, por ej., TROPILECHE.
4. La búsqueda de oportunidades para proyectos especiales.

Actividad 4.1.1. Establecimiento de coparticipaciones y vínculos con consorcios y redes de investigación para la entrega de nuevas gramíneas y leguminosas para ensayos en fincas (C. Lascano, J. Miles, F. Holmann y P. Argel)

Aspectos sobresalientes

- Entrega de especies forrajeras seleccionadas a socios a través de consorcios como TROPILECHE y proyectos de desarrollo ganadero y pasturas en la región.
- Lanzamiento oficial en Panamá de una mezcla de accesiones de *A. pintoii* CIAT 18744 y 17434 como cv. Maní Forrajero.
- Para mayo de 1998 se tiene planeado el lanzamiento oficial por el MAG en Costa Rica de *A. pintoii* CIAT 18744 como cv. Porvenir.

En Colombia. Durante 1997 se continuó la evaluación de accesiones e híbridos seleccionados de *Brachiaria* en un rango de ambientes. Esta investigación se hace a través de una red financiada por FEDEGAN (Federación de Ganaderos de Colombia). La red se desarrolla en 12 sitios e incluye como socios investigadores en forrajes de CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria), dos universidades colombianas y un productor privado. En este informe se presenta un avance de los progresos sobre las actividades de la red de *Brachiaria*.

En 1996, CORPOICA lanzó la iniciativa APlan de Modernización de la Ganadería con el apoyo financiero de COLCIENCIAS y FEDEGAN.

Durante 1977 se sostuvieron varias reuniones con los coordinadores generales y técnicos de la iniciativa para definir las áreas de colaboración.

Las siguientes actividades se llevaron a cabo durante el año como parte de esta colaboración.

1. capacitación de investigadores de CORPOICA en metodologías para evaluación de pasturas en fincas, mediante un taller celebrado en la estación CORPOICA-Macagual en el Caquetá,
2. capacitación de investigadores de CORPOICA en modelos de simulación bioeconómicos para la optimización de uso de recursos alimenticios, y
3. multiplicación de semillas de gramíneas (*B. brizantha* CIAT 26110), leguminosas arbustivas (*C. argentea* CIAT 18516 y 18668) y leguminosas herbáceas (*Stylosanthes guianensis* CIAT184 y *A. pintoii* CIAT 18744) para evaluación en fincas. Las semillas (50 kg de cada accesión) se están multiplicando en Atenas, Costa Rica.

También se está colaborando con la Regional-2 de CORPOICA en la Costa Norte de

Colombia en la evaluación de leguminosas herbáceas y arbustivas para sistemas ganaderos de doble propósito en regiones subhúmedas.

En Perú. La colaboración con instituciones peruanas data de medianos de los años ochenta cuando Pucallpa fue elegido por el CIAT como un sitio principal para la selección de forrajeras adaptadas a márgenes de bosques. Con la iniciación del Consorcio TROPILECHE en 1996, Pucallpa fue seleccionado como un sitio de referencia de los trópicos húmedos. A través de este Consorcio se está colaborando con CODESU, IVITA, INIA y la Universidad de Ucayali en el desarrollo de mejores técnicas de alimentación basadas en forrajes para ganado bovino de doble propósito.

Durante 1996 y 1997 las actividades se concentraron en el establecimiento de pasturas mejoradas *Brachiaria-Arachis* en cinco explotaciones agropecuarias, establecidas después de diferentes formas de uso de la tierra: bosque secundario, pasturas nativas y pasturas de gramíneas degradadas. Además, se seleccionaron cinco explotaciones para evaluar el efecto de *S. guianensis* CIAT 184 en el aumento de peso vivo de terneros predestetados. Los resultados mostraron que, terneros entre 2.5 y 3.5 meses de edad con acceso a la leguminosa ganaron tanto peso como terneros mantenidos al pie de la madre durante varias horas al día (sistema tradicional en la zona). Además, en el primer sistema la leche para venta fue 1 lt/vaca por día mayor que en el segundo. Por tanto, este sistema de alimentación basado en leguminosas podría tener un alto potencial de adopción por los agricultores, ya que permite un mejoramiento en el ingreso por venta de leche sin afectar el comportamiento del

ternero.

En Costa Rica. En 1996 se inició la evaluación de nuevas alternativas forrajeras dentro del Proyecto TROPILECHE con la colaboración de varias instituciones (MAG, ECAG, CATIE y la U. de Costa Rica). La región de Esparza en el Pacífico Central fue seleccionada como sitio de referencia que representa la Costa del Pacífico seco estacional de Centroamérica. En siete explotaciones agropecuarias que colaboran con TROPILECHE se están evaluando:

1. *Cratylia Argentea* y caña de azúcar como alimento en la estación seca para vacas en ordeño,
2. *Stylosanthes guianensis* CIAT 184 para terneros predestetados, y
3. pasturas de *B. brizantha*-*A. pintoi* para vacas en ordeño.

En 1997 fue necesario resembrar las parcelas de *Cratylia* debido a problemas de establecimiento y se planeó introducir *Arachis* en las pasturas de *Brachiara* recientemente sembradas. Por tanto, se espera que para fines de ese año, todas las explotaciones agropecuarias que colaboran en TROPILECHE tendrán las nuevas alternativas forrajeras plenamente establecidas y listas para generar resultados durante 1998 y años posteriores.

El MAG tiene planeado liberar durante 1998 la leguminosa *A. pintoi* CIAT 18744 como cultivar Porvenir. Actualmente se está multiplicando semilla para apoyar la distribución del nuevo cultivar.

En Nicaragua. Desde 1996 se ha venido colaborando con socios nicaragüenses a través de un proyecto de desarrollo lechero financiado por el Programa Mundial para la Alimentación. El trabajo, está vinculado con TROPILECHE a través de la evaluación en fincas de nuevas

alternativas de forrajes para laderas en las cuencas Muy-Muy y Matiguas de las zonas subhúmedas de Matagalpa. En 1996 se seleccionaron cuatro explotaciones agropecuarias para establecer *B. brizantha* cv. La Libertad en asociación con *A. pintoi* CIAT 18744 para vacas en ordeño. Además, se establecieron parcelas de *S. guianensis* CIAT 184 y *C. argentea* CIAT 18516 en dos explotaciones agropecuarias para uso con terneros predestetados y para suplementar vacas de ordeño en las épocas secas, respectivamente.

Los resultados hasta el presente indican que los terneros predestetados que pastan en *S. guianensis* CIAT 184 aumentaron 300 g/día en la estación seca, lo que contrasta con las pérdidas de peso vivo cercanas al 20% que ocurrieron al final de la época seca en el sistema tradicional.

En Honduras. En un intento por encontrar nuevos socios para evaluación de forrajes en la región, se realizó una visita a las autoridades de DICTA (Dirección de Ciencia y Tecnología) en Honduras. La visita fue oportuna, ya que DICTA había recibido ayuda financiera de Japón para establecer un fondo rotatorio de semillas de forrajeras y estaba ejecutando un nuevo modelo para transferencia de tecnologías, que incluye la participación significativa de agricultores. Fue claro que una manera eficaz de colaboración del CIAT sería a través de TROPILECHE, ya que una prioridad del país es mejorar la producción de leche en las tierras bajas húmedas de la Costa del Norte y en laderas subhúmedas de Yoro y Danlí. Por tanto, se acordó con las autoridades de DICTA que el CIAT colaboraría con ellos a través del su Proyecto PROPASTO (Proyecto de Pastos y Forrajes), en:

1. el suministro de semilla básica de gramíneas y leguminosas seleccionadas para evaluación en fincas y multiplicación en el futuro; 2. en la supervisión directa por P. Argel, asesor de Proyecto IP-5 y PE-5 en Centroamérica, en el establecimiento de pasturas mejoradas y bancos de leguminosa en explotaciones agropecuarias seleccionadas; y
3. en la capacitación en metodologías utilizadas en TROPILECHE para evaluación en fincas de nuevos recursos forrajeros.

Para el inicio de los trabajos en este año, DICTA adquirió 900 kg de semilla de *A. pintoi* más de 2.5 t de semillas de *Brachiaria* mejorada; además, P. Argel visitó el sitio de estudio en agosto de este año con el objeto de:

1. ayudar en la selección de explotaciones agropecuarias colaborativas dentro de los grupos de agricultores ya establecidos y que funcionan bajo la supervisión de DICTA; y
2. definir los componentes forrajeros que se evaluarán (pasturas de *Brachiaria-Arachis*, bancos de *Cratylia* para uso durante las épocas secas, y *S. guianensis* CIAT 184 para terneros predestetados en explotaciones seleccionadas.

Actividad 4.1.2. Multiplicación de semillas de especies forrajeras seleccionadas para ensayos en fincas (J. W. Miles y P. J. Argel)

Aspectos sobresalientes

- Contratos para la multiplicación de gramíneas y leguminosas seleccionadas con el objeto de mantener el desarrollo de proyectos ganaderos coordinados por CORPOICA

- Contratos para la multiplicación de ecotipos seleccionados de *A. pintoi* para evaluación en fincas y para apoyar su lanzamiento y distribución en Costa Rica
- Se multiplicó, para distribución en América Central, semilla básica y experimental de ecotipos altamente promisorios de *A. pintoi*, *C. argentea* y *B. brizantha*
- Por solicitud de los socios en las instituciones nacionales, durante el período octubre de 1996 y octubre de 1997, se entregaron 343 kg de semillas experimental y básica de gramíneas y leguminosas promisorias.

En CIAT-Palmira, Colombia. La multiplicación de semillas de gramíneas y leguminosas seleccionadas para apoyar la evaluación en fincas y para el prelanzamiento de cultivares, continuó siendo una actividad importante dentro del Proyecto IP-5. Durante 1997 se contrató con la empresa SEFO-SAM de Bolivia la multiplicación de ecotipos seleccionados de *A. pintoi* CIAT 18744, 18748 y 22160. Esta semilla se utilizará para suplir las necesidades del Proyecto Nestlé en Caquetá y proveer semilla básica para el lanzamiento de *A. pintoi* CIAT 18744) en Costa Rica. Se calcula que para finales de 1997 se tendrán disponibles entre 2 y 3 t de cada uno de estos ecotipos.

Además, en 1997 se hizo en Colombia un importante esfuerzo para multiplicar nuevas accesiones de *A. pintoi*, lográndose la producción de aproximadamente 3 t de semilla. Una producción más moderada de accesiones de *Brachiaria* se obtuvo en CIAT-Popayán y con Cenicafé en Chinchiná, Caldas

(Colombia). Con SEFO-SAM, también se hizo un contrato para la multiplicación de semillas a gran escala de tres nuevas accesiones de *A. pinto* y una de *B. brizantha*.

En CIAT-Atenas, Costa Rica. La multiplicación de semillas de especies de forraje promisorias es una actividad continúa de la Unidad de Semillas, localizada en la Escuela de Ganadería en Atenas, Costa Rica. Los sitios de producción incluyen suelos de fertilidad media y precipitación bien distribuida con un período seco definido que facilita la cosecha y el procesamiento de la semilla. La semilla básica y experimental producida se destinan para apoyar la evaluación y el proceso de distribución regional de nuevas forrajeras promisorias para usos múltiples.

Durante 1997 se produjeron 200 kg de semilla, gran parte del cual corresponde a *C. argentea* CIAT 18516 y 18668 (67 kg), *Centrosema macrocarpum* CIAT 25522 cv. Ucayali (22 kg) y *A. pinto* CIAT 18744 (78 kg). También se produjeron cantidades pequeñas de *Panicum maximum*, *Brachiaria* spp., *Desmodium velutinum*, *S. guianensis* y varias líneas de *A. pinto*.

Los campos de multiplicación se ampliaron durante 1997 para satisfacer la demanda adicional de semilla básica de CORPOICA (Colombia). La Unidad de Semilla está comprometida en la producción de 70 kg de *C. argentea*, 150 kg de *A. pinto* CIAT 18744 y *B. brizantha* CIAT 26110 para apoyar los trabajos de CORPOICA. Estas forrajeras son altamente promisorias, han alcanzado un estado de prelanzamiento en Costa Rica y están en etapas avanzadas de evaluación en otros países de Centroamérica.

Entrega de semillas. Durante el período comprendido entre octubre 1996 y octubre de

1997, la Unidad de Semillas recibió 74 solicitudes de 12 países por semilla experimental y básica de forrajeras para usos múltiples. Se entregaron, en total, 30 kg de gramíneas y 313 kg de leguminosas a instituciones nacionales en la región. La semilla principalmente se destinó a multiplicación en el país y para evaluaciones agronómicas y en finca.

Subproducto 4.2. Definición de nichos para cultivares seleccionados de gramíneas y leguminosas, según el análisis de las interacciones genotipo x ambiente

Actividad 4.2.1. Análisis de datos de comportamiento de germoplasma de leguminosas forrajeras en ensayos multilocacionales (A. Schmidt, B. L. Maass, B. Hincapié, L. H. Franco, G. Ramírez, J. W. Miles)

Aspecto sobresaliente

- Selección preliminar de nuevas accesiones de *A. pinto* con atributos superiores en relación con el cultivar comercial

Un objetivo importante del Proyecto de Forrajes es definir nichos ambientales para cultivares de gramíneas y leguminosas seleccionadas. Para alcanzar este objetivo, se realizaron ensayos multilocacionales con leguminosas (*A. pinto* y *D. ovalifolium*) y el análisis de los resultados se encuentra en proceso para definir interacciones genotipo x ambiente. Además, hay un ensayo multilocacional en curso con genotipos de *Brachiaria* en 12 localidades en Colombia.

De acuerdo con una evaluación preliminar de los resultados de ensayos multilocacionales con *Arachis*, se seleccionaron 10 accesiones promisorias para multiplicación de semillas y evaluación posterior en fincas.

Las nuevas accesiones de *A. pintoii* han mostrado ser superiores al cultivar comercial (*A. pintoii* CIAT 17434) en términos de establecimiento más rápido y compatibilidad con gramíneas agresivas. Sin embargo, los resultados indican diferencias grandes en rendimiento de semilla entre estas accesiones en la zona cafetera colombiana (Ver cuadro 37).

Subproducto 4.4. Comunicación efectiva de resultados de investigación a través de boletines informativos, revistas y talleres

Aspecto sobresaliente

- Publicación de un boletín informativo por el equipo del Proyecto de Forrajes y continuación de la publicación de la revista *Pasturas Tropicales*.

Actividad 4.4.1. Circular informativa

Una nueva iniciativa del Proyecto de Forrajes durante 1997 fue publicar cada 3 meses una circular dirigida a los socios en la región interesados en la investigación en forrajeras. El objetivo de la publicación es informar acontecimientos recientes en el Proyecto, el listado actualizado de especies seleccionadas para diferentes ecorregiones y su uso en sistemas de producción, y a anunciar reuniones internacionales sobre el tema de forrajes. El primer número trató sobre los objetivos del Proyecto, las actividades de investigación y los

resultados esperados; además se incluyó un listado de germoplasma forrajero para diferentes usos como barreras de erosión, cobertura, mejoramiento en barbecho y alimento para animales. En el segundo número se incluyó un resumen del trabajo con taninos en leguminosas tropicales y una descripción de una nueva metodología de invernadero para evaluar genotipos de *Bracharia* por resistencia a salivazo.

Actividad 4.4.2. Revista *Pasturas Tropicales* (C. Lascano)

Durante 1997 se continuó la publicación de la revista *Pasturas Tropicales* gracias a una donación única de COLCIENCIAS. Se publicaron tres números (18(3), 19(1) y 19(2)). Los temas cubiertos en estos volúmenes fueron: agronomía de forrajes, valor nutritivo, patología, producción animal, rehabilitación de pasturas y producción de semillas. Las contribuciones provinieron de instituciones de Brasil, Colombia, México y Argentina.

La demanda de publicación en *Pasturas Tropicales* está creciendo a una tasa rápida, ya que es la única revista en Latinoamérica y el Caribe especializada en forrajes que tiene una amplia distribución internacional. Entre diciembre de 1996 y agosto de 1997 se recibieron 39 contribuciones, de las cuales se publicaron 26. Debido a limitaciones presupuestales en el Proyecto de Forrajes, se tiene el reto de continuar la publicaciones de *Pasturas Tropicales* en 1998 y años siguientes. Para afrontarlo se están considerando varias opciones, entre ellas, aumentar el costo de suscripción, aceptar anuncios y cobrar un honorario por la publicación de las contribuciones.

Publicaciones

En revistas

- Badel, J. L. and Kelemu, S. 1997. Variación en crecimiento, esporulación y sensibilidad a benlate de aislamientos suramericanos de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Pasturas Tropicales* 19: 2-9.
- Barahona Rolando, Lascano C.E., Cochran Robert, Morrill Jim, and Titgemeyer Evan. C. 1997. Intake, digestion, and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. *J of Animal Science* 75:1633-1640
- Cameron, D., Charchar, M. J., Fernandes, C.D., Kelemu, S. and Chakraborty, S. 1997. Field evaluation of germplasm at the center of diversity. (in press)
- Chakraborty, S., Perrott, R., Charchar, M. J., Fernandes, C.D and Kelemu, S. 1997. Pathogenic and genetic variation in *Colletotrichum gloeosporioides* infecting *Stylosanthes* spp.: Implications for Australian cultivars. (Abstract). *Phytopathology* 87:S16.
- Chakraborty, S., Perrott, R., Charchar, M. J., Fernandes, C.D and Kelemu, S. 1997. Variation in the *Stylosanthes* anthracnose pathogen: Implications for Australian cultivars. In: Proceedings of the XVIII International Grassland Congress. 8.19 June, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Chakraborty, S., Perrott, R., Charchar, M. J., Fernandes, C.D and Kelemu, S. 1997. Genetic diversity in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from hosts other than *Stylosanthes guianensis*. (in press)
- Friesen, D.K., I. M. Rao, R. J. Thomas, A. Oberson and J. I. Sanz. 1997. Phosphorus acquisition and cycling in crop and pasture systems in low fertility tropical soils. *Plant and Soil* (in press).
- Hess H.D. y Lascano C.E. 1997. Comportamiento del consumo de forraje por novillos en pasturas de gramínea sola y asociada con una leguminosa. *Pasturas Tropicales* 19(No.2): 12-20.
- Kelemu, S., Badel, J. L., Moreno, C. X., Miles, J. W., Chakraborty, S., Fernandes, C.D. and Charchar, M. J. 1997. Genetic and pathogenic diversity in *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from *Stylosanthes guianensis*. (in press)
- Kelemu, S., Badel, J. L. and Fernandes, C. D. 1997. A new dieback disease of the forage legume *Stylosanthes* spp. in South America. (accepted)
- Lascano C.E., Avila, P y Ramirez G. 1996. Aspectos metodológicos en la evaluación de pasturas en fincas con ganado doble propósito. *Pasturas Tropicales*. 18 (No.3): 65-70
- Li, M., M. Osaki, I. M. Rao and T. Tadano 1997 Secretion of phytase from the roots of several plant species under phosphorus-deficient conditions. *Plant and Soil* (in press).
- Miles, J.W. and M.L. Escandón. 1997. Further evidence on the inheritance of reproductive mode in *Brachiaria*. *Can. J. Plant Sci.* 77:105-107.
- Miles, J.W. and C.B. do Valle. 1997. Avances en el mejoramiento de *Brachiaria* en América tropical. *Pasturas Tropicales* 19(2):50-52.
- Pineda, C.A., P. Wenzl, J. E. Mayer, J. Mesjasz-Przybylowicz, W.J. Przybylowicz and V. M. Prozesky. 1997. Study of the nutrient distribution in root tips of the tropical forage *Brachiaria*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* (In press).
- Rao, I.M., Borrero, V., Ricaurte, J., Garcia, R. and Ayarza, M.A. 1997. Adaptive attributes of tropical

forage species to acid soils III. Differences in phosphorus acquisition and utilization as influenced by varying phosphorus supply and soil type. *J. Plant Nutr.* 20: 155-180.

Skinner, D. Z., Duque, M. C., Vera-Cruz, C. M. and Kelemu, S. 1997. Resampling analysis-supported lineage assignments (RASLA): A method for finding relationships in large sets of genetic marker data. (In press).

En reuniones de trabajo y conferencias

Argel, P. J. 1996. Contribución de las leguminosas forrajeras a la producción animal en sistemas semi-intensivos de pastoreo. En: *Memorias Taller: Pastoreo Intensivo en Zonas Tropicales: Una alternativa rentable*. FIRA (Banco de Mexico). Veracruz, Mexico, noviembre 7 - 9, 1996. 20 p

Argel, P. J.; Valerio, A. y Martinez, R. 1996. Efecto de la quema y la aplicación de herbicidas en la sobrevivencia de *Arachis pintoi*. En: P. J. Argel y A. Ramirez (eds.). *Experiencias regionales con Arachis pintoi y planes futuros de investigación y promoción de la especie en Mexico, Centroamerica y el Caribe*. Memorias de Taller de trabajo realizado entre el 9 y el 13 de octubre de 1995, en San Jose, Costa Rica. RIEPT-MCAC, U. de Costa Rica, CIAT. p. 61-70.

Argel, P. J.; Villarreal, M.; Valerio, A. y Monge, L. F. 1996. Comportamiento de *Arachis pintoi* solo y asociado con especies de *Brachiaria* en pasturas invadidas por Ratana. En: P. J. Argel y A. Ramirez (eds.). *Experiencias regionales con Arachis pintoi y planes futuros de investigación y promoción de la especie en Mexico, Centroamerica y el Caribe*. Memorias de Taller de trabajo realizado entre el 9 y el 13 de octubre de 1995, en San Jose, Costa Rica. RIEPT-MCAC, U. de Costa Rica, CIAT. p. 34-44.

Argel, P.J., Pizarro, E.A. and Kerridge, P.C. 1997. *Arachis pintoi* - A multi-purpose legume for sustainable land use. In: XVIII Int. Grassl. Congr., June 8-19, Winnipeg, and Saskatoon, Saskatchewan, Canada. (in press).

Barahona R., Lascano C.E. Cochrane R.C, Morrill J.L and Tiggemeyer E.C. 1997. Condensed tannins in tropical legumes: Concentration, astringency and effects on the nutrition of ruminants. In: XVIII Int. Grassl. Cong., June 8-19, Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Session 8, 7-8.

Cruz, M., G. Sotelo and C. Cardona. 1997. Preferencia de alimentación y oviposición de adultos de salivazo *Aeneolamia varia* Fabricius, en genotipos de *Brachiaria* spp. In: Resúmenes del XXIV Congreso SOCOLEN. Entomología, Biodiversidad y Desarrollo Sostenible, Pereira, Colombia, Junio 16-18, pp 61.

Cruz, M., G. Sotelo and C. Cardona. 1997. Metodología alternativa para la cría de salivazo, *Aeneolamia varia* Fabricius (Homoptera: Cercopidae). In: Resúmenes del XXIV Congreso SOCOLEN. Entomología, Biodiversidad y Desarrollo Sostenible, Pereira, Colombia, Junio 16-18, pp 101.

Fisher, M.J., I. M. Rao and R. J. Thomas 1997 Nutrient cycling in tropical pastures, with special reference to the neotropical savannas. In: XVIII Int. Grassl. Cong., June 8-19, Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada.

Friesen, D.K., R. J. Thomas, I. M. Rao, E. Amézquita, T. Decaens and J. I. Sanz 1997 Processes of soil degradation and recuperation under rotational production systems on savanna Oxisols. Poster paper presented at International Workshop on "Green Manure - Cover Crop Systems for Smallholders in Tropical and Subtropical Regions", Chapecó, Santa Catarina, Brazil, April 6-12, 1997.

Friesen, D.K., I. M. Rao, R. J. Thomas, A. Oberson and J. A. Cepeda 1997 Phosphorus acquisition and cycling in low fertility tropical soils. Oral presentation at the workshop on Assessing and

- Improving the Sustainability of Land Use in Cerrado Region in Brazil", Bayreuth University, Bayreuth, Germany, June 23-26, 1997.
- Friesen, D.K., I. M. Rao, R. J. Thomas, A. Oberson and J. I. Sanz. 1997. Phosphorus acquisition and cycling in crop and pasture systems in low fertility tropical soils. Paper presented at XIII International Plant Nutrition Colloquium in Tokyo, Japan (September 13-18, 1997).
- Lascano C.E. Ruiz G.A. Velásquez J. and Rozo J. 1997. Validation of *Arachis pintoi* as a forage legume in commercial dual-purpose cattle farms in forest margins of Colombia. In: XVIII Int. Grassl. Cong. June 8-19, Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Session 24, 31-32.
- Maass Brigitte, Velasquez J.E., Lascano C.E. Ramirez, G and Franco L.H. 1997. *Codariocalyx gyroides*: A new forage option for the humid tropics. In: XVIII Int. Grassl. Cong. June 8-19, Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Session 1, 53-54.
- Miles, J.W. and C.B. do Valle. 1997. Advances in breeding apomictic *Brachiaria* in tropical America. In: XVIII Int. Grass. Cong., 8-19 June, Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Session 4, 63-64.
- Miles, J.W. 1997. A breeding scheme to exploit heterosis in apomicts. (Abstract). In: CIMMYT. 'Book of abstracts. The genetics and exploitation of heterosis in crops; an international symposium'. Mexico, DF, Mexico. p. 182-183.
- Peck, D. C. 1997. Avances en el proyecto bioecología del mión de los pastos. Avances de Investigación "Evaluación por adaptación edafoclimática y resistencia al mión de los pastos de 24 accesiones e híbridos de *Brachiaria*," (Relatorio). II Reunión Nacional de la Red de Investigadores de *Brachiaria*, 25-27 febrero, 1997 (Cartagena de Indias, Colombia). pp 7-9.
- Peck, D. C. 1997. Variación en la composición de especie y dinámica poblacional del salivazo en cuatro zonas del país. In: Resúmenes, XXIV Congreso de SOCOLEN, Entomología, Biodiversidad y Desarrollo Sostenible, Pereira, Colombia, 16 - 18 julio, p 68.
- Peck, D. C. 1997. Comparative performance of grassland spittlebug (Homoptera: Cercopidae) populations in four regions of Colombia. Annual Meeting of the Entomological Society of America, 14 - 18 December, 1997 (Nashville, USA).
- Pineda, C.A., Wenzl, P., Mayer, J.E., Mesjasz-Przybylowicz, J., Przybylowicz, W.J., and Prozesky, M.V. 1996. Nutrient distribution in roots of the tropical forage *Brachiaria* by nuclear microscopy. In: Proceedings of the 35th Annual Conference of the Microscopic Society of Southern Africa 26: 56.
- Rao, I.M., M. A. Ayarza and P. Herrera 1997 Root distribution and production in native and introduced pastures in the south American savannas. In: Proceedings of the 5th Symposium of the International Society of Root Research. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. (in press).
- Schmidt Axel, Lascano C.E., Shultze-Kraft R. and Maass B. 1997. An approach to define G x E interactions in a core collection of *Desmodium ovalifolium*. In: XVIII Int. Grassl. Cong. June 8-19. Winnipeg, Manitoba and Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Sotelo, G. and C. Cardona. 1997. Metodología mejorada para evaluación de resistencia de *Brachiaria* spp al salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae). In: Resúmenes del XXIV Congreso SOCOLEN. Entomología, Biodiversidad y Desarrollo Sostenible, Pereira, Colombia, Junio 16-18, pp 104.
- Wenzl, P., L. I. Mancilla, J. E. Mayer and I. M. Rao 1997 Simulated acid soil stress and its influence on root growth and H⁺-ATPase of root plasma membranes in a tropical forage grass, *Brachiaria*.

Paper presented at "Radical Biology: An International Symposium in Root Biology". May 22-24, 1997. The Pennsylvania State University, University Park, PA, USA.

enzl, P., C. A. Pineda, I. M. Rao and J. E. Mayer 1997 Aluminum-induced phosphate accumulation in the meristematic zone of root apices of a tropical forage grass, *Brachiaria decumbens*. Paper presented at the International Symposium on Plant Responses to Ionic Stress: Aluminum and Other Ions. September 19-20, 1997. Kurashiki, Japan.

Wenzl, P., C. A. Pineda, J. E. Mayer, J. Mesjasz-Przybylowicz, W. J. Przybylowicz and V. M. Prozesky. 1997. Effect of Al on elemental distributions in root apices of *Brachiaria decumbens*. 36th Annual Conference of the Microscopic Society of Southern Africa. Submitted.

Articulos en libros

Fisher, M.J., R. J. Thomas and I. M. Rao 1997 Management of tropical pastures in acid-soil savannas of south America for carbon sequestration. In: R. Lal, J. Kimble and R. Follett (eds.) Management of Carbon Sequestration. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. (in press).

Lascano, C. E.; P. Avila; G. Ramirez; y M. C. Amézquita. 1997. Fuentes de variación en la producción y composición de la leche de vacas en un sistema de pastoreo secuencial. En: Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)-Consortio Tropileche. 285 p.

Rao, I.M., M. A. Ayarza, P. Herrera y J. Ricaurte 1997 El papel de las raíces de especies forrajeras en la adquisición, reciclaje y almacenamiento de nutrientes en el suelo. Memorias de Curso Internacional "Investigación y Desarrollo de Sistemas de Producción Forrajera en el Tropico" (del 1 al 31 de Octubre de 1996). CIAT, Cali, Colombia. (in press).

Rao, I.M., D. K. Friesen and M. Osaki 1998 Plant adaptation to phosphorus-limited tropical soils. In: M. Pessarakli (ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc., New York.

Publicación CIAT-Consortio Tropileche

Lascano, C. y F. Holmann (eds.). 1997. Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)-Consortio Tropileche. 285 p.

Boletines técnicos

Argel P. J. y Villarreal, M. 1997. Maní Forrajero Perenne cv. Porvenir (*Arachis pintoi* Krap. y Greg. nom. nud., CIAT 18744). Una nueva Alternativa para Ganaderos y Agricultores. 15 p. (In press).

Donantes

Donante/Proyecto	Duración del proyecto
Australia - ACIAR Resistencia a anthracnose en <i>Stylosanthes</i>	1994-1997
Austria - Academy of Sciences Mecanismos tolerancia a suelos ácidos	1994-1997
Colombia - Gobierno de Colombia Mejoramiento de <i>Brachiaria</i> Mejoramiento de <i>Arachis</i> Mejoramiento de <i>Stylosanthes</i> Ecotipos con alta calidad forrajera Atributos adaptativos a suelos ácidos Ecotipos forrajeros con adaptación ambiental conocida	1996-1998
Colombia - COLCIENCIAS Apoyo a investigadores jóvenes	1996-1997
Colombia - Agroganadera del Valle Evaluación de germoplasma de leguminosas arbustivas promisorias en la zona norte del Cauca	1995-1997
Colombia- Fondo Nacional del Ganado - FEDEGAN Resistencia de gramíneas a salivazo	1995-1999
Colombia - NESTLE DE COLOMBIA Programa Piloto de Desarrollo-Caquetá	1995-1998
Germany - BMZ Interacción genotipo x ambiente en <i>Desmodium</i>	1995-1997
Gran Bretaña - ODA Factores de calidad en leguminosas (con IGER)	1996-1998
Gran Bretaña - OFI Investigación con <i>Leucaena</i> (Philipinas and America Central) Evaluación de <i>Calliandra</i>	1996-1998 1997-1999
Japón - JIRCAS Papel de endofitos en gramíneas tropicales	1995-1999
Estados Unidos - Organización de Estados Americanos	1996-1998



Colaboradores

Afanador Germán, CORPOICA, Bogotá, Colombia
Burgos Conrado, DICTA, Honduras
Cárdenas Cristina, CENICAFE, Colombia
Carulla Juan, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
Casasola Francisco Rolando, Universidad de Costa Rica
Do Valle, C.B., CNPGC/EMBRAPA, Brazil
Escobar Carlos, CORPOICA, Macagual, Colombia
Fariñas Tito, Proyecto de Desarrollo Lechero, Nicaragua
Franco Marcos H., CATIE, Costa Rica
González Jesús, TROPILECHE/ECAG, Costa Rica
González Roberto, CATIE, Costa Rica
Henriquez C., CATIE, Costa Rica
Hidalgo Carlos, MAG, Costa Rica
Ibrahim Mohammed, CATIE, Costa Rica
Lobo Marcos, MAG, Costa Rica
Morris Philip, IGER, UK
Owen Emyr, University of Reading, UK
Pérez Guillermo, CIAT, Costa Rica
Romero Francisco, ECAG, Costa Rica
Stewart Janet, OFI, UK
Theodorou Mike, IGER, UK
Velásquez, Jaime, CORPOICA-Macagual, Colombia
Vásquez Nelly, CATIE, Costa Rica

Redes de Trabajo

Evaluación de *Brachiaria* en Colombia

Barros Justo A., CORPOICA-CI Motilonia, Córdoba, Colombia
Camargo Maris Elena
Canchila Emiro, Universidad de la Paz
De La Torre Manuel, IVITA, Perú
Delgadillo Liliana, CORPOICA-CI-Carimagua, Meta, Colombia
García Heberth, Semillas 'La Florida', Ltda., Meta, Colombia
Guzmán Silvio, CORPOICA-Turipaná, Córdoba, Colombia
Hernández Blanca Hilda, CRECED-CORPOICA, Casanare, Colombia
Macías Luis Fernando, CORPOICA, Colombia
Mateus Herny, CRECED-Magdalena Medio, Santander, Colombiano
Montemiranda del V., Alberto, CRECED Norte de Bolívar-CORPOICA, Colombia
Morán Reynaldo, CORPOICA, Colombia
Pérez Raúl, C.I. La Libertad, Meta, Colombia
Ramírez Carlos Alberto, CRECED Magdalena Medio, Caldas, Colombia
Riesco Alfredo, CODESU, Perú
Rodríguez Roberto, CRECED-CORPOICA, Guaviare, Colombia
Soto Isaac, Semillas 'La Florida', Ltda., Meta, Colombia
Tobón Carlos Jaime, CORPOICA-C.I. Tulio Ospina, Colombia
Vela Jorge, IIAP, Perú
Velásquez, Jaime, CORPOICA-Macagual, Colombia

Biología de salivazo: Colaboradores y tesis de estudiantes de pregrado

Medina Wilson, CORPOICA Regional 2
Pérez Antonio, CORPOICA Regional 2
Ballesteros Yara, Universidad de la Amazonía
Barreto Juan, Universidad de la Amazonía

Blanco Milena, Universidad de la Amazonía
Gamboa Fidel, Universidad de los Llanos
Gallego Claudia, Universidad de la Amazonía
Hincapie Alfredo, Universidad de los Llanos
Giraldo Beatriz, Universidad de la Amazonía
León Viviana, Universidad de los Llanos
Mantilla Carlos, Universidad de los Llanos
Puentes William, Universidad de la Amazonía
Ramírez Clara, Universidad de la Amazonía
Troncoso Elías, Universidad de la Amazonía

Científicos Principales, Operarios y Estudiantes de Tesis

Senior Staff

Carlos E. Lascano, Nutrición de Ruminantes, Líder del Proyecto
César Cardona, Ph.D., Entomología
Segenet Kelemu, Ph.D., Patología de Plantas
John W. Miles, Ph.D., Mejoramiento de Plantas/Genética
Francisco Morales, Ph.D., Virología
Idupulapati M. Rao, Ph.D., Nutrición de Plantas/Virología

Postdoctoral

Daniel Peck, Ph.D., Entomología

Consultores

Pedro J. Argel M., Ph.D., Agronomía de Forrajes (localizado en San José, Costa Rica)
Esteban A. Pizarro, Ph.D. Agronomía de Forrajes (localizado en Planaltina, Brasil) (hasta dec/97)

Biometrista

Gerardo Ramírez

Asociados y asistentes de investigación

Patricia Avila, Producción Animal
Nelmy Narváez, Producción Animal
Gustavo Adolfo Ruiz, MV-Producción Animal
Martha Lucía Escandón, Agronomía
Camilo Plazas, MV-Producción Animal (hasta dec/97)
Guillermo Sotelo, Biología
Carmen Elisa Posso, Biología
Ana Cristina Bolaños, Biología
Ximena Patricia Bonilla, Fitopatología
Claudia Ximena Moreno, Fitopatología
María Ximena Rodríguez, Fitopatología
Martin Satizábal, Fitopatología
Fernando Muñoz, Fitopatología
José Jaumer Ricaurte, Nutrición de Plantas
Alfredo Valerio, Agronomía (America Central, Costa Rica) (hasta dec/97)

Especialistas

Aristipo Betancourt, Genética
Ramiro García, Nutrición de Plantas
Alcibiades Ortega, Biología de semillas
Julio César García, Germoplasma (hasta dec/97)
Belisario Hincapié, Programa, Germoplasma

Técnicos

Gustavo Ospinal, Calidad de Forrajes
José Reinaldo Pareja, Entomología
Gilberto Córdoba, Entomología
Alvaro Baena, Patología
Fernando Feijoo, Genética
Elías Burgos, Agronomía
Humberto Franco, Biología de Semillas
William Mera, Entomología (Caquetá)

Trabajadores de campo

Benilda García, Calidad de Forrajes
Orlando Trujillo Filigrana, Calidad de Forrajes

Angel Betancourt, Genética
José Nelson Amaya, Genética
Darío Humberto Viveros Sánchez, Fitopatología
Hernando Viveros Roso, Calidad de Forrajes
Hernando Lizcano Gaitán, Genética, Caquetá
José Ever Aragón, Calidad de Forrajes
Harold Orlando Zúñiga, Calidad de Forrajes
Eduardo Quintero Figueroa, Calidad de Forrajes

Estudiantes de posgrado

Axel Schmidt, Hohenheim University, Germany
Rolando Barahona, IGER-Reading University, United Kingdom
Peter Wenzel, Vienna University, Austria

Estudiantes de posgrado (MS)

Patricia Avila, Universidad Nacional de Colombia, Palmira
Nelmy Narváez, Universidad Nacional de Colombia, Palmira
Lida I. Mancilla, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Investigadores visitantes

Bregje van Erve, Wageningen University, The Netherlands
Wilson Quiñonez, COLCIENCIAS, Colombia
Delphin Filipe, Université Paris, France
Yi Kexian, CATAS, P.R. China
Qi Shiping, Tropical Field Crops of Animal Husbandry Research Institute, China
Anderson Molina, COLCIENCIAS, Colombia
Martha Cecilia Gutiérrez, COLCIENCIAS, Colombia
Ulises Castro, COLCIENCIAS, Colombia
Claudio Karia, CPAC/EMBRAPA, Brazil
Maribel Cruz, COLCIENCIAS, Colombia
Maria Carolina Zuleta, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia
Gloria Astrid Iriarte, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

Estudiantes de pregrado en trabajo de tesis

Adriana Hernández, Universidad del Valle, Cali, Colombia
Andrea Isaacs, Universidad Nacional, Colombia
Luz Elena Caicedo, Universidad Nacional, Colombia
Yaneth Conta, Uniamazonía, Caquetá, Colombia
Hernán Javier Baracaldo, Uniamazonía, Caquetá, Colombia
Nilsen L. Lasso, Universidad del Valle, Cali, Colombia
Francisco López, Universidad del Valle, Cali, Colombia
Harold Alonso Martínez, Universidad Nacional, Palmira, Colombia

Secretarias

Beatriz Arenas
Carmen Tchira
Julia Gómez Quintero
Ana Vega, Costa Rica (hasta junio 1997)
Eugenia Jiménez, Costa Rica, (desde julio 1997)
Tatiana Abreu, Brasil, (hasta junio 1997)

