

Avances en el mejoramiento de *Brachiaria* en América tropical

J. W. Miles y C. B. do Valle*

Introducción

Los cultivares comerciales de plantas forrajeras, que son ampliamente cultivados en América tropical, se derivan directamente de accesiones de germoplasma natural recolectado en África oriental (Keller-Grein et al., 1996). Se reconocen varias deficiencias en estos cultivares comerciales; por ej., *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk es susceptible a salivazo (Homoptera: Cercopidae), también conocido como mosca pinta, candelilla o cigarrinha, mientras que *B. brizantha* cv. Marandú, resistente al salivazo, es menos persistente debido a su falta de adaptación a las condiciones de suelos prevalentes en zonas tropicales.

Desde hace más de 2 décadas se reconoce la necesidad de iniciar programas de mejoramiento de *Brachiaria* (Ferguson y Crowder, 1974). Inicialmente, la factibilidad de lograr la recombinación genética fue obstaculizada por la reproducción apomíctica (reproducción asexual por semilla) de casi todas las especies de este género, así como por barreras de diferencias en ploidía. En gran medida, estos obstáculos fueron superados con la creación de un biotipo sexual, tetraploidizado de *B. ruziziensis* (Swenne et al., 1981). Actualmente se están llevando a cabo programas aplicados de mejoramiento en *Brachiaria*. En Colombia, estos trabajos los realiza el CIAT, y en Brasil el Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC/EMBRAPA) (do Valle y Miles, 1994; Miles y do Valle, 1996) y con ellos se busca combinar la amplia adaptación edáfica de *B. decumbens* cv. Basilisk con resistencia a salivazo.

Avances

Herencia de la apomixis. El control genético de la aposporia (un tipo de apomixis) fue estudiado en *Brachiaria* utilizando biotipos completamente sexuales

(*B. ruziziensis* tetraploidizada) cruzados con apomícticos compatibles (*B. brizantha*, *B. decumbens*). El modo de reproducción se determinó por observación microscópica de sacos embrionarios (Young et al., 1979), encontrándose una herencia tetrasómica sencilla (Cuadro 1) con dominancia de la aposporia sobre la sexualidad. Las proporciones observadas de los diferentes modos de reproducción fueron consistentes con un modelo basado en una aleatoria de cromátidos (Allard, 1960). Las progenies por autopolinización de plantas sexuales o de cruces entre híbridos sexuales son siempre de reproducción sexual. Las progenies resultantes de cruces sexual x apomíctico segregan cerca de una proporción de 1:1, lo que sugiere que el parental apomíctico tiene genotipo "simplex" (Aaaa).

Biotécnicas. En el CIAT y en el CNPGC se están buscando marcadores moleculares ligados estrechamente al locus que confiere apomixis con el fin de permitir la identificación precoz de modo reproductivo en poblaciones híbridas. Se han analizado marcadores RAPD y AFLP (Tohmé et al., 1996). En esta línea de investigación se identificaron rápidamente marcadores RAPD ubicados a 15 cM¹, aproximadamente, del locus de apomixis (Tohmé et al., 1996). A pesar de estos éxitos iniciales, el avance ha sido difícil, ya que no se ha identificado ningún marcador dentro de la región intermedia del cromosoma. Resultados similares se han obtenido en los laboratorios del Institute for Grassland and Environmental Research (IGER, su sigla en inglés) del Reino Unido, con el uso de sondas (RFLP) de maíz (Pessino et al., 1997).

Además, se ha desarrollado una metodología para la regeneración de plantas a partir de cultivo de callo de seis especies de *Brachiaria* (Tohmé et al., 1996) y se encuentra en progreso un proyecto para desarrollar protocolos para la transformación directa de *Brachiaria* mediante "bombardeo" con partículas (W. Roca, comunicación personal).

* Respectivamente: Fitomejoradores, Forrajes Tropicales del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC/EMBRAPA), Campo Grande, Brasil.

1. cM = CentiMorgan, unidad de distancia genética entre diferentes loci ligados.

Cuadro 1. Segregación por modo de reproducción en estudios de herencia de la apomixis.

| Cruza | Plantas observadas (no.) | | Tasa esperada | Ji ² |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------|---------------|-----------------|
| | Sexual | Apomítico | | |
| Sexual (aaaa) | 68 | 0 | 1:0 | — |
| Sexual x sexual (aaaa) | 38 | 0 | 1:0 | — |
| Apomítico x Apomítico (Aaaa x Aaaa) | 4 | 9 | 1:3 | 0.096 |
| Sexual x Apomítico (aaaa x Aaaa) | 451 | 404 | 1:1 | 2.58 |
| Segregación de cromátidos | — | — | 15:13 | 0.231 |

FUENTE: Valle, C. B. do (datos no publicados).

Evolución de metodologías de fitomejoramiento.

Los métodos de fitomejoramiento para *Brachiaria* deben ser orientados hacia la explotación de las propiedades especiales de la apomixis con base en el desarrollo de cultivares apomíticos. Los métodos actualmente utilizados se desarrollaron de manera empírica. En este momento se están ensamblando poblaciones sexuales tetraploides de base genética amplia (Miles y Escandón, 1997), las que pueden ser mejoradas por métodos convencionales de selección. Luego, a través de hibridación con un apomítico apropiado, será posible encontrar segregantes apomíticos superiores. No obstante, puede ser más eficiente un método que utilice como criterio de selección el desempeño híbrido, por ej., la selección recurrente por habilidad combinatoria específica (Hull, 1945), ya que ésta genera en cada ciclo de selección una serie de progenies híbridas apomíticas.

Situación actual y perspectivas

En el CNPGC. En este Centro se estableció en 1994 un bloque "policross" con 15 clones híbridos sexuales seleccionados. Se cosechó la semilla resultante de polinización abierta, y para la temporada de siembras a finales de 1997 se proyecta la siembra de las familias de medios hermanos, las que se evaluarán por vigor, adaptación y tolerancia a salivazo.

En un ensayo agronómico en parcelas pequeñas se están evaluando detalladamente unos 56 híbridos seleccionados inicialmente por adaptación, relación hoja:tallo, floración abundante y tolerancia a salivazo. Después de 2 años de evaluación agronómica, híbridos sexuales élites serán introgresados —agregación al acervo genético de una población de germoplasma nuevo— a la población sexual e híbridos apomíticos superiores serán probados en ensayos de pastoreo.

En el CIAT. Se han completado cuatro ciclos de selección. Las poblaciones seleccionadas se han mejorado en atributos tales como vigor, hábito de crecimiento y relación hoja:tallo. Los métodos de evaluación para reacción a salivazo no han sido

satisfactorios y se ha registrado muy poco avance para esta resistencia. Por tanto, se ha optado por un ciclo más largo con observaciones de las progenies en el campo a través de 2 años, seguido de evaluación por resistencia a salivazo en pruebas de invernadero con infestación artificial de las plantas preseleccionadas en el campo.

Se han evaluado en ensayos agronómicos en parcelas pequeñas algunos segregantes apomíticos preseleccionados. Dos de estas selecciones están en evaluación bajo pastoreo en un ensayo de parcelas pequeñas, pero las observaciones recientes sugieren que su resistencia a salivazo no es adecuada.

El avance genético más obvio que se ha alcanzado con el proyecto de fitomejoramiento se presenta en las poblaciones sexuales. Se han aislado clones híbridos sexuales que son superiores al material sexual tetraploidizado derivado de *B. ruziziensis*, que es muy susceptible a salivazo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Producción de materia seca en épocas seca y húmeda de un tetraploide sexual de *Brachiaria ruziziensis* (procedente de Bélgica) y un clon híbrido seleccionado en el CI. Carimagua, Colombia.

| Genotipo | Producción de MS (g/planta) | |
|----------------------------------|-----------------------------|---------|
| | E. húmeda | E. seca |
| Híbrido sexual | 175 | 84 |
| 4X <i>B. ruziziensis</i> | 59 | 5 |
| Testigos: | | |
| <i>B. decumbens</i> cv. Basilisk | 246 | 85 |
| <i>B. brizantha</i> cv. Marandú | 343 | 174 |
| D.M.S. (P < 0.05) | 80 | 49 |

FUENTE: Rao et al., 1996.

Limitantes que es necesario superar

Los mayores obstáculos que se deben superar para lograr los objetivos de este trabajo en fitomejoramiento de *Brachiaria* son:

- Las metodologías para la evaluación de resistencia a salivazo son laboriosas y demandan mucho tiempo para su ejecución (Lapointe et al., 1989; 1992). La disponibilidad de una tecnología de marcadores moleculares o la caracterización bioquímica de la resistencia podría contribuir al desarrollo de métodos de evaluación sencillos y poco costosos, pero al mismo tiempo confiables.
- Hace falta un entendimiento claro de los factores involucrados en la adaptación de *Brachiaria* a suelos de baja fertilidad. Los estudios fisiológicos y los marcadores moleculares podrían conducir al desarrollo de metodología de evaluación rápida y confiable.
- Aunque el método de examen de sacos embrionarios clareados es mejor que las pruebas de progenie, la determinación del modo reproductivo aún es lenta y dispendiosa y, además, no puede hacerse antes de la floración. Un marcador molecular, estrechamente ligado al gen de apomixis, sería una herramienta extremadamente útil.
- Aún se está comenzando a entender plenamente la herencia del modo reproductivo en *Brachiaria*. Este entendimiento conllevará a una manipulación más precisa de la apomixis.
- Los métodos de fitomejoramiento que se están utilizando en la actualidad posiblemente estén lejos del óptimo. Los estudios teóricos de la genética cuantitativa y los empíricos conducirán a esquemas eficientes desde el punto genético y logísticamente.

Conclusiones

El mejoramiento genético de *Brachiaria* empezó a ser realidad desde hace sólo una década con la creación del biotipo sexual y tetraploide de *B. ruziziensis* compatible en cruces con líneas apomícticas de *B. decumbens* y *B. brizantha*. Los conocimientos básicos sobre la planta y su manipulación genética están avanzando rápidamente, y es posible en este momento documentar progresos genéticos significativos debidos a este esfuerzo de hibridación y selección. Los conocimientos de la genética y la fisiología de *Brachiaria* conducirán a una mayor eficiencia en los programas actuales y futuros de fitomejoramiento y, en consecuencia, a mayores tasas de progreso hacia los objetivos genéticos.

Referencias

- Ferguson, J. E. y Crowder, L. V. 1974. Cytology and breeding behavior of *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard. *Crop Sci.* 14:893-895.
- Hull, F. H. 1945. Recurrent selection for specific combining ability in corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 37:134-145.
- Keller-Grein, G.; Maass, B. L.; y Hanson, J. 1996. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. En: Miles, J. W.; do Valle, C. B.; y Maass, B. L. (eds.). *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (EMBRAPA/CNPGC), Campo Grande, Brasil. p. 16-42.
- Lapointe, S. L.; Arango, G.; y Sotelo, G. 1989. A methodology for evaluation of host plant resistance in *Brachiaria* to spittlebug species (Homoptera, Cercopidae). *Proceedings of the XVI International Grassland Congress*, Niza, Francia, 4-11 octubre 1989. Association française pour la production fourragère, INRA, Versailles Cedex, Francia. v. 1, p. 731-732.
- _____; Serrano, M. S.; Arango, G. L.; Sotelo, G.; y Córdoba, F. 1992. Antibiosis to spittlebugs (Homoptera:Cercopidae) in accessions of *Brachiaria* spp. *J. Econ. Entomol.* 85(4):1485-1490.
- Miles, J. W. y do Valle, C. B. 1996. Manipulation of apomixis in *Brachiaria* breeding. En: Miles, J. W.; do Valle, C. B.; y Maass, B. L. (eds.). *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (EMBRAPA/CNPGC), Campo Grande, Brasil. p. 164-177.
- _____; y Escandón, M. L. 1997. Further evidence on the inheritance of reproductive mode in *Brachiaria*. *Can. J. Plant Sci.* 77:105-107.
- Pessino, S. C.; Ortiz, J. P. A.; Leblanc, O.; do Valle, C. B.; Evans, C.; y Hayward, M. D. 1997. Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria*. *Theor. Appl. Genet.* 94:439-444.
- Rao, I. M.; Miles, J. W.; y Granobles, J. C. s.f. Field evaluation for tolerance to low fertility, acid soil among germplasm accessions and genetic recombinants of the tropical forage grass genus, *Brachiaria*. (En preparación.)
- Swenne, A.; Louant, B.-P.; y Dujardin, M. 1981. Induction par la colchicine de formes autotetraploides chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminee). *Agron. Trop.* 36:134-141.
- Tohmé, J.; Palacios, N.; Lenis, S.; y Roca, W. 1996. Applications of Biotechnology to *Brachiaria*. En: Miles, J. W.; do Valle, C. B.; y Maass, B. L. (eds.). *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (EMBRAPA/CNPGC), Campo Grande, Brasil. p. 196-295.
- Valle, C. B. do y Miles, J. W. 1994. Melhoramento de gramíneas do gênero *Brachiaria*. *Proc. XI Simpósio sobre manejo da pastagem*. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil. p. 1-23.
- Young, B. A.; Sherwood, R. T.; y Bashaw, E. C. 1979. Cleared-pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixis in grasses. *Can. J. Bot.* 57:1668-1672.