

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Análisis Meiótico de Híbridos Apomícticos y Sexuales de Zacate Buffel
(*Pennisetum ciliare* L.)

Por:

DANIEL ÁLVAREZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Análisis Meiótico de Híbridos Apomícticos y Sexuales de Zacate Buffel
(*Pennisetum ciliare* L.)

Por

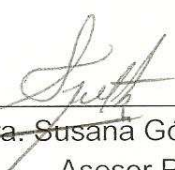
DANIEL ÁLVAREZ HERNÁNDEZ


TESIS

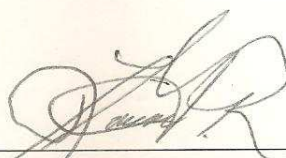
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada


Dra. Susana Gómez Martínez
Asesor Principal


Dr. Jorge Raúl González Domínguez
Coasesor


Dra. Francisca Ramírez Godina
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México
Junio 2013

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme concluir mis estudios.

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por formarme profesionalmente.

A la **Dra. Susana Gómez Martínez**, por darme la oportunidad de realizar el presente trabajo de investigación. Así como su amistad y confianza que me ha brindado en todo momento.

Al **Dr. Jorge R. González Domínguez** por su apoyo durante el desarrollo del trabajo y por sus grandes aportaciones al Programa de Pastos de la UAAAN.

A la **Dra. Francisca Ramírez Godina**, por sus comentarios y sugerencias durante las revisiones.

A la **M.C. Martha Gómez Martínez**, por su apoyo, supervisión y conocimientos durante el análisis en el laboratorio.

A la **T.A. Norma Leticia Portos Gaona**, por su apoyo, tiempo y paciencia durante el trabajo en el laboratorio.

DEDICATORIA

A mis padres **Leobardo Álvarez Lujano** y **Yolanda Hernández Merlos** por el esfuerzo que han hecho para que hoy concluya mis estudios y por su apoyo durante este largo camino. Gracias por todo.

A mis hermanas **Nohemí** y **Miriam**, por su apoyo en todo momento.

A mis abuelitos **Celia Merlos (†)**, **Alberto Hernández (†)** y **Austreberto Álvarez (†)** por todo su apoyo, consejos y cariño que me dejaron, siempre estarán en mi mente y corazón. Gracias.

A mi abuelita **Catalina Lujano Ávila**, por su apoyo incondicional en todo momento. Gracias.

A mi Bisabuela **Guadalupe Ávila**, por ser un ejemplo a seguir.

A mi sobrina **Lucy** por traer felicidad y alegría a mi vida.

A mi familia en general, por su apoyo durante estos años.

A la Sra. **Francisca Castañeda**, por brindarme las puertas de su casa, por ser un ejemplo a seguir y por ser una abuelita más. Gracias “Doña Panchita”.

A la **Lic. Martha Valdez**, por su amistad y apoyo en todo momento que lo he necesitado y por ser alguien importante en mi vida. Gracias “Lic. Martita”

A mis compañeros de la Universidad.

A todas aquellas personas que he conocido en Saltillo y que de cierta manera me han apoyado. Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	<i>Página</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	2
Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Origen.....	3
Distribución del Zacate Buffel.....	3
Descripción Morfológica.....	5
Raíz.....	5
Tallos.....	5
Hojas.....	5
Inflorescencia.....	6
Clasificación Taxonómica.....	7
Importancia del Zacate Buffel.....	7
Factores Climáticos.....	9
Temperatura.....	9

Precipitación.....	10
Factores Edáficos.....	12
Textura.....	12
pH.....	12
Características Agronómicas.....	13
Producción de Semilla.....	13
Producción de Forraje.....	14
Valor Nutricional.....	15
Reproducción Sexual.....	17
Apomixis.....	18
Tipos de Apomixis.....	19
Apomixis Esporofítica.....	19
Apomixis Gametofítica.....	19
Formación del Endospermo.....	21
Número Cromosómico y Comportamiento Meiótico.....	22
Zacate Buffel y su Mecanismo Apomítico de Reproducción.	26
Mejoramiento de Especies Apomíticas.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
Localización del Sitio Experimental.....	30

Material Biológico.....	30
Híbridos F ₁ Apomícticos y Sexuales.....	31
AN17PS (Pecos).....	31
Metodología.....	31
Estudio Citogenético.....	32
Obtención del Material.....	33
Fijación.....	33
Procedimiento.....	34
Microfotografía.....	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
Estudio Citológico.....	36
AN17PS.....	36
Híbrido F ₁ Apomíctico 7a (HA7a).....	41
Híbrido F ₁ Sexual 3a (HS3a).....	44
Híbrido F ₁ Sexual 9a (HS9a).....	45
V. CONCLUSIONES.....	46
VI. LITERATURA CITADA.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura</i>		<i>Página</i>
1	Microfotografía del híbrido AN17PS (2N=4X=36) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.....	38
2	Microfotografía del híbrido AN17PS (2N=4X=36) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.....	38
3	Microfotografía de AN17PS (2N=40 cromosomas) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.....	40
4	Microfotografía del híbrido AN17PS célula en diacinesis de meiosis. (2N=38 cromosomas). Aumento 100x.....	41
5	Microfotografía del híbrido HA7a célula en diacinesis de meiosis (2N=38 cromosomas). Aumento 100x.....	42
6	Microfotografía del híbrido HA7a célula en diacinesis. (2N=30 cromosomas). Aumento 100x.....	42
7	Microfotografía del híbrido HS3a célula en diacinesis de meiosis (2N= 4X=36 cromosomas). Aumento 100x.....	44
8	Microfotografía del híbrido HS9a célula en diacinesis de meiosis. (2N= 4X=36 cromosomas) Aumento 100x.....	45

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería en México como en el resto del mundo cada día cuenta con menos superficie al recorrerse la frontera agrícola y urbana. Es necesario buscar mejores alternativas de aprovechamiento del recurso suelo, la utilización de variedades de pastos con más potencial de producción y calidad son una alternativa para permitirle al productor mantener una empresa rentable y sostenible. El pasto Buffel (*Pennisetum ciliare*) es conocido en África como “Blue- Boffalo grass” o “Bloo Buffelgrass”, el último indica probablemente el origen de su nombre. La variedad más conocida fue colectada en el desierto de Turkana, Kenia e introducida a Estados Unidos en 1946.

En el noreste de México la ganadería depende de forrajes que no son nativos, la mayoría de los forrajes de importancia económica fueron introducidos, otros se obtuvieron en programas de mejoramiento. Sin embargo, ninguno de estos forrajes ha tenido la importancia del zacate Buffel que empieza a conocerse a fines de los años cincuenta. Es importante señalar que en el año 2000 el zacate Buffel ocupaba una superficie de 4 millones de ha en México. Los australianos, desde mediados del siglo pasado consideraron que el zacate Buffel debía manejarse como un cultivo.

Es importante conocer el número y apareamiento cromosómico de genotipos potencialmente útiles de zacate Buffel, ya que esto nos permite conocer su comportamiento meiótico. Por otra parte el número cromosómico proporciona bases para programas de mejoramiento genético y ayuda a entender su forma de reproducción. El zacate Buffel es una especie de gran importancia para la alimentación del ganado. Este exhibe una amplia variación genética, con diferentes niveles de ploidía.

El único híbrido apomíctico desarrollado en México, es AN17PS el cual se le conoce también como híbrido 17 en nuestro país y como Pecos en Texas. La mezcla comercial de H17 con otros materiales se conoce como Laredo. La investigación de la UAAAN ha demostrado que AN17PS puede ser utilizado también en programas de mejoramiento genético incluida la hibridación. Por lo tanto el objetivo de la presente investigación fue:

Objetivo. Conocer el comportamiento citológico de genotipos seleccionados de reproducción apomíctica y reproducción sexual generados en el Programa de Hibridación de Zacate Buffel de la UAAAN.

Hipótesis. Existen diferencias en el comportamiento citológico entre los genotipos analizados de reproducción apomíctica y reproducción sexual.

Palabras Clave: Apomixis, Comportamiento Meiótico, Híbridos Apomícticos, Híbridos Sexuales, *Pennisetum ciliare* L.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Origen

El zacate Buffel (*Pennisetum ciliare* L.) se considera originario de Sudáfrica debido a la gran diversidad de morfotipos observados en el Transvaal y Provincias del Cabo, en contraste con la limitada diversidad genética encontrada en las regiones áridas y subtropicales de la India (Hussey y Bashaw, 1990). Por otra parte, Flemons y Whalley (1958) reportaron con anterioridad que esta especie es nativa del norte de África y de la India. Chakravarty y Kalkani (1966) lo consideran originario de la zona árida del oeste de Rajasthan.

Distribución del Zacate Buffel

El zacate Buffel se encuentra distribuido en regiones áridas y semiáridas, tropicales y subtropicales del norte de África, Asia, Madagascar, Islas Canarias, Australia, Arabia, India, México y sur de Texas (Bashaw, 1985; Hussey y Bashaw, 1990). Ibarra *et al.* (1991) mencionan que la especie se distribuye en Kenia, Sudáfrica, noreste de Australia y en las regiones menos húmedas y menos frías del noreste de México y sur de Texas.

El zacate Buffel se introdujo a Texas en 1917, pero estas primeras pruebas fracasaron debido a que se establecieron muy al norte y sobre suelos no aptos para el desarrollo de la especie. Colectas posteriores en 1946 en el desierto de Turkana en Kenia y establecidos al sur de Texas bajo condiciones más favorables para el desarrollo del Buffel, permitieron liberar en 1949 la variedad Común con el número de identificación T-4464 (Holt, 1985). En el sur de Texas se ha convertido en el zacate más importante para la ganadería extensiva, ocupando en la década de los 80's una superficie de más de 700,000 ha (Hanselka, 1988).

El Buffel se introdujo a México en 1954, primero al estado de Nuevo León y posteriormente a otros estados (Ibarra *et al.*, 1991). A partir de aquí el Buffel se ha dispersado en gran parte de nuestro territorio y ha logrado naturalizarse debido principalmente a la similitud en nuestras condiciones climáticas y edáficas con su país de origen. En nuestro país se ha convertido en una especie importante ocupando una superficie de 2 millones de ha en el noreste (Sonora y Sinaloa) y en el norte (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas). Saldívar (1991); Hanselka (1988) reportaron que Tamaulipas, con casi 500 000 ha, es el estado mexicano con mayor superficie ocupada con esta especie. Informes más recientes reportan para el estado de Sonora 1.2 millones de ha ocupadas con zacate Buffel (SAGARPA, 2012); otro reporte indica 1.85 millones de ha con Buffel para este mismo estado (Franklin *et al.*, 2006).

Descripción Morfológica

Cantú (1989) describe la planta de zacate Buffel de la siguiente manera:

Raíz

Es una raíz fibrosa con corona fuerte y nudosa, que puede alcanzar una profundidad de 2.4 metros o más, está formada por un sistema radicular largo, fuerte y abundante.

Tallos

Están compuestos por nudos y entrenudos, es erecto y ancho con ramificaciones nudosas, duras o ásperas en la base, con una altura de 50 a 100 cm. Paull y Lee (1978) mencionan que los brotes se originan en la corona, que se localiza bajo la superficie del suelo. Algunas variedades presentan tallos modificados, llamados rizomas que pueden alcanzar hasta 1.7 m.

Hojas

Las láminas foliares o limbos son alargadas y un poco ásperas, ralas, planas con nervadura paralela, las cuales pueden llegar a medir de 8 a 30 cm de longitud y de 2.5 a 8.0 mm de ancho, se encuentra una hoja en cada nudo del tallo, el ángulo que forma con el tallo es de aproximadamente 45° (Cantú, 1989). Presentan vainas comprimidas, glabras o escasamente pilosas; con

una lígula ciliada diminuta, de 1.3 a 1.8 mm de largo (Ackerman y Gordon, 1991).

Inflorescencia

La inflorescencia es una panícula densa, cilíndrica de 7 a 18 cm de longitud por 1.3 a 1.6 cm de ancho, con un raquis flexible y escabroso; pedúnculo diminuto, densamente piloso, de 0.5 a 1.5 mm de largo, cerdas erectas o dispersas, de 6 a 7 mm de largo, ciliadas, pubescentes en los márgenes internos; verticilio exterior de espinas semejante a cerdas, más cortas que las espinas internas. Posee de 2 a 4 espiguillas por involucro, de 5.5 a 6.8 mm de largo; la primera gluma 2.2 a 2.9 mm de largo por 1 a 1.5 mm de ancho, delgada y membranosa; segunda gluma de 5 a 6.1 mm de largo, palea parcialmente incluida, de 2.5 a 5 mm de largo; el flósculo fértil es de 5.2 a 6.6 mm de largo por 1 a 1.5 mm de ancho, cubre el cariósido que es de forma ovoide de 3 mm de largo (Ackerman y Gordon, 1991).



Clasificación Taxonómica

De acuerdo al USDA (2012) la clasificación taxonómica del zacate Buffel es la siguiente:

Reino---Plantae

Subreino--- Traqueophyta

División---Magnoliophyta

Clase-----Liliopsida

Subclase---Commelinidae

Orden---- Cyperales

Familia----- Poaceae

Género-----*Pennisetum*

Especie----- *Pennisetum ciliare* L.

Importancia del Zacate Buffel

El zacate Buffel presenta características favorables que le han permitido colocarse entre uno de los pastos de mayor importancia económica para la ganadería extensiva. En Sudáfrica el zacate Buffel es reconocido como una especie importante para pastoreo en las regiones más secas y de agricultura extensiva, que se extienden desde el desierto del Karoo, a través de la mitad oeste del país; el este y centro de África es cultivado en praderas permanentes y temporales, así como en el norte de Australia. En la India es uno de los zacates más importantes para heno natural (Whyte *et al.*, 1959).

En Tamaulipas aumentó la productividad forrajera al incrementar la carga de 12 a 4 ha por unidad animal (García *et al.*, 2003). En el noreste de México más de la mitad de la superficie (21,083,877 ha) se dedica a actividades pecuarias; específicamente, el estado de Coahuila cuenta con 10,738,505 ha (72%), Nuevo León 5,535,938 ha (86%) y Tamaulipas 4,809,434 ha (60 %). En esta región predominan los sistemas de producción extensivos, y la fuente de alimentación más importante del ganado bovino es el forraje que consume de la vegetación nativa, de gramíneas forrajeras introducidas y de esquilmos agrícolas.

Se estima que Coahuila cuenta con 104,783 ha de praderas de zacate Buffel; Nuevo León registra 527,167 ha y Tamaulipas con alrededor de 600,000 ha de Buffel, por lo cual la importancia de esta gramínea en el noreste de México es indiscutible.

El zacate Buffel produce entre 2 a 10 veces más forraje que la vegetación nativa, tanto en el sur de Texas como en el noreste y noroeste de México. Debido a ese alto potencial productivo, entre 1960 y 1980, se desmontaron y sembraron 3,000,000 ha en los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas; sin embargo, el que actualmente sólo existan 1,000,000 ha, indica que hay problemas para asegurar su establecimiento y persistencia.

Factores Climáticos

La elevación sobre el nivel del mar está muy relacionada con la temperatura ambiente lo que delimita las áreas de siembra del zacate Buffel. En Sonora, la altitud límite recomendada para el establecimiento del Buffel es de aproximadamente 900 m; mientras que en Texas llega a 200 m; en el desierto Chihuahuense en México hasta altitudes de 1500 m, aunque se desarrolla mejor a los 1000 m y en regiones ecuatoriales de Sudamérica, África e India llega a los 1500 m (Ibarra *et al.*, 1991).

Temperatura

Cox *et al.* (1988) mencionan que el zacate Buffel no persiste en localidades donde la media de temperatura mínima en el mes más frío es menor de 5°C. El zacate Buffel responde rápidamente a las lluvias de primavera una vez que las temperaturas del suelo son superiores a 24 °C. De igual manera lluvias de otoño producen incrementos dramáticos en la producción, la cual declina en los meses de invierno por las bajas temperaturas (Hanselka, 1988).

El Buffel es un zacate para el período cálido del año, comprendido entre las estaciones de verano y otoño (Parodi, 1964). La planta empieza a crecer cuando la temperatura mínima promedio es superior a los 10°C, aunque la

mayor parte del crecimiento se presenta en verano cuando la temperatura promedio oscila de 15 a 20°C (Ibarra *et al.*, 1991).

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha desarrollado materiales de Buffel con mayor tolerancia al frío que la variedad Común. Nueces y Llano son híbridos apomícticos F₁ tolerantes a heladas (Bashaw, 1980a). Frío es un ecotipo pentaploide que fue liberado en el 2005, a través del USDA y de la Estación Experimental de Agricultura en Texas, ha sido evaluado en la región norte de México (Hussey y Burson, 2005). La liberación de estas variedades está enfocada a extender hacia el norte los límites del área de dominio del Buffel. Sin embargo estos genotipos tienen una baja producción de semilla, razón principal de su poca aceptación entre los productores.

El Programa de Pastos de la UAAAN desarrolló y liberó el híbrido AN17PS, que está siendo comercializado por la Compañía Pogue Agri Partners Inc. como Pecos y es utilizado en el sur de Texas como la variedad más tolerante a heladas.

Precipitación

El Buffel es productivo en suelos con limitada humedad, no tolera suelos inundados. Teniendo humedad puede crecer desde marzo hasta las

primeras heladas de septiembre a octubre; inicia el rebrote después de acumular de 10 a 20 mm de precipitación en el verano.

Presenta un buen desarrollo en lugares con 280-400 mm de precipitación (Arizona Interagency Range Technical Sub-Committee, 1973). En el centro y norte de Kenia y sur de Etiopía donde el zacate Buffel se desarrolla de forma natural, la precipitación varía de 200-400 mm (National Animal Husbandry Research Station Annual Report from Naivasha, Kenya; citado por Cox *et al.*, 1988).

De acuerdo a estudios realizados por Ibarra y Martin (1995) en México las regiones donde el Buffel persiste y se dispersa presentan las siguientes características:

1. Precipitación total de 300 a 600 mm.
2. Precipitación de verano de 250 a 550 mm.
3. Precipitación de invierno inferior a 200 mm.

Bajo otras condiciones, su adaptación y persistencia se reducen y generalmente no se dispersa o muere.

Factores Edáficos

Textura

Cox *et al.* (1988) reportan que los suelos de textura migajón-arenoso son los más adecuados para un buen desarrollo del zacate Buffel. Por el contrario el desarrollo se detiene en suelos poco profundos y pesados con problemas de drenaje (Anderson, 1970; Holt, 1985). Asimismo los suelos muy arenosos y arcillosos no son adecuados para el establecimiento del zacate Buffel (Williamson y Pinkerton, 1985).

pH

Se adapta bien en suelos con pH de 7 a 8 pero puede crecer en suelos con pH de 5.5 (Skerman y Riveros, 1990). La acidez afecta la germinación de la semilla del zacate Buffel, niveles con pH de 3 reduce la germinación en un 25% y se inhibe con pH menores de 2 (Ryan *et al.*, 1975).

De acuerdo a Ibarra y Martin (1995) los suelos ideales para establecimiento, persistencia y dispersión de Buffel deben presentar las siguientes características:

1. Contenido de arena varía del 60 al 90%.
2. La suma de limo y arcilla siempre menor a 50%.
3. El N total y C orgánico de 0.2 y 2.0%, respectivamente.
4. pH de 6 a 9.
5. Capacidad de intercambio catiónico de 12 a 35 $\text{cmol}_c\text{kg}^{-1}$.
6. Sales solubles totales menores a 2000 ppm.
7. El P disponible de 1 a 22 ppm.
8. El Ca disponible de 1,804 a 13,026 ppm.
9. El K, Mg y Na disponibles fluctúan de 39 a 1,369 ppm.

Características Agronómicas

El zacate Buffel se ha caracterizado por presentar una gran tolerancia a la sequía, se adapta a un amplio rango de suelos y persiste bajo pastoreo pesado. Las variedades de menor altura se adaptan mejor a las condiciones de mayor aridez y son tolerantes a altas temperaturas (Whiteman *et al.*, 1974).

Producción de Semilla

Como regla general, las líneas rizomatosas de zacate Buffel producen menos semilla, la producción de inflorescencias es limitada en estos materiales durante fotoperíodos largos de mediados de verano. Por otra

parte, el exceso de lluvia puede resultar en crecimiento vegetativo denso que dificulta la cosecha de semilla (Bashaw, 1980b).

Hernández *et al.* (2002) reportan en la región de Zaragoza, Coahuila, dos cosechas al año con la variedad Zaragoza-115; la primera entre mayo y junio con un rendimiento de 85 a 100 kg ha⁻¹ de semilla y la segunda cosecha entre octubre y noviembre con una producción de 100 kg ha⁻¹.

Producción de Forraje

Factores como la variedad utilizada, textura, profundidad, humedad y fertilidad del suelo, fotoperíodo, temperatura, precipitación y grado de utilización, influyen la producción de forraje la cual está determinada principalmente por la cobertura basal y densidad de las plantas (Hanselka, 1988).

En evaluaciones realizadas en Ocampo, Coahuila con 30 diferentes líneas experimentales de lugares altos durante ocho años bajo temporal, se obtuvo un promedio de producción de forraje seco de 1,035 kg tha⁻¹ hasta 11,130 kg ha⁻¹ para Llano (González *et al.*, 1990).

Alvarado (1994) en un experimento realizado en esta misma localidad con 20 híbridos apomícticos resultado de la cruce del clon sexual B-1s con Zaragoza-115 reporta un rendimiento promedio de 7.2 t ha⁻¹ de forraje seco, el híbrido menos rendidor produjo 4.5 t ha⁻¹ y el rendimiento más alto fue de 9.7 t ha⁻¹.

Carbajal (1996) reporta en esta misma localidad y en el segundo año de evaluación de estos híbridos, que la producción de forraje seco se incrementó, el rendimiento más bajo fue 6.6 t ha⁻¹ de forraje seco hasta 12.5 t ha⁻¹ para el híbrido más rendidor, con un promedio de 8.6 t ha⁻¹ de forraje seco.

Torres (2005) en un experimento en Zaragoza, Coahuila reporta rendimientos de forraje verde para Z-115, Formidable, Higgins, Nueces, AN17PS y Común II de 31.831, 29.337, 27.363, 27.056, 23.187 y 20.075 t ha⁻¹ respectivamente.

Valor Nutricional

El valor nutritivo de un forraje está determinado por factores genéticos, ambientales y de manejo. Algunos autores señalan que la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del Buffel, varía de 40 a 60 % y el contenido de proteína cruda varía de 6 a 13 % (Hussey y Bashaw, 1990; Woodward, 1980). White y Wolf (1985) señalan que el mayor cambio en el contenido de proteína cruda

se presenta después de la primera helada fuerte. Judd (1979) menciona que el zacate Buffel es altamente productivo, muy digestible y de buena calidad nutritiva cuando esta tierno, maduro es menos palatable. Ayerza (1981) reporta porcentajes de proteína en base a materia seca del 12% durante la etapa vegetativa y 7% en floración.

Méndez y Palomo (1997); García *et al.* (2003) señalan que el valor nutricional del Buffel es superior al de la mayoría de las especies de pastos nativos y de igual o mayor valor a otras especies de pastos introducidos como zacate rhodes (*Chloris gayana*) y zacate tallo azul (*Dichantium annulatum*) (Mutz y Drawe, 1983).

Flores (1980) reporta el siguiente valor nutritivo para zacate Buffel.

	%		%
Materia seca	95.7	Verde	
E.L.N	44.3	E.L.N	10.4
Cenizas	11.9	Cenizas	2.8
Proteína	11.9	Proteína	2.8
Grasa	4.3	Grasa	1.1
Fibra	23.2	Fibra	5.4
Humedad	4.2		

Gutiérrez (2011) determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, mediante el método DAISY, de nueve variedades de zacate Buffel (TAM CRD B-1s, Zaragoza-115, AN17PS, Biloela, Común, Común II, Formidable, Higgins y Nueces) a siete tiempos de incubación (0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 hr), en este experimento no se detectó diferencias significativas entre variedades; pero si diferencias altamente significativas para los tiempos de incubación; a las 48 hr se obtuvo el coeficiente de digestibilidad más alto de 79.9% pero fue estadísticamente, igual a 72 hr con un porcentaje de 71.5%. El rango en el coeficiente de digestibilidad fue de 49% para B-1s y 54.2% para Biloela. La digestibilidad promedio de los siete tiempos de incubación y las nueve variedades fue de 52%.

Reproducción Sexual

En las especies de reproducción sexual, una célula madre de la megáspora (CMM) en el óvulo inicia un proceso de división meiótica que concluye con la formación de cuatro megasporas haploides. En la mayoría de las especies sólo una de las megasporas es funcional y sufre tres divisiones mitóticas para formar un saco embrionario octanucleado, tipo polígono, formado por una célula huevo, dos sinérgidas, dos núcleos polares y tres antípodas. La célula huevo es fertilizada por un núcleo espermático (previamente reducido por una meiosis) para formar el cigoto (2N) que va a

dar lugar al embrión, el otro núcleo espermático fertiliza los dos núcleos polares para formar el endospermo (Asker, 1979).

Por lo tanto en las especies de reproducción sexual la meiosis y la fertilización son necesarias para el desarrollo del embrión, lo que permite la recombinación, la segregación y la variabilidad genética (Hanna y Bashaw, 1987). En el zacate Buffel, que es una especie de reproducción apomíctica, los eventos de la meiosis y fertilización son omitidos en el desarrollo del embrión, la semilla se produce sin la fusión de los gametos, por lo que la progenie es una réplica exacta del progenitor materno.

Nogler (1984) menciona que en las especies apomícticas no hay variabilidad genética, ya que el individuo se propaga con las mismas características y constitución genética que la planta madre.

Apomixis

La apomixis es el modo de reproducción asexual caracterizado por la producción de semilla clonal a través de desarrollo partenogenético de una célula huevo no reducida (Singh y Rathod 2007). Las plantas apomícticas no realizan las fases normales de la reproducción sexual: no reducen a la mitad el contenido de cromosomas durante la formación de los gametos, ni tampoco llevan a cabo la fecundación, salvo para formar en algunos casos el

endospermo de las semillas. Los procesos apomícticos ocurren en el óvulo, resultando en progenie que son copias exactas de la planta madre debido a que la fertilización no es necesaria para producir un embrión apomíctico (Koltunow *et al.*, 1995).

Tipos de Apomixis

Los mecanismos de apomixis se clasifican de acuerdo a si se forma o no un saco embrionario y en el tipo de célula que va a dar lugar al embrión, se divide en esporofítica y gametofítica.

Apomixis Esporofítica

En la apomixis esporofítica no se forma un saco embrionario, el embrión se forma directamente del nucelo o de los integumentos del óvulo, es llamado también embrionía adventicia (Bath *et al.*, 2005).

Apomixis Gametofítica

La apomixis gametofítica es la reproducción asexual por semilla (agamosperma). En este tipo de apomixis se forma siempre un saco embrionario no reducido, cuyas células contienen el número de cromosomas típico de las células somáticas por lo que se mantiene la alternancia de

generaciones (gametofito-esporofito-gametofito), sin la alternancia de fases nucleares (2N-N-2N) como ocurre en plantas sexuales. En la reproducción asexual gametofítica se diferencian por el origen de la célula que dará lugar al megagametofito (SE). Se divide en dos mecanismos: aposporia y diplosporia. En ambos casos se forma un saco embrionario del mismo nivel de ploidía que los del progenitor femenino (Koltunow y Grossniklaus, 2003).

Aposporia

En la reproducción apomítica apospórica, células del nucelo se dividen por mitosis para formar uno o varios sacos embrionarios no reducidos, por lo que todas las células de un apomítico tienen un número cromosómico no reducido 2N (Koltunow, 1993). Los sacos embrionarios apósporos pueden tener: una célula huevo, las sinérgidas y núcleos polares y pueden o no poseer antípodas, de acuerdo al tipo de apomixis. El embrión se desarrolla partenogénicamente de la célula huevo no reducida (Bath *et al.*, 2005).

La célula madre de la megáspora (CMM) puede ser eliminada o no, y es remplazada por una célula somática (diploide) de la pared nucelar del ovario, que dará lugar a un saco embrionario no reducido, por lo que los dos tipos de células pueden seguir coexistiendo. La aposporia es más común en las gramíneas y se considera el mecanismo reproductivo más evolucionado entre las especies apomíticas.

Diplosporia

Este mecanismo se caracteriza, porque el saco embrionario apomítico se origina de la (CMM). Puede ser diplosporia meiótica o mitótica. En el primer tipo la CMM inicia un proceso meiótico, pero este aborta, por lo que la célula continua dividiéndose mitóticamente y se produce un saco embrionario no reducido (Bath *et al.*, 2005).

En la diplosporia mitótica la CMM sufre una circunvencción de la meiosis y la célula sufre divisiones mitóticas que también resulta en un saco embrionario no reducido (Koltunow *et al.*, 1995). Se presenta en los géneros *Paspalum*, *Tripsacum*, *Eragrostis*, *Elymus*, etc., con meiosis parcial, incompleta o restitutiva que resulta en una célula meiótica no reducida. Una vez formado el saco embrionario en los apomíticos, la célula huevo, sin la necesidad de la fertilización por los núcleos espermáticos, es capaz de desarrollar partogenéticamente un embrión.

Formación del Endospermo

En algunas especies apomíticas el endospermo se desarrolla de forma autónoma sin necesidad de que los núcleos polares se fertilicen; por el contrario en otras especies de la familia Gramineae y Rosaceae la polinización de los núcleos polares es necesaria para el desarrollo del endospermo, estos

son llamados apomícticos pseudógamos (Koultunow y Grossniklaus, 2003). Más del 95% de las especies apomícticas pertenecen a este tipo (Bashaw y Hanna, 1990).

El zacate Buffel es una especie apomíctica apóspora y pseudógama (Fisher *et al.*, 1954). De lo anterior se desprende que en esta especie, como en cualquier otra especie apomíctica, se presentan dos desviaciones con respecto a la reproducción sexual: la formación de sacos embrionarios no reducidos y la capacidad de la célula huevo para desarrollarse partogenéticamente para producir el embrión (Asker, 1979).

Número Cromosómico y Comportamiento Meiótico

En un programa de mejoramiento es importante conocer el número y comportamiento meiótico de los materiales de cualquier especie, ya que predice su comportamiento al utilizarse como progenitores en programas de hibridación y apoya el conocimiento de la forma de reproducción de la especie. Por otra parte el número cromosómico se considera un parámetro de caracterización para proteger los derechos de propiedad intelectual de los materiales liberados.

El género *Cenchrus* ha sido estudiado ampliamente debido a su gran valor económico como forraje y distribución geográfica mundial. El primer cromosoma somático para este género fue reportado por Avdulov (1931), citado por Visser *et al.* (1998) estudio tres especies: *Cenchrus brownii* (anteriormente conocido como *Cenchrus inflexus R. Br.*), *Cenchrus echinatus* L. y *Cenchrus myosuroides* H.B.K. Se reportó el número de cromosomas somáticos para *Cenchrus brownii* y *Cenchrus echinatus* de 34 y 70 para *Cenchrus myosuroides*.

El zacate Buffel exhibe una amplia variación genética, con niveles de ploidía que varían de $2N=36$ a $2N=54$. Estudios realizados en 18 materiales de zacate Buffel por Fisher *et al.* (1954) les permitió sugerir que el número básico de cromosomas es $X=9$, ellos reportaron que el número cromosómico más común fue de $2N=36$ (en 13 introducciones), $2N=54$ en tres introducciones, mientras que en $2N=32$ y $2N=40$ en las dos introducciones restantes.

El número cromosómico de $2N=36$ fue confirmado en cinco líneas por Snyder *et al.* (1955), ellos reportaron además aneuploidía en la especie con base al número cromosómico de $2N=43$ que fue observado en una planta y el número $2N=48$ en otras dos plantas. Ellos al igual que Fisher *et al.* (1954), concluyeron que el número básico de cromosomas es $X=9$, y los materiales con 36 y 54 cromosomas son tetraploides y hexaploides respectivamente.

Estudios realizados en *Cenchrus ciliaris* por Visser *et al.* (1998) confirman que el número cromosómico básico para la especie es de $X=9$. Ellos reportaron diferentes números cromosómicos meióticos para *Cenchrus ciliaris*, siendo $N=18$ el más frecuente en 82.9% de los materiales estudiados. También observaron materiales con: $N=17$ (1.3%) y $N=27$ (6.6%). Con base en sus estudios ellos determinaron que existen niveles de ploidía de: tetra, penta y hexaploide.

Hignight *et al.* (1991) reportaron números cromosómicos para cinco materiales (409506, 409287, 409338, 409557 y 414485), siendo los primeros cuatro tetraploides y el 414485 pentaploide. Sin embargo, Burson *et al.* (2012) reportaron este último material como aneuploide con base a conteos cromosómicos y contenido de ADN por citometría de flujo.

Burson *et al.* (2012) determinaron el número cromosómico de 568 accesiones de zacate Buffel con base en el contenido de ADN usando citometría de flujo. De los materiales estudiados: 308 (54.2%) fueron tetraploides con 36 cromosomas, 139 (24.5%) fueron pentaploides con 45 cromosomas, 20 (3.5%) fueron hexaploides con 54 cromosomas, 2 (0.3%) heptaploides con 63 cromosomas y 99 (17.5%) fueron aneuploides. 83 de los aneuploides en el rango de 37 a 44 cromosomas y 16 en el rango de 46 a 53 cromosomas. El alto porcentaje (17.5%) de aneuploides encontrados en esta investigación contrasta con el 1.3% reportado por Visser *et al.* (1998).

En los primeros estudios citológicos en zacate Buffel se reportó como una especie alotetraploide segmental debido a que en los genotipos tetraploides, sus cromosomas se asocian durante la diacinesis en uno o dos cuadrivalentes y de 16 a 14 bivalentes, reportaron meiosis regular en los materiales tetraploides y meiosis irregular en materiales aneuploides con 32, 40 y 54 cromosomas (Fisher *et al.*, 1954).

Snyder *et al.* (1955) reportaron de 2-4 cuadrivalentes, el número promedio de configuraciones cromosómicas observados fueron 2.7 IV, 0.1 III, 12 II y 0.9 I. Ellos también reportan que en los genotipos tetraploides la meiosis fue regular y en los aneuploides ($2N=43$ y $2N=48$ cromosomas) fue irregular.

Shafer *et al.* (2000) reportan materiales pentaploides ($2N=5X=45$ cromosomas) con asociaciones cromosómicas de 18II y 9I, por lo que la viabilidad de los granos de polen en estos materiales es reducida. Los materiales pentaploides tienen un genoma no relacionado, ya que los nueve cromosomas extras no se aparean con ninguno de los 36 cromosomas de zacate Buffel; debido a esta falta de homología muy probablemente la fuente de estos nueve cromosomas extras proviene de otra especie (Visser *et al.*, 1980; Bashaw and Johns, 1983).

Zacate Buffel y su Mecanismo Apomítico de Reproducción

El modo de reproducción apomítico en zacate Buffel fue reportado primero por Fisher *et al.* (1954); la apomixis obligada fue confirmada por Snyder *et al.* (1955) y con base en la presencia de sacos embrionarios múltiples y tetranucleados propusieron que el tipo de apomixis es aposporia y pseudogamia. Esta última indica, como ya se mencionó anteriormente, que aunque no hay fusión de gametos, la polinización de los núcleos polares es necesaria para el desarrollo del endospermo (Burson *et al.*, 2002).

Bray (1978) y Sherwood *et al.* (1980) demuestran la presencia de apomixis facultativa en zacate Buffel, con base en pruebas de progenie en el campo y observaciones citológicas en el laboratorio, donde detectaron en una misma inflorescencia la coexistencia de sacos embrionarios tipo polígono y sacos embrionarios apósporos.

Bashaw (1962) reportó una planta de reproducción sexual denominada TAM-CRD B-1s, esta planta segregaba para progenie apomítica y sexual. Los sacos embrionarios de esta planta eran tipo polígono de ocho núcleos. La sexualidad descubierta en zacate Buffel permitió visualizar mejores oportunidades de mejoramiento en la especie.

Mejoramiento de Especies Apomícticas

La riqueza genética, de los centros de origen, donde existe una gran variabilidad, es la base para superar problemas reproductivos y de estabilidad ecológica: buen rendimiento durante la sequía, fijación de nitrógeno, calidad, resistencia a plagas y enfermedades; como se ha demostrado en casos exitosos como *Brachiaria*, *Panicum* y *Cenchrus*. Los avances en investigación sobre apomixis han elucidado su biología y diversas técnicas para su manejo. Sin embargo, el impacto de estos avances en la investigación sobre forrajes en México, promueve la recapitulación sobre el aprovechamiento de recursos genéticos y el interés en la generación de híbridos para las necesidades de producción en pastoreo extensivo en México.

Los métodos de mejoramiento más comunes en plantas forrajeras con reproducción sexual son: selección de ecotipos, selección masal, selección recurrente, variedades sintéticas e hibridación. Para plantas apomícticas los métodos de mejoramiento más utilizados son: evaluación de ecotipos y producción de híbridos apomícticos (González, 1982). Esto último siempre y cuando en la especie exista una fuente de sexualidad como es el caso del zacate Buffel. En esta especie el uso de plantas sexuales continúa siendo una técnica importante para combinar los rasgos superiores de varios progenitores (Hatch y Hussey, 1991).

La apomixis es una herramienta poderosa en el mejoramiento, cuando existe sexualidad en una especie apomíctica, el mejoramiento es más factible; generalmente es posible encontrar en una especie o en un grupo de especies cercanas, reproducción sexual en biotipos diploides y reproducción apomíctica en los poliploides. El control genético del tipo de reproducción es monofactorial y fácil de manipular.

Los esquemas convencionales de mejoramiento, desarrollados para especies de reproducción sexual, tienen que ser modificados para aprovechar las ventajas naturales que ofrece la apomixis; ya que la hibridación entre materiales apomícticos y sexuales permite la selección de nuevas variedades que contengan mayores combinaciones de genes favorables, lo que no era posible antes del descubrimiento de la sexualidad en zacate Buffel (González, 2002).

La introducción del clon sexual (B-1s) a México por el Dr. González Domínguez en 1985 permitió que se incorporara en el Programa de Pastos de la UAAAN la hibridación como método de mejoramiento del zacate Buffel, ello permitió la liberación del primer híbrido apomíctico de zacate Buffel (AN17PS) en México y comercializado en Estados Unidos como Pecos (González y Gómez, 2004).

En el Programa de Pastos de la UAAAN se han generado híbridos con mayor rendimiento de forraje y resistentes al tizón del zacate Buffel causado por *Pyricularia grisea*; así mismo se ha obtenido información para eficientar la producción y calidad de la semilla de estos híbridos (González, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Sitio Experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicada en Saltillo, Coahuila. El campus universitario se localiza entre las coordenadas geográficas de 25°22" latitud norte y 101°02" longitud oeste y una altitud de 1742 msnm.

Material Biológico

Se analizaron dos híbridos F₁ apomícticos y dos híbridos F₁ sexuales de zacate Buffel, que se generaron en el Programa de Pastos de la UAAAN.

Híbridos F₁ de zacate Buffel analizados. Saltillo, Coah. 2011.

Híbrido	Modo Reproductivo
AN17PS (Pecos)	Apomíctico
HA7a	Apomíctico
HS3a	Sexual
HS9a	Sexual

Híbridos F₁ Apomícticos y Sexuales

Estos híbridos se generaron de la cruce del clon sexual TAM CRD B-1s x Zaragoza 115 por el Programa de Pastos de la UAAAN. En 2006 se evaluaron en campo 6500 híbridos F₁ y se seleccionaron 500 por su producción de panículas. El modo de reproducción de estos híbridos se determinó con base en pruebas de progenie realizadas en Zaragoza, Coahuila en 2007 y se seleccionaron con base a su producción de semilla, rendimiento de biomasa, resistencia al tizón foliar causado por *Pyricularia grisea* y tolerancia a heladas (Gómez, 2009).

AN17PS (Pecos)

Es un híbrido apomíctico F₁ generado en el Programa de Pastos de la UAAAN producto de la cruce del clon sexual TAM CRD B1s con Zaragoza 115. Este híbrido tiene propiedad intelectual y actualmente está siendo comercializado en Estados Unidos con el nombre de Pecos. AN17PS tiene un buen rendimiento de forraje, buena tolerancia a heladas y resistencia a *Pyricularia grisea*. Produce panículas púrpura y el color del follaje es verde claro (González y Gómez 2000; Gómez y González, 2002). Ramírez *et al.* (1998) lo reportan como un tetraploide de $2N=4x=36$ cromosomas.

Metodología

Se sembraron en cajas de nieve seca semilla de los híbridos apomícticos y cuando alcanzaron una altura de 15 cm se trasladaron a macetas de plástico negro. Las macetas se llenaron con peat moss como sustrato y se trasladaron al invernadero #4 de la UAAAN, ahí se les proporcionó agua y nutrientes necesarios para su desarrollo. Con respecto a los híbridos F_1 sexuales, se seleccionaron tres progenies sexuales con base a las pruebas de progenie y el comportamiento agronómico de los híbridos por lo cual las plantas madre F_1 de donde provenían estas progenies se sacaron completas del campo, y se llevaron a la bodega de Pastos en Saltillo, Coah. La corona de cada planta se dividió en dos y se colocaron en macetas de plástico con peat moss. Cuando las plantas alcanzaron la madurez y llegaron a la etapa reproductiva, se colectaron las muestras de las inflorescencias para cada uno de los materiales.

Estudio Citogenético

El análisis cromosómico se realizó en células en diacinesis, siguiendo la técnica de "Squash". Para el estudio citogenético se requirieron células en división meiótica, las cuales se obtuvieron de anteras inmaduras. La metodología utilizada se describe a continuación.

Obtención del Material

Los microsporitos en desarrollo son células en las que se puede encontrar la división meiótica, en ocasiones es difícil seleccionar flores en estado apropiado de desarrollo donde pueda observarse la división. Por ello, para determinar la hora más adecuada en la que se pueda encontrar un mayor número de células en división, se probaron varias horas de colecta del material, las inflorescencias más apropiadas para el estudio fueron colectadas de 8:00 AM a 10:00 AM donde se encontró una mayor división meiótica en los materiales de zacate Buffel analizados. Es importante mencionar que el período de floración varía de acuerdo a factores ambientales como la humedad, la temperatura y el fotoperíodo. La inflorescencia del zacate Buffel no madura de manera uniforme, si no escalonada de la parte superior a la inferior, lo que dificulta la selección de las espiguillas para el análisis.

Fijación

Las inflorescencias colectadas, fueron fijadas en alcohol de 96° y ácido acético glacial 3:1 v/v con el objetivo de matar el tejido y fijar las fases de la división celular, sin que se deterioren los tejidos. Las inflorescencias se conservaron en fijador Farmer hasta su análisis.

Procedimiento

Para el análisis meiótico se utilizaron dos plantas de cada híbrido, cuando las plantas estaban en floración se colectaron inflorescencias de plantas individuales se pasaron a una solución fijadora Farmer (3:1 etanol: ácido acético glacial) por 24 horas. Con la finalidad de matar instantáneamente el tejido y fijar las fases de la división celular, se tomó una ramificación de las inflorescencias que se encontraban en fijador y se colocó en una caja Petri, se enjuagó con agua destilada y posteriormente se procedió a disectar una espiguilla para extraerle las anteras.

Las anteras se colocaron en un portaobjetos y se agregó una gota de colorante carmín propiónico al 1%. Con una aguja curva se cortaron las anteras a la mitad y se aplastaron para liberar las masas de microesporositos, después se extrajeron las envolturas de las anteras, se dejaron colorear y se colocó un cubreobjetos sobre los microsporositos, se calentó la preparación en un mechero de alcohol y se presionó suavemente, sin movimientos laterales, sobre un papel filtro, en seguida se observó al microscopio, si los microsporocitos estaban sobrecoloreados se agregó una gota de ácido propiónico por los bordes del cubreobjeto y se volvió a presionar y a dar calor.

Se observó al microscopio nuevamente hasta que se obtuvo una buena diferenciación de color entre los cromosomas y el citoplasma, se procedió a presionar un poco para quitar el exceso de ácido y a continuación se selló la preparación en forma temporal con cera y se seleccionaron las mejores células (García, 1990). Las células se analizaron en diacinesis de la profase I de la meiosis. Todas las observaciones se hicieron con el objetivo 100X en un microscopio compuesto Carl Zeiss®.

Microfotografía

Las microfotografías son una herramienta de gran utilidad para facilitar el análisis citológico. Para obtener una buena microfotografía se requiere de una buena preparación. Las fotografías se tomaron en un microscopio vista visión con cámara digital Pixera Winder Pro. Integrada conectada a la computadora, se verificó la intensidad de luz y el contraste para obtener la máxima nitidez.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio Citológico

El conocimiento del nivel de ploidía, comportamiento meiótico y fertilidad de los genotipos, antes de ser utilizados en programas de hibridación son importantes debido a que la funcionalidad de una cruce depende del uso de líneas parentales meióticamente estables y con número de cromosomas compatibles (Burson y Young, 2000). Esto es todavía más importante en los zacates tropicales donde las irregularidades citológicas y variaciones cromosómicas son comunes.

Los estudios meióticos de los dos híbridos apomícticos y dos híbridos sexuales F_1 revelaron los siguientes resultados:

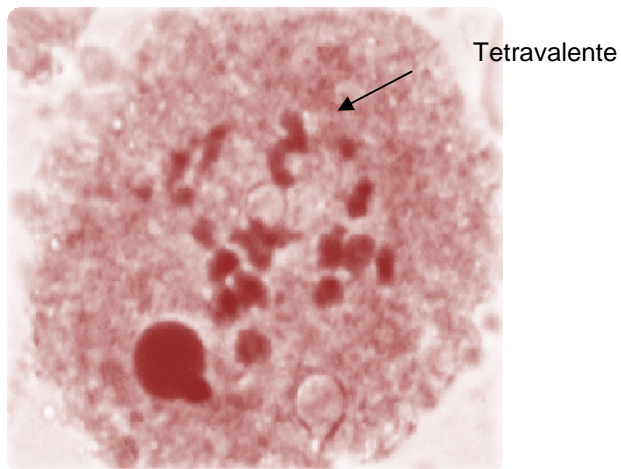
Híbrido AN17PS

Con base en las observaciones realizadas se encontró que las células del híbrido AN17PS mostraron una mayor diversidad de configuraciones cromosómicas. En la Figura 1 se puede observar una célula de AN17PS en diacinesis (etapa ideal para el conteo de cromosomas) con las diferentes asociaciones cromosómicas: $5I+ 12CII + 1III+ 1IV = 36$ cromosomas (5

univalentes + 12 cadenas bivalentes + 1 trivalente + 1 cuadrivalente = 36 cromosomas). El zacate Buffel fue reportado como un alotetraploide segmental (Fisher *et al.*, 1954), esta condición fue demostrada posteriormente por estudios moleculares (Jessup *et al.*, 2003).

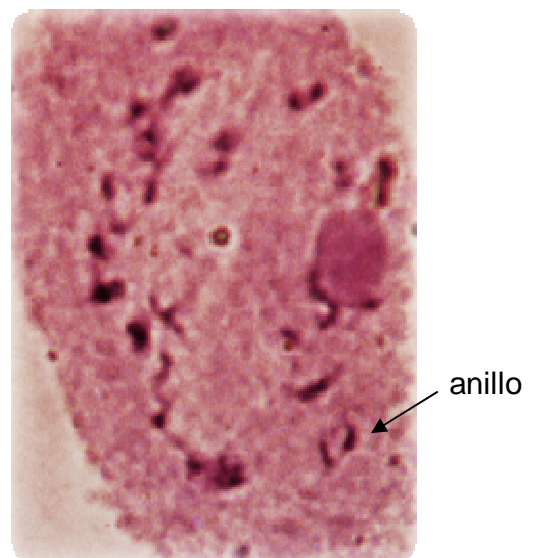
En la Figura 2 se observa una célula en diacinesis con 8AII + 8CII+ 1IV =36 cromosomas. Este número de cromosomas ha sido reportado anteriormente por varios autores; se considera el número de cromosomas más común en la especie (Fisher *et al.*, 1954; Snyder *et al.*, 1955; Visser *et al.*, 1998; Burson *et al.*, 2012).

Los primeros en realizar estudios citológicos en la especie fueron Fisher *et al.* (1954) y Snyder *et al.* (1955), con base en sus observaciones determinaron que el número básico de cromosomas de la especie es $X=9$ y que los materiales con 36 cromosomas son tetraploides, los de 54 cromosomas son hexaploides y los materiales con 32, 40 y 48 cromosomas encontrados son aneuploides. De acuerdo con el análisis meiótico realizado en células en diacinesis de este híbrido se considera que AN17PS es un tetraploide. Este resultado concuerda con el obtenido por Ramírez *et al.* (1998) en estudios de mitosis ellos reportan un número cromosómico de $2N=4X=36$ cromosomas para este material. Además se ha reportado que en los materiales tetraploides la microsporogénesis es normal o cercana a la normal (Fisher *et al.*, 1954).



5I+ 12 CII + 1 III+ 1IV

Figura 1. Microfotografía del híbrido AN17PS ($2N=4X= 36$) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.



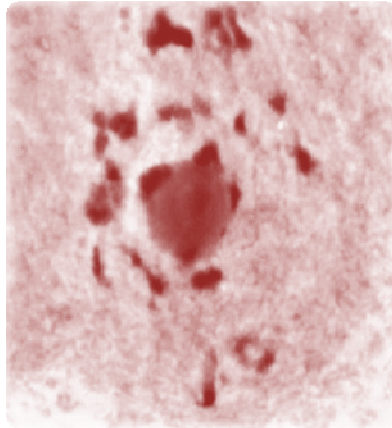
8AII+8CII+1IV

Figura 2. Microfotografía del híbrido AN17PS ($2N=4X= 36$) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.

Se ha reportado que las especies aloploidoides no tienen apareamiento entre cromosomas de sus especies parentales, ya que no hay afinidad entre ellos y por lo tanto ocurre un alto grado de esterilidad en los híbridos F_1 (Schulz- Schaeffer, 1980).

Estas irregularidades meióticas podrían ser una explicación a la baja producción de semilla que presenta este material. En el caso de los pentaploides, las irregularidades son más frecuentes por su número impar de homólogos (Schulz-Schaeffer, 1980). Aún cuando se han reportado porcentajes altos de fertilidad utilizando líneas pentaploides en cruza con tetraploides. Hignight *et al.* (1991) reportan porcentajes de fertilidad de 2 hasta 43 por ciento y mencionan que las dificultades encontradas en las hibridaciones en algunos casos podrían ser debidas más que nada al largo tiempo de aislamiento entre los materiales impuestos por la apomixis. Gómez (2009) reportó la variedad Biloela como pentaploide ($2N = 45$ cromosomas) y con un amarre de semilla de 14% al cruzarla con el clon sexual B-1s.

En la Figura 3 se muestra una célula de AN17PS en diacinesis, se observan 13 anillos bivalentes y 7 cadenas bivalentes ($2N=40$ cromosomas). Se ha reportado que la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas pueden influir en la habilidad para el apareamiento de cromosomas, dentro de un juego de genomas balanceados, esto se expresa en disturbios meióticos.

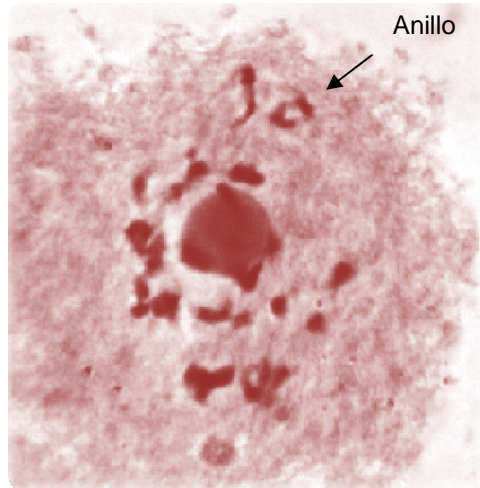


13AII+7CII

Figura 3. Microfotografía de AN17PS ($2N= 40$ cromosomas) célula en diacinesis de meiosis. Aumento 100x.

Las cadenas nos indican asociaciones de apareamiento que tuvo la formación de quiasma y terminalización en solamente un brazo del cromosoma, en las que están involucrados los dos cromosomas homólogos. En los cromosomas la repulsión generalmente causa una forma de arcos opuestos que produce la forma típica de bivalentes en anillo cerrado (Schulz-Schaeffer, 1980).

En la Figura 4 se observa una célula con 11 anillos bivalentes y ocho cadenas bivalentes ($2N= 38$ cromosomas). En esta célula no se observaron trivalentes ni tetravalentes.

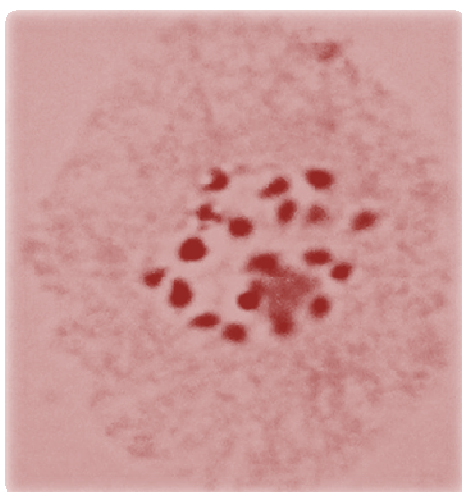


11AII+8CII

Figura 4. Microfotografía del híbrido AN17PS célula en diacinesis de meiosis. (2N= 38 cromosomas). Aumento 100x

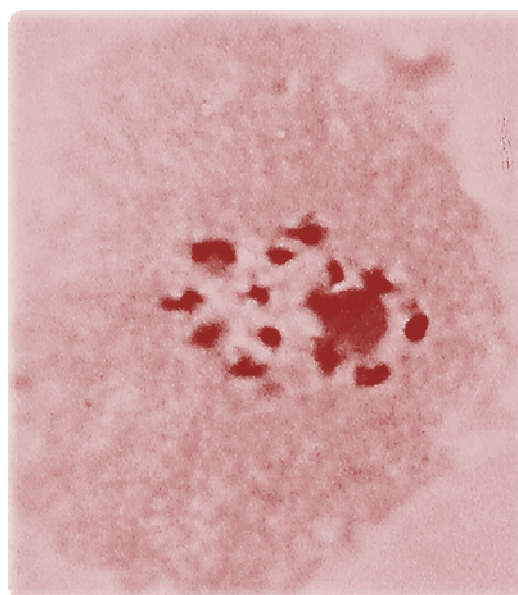
Híbrido Apomítico 7a (HA7a)

En las plantas analizadas del híbrido HA7a se observa durante la diacinesis la formación de 19 y 15 configuraciones bivalentes (Figuras 5 y 6). Fisher *et al.* (1954); Snyder *et al.* (1955) determinaron que el número básico de cromosomas del zacate buffel es $X=9$, por lo que materiales encontrados con $2N= 32, 34, 40, 43$ y 48 cromosomas son aneuploides. De acuerdo con el análisis meiótico realizado en esta investigación, se considera que HA7a es un aneuploide de $2N= 38$ cromosomas.



19II

Figura 5. Microfotografía del híbrido HA7a célula en diacinesis de meiosis ($2N= 38$ cromosomas). Aumento 100x.



15II

Figura 6. Microfotografía del híbrido HA7a célula en diacinesis ($2N=30$ cromosomas). Aumento 100x.

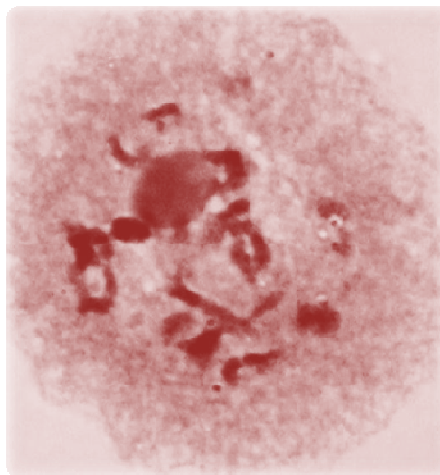
Visser *et al.* (1998) analizaron 76 entradas de Buffel y reportan 82.9% como tetraploides, 9.2% pentaploides, 6.6% hexaploides y 1.3% aneuploides. Los reportes de Burson *et al.* (2012) utilizando citometría de flujo difieren grandemente, ellos reportan un 54.2% de tetraploides, 24.5% de pentaploides, 3.5% hexaploides, 0.4 heptaploides y una mayor cantidad de aneuploides (17.4%) lo que nos da idea de la diversidad genética y citológica que existe en taxones altamente apomícticos. Las diferencias entre estos dos reportes muy probablemente se debieron al tamaño de las muestras estudiadas. Burson *et al.* (2012) analizaron 568 entradas de zacate Buffel del Sistema Nacional de Germoplasma de plantas.

Burson *et al.* (2012) mencionan que los diferentes niveles de ploidía y el alto número de plantas aneuploides encontradas sugiere que la apomixis ha jugado un papel importante en el origen y preservación de anomalías cromosomales de zacate Buffel.

La meiosis irregular frecuentemente ocurre en poliploides y produce gametos sin el complemento cromosómico normal, esto reduce la viabilidad del polen y causa esterilidad (Burson y Young, 2000). La aneuploidía también reduce la fertilidad en las plantas y es un indicador de apomixis (Fisher *et al.*, 1954).

Híbrido F₁ Sexual 3a (HS3a)

En el híbrido HS3a se observó durante la meiosis un comportamiento cromosómico con apareamiento regular. En la Figura 7 se observa una célula en diacinesis con 18 configuraciones bivalentes compuesta por 11 anillos y 7 cadenas (11AII + 7CII). En zacate buffel se han reportado niveles de ploídia de tetraploide, pentaploide y hexaploide (Fisher *et al.*, 1954; Snyder *et al.*, 1955., Visser *et al.*, 1998) y heptaploides (Burson *et al.*, 2012), el nivel de ploídia más frecuente entre los genotipos de zacate buffel es el tetraploide. De acuerdo al análisis meiótico realizado se desprende que HS3a es un material tetraploide con $2N=4X=36$ cromosomas.

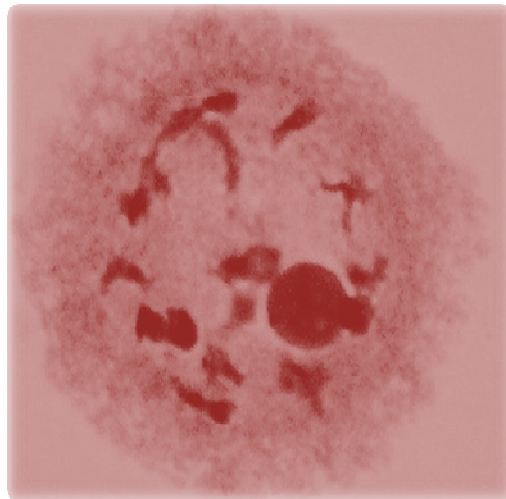


11AII+7CII

Figura 7. Microfotografía del híbrido HS3a célula en diacinesis de meiosis ($2N= 4X= 36$ cromosomas). Aumento 100x.

Híbrido F₁ Sexual 9a (HS9a)

En este material al igual que en HS3a se observó un comportamiento cromosómico con apareamiento regular. En la Figura 8 se observa una microfotografía en diacinesis con 18 configuraciones bivalentes compuesta por 10 anillos bivalentes y 8 cadenas (2N=4X=36 cromosomas). Se observó que los materiales sexuales tienen una configuración cromosómica más estable que los materiales apomícticos analizados.



10AII + 8CII

Figura 8. Microfotografía del híbrido HS9a célula en diacinesis de meiosis. (2N= 4X= 36 cromosomas). Aumento 100x.

V. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y considerando los objetivos propuestos en esta investigación se concluye lo siguiente:

1. Los híbridos apomícticos estudiados presentaron irregularidades en el proceso de microsporogénesis que conduce a la formación de gametos masculinos desbalanceados y por lo tanto diferentes al complemento de 18 cromosomas en los gametos normales. En ambos genotipos existe la posibilidad de que produzcan algún porcentaje de gametos masculinos no funcionales.
2. La observación de tetraivalentes en el apomíctico AN17PS confirma la posibilidad de herencia tetrasómica para algunos caracteres en el zacate Buffel.
3. En los híbridos sexuales se confirma la ocurrencia de un proceso normal de gametogénesis masculina que resulta en polen de mejor calidad.

IV. LITERATURA CITADA

- Ackerman, B. A. y D. J. Gordon. 1991.** Gramíneas de Sonora. Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostaderos. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Hermosillo, Sonora.
- Alvarado R., H. 1994.** Evaluación de híbridos apomícticos de zacate buffel *Cenchrus ciliaris*. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México. 64p.
- Anderson, E. R. 1970.** Effect of flooding on tropical grasses. In: Proc. 11th Int Grassland Congress. Surfer Paradise. pp. 591-594.
- Arizona Interagency Range Technical Sub-committee. 1973.** Guide to Improvement of Arizona Rangeland. The University of Arizona. Cooperative Extension Service and Agricultural Experiment Station.
- Asker, S. 1979.** Progress in apomixis research. Hereditas 9:231-40.
- Ayerza, R. H. 1981.** El Buffelgrass: Utilidad y manejo de una promisorio gramínea. Ed. Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires, Argentina. 139 p.
- Bashaw, E. C. 1962.** Apomixis and sexuality in Buffelgrass. Crop Sci. 2:412-415.
- Bashaw, E. C. 1980a.** Registration of Nueces and Llano Buffelgrass. Crop Sci. 20:112

- Bashaw, E. C. 1980b.** Apomixis and its application in crop improvement. In: Road, S.S. (ed.). Hybridization of Crop Plants. Am. Soc. Agron. Crop Sci pp. 45-68.
- Bashaw, E.C. 1985.** Buffelgrass origins. In: E.C.A. Runge and J.L. Schuster (eds.). Buffelgrass: Adaptation, management and forage quality. The Texas Agricultural Extension Service; U.S. Department of Agriculture Soil Conservation Service. College Station, Texas MP 1575. pp. 6-8.
- Bashaw, E.C. and Johns. C.W. 1983.** Buffelgrass germoplasm research for the Southern Great Plains. In: Proceedings of 39th Southern Pasture and Forage Crop Improvement. Oklahoma, Ok. USDA-ARS.
- Bashaw, E.C. and W.W. Hanna. 1990.** Apomictic reproduction. In: G. P. Chapman (ed.). Reproductive versatility in the grasses. Cambridge University Press. pp. 100-130.
- Bath, V., K. K. Dwivedi I, J. P. Khurana and S. K. Sopory. 2005.** Apomixis: An enigma with potential applications. Special section: Embriology of Flowering Plants. Current Sci. 89 (11) 1879-1893.
- Bray, R.A. 1978.** Evidence for facultative apomixis in *Cenchrus ciliaris*. Euphytica 27:801-804.
- Burson, B.L., and Young 2000.** Tropical Forage Plants: Development and Use. Washington D.C. pp. 59-79.
- Burson, B.L., M.A. Hussey, J.M. Actkinson and G.S. Shafer 2002.** Effect of pollination time on the frequency of 2N+N fertilization in apomictic buffelgrass. Crop Sci. 42 (4):1075-1080.

- Burson, B.L., J.M. Actkinson., R.W. Jessup and M.A. Hussey. 2012.** Ploidy determination of buffel grass accessions in the USDA National Plant Germplasm System collection by flow cytometry. *South African Journal of Botany* 79:91-95.
- Cantú B., J.E. 1989.** 150 Gramíneas del norte de México. Monografía. UAAAN. Torreón, Coahuila. 145 p.
- Carbajal C., J.A. 1996.** Evaluación de híbridos apomícticos de zacate buffel en la región desértica de Ocampo, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México. 78 p.
- Chakravarty, A.K. and L. Kalkani. 1966.** Study on variation and seed yielding components of *Cenchrus ciliaris* L. *Annals of Arid Zones* 5:63-71.
- Cox, J. R., M. H. Martin R., F. A. Ibarra F., J. H. Fourie, N. F. G. Rethman and D.G. Wilcox. 1988.** The influence of climate and soils on the distribution of four African grasses. *J. Range Manage.* 41:127-139.
- Fisher, W. D., E. C. Bashaw, and E. C. Holt. 1954.** Evidence for apomixis in *Pennisetum ciliare* and *Cenchrus setigerus*. *Agron. J.* 46:401-404.
- Flemons, K.F and R.D. Whalley. 1958.** Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). *Agric. Gaz. New South Wales* 69: 449-60.
- Flores M., J.A. 1980.** Bromatología Animal. Segunda edición. Editorial Limusa. México. 930 p.

Franklin, K. A., K. Lyons., P.L. Nagler., D. Lampkin, E. P. Glenn. F. Molina-Freaner, T. Markow, and A.R. Huete. 2006. Buffelgrass (*Pennisetum ciliare*) land conversion and productivity in the plains of Sonora, Mexico. *Biological Conservation* 127:62-71.

García V. A. 1990. Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal. C.P. 3era Edición. 176. P.

García D., G. J., R. G. Ramírez L., R. Forouhbakhch, R. Morales R. y G. García D. 2003. Valor nutricional y digestión ruminal de cinco líneas apomícticas y un híbrido de zacate buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) *Tec. Pec.* 41: 209-218.

Gómez M., S. 2009. Desarrollo de híbridos simples de reproducción sexual y determinación de su compatibilidad en cruza con variedades apomícticas de zacate buffel *Pennisetum ciliare* L. Tesis. Doctorado en Ciencias en Fitomejoramiento. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 148 p.

Gómez M., S. y J. R. González D. 2002. Fertilización nitrogenada y fechas de aplicación en la producción de semilla de zacate buffel. *Memorias XIX Congreso Nacional de Fitogenética Sociedad Mexicana de Fitogenética A.C.* Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. p. 207.

González D. J. R. 1982. Perspectivas y plan para el mejoramiento genético de las gramíneas forrajeras de la zona árida y semiárida de México. Folleto de Divulgación. Vol. 1 No. 2. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah. México.

- González D., J. R. 2002.** El tizón del zacate buffel: Una nueva enfermedad que amenaza a los pastizales de las zonas semiáridas. Boletín Divulgativo. Especial. UAAAN. Saltillo, Coah. 20 p.
- González D., J. R. y S. Gómez M. 2000.** Nuevos híbridos del zacate apomítico buffel. Memorias Foro de Investigación: Avances y Resultados, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Dirección de Investigación. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp. 19-24.
- González D., J. R., S. Gómez M. y L. M. Cortez J. 1990.** Tolerancia a heladas y producción de forraje y de semillas en líneas y variedades de zacate buffel. Rev. Fit. Mex. 13: 76-86.
- González D., J.R. y S. Gómez M. 2004.** Zacate Buffel AN17PS. Folleto de Divulgación. Expo. Narro 2004. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Dirección de Investigación. Buenavista, Saltillo, Coah. México.
- Gutiérrez V., A. A. 2011.** Establecimiento de 90 cruzas triples de zacate buffel (*Pennisetum ciliare*) y digestibilidad *in vitro* de nueve variedades utilizadas como progenitores masculinos de las cruzas. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México 67p.
- Hanna, W. W. and E. C. Bashaw. 1987.** Apomixis: its identification and use in plant breeding. Crop Sci. 27: 1136-1139.
- Hanselka, C.W. 1988.** Buffelgrass-South Texas wonder grass. Rangelands 10:279-281.

- Hatch, S. L. y M. A. Hussey. 1991.** Origen taxonomía y oportunidades de mejora genética del zacate buffel y especies a fines. Séptimo Congreso Nacional SOMMAP. Simposium Internacional Aprovechamiento Integral de zacate buffel. 20-23 de agosto. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. pp. 3-13.
- Hernández R., P., E. de J Cuellar V. y V.J. Martínez. 2002.** Guía para el establecimiento y manejo de zacate buffel Zaragoza 115 para producción de semilla bajo riego. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Centro de Investigación Regional del Norte. Campo Experimental Zaragoza, Coah.
- Hignight, K.W., E.C. Bashaw and M.A. Hussey. 1991.** Cytological and morphological diversity of native apomictic buffelgrass, *Pennisetum ciliare* (L.) Link. Bot. Gaz. 152 (2): 214-218
- Holt, E.C. 1985.** Buffelgrass a brief history. In: Runge and J.L. Schuster (eds.). Buffelgrass: Adaptation, management and forage quality. Texas Agr. Exp. Sta. in cooperation with the Texas Agric. Ext. Service; U.S. Department of Agriculture-Soil Conservation Service. College Station, Texas. MP-1575. pp. 1-6.
- Hussey, M.A. y E.C. Bashaw. 1990.** Avances en el mejoramiento genético del zacate buffel. Memorias IV Conferencia Internacional de Ganadería Tropical. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamps. México. pp. 12-15.
- Hussey, M.A. and B.L. Burson. 2005.** Registration of Frio Buffelgrass. Crop Sci. 45:411-412.

- Ibarra F., F. y M. Martin R. 1995.** Establecimiento del zacate Buffel. En: PATROCIPES (ed.), Guía práctica para el establecimiento, manejo y utilización del zacate buffel. Hermosillo, Sonora, México. pp.15-30.
- Ibarra F., F., J.R. Cox y M. Martin R. 1991.** Efecto del suelo y clima en el establecimiento y persistencia del zacate buffel en México y sur de Texas. Séptimo Congreso Nacional SOMMAP. Simposium Internacional. Aprovechamiento Integral de Zacate Buffel. Cd. Victoria. Tamps. pp. 14-28.
- Jessup, R. W., B. L. Burson, G. Burow, Y.-W. Wang, C. Chang, Z. LI, A. H. Paterson and M. A. Hussey. 2003.** Segmental allotetraploidy and allelic interactions in Buffelgrass (*Pennisetum ciliare* (L.) Link syn. *Cenchrus ciliaris* L.) as revealed by genome mapping. Genome 46: (2): 304-313.
- Judd, I. B. 1979.** Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.). Handbook of Tropical Forage Grass. pp. 65-68.
- Koltunow, A.M. 1993.** Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. Plant Cell 5: 1425–1437.
- Koltunow, A.M. and U. Grossniklaus. 2003.** Apomixis: a developmental perspective. Ann. Rev. Plant Biol. 54: 547–574.
- Koltunow, A.M., R.A. Bicknell and A.M. Chaudhury. 1995.** Apomixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. Plant Physiol. 108:1345–1352.

- Méndez R., A. y S. J. Palomo. 1997.** Guía para establecer zacate buffel en el norte de Tamaulipas. Campo Experimental Río Bravo, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Río Bravo, Tamaulipas, México. pp.13-16.
- Mutz, J. L. and E. L. Drawe. 1983.** Clipping frequency and fertilization influence herbage yields and crude protein content of four grasses in south Texas. *J. Range Manag.* 36: 582-585.
- Nogler, G.A. 1984.** Gametophytic apomixis. In: BM Johri (ed.). *Embryology of angiosperms.* Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 475–518.
- Parodi, R. L. 1964.** Gramíneas bonaerenses. Editorial Acme Agency. Quinta Edición. Buenos Aires, Argentina. 91 p.
- Paul, C. J. and G. R. Lee. 1978.** Buffelgrass in Queensland. *Queensland Agricultural Journal* 104: 57-75.
- Ramírez G, F., M. H. Reyes V., J. R. González D., S. Gómez M y V. Robledo T. 1998.** Determinación del número cromosómico en seis materiales de zacate buffel. *Memorias del XVII Congreso de Fitogenética.* SOMEFI Universidad Autónoma de Guerrero. Acapulco, Guerrero. p. 397.
- Ryan, J., S. Miyamoto and J. L. Stronehlein. 1975.** Effect of acidity on germination of some grasses and alfalfa. *J. Range Manag.* 28: 154-155.
- SAGARPA. 2012.** Estadística de praderas de Buffel y otros pastos. Informe interno. Secretaria de Agricultura, Ganadería Recursos Hidráulicos Pesca y Alimentación. Hermosillo, Sonora, México
<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sonora/Paginas/default.aspx>

- Saldívar F., A. 1991.** Ecosistemas del zacate buffel en Tamaulipas: Aprovechamiento Integral del Zacate buffel. En: A. Aguirre, E. Candanosa y E. Gómez (eds.), Simposium Internacional. Aprovechamiento Integral del Zacate Buffel. Séptimo Congreso Nacional, SOMMAP. Cd. Victoria, Tamps, México. pp. 42-51.
- Schulz–Schaeffer, J. 1980.** Cytogenetics: Plants, Animals, Humans. Ed. Springer – Verlag Press. New York. Inc.
- Sahfer, G.S., B.L. Burson and M.A. Hussey. 2000.** Stigma receptivity and seed set in protogynous Buffelgrass. *Crop Sci.* 40:391-397.
- Sherwood, R.T., B.A. Young and E.C. Bashaw. 1980.** Facultative apomixis in Buffelgrass. *Crop Sci.* 20:375-379.
- Singh, G. and T. Rathod. 2007.** Plant growth biomass production and soil water dynamics in a shifting dune of Indian desert. *For. Ecol. Manage.* 171:309-320.
- Skerman, P.J. and F. Riveros. 1990.** Tropical grasses. FAO, Roma.
- Snyder, L.A., A.R. Hernandez and H.E. Warmke. 1955.** The mechanism of apomixis in *Pennisetum ciliare*. *Bot. Gaz.* 116: 209-221.
- Torres M., J.J. 2005.** Segregación del modo de reproducción en cruces de zacate Buffel tetraploide x hexaploide apomíctico. Tesis de Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México 89p.
- USDA. 2012.** Classification for kingdom plantae dow to species *Pennisetum ciliare* (L.). United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation. USA. <http://plants.usda.gov>

- Visser, N.C., J.J. Spies and H.J.T. Venter. 1998.** Aneuploidy in *Cenchrus ciliaris* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): truth or fiction? S. Afr. J. of Bot. 64 (6)337-345.
- White, L. D. and D. Wolf. 1985.** Nutritional value of Common buffelgrass. In: Runge and J.L. Schuster (eds.). Buffelgrass Adaptation, management and forage quality. Texas Agr.Exp. Sta. in cooperation with the Texas Agric. Ext. Service; U.S.Department of Agriculture-Soil Conservation Service.College Station, Texas. MP 1575. pp. 13-24.
- Whyte, R. O., T.R.G. Moir and J.P. Cooper. 1959.** Grasses in Agriculture
FAO Agricultural Studies. 42:24 p.
- Whiteman, P.C., Bohorquez, M. and E.N. Ranacou. 1974.** Biological and physiological aspects of the intensification of grassland utilization. In: XII International Grassland Congress, Moscow. Proceedings. Moscow: National Academy of Science. p. 402.
- Williamson, J. and B. Pinkerton. 1985.** Buffelgrass establishment. In: Buffelgrass: Adaptation, management and forage quality. The Texas Agricultural Exp. Station in cooperation with, the Texas Agric. Ext. Service; U.S. Department of Agriculture Soil. Conservation Service. College Station, Texas. MP 1575. pp. 25-29.
- Woodward, W. T. W. 1980.** Performance of Buffelgrass Cultivars for South Texas. Texas Agricultural Experiment Station.