



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD GANADERÍA

VARIABILIDAD GENÉTICA PARA LA SENESCENCIA DE HOJA EN *Cenchrus ciliaris* L.

SILVIA CERVANTES-SÁNCHEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2014

La presente tesis titulada: **Variabilidad genética para la Senescencia de Hoja en *Cenchrus ciliaris* L.** realizada por el alumna: **Silvia Cervantes Sánchez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. ADRIÁN RAYMUNDO QUERO CARRILLO

ASESOR



DR. PAULINO PEREZ RODRIGUEZ

ASESORA



DRA. ALEJANDRINA ROBLEDO PAZ

ASESOR



DR. ALFONSO HERNANDEZ GARAY

ASESORA



DRA. HILDA ARACELI ZAVALA MANCERA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio de 2014

RESUMEN

Variabilidad genética para la senescencia de hoja en *Cenchrus ciliaris* L.

Silvia Cervantes Sánchez, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2014

El pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) es ampliamente reconocido por su resistencia a sequía y capacidad de propagación en zonas semiáridas. En dichas regiones de México, el pastoreo no se puede realizar de forma ecológicamente eficiente (pastoreos programados a 95% de interceptación luminosa) debido a varias razones: tamaño de potreros, e infraestructura requerida. Siete genotipos resistentes a frío originarios de zonas altas de África, de la colecta de recursos genéticos de CGIAR-ILCA fueron evaluados a diferentes fechas de hoja senescente en contenido de pigmentos fotosintéticos, anatomía foliar y calidad de forraje y en comparación con Buffel común (testigo) con baja tolerancia a frío; lo anterior, con la finalidad de detectar materiales con mayor tolerancia a frío y calidad de forraje en hoja senescente. Nueve macetas por genotipo fueron mantenidas en invernadero en instalaciones del Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo, fertilizadas y regadas de forma similar, el desarrollo de hoja se muestreó mediante mediciones cada tercer día. Las hojas se analizaron mediante microscopia e integración de imágenes, se determinó el tejido digestible (floema, mesófilo), tejido medianamente digestible (epidermis y vaina del haz vascular) y tejido no digestible (xilema, y fibras de la extensión de la vaina). El contenido de pigmentos fotosintéticos se determinó a 470, 649 y 665 nm, mediante espectrofotometría. Se colectó material foliar a estados de desarrollo (0, S1, S2 y S3). Los datos se analizaron mediante diversos modelos estadísticos acorde al modelo de distribución de las variables de respuesta, en caso necesario, los datos se transformaron para normalidad, la comparación de medias se realizó mediante la prueba Tukey ($P < 0.05$). Se detectaron diferencias en morfología los genotipos G-10, G-8 y G-11 mostraron mayor área de mesófilo en comparación al testigo. No se observaron diferencias significativas a 45 días de expuesta la lígula (S3) ($P > 0.05$); sin embargo, el G-11 y G-10 mostraron concentraciones mayores de clorofila total. A 35 días de lígula expuesta (S2) el mayor contenido de pigmentos

se observó en G-5, sin que fuera diferente al resto de los genotipos (>0.05) exceptuando G-3. El área de lignina fue menor para el testigo y no se detectaron diferencias en contenido de lignina ni Fibra detergente neutro (NDF) entre genotipos. La edad es un factor que influencia la actividad fotosintética y la calidad del forraje. Existen diferencias entre genotipos para las variables de respuesta evaluadas. Los genotipos G-10, G-11 y G-5 pueden tener comportamiento superior en calidad al resto de los genotipos aunado a la mayor resistencia a bajas temperaturas en comparación con el testigo.

Palabras clave: hoja senescente, pigmentos fotosintéticos, anatomía foliar, calidad de forraje.

ABSTRACT

Leaf senescence genetic variability for genetic resources of *Cenchrus ciliaris*

L.

Silvia Cervantes Sánchez, M. Sc.

Colegio de Postgraduados, 2014

Buffelgrass has been worldwide recognized as drought resistant species; however, in semi-arid lands of México it is difficult to achieve the best use of the grass regrowth (harvesting to 95% light interception) due mainly to paddock size, cost for fencing, and low plant cover. Seven novel genotypes of Buffelgrass originated from the CGIAR-ILCA genetic resources bank at Addis-Abbeba, Ethiopia were evaluated for leaf morphology, fiber analysis, photosynthetic pigments content during four leaf growth stages (juvenile –half-length development-, 15, 35, and 45 days after ligule exposure). Nine pots per genotype were managed under greenhouse conditions at the *Campus* Montecillo of the Colegio de Postgraduados with similar watering and fertilization conditions. Two years old plants in pots for each genotype were sampled for leaf development. Leaf growth was determined every third day. At the leaf age required leaves were sampled; for morphology studies these were fixed using FAA solution and stained, analyzed using microscopy and image integrative software for digestible tissue (phloem and mesophyll), medium digestible tissue (epidermis and vascular sheath) and non-digestible (xylem, vascular bundles and marginal fibers); for photosynthetic pigment studies, these were determined using spectrophotometer at 470, 649 and 665 nm light waves); for fiber analysis Van Soest procedures were used for the leaf ages mentioned. Data was analyzed using different models according to data distribution; also data was transformed to give normality, and mean comparison was performed using Tukey test ($P < 0.05$). Leaf morphology differences among genotypes were detected bigger mesophyll area were detected for G-10, G-8, and G-11 with respect to common Buffelgrass as control. Lignin area was minor for the control and no differences for lignin or NDF concentrations ($P > 0.05$) among genotypes were detected within the same growth age. No differences ($P > 0.05$) were detected to 45 days of leaf age for chlorophyll content; however G-11 and G-10 showed higher contents for total chlorophyll. To 35 d of leaf development G-5 showed higher photosynthetic pigments content and no difference among genotypes was detected ($P > 0.05$) but to G-3. Leaf age influences photosynthetic activity and forage quality. Differences do exist among genotypes for the studied variables. Genotypes G-10, G-11, and G-5 may show a better grazing response due to forage quality in comparison with the other genotypes including the low-cold resistant placebo Buffel Común.

Keywords: leaf senescence, photosynthetic pigments, leaf anatomy, forage quality.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado la oportunidad de seguir preparándome día a día con estos estudios de maestría.

Al CONACyT por la beca otorgada para estudios de Maestría en Ciencias de Silvia Cervantes Sánchez; similarmente a la Línea Prioritaria de Investigación 11 y a la Línea Prioritaria de Investigación 16 del Colegio de Postgraduados por el apoyo para la realización del presente trabajo.

Al Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo, en especial al personal del Postgrado de Ganadería.

Al Dr. Adrián Raymundo Quero Carrillo, por su apoyo y dirección e infinita paciencia para conmigo durante toda mi estancia en el Colegio de Postgraduados, y sobre todo durante la culminación del presente trabajo.

A la Dra. Hilda Araceli Zavaleta Mancera, por su asesoría, acertados comentarios y paciencia en la elaboración y escritura de la tesis, así como por su calidad humana.

Al Dr. Paulino Pérez Rodríguez, por su asesoramiento en el ámbito Estadístico y por sus acertadas observaciones.

Al Dr. Alfonso Hernández Garay por su gran apoyo para la culminación del presente trabajo

A la Dra. Alejandrina Robledo Paz, por su apoyo brindado, acertados comentarios y paciencia en la culminación del presente trabajo.

A la Dra. Leonor Miranda Jiménez por su apoyo brindado durante mi estancia en el posgrado de Ganadería.

A todos mis profesores, por su guía y consejos brindados durante mi proceso de formación.

A mis compañeros y amigos Marcelina Vélez Torres, Dolores Briones Reyes, Ninfa Fernández González, Aurelio Hernández Bautista, Omar Burgos Herrera, Irma Romero Sánchez, Moisés Camacho Tapia, Olga Bonilla Barrientos, Enrique Hernández Leal, Álvaro Bernal Flores, Stephany Hernández Valencia, Cristina Tolentino Castro, y Julio César Ayala Figueroa quienes con su amistad hicieron grata mi estancia en el postgrado.

Un agradecimiento especial a Ignacio Romero Sánchez por su apoyo desinteresado en todo momento muchas gracias.

Y a todos aquellos quienes de manera involuntaria he omitido, pero contribuyeron en mi formación durante la maestría y en la terminación del presente trabajo.

DEDICATORIAS

A Dios por haberme permitido llegar a este punto dándome fuerza, voluntad y salud para lograr este gran objetivo en mi vida, además de su infinita bondad y amor.

Con mucho cariño a mis Padres Gabriel Cervantes Sánchez y Soledad Sánchez Cuaquehua por su sacrificio y gran apoyo en todo momento de mi vida, por sus enseñanzas consejos y por su eterna paciencia y perdón ante mis constantes errores.

A mis Hermanos Gabriel, Tatiana, José, Fabián, y Yareli al igual que a mis sobrinitos Jesús Isaías y José Dylan por ser las personas que más quiero en la vida y por ser fuente de motivación.

A mi Abuelita Dolores, a mis tíos María Asunción, Antonia, Adrián, y Luciano, a mis primos José Adrián, Jonathan, Diego, Florentina, Amy Elisa, Betsabé, Diana y Georgina por todas las alegrías vividas, y por su amistad y apoyo.

A mis más grandes amigos, Erika Morales Villalobos, Alma Delia López García Julián Tapia Herrera y Susana Cerezo Aparicio por su amistad, apoyo, y ánimo durante estos años, sin importar donde estén gracias por formar parte de mí.

CONTENIDO

RESUMEN	II
ABSTRACT	IV
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIAS	VI
ÍNDICE GENERAL	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Importancia de las gramíneas	4
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Localización del área experimental	18
3.2 Material Genético	18
3.3 Elongación y senescencia de hoja	18
3.4 Clorofila, fijación, tinción y cuantificación de tejidos fotosintéticos	19
3.5 Caracterización anatómica de hoja	20
3.6 Filocrón	20
3.7 Análisis de Fibras y Lignina.....	21
3.7.1 Materia seca	22
3.7.2 Proteína Cruda.....	22
3.7.3 Fibra detergente neutro (FDN).....	22
3.7.4 Lignina	23
3.7.5 Fibra detergente ácido	23

3.7.6 Cenizas	24
3.8 Análisis estadísticos	24
3.8.1 Cuantificación de pigmentos	24
3.9 Anatomía de hoja	25
3.10 Composición química	25
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1 Clorofila <i>a</i>	27
4.2 Clorofila <i>b</i>	29
4.3 Clorofila total (<i>a+b</i>).....	30
4.4 Xantofilas y carotenoides	31
4.5 Análisis Anatómico.....	33
4.5.1 Porcentaje de lignina	41
4.6 Composición química.....	43
5. CONCLUSIONES.....	48
6. LITERATURA CITADA.....	49

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido de clorofila a, y b de hoja en cuatro estados de desarrollo de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	28
Cuadro 2. Contenido de carotenoides+xantofilas (c+x) y clorofila total de hoja en cuatro estados de desarrollo de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	29
Cuadro 3. Porcentaje de áreas de la región central de hoja en Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	35
Cuadro 4. Porcentaje de áreas de la región lateral de hoja en Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	36
Cuadro 5. Porcentaje de áreas de la región marginal de hoja en Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	36
Cuadro 6. Porcentaje de lignina en hoja de cuatro estados de desarrollo en genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	42
Cuadro 7. Porcentaje de fibras de hoja en cuatro estados de desarrollo de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	43
Cuadro 8. Porcentaje de fibras de hoja en cuatro estados de desarrollo de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	44

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Rutas metabólicas y plasticidad de la senescencia foliar	6
Figura. 2. Análisis tradicional proximal y su equivalente en el análisis de fibras (Carpita, 1996).....	8
Figura 3. Relación entre fracciones morfológicas, químicas y la digestibilidad del forraje (Minson, 1990).....	9
Figura 4. Contenido de clorofila a en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.). J.	30
Figura 5. Contenido de clorofila b en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	31
Figura 6. Contenido de clorofila a+b en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	32
Figura 7. Contenido de carotenoides + xantofilas en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	33
Figura 8. Corte transversal de hoja (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	34
Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área total de tejido foliar en genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	37
Figura 10. Diagrama de caja y bigotes para la distribución de área de mesófilo en hoja de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	38
Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de floema en hoja de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	38
Figura 12. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de epidermis en hoja de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.) ..	39
Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de vaina del haz en hoja de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.)	40
Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área de xilema en hoja de ocho genotipos de Buffel (<i>Cenchrus ciliaris</i> L.).....	40

Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área de fibras de la extensión de la vaina en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).....41

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas ganaderos son muy diferentes en áreas de pastizal, éstos regulan dinámica de la vegetación, poseen baja cobertura vegetal y amplia diversidad de especies vegetales, lo que demanda prácticas de manejo del pastoreo en términos de aporte de nitrógeno y frecuencia e intensidad de defoliación (Wilkins, 1995). Sus posibles consecuencias sobre el crecimiento neto y digestibilidad del forraje deben ser mejor entendidas, dado que conceptos actuales de crecimiento en gramíneas forrajeras no se ajustan al uso eficiente del pastizal. Los modelos de crecimiento basados en la eficiencia de uso de radiación no suelen tener en cuenta la senescencia y baja cobertura vegetal (Belanger *et al.*, 1992; Duru y Ducrocq, 2000).

Los pastizales en zonas áridas de México carecen de infraestructura para lograr pastoreos sistemáticos donde se maximicen las tasas de rebrote de los pastos y se coseche con eficiencia el forraje, perdiendo el aprovechamiento máximo del crecimiento compensatorio durante la estación de crecimiento. Normalmente, las áreas de pastoreo en México árido poseen superficies en potreros de 250 a 1000 h o más, dificultando la cosecha eficiente, como consecuencia del costo elevado de la infraestructura necesaria (elevada cantidad de potreros y, por tanto, cercos) principalmente cuando los pastos han pasado a la fase reproductiva (Quero, 2013).

Dada la fragilidad del pastizal, la agricultura de secano es poco recomendable en áreas semiáridas, la promoción de especies perennes que requieren del mínimo laboreo para lograr su establecimiento y persistencia es la mejor forma de apoyar al pastizal, lo que se reflejará en mayor sustentabilidad y producción del recurso. La agricultura de riego promueve efectos secundarios de salinidad de suelo en la mayoría de las cuencas endorreicas predominantes en estas áreas. Similarmente, en estudios de historia de uso del pastizal, se ha señalado que las tierras abiertas a la agricultura y dejadas en sucesión secundaria, para uso bajo pastoreo en

pastizales semiáridos, presentan mayor erosión que las tierras que solamente son sobrepastoreadas por largos periodos (Evans y Geerken, 2004; Rowntree *et al.*, 2004). Esto es, la combinación de agricultura y pastoreo de ruderales y vegetación en sucesión secundaria promueve marcadamente la erosión.

En México, se reportan 1,070 especies de gramíneas con gran importancia ecológica y económica. Este es uno de los grupos taxonómicos más abundantes en pastizales y son fuente de forraje barato que sustenta a la ganadería (Hernández, 2013). En las regiones áridas y semiáridas, los sistemas pecuarios son principalmente extensivos. Sin embargo, muchos ganaderos usan el agostadero indiscriminadamente, lo que afecta la persistencia de pastos de alta calidad forrajera en el pastizal y pone en riesgo la estabilidad ecológica de los ecosistemas áridos bajo pastoreo. En estos sistemas de producción los forrajes cultivados juegan un papel muy importante en la sostenibilidad de los mismos; sin embargo, las opciones para producir forraje en estas áreas son muy limitadas por la escasa precipitación, por lo que se requiere el uso de especies forrajeras con tolerancia a sequía. El pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) tiene características tales como ser tolerante a sequía, disminuye la erosión, es resistente al pastoreo y es aceptado por el ganado. Debe sembrarse en tierras marginales o de baja productividad en la agricultura, abandonadas o erosionadas con poca o nula cubierta vegetal, con precipitaciones desde 250 mm y una altitud hasta los 2,000 msnm (Jiménez *et al.*, 2005; Ibarra *et al.*, 2013).

El objetivo del presente estudio fue evaluar genotipos noveles, recibidos de zonas altas de África vía el International Livestock Research Institute (CGIAR-ILRI) de Buffel *Cenchrus ciliaris*, durante la senescencia, determinando filocrón, mediante la tasa de expansión de hoja, por estado de desarrollo de hoja a: (J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula) mediante cuantificación de pigmentos fotosintéticos, estructura de hoja y variación en

componentes estructurales: tejido altamente digestible, de mediana digestibilidad, no digestible y lignina (%), Así como la determinación de composición del forraje de hoja, mediante Fibra Detergente Neutro (FDN), Fibra Detergente Acido (FDA), Lignina (L), Proteína Cruda (PC), y Cenizas para los cuatro estadios de desarrollo de hoja. Identificar materiales genéticos que inicien el crecimiento temprano y mantengan la actividad y calidad de hoja para rumiantes en pastoreo por mayor tiempo post finalizado el crecimiento de hoja. Evaluando la senescencia de hoja en estos genotipos, podremos conocer la dinámica de la calidad del forraje a edades avanzadas edades de rebrote y/o durante la reducción de crecimiento por efecto del ambiente.

Para el aprovechamiento de la diversidad genética de Buffel, es necesario, tener la problemática a resolver claramente establecida y detectar materiales destacados que inicien crecimiento temprano y retengan mayor calidad de hoja durante la senescencia

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Importancia de las gramíneas

Poaceae es una familia de la mayor importancia, se utiliza ampliamente para la alimentación, fibra y forraje. Los pastos forrajeros son miembros de esta familia. Las tres especies de gramíneas que más se cultivan en el mundo son trigo *Triticum aestivum* (L), arroz *Oryza sativa* (L.) y maíz *Zea mays* (USDA, 1992). Sin gramíneas forrajeras, el sector ganadero, como lo conocemos, no existiría (Wilhelm y McMaster, 1995). La importancia del desarrollo vegetativo se ha reconocido siempre en las gramíneas forrajeras ya que el material vegetativo es económicamente importante para la producción ganadera (Buchanan-Wollaston *et al.*, 2003; Wilhelm y McMaster, 1995). El Desarrollo vegetativo en gramíneas se caracteriza por la iniciación regular y aparición de hojas sucesivas. La tasa de iniciación de la hoja en el meristemo apical y la tasa de aparición de hojas por encima de la pseudotallo o verticilo son controladas principalmente por la temperatura (Van Esbroeck *et al.*, 2008).

En el noreste de México, más de la mitad de la superficie (21, 083,877 ha) se dedican 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%) de áreas para la producción en pastoreo. En esta región predominan los sistemas de producción extensivos y la fuente de alimentación más importante del ganado bovino es la vegetación nativa, forrajeras introducidas y esquilmos agrícolas; por otra parte, se estima que Coahuila cuenta con 104, 783 has, Nuevo León registra 527, 167 has y, por su parte, Tamaulipas con alrededor de 600, 000 ha de praderas de pasto Buffel, por lo cual, la importancia de esta gramínea en el noreste de México es indiscutible. Asimismo, el inventario del hato bovino en esta región asciende a 2, 060, 023 cabezas de ganado (Gómez *et al.*, 2007).

2.2 Pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

Ampliamente reconocido por su resistencia a la sequía por su sistema radical profundo y su temperatura óptima de fotosíntesis 35°C (Voigt y MacLauchlan, 1985; Hanselka, 1985) y producción de forraje; similarmente, su capacidad invasiva y dominancia sobre gramíneas nativas (Ibarra *et al.*, 2013) y su utilización como recurso forrajero es ampliamente discutida; sin embargo, ante el nivel de sobrepastoreo en la mayor parte del territorio nacional, la alternativa (suelo desnudo y erosión) presenta mayor riesgo para el ecosistema semiárido, que su utilización. Buffel es un pasto amacollado, rizomatoso, perenne, con la ruta fotosintética C₄ con facilidad de establecimiento y tolerancia al pastoreo, con amplia distribución en los agostaderos del norte de México y sur de los Estados Unidos. Sin embargo, Buffel presenta inconvenientes (superables mediante manejo agronómico y mejoramiento genético): limitada tolerancia a frío (para regiones más al norte de 30° de latitud N y regiones áridas y semiáridas con más de 1500 msnm), susceptibilidad a salivazo (*Aenolamia* sp.), enfermedades fungosas (*Claviceps* spp.) y suelos inundables (en trópico seco; Sherwood *et al.*, 1980; Voigt y MacLauchlan, 1985). El centro de diversidad genética (Harlan, 1971) de este pasto es el Sahel (LeHoérou, 1985; Voigt y MacLauchlan, 1985; Savidan, 1991). Este pasto se recupera rápidamente después del inicio de las lluvias y continúa produciendo hoja durante el florecimiento.

La mayoría de las variedades de pasto Buffel se reproducen por apomixis apospórica (Ozias-Akins *et al.*, 1997; Quero *et al.*, 2010), lo cual significa que la progenie de estos ecotipos es copia fiel de las plantas progenitoras. La sexualidad es limitada en esta especie y por tanto, la recombinación genética queda marcadamente restringida. Para atender las necesidades de utilización de Buffel (resistencia a frío y pastoreo fijo), es necesario escudriñar la diversidad genética buscando materiales de crecimiento temprano y mantengan la mayor calidad de hoja posible (durante la senescencia), lo que impacta significativamente la

producción de rumiantes en pastoreo y resultaría en mejores utilidades para el ganadero extensivo y la condición de los pastizales de las zonas áridas de País.

2.3 Senescencia Foliar

La madurez de hoja juega un rol importante en la calidad de ésta; los pastos, sufren envejecimiento y muerte celular programada, regulada genéticamente (Buchanan-Wollaston *et al.*, 2003; Hörtensteiner, 2006). Una vez que la hoja detiene su elongación, ésta inicia cambios fisiológicos, bioquímicos y estructurales. Las hojas pierden gradualmente clorofila, se desorganiza la maquinaria fotosintética y reciclan productos de degradación de macromoléculas hacia otras partes en crecimiento (hojas jóvenes, flores, frutos) u órganos de almacenamiento (Zárate, 2013; Fig. 1).

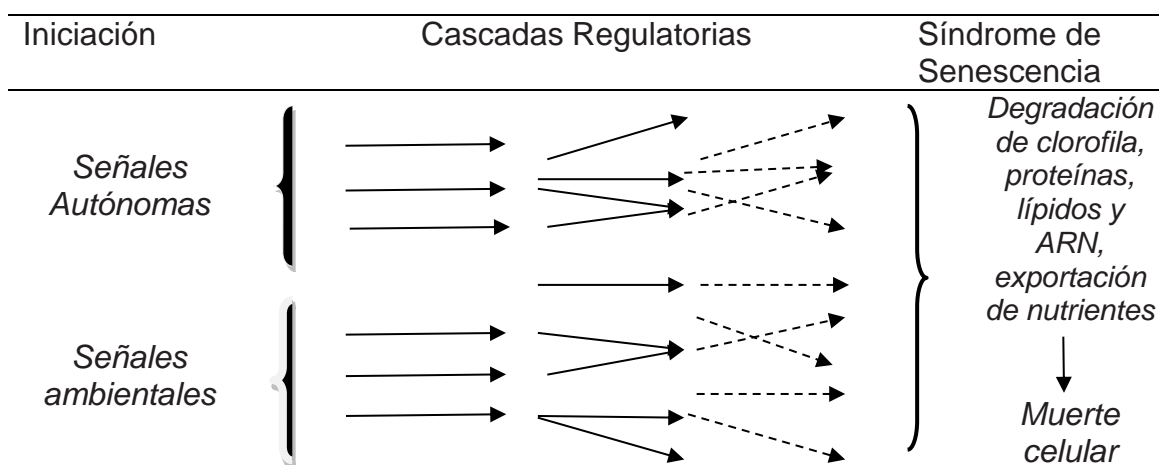


Figura 1. Rutas metabólicas y plasticidad de la senescencia foliar (Gan y Amasino, 1997).

Durante la senescencia, la degradación de clorofila se inicia rápidamente como respuesta al estrés biótico y abiótico, así como en etapas de las rutas metabólicas (Barry *et al.*, 2008; Hörtensteiner 2006; Ren *et al.*, 2010; Schelbert *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2011). La clorofilasa cataliza la conversión de clorofila a fitol y actúa preferentemente sobre la clorofila *a*; sin embargo, acepta como sustrato a la Clorofila *b* y feofitinas (Hörtensteiner 2006). La regulación de la vía de degradación

de clorofila es, en gran parte, desconocida (Wei *et al.*, 2011). La clorofila a, b y las concentraciones de carotenoides se correlacionan con el potencial fotosintético de una planta y dan indicación del estado fisiológico de ésta (Danks *et al.*, 1983; Gamon y Surfus, 1999; Young y Britton, 1990). Las estimaciones de la concentración de pigmentos son informativas de la dinámica espacial y temporal de las plantas ante el estrés (Filella *et al.*, 1995; Schepers *et al.*, 1996). Existen múltiples rutas metabólicas que responden tanto al ambiente como autónomas de éste están posiblemente interconectados para conformar una red regulatoria; en dicho modelo, una simple mutación que inactiva algún componente de la ruta puede no afectar significativamente la progresión de la senescencia (Fig. 1; Gan y Amasino, 1997).

La calidad nutritiva de los pastos está condicionada por atributos morfológicos y bioquímicos asociados a la ruta fotosintética y, debido a su estructura, los pastos C₄ son de menor calidad forrajera en comparación a pastos C₃. Los subtipos fotosintéticamente predominantes de las especies C₄ (PCK, NAD-ME y NADP-ME), difieren uno de otro en términos bioquímicos y morfología. Buffel es una gramínea C₄, con vía fotosintética NAD-ME. En zonas áridas, los pastos C₄ tipo NAD-ME abundan en las regiones secas y el subtipo NADP-ME, en regiones de mayor precipitación. Además, la digestibilidad de forraje a menudo se expresa en relación a días post-defoliación (Demarquilly, 1989; Fick *et al.*, 1994) y permite conocer los efectos de intensidad de defoliación o suministro de nitrógeno y agua (Gastal *et al.*, 1996; Duru y Ducrocq, 2000).

2.4 Análisis de Fibras y Lignina.

Dependiendo de las condiciones ambientales y desarrollo de la pradera, el momento de inicio del pastoreo altera las características del forraje: potencial de rebrote, producción, calidad del forraje y salud de la pradera. Tanto la temperatura y la precipitación se deben considerar al determinar cuándo comenzar el pastoreo (Bruehl, 2003). Entender la morfología y desarrollo de forrajeras es importante

para tomar decisiones de manejo; éstas, implican medir intervalos en el desarrollo de la planta. Las respuestas fisiológicas a la defoliación y crecimiento posterior afectan la morfología y desarrollo (Brueland *et al.*, 2003; Parsons, 1988).

La baja calidad de gramíneas forrajeras resulta en menor relación hoja:tallo y disminución de la calidad de los componentes de la hoja (Hides *et al.*, 1983). La maduración del forraje, relacionada con lignificación de la pared celular, afecta el contenido y disponibilidad de minerales para los animales que las consumen (Minson, 1990; Fig. 2; Fig. 3). La calidad del forraje se basa en la composición de compuestos digeribles o fermentables y el consumo de forraje por los rumiantes (Mott y Moore, 1970). Los tejidos degradables están correlacionados positivamente con coeficientes de digestibilidad, y se asocian negativamente con la rigidez de la pared celular y agregación de lignina (Queiroz *et al.*, 2000).

Análisis proximal	Constituyente químico	Análisis de Van Soest
PC	Proteína	Material soluble
	NNP	
EE	Lípidos	Material soluble
	Pigmentos	
Extracto Libre de Nitrógeno	Azúcares	Material soluble
	Ácidos orgánicos	
	Pectinas	
	Hemicelulosa	
Fibra Cruda	Lignina álcali-soluble	Lignina
	Lignina álcali-insoluble	
	N unido a la fibra	ADF
	Celulosa	
Cenizas	Minerales detergente-insolubles	NDF
	Minerales detergente-solubles	

Figura. 2. Análisis tradicional proximal y su equivalente en el análisis de fibras (Carpita, 1996).

PC:proteína cruda EE: extracto etéreo , ADF: Fibra detergente ácido, NDF=Fibra detergente neutro, NNP: Nitrógeno no proteico.

Las hojas de las plantas deben, eventualmente, morir, lo cual representa una fase de desarrollo clave, genéticamente programada (Buchanan-Wollaston, 1997) y resulta de especial interés debido a que la calidad del forraje está en función de su edad (Van Soest, 1976). Hay evidencia que la composición química de la lignina puede ser más importante que la calidad de la digestibilidad y la inhibición de las

diferencias en la composición de que pueden explicar por qué la concentración de lignina no está estrechamente correlacionada con la digestibilidad entre especies (Gordon, 1975; Reeves 1985). Las principales alteraciones fisiológicas de la planta durante la senescencia incluyen aumento en degradación de cloroplastos como interruptor de asimilación de carbono, promoviendo catabolismo de recursos energéticos: proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (Fukao *et al.*, 2012).

<i>Fracción Anatómica</i>	Floema/ mesófilo	Vaina del haz	Células epidermis	Haces vasculares	esclerénquima	Sílice	Cutícula		
	Contenido celular		Constituyentes de la pared celular						
<i>Fracción Química</i>			Digestión microbiana						
	Ácidos orgánicos	Cho's solubles	Hemicelulosa no protegida		Barrera de lignina	Hemicelulosa protegida		Sílice	Cutina
	Proteína cruda								
	Extracto etéreo	Celulosa no protegida		Célulosa protegida					
	Cenizas								
	Potencialmente digestible			Indigestible					

Figura 3. Relación entre fracciones morfológicas, químicas y la digestibilidad del forraje (Minson, 1990).

La lignina es un polímero de subunidades aromáticas, por lo general derivados de fenilalanina. Su síntesis es un proceso bioquímico de formación de fenilpropanoides denominando a las macromoléculas resultantes como lignina (Sarkanen y Ludwig, 1971), término que define a redes tridimensionales construidas por unidades de fenilpropano y sirve como matriz alrededor de componentes polisacáridos, de la pared celular, proporciona rigidez, resistencia a la compresión y al agua (Wheten y Sederoff, 1995). En general, esta estructura está constituida por precursores coniferil, sinapil y alcoholes p-cumaril,

ensambladas por polimerización dehidrogenativa (Theander y Westerlund, 1993). La relación entre el guayacil, p-hidroxifenil y unidades de siringil, en diferentes tipos de lignina es crucial y difiere entre especies, su balance influye marcadamente la accesibilidad a los carbohidratos de la pared celular y dentro de la célula madura y en mayor proporción que la cantidad de lignina presente; en pastos maduros, existen grandes cantidades de residuos aromáticos y las unidades de p-hidroxifenil son mayores en la lignina de pasto que en aquella de árboles (Jung *et al.*, 1993).

Las plantas terrestres evolucionaron sólo después la biosíntesis de lignina, el soporte y transporte de agua estructurales son fundamentales para las plantas terrestres superiores. Los tejidos estructurales tienen mayor proporción de paredes gruesas (esclerénquima, fibra del xilema, y de los vasos del xilema) y los tejidos fotosintéticos menos (mesófilo, chlorenchyma), lo que resulta en que los tallos tiene concentración más alta de lignina en la pared celular en comparación con las hojas (Wilson y Kennedy, 1996). Estas características estructurales necesarias para el desempeño exitoso de las plantas, a menudo actúan para reducir de manera significativa la calidad del forraje para rumiantes, por lo que su cuantificación y conservación a niveles bajos son importantes (Akin *et al.*, 1990).

Asociado con la madurez de la pared celular, ocurren incrementos de celulosa, xilano y lignina, con reducción de la pectina en la pared celular, estos cambios en composición se reflejan en las paredes secundarias por material que se acumulan. La composición química varía de una planta a otra y dentro de las diferentes partes de la misma planta (Driehuis *et al.*, 1997); similarmente, es afectada por el ambiente. No obstante, la calidad del forraje es severamente afectada por la madurez de la planta (Buxton y Fales, 1994). Una disminución en la digestibilidad como consecuencia de mayor madurez es casi una constante entre las gramíneas utilizadas por los rumiantes. El valor nutritivo de los forrajes para rumiantes depende de la capacidad de los microorganismos del rumen para degradar la

pared celular de la planta y para el fermento hidratos de carbono disponibles (Akin, 1973). Todos estos procesos responden a factores ambientales (manejo del pastoreo y disponibilidad de nutrientes), los cuales afectan la cantidad e impacto de la lignificación. La temperatura, humedad del suelo, cantidad y calidad de luz y nutrientes del suelo, tienen efectos en la lignificación (Moore y Jung, 2001).

2.5 Crecimiento de hoja.

El filocrón ha sido definido como una característica morfogenética definida como el intervalo de tiempo entre la aparición de dos hojas sucesivas y es considerado constante cuando es medido como tiempo térmico (Skinner y Nelson, 1995).

También conocido como el ritmo de emisión de hoja (Eggers *et al.*, 2004). Otra definición es la que lo considera como el intervalo de tiempo termal entre la aparición de hojas sucesivas (Gramig y Stoltenberg, 2007). Esta característica morfogenética varía de acuerdo a factores ambientales: temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes (especialmente N); así como la reserva de carbohidratos, concentración de sales, CO₂, y la cantidad y calidad de luz.

El filocrón en asociación con otras características morfogenéticas determinan la estructura de la pradera y su índice de área foliar (Chapman y Lemaire, 1993). La tasa de aparición de hoja y la tasa de filocrón, son variables relacionadas y juegan un papel central en la producción de forraje (Eggers *et al.*, 2004). En arroz los fitómeros (hoja+ nudo+ entrenudo+ brote axilar), juegan un papel importante en el desarrollo y organización modular y la tasa de producción de fitómeros está sincronizada con la tasa de emergencia de hoja o filocrón (Itoh *et al.*, 2001).

Los cambios en las tasas del filocrón se pueden dar por:

- a) Composición genética entre y dentro de especie vegetal
- b) Cambios ambientales
- c) Manejo de la pradera

El cambio en filocrón debido al ambiente, se refleja en cambios estacionales: temperatura, cantidad y calidad de luz. Aspectos de manejo que modifican al filocrón incluyen: fertilidad de suelo, disponibilidad de humedad, asignación de forraje (intensidad/frecuencia de pastoreo), historia de vida de la planta, etc. Debido a la importancia de los pastos en la alimentación de rumiantes, es necesario conocer y comprender el proceso de desarrollo de la hoja como el producto de mayor importancia de éstos; sobretodo, controlar los procesos de crecimiento, dado que su productividad depende de la continua emisión de hojas y pseudotallos, procesos importantes para restaurar el área foliar después del pastoreo o corte (Gomide y Gomide, 2000).

Un pasto en condiciones vegetativas puede ser definido por sus características o combinación de sus variables morfogénicas, de modo que la aparición de hojas, alargamiento foliar y duración de vida de hoja son características importantes. La combinación de estas variables morfogénicas determina las principales características estructurales de la pradera: tamaño de hoja, densidad de tallos y hojas vivas por tallo (Lemaire y Chapman, 1993). Con relación a pastizales de zonas áridas y semiáridas, para gramíneas nativas y exóticas existe poca información sobre la morfogénesis de especies sobresalientes y su relación a condiciones de ambiente y presión de pastoreo.

La morfogénesis permite entender mejor la dinámica de sucesión de praderas multiespecíficas. A través del conocimiento del ritmo de emisión y extensión de hoja (filocrón), además del ritmo de formación de tallo, para las diferentes especies y con el consumo (defoliación), es posible explicar la productividad, dominancia/desaparición de especies de la comunidad y consecuentemente, su composición botánica. El filocrón puede aplicarse al establecimiento de modelos matemáticos para determinar prácticas de manejo: cortes, pastoreos, descansos, aplicación de fertilizantes o pesticidas (Eggers *et al.*, 2004).

Bajo condiciones de primavera y verano el filocrón para *Paspalum notatum* F₁ y *Coelorhachis selloana* (Hack.) fue de 156 °C y 238 °C, respectivamente, a pesar

de la época del año, la asignación de forraje y la posición topográfica (Eggers *et al.*, 2004). Las características de tallo (longitud y edad de lámina, hojas por tallo) dependen de caracteres morfogénicos: tasa de aparición y expansión de hoja, duración del crecimiento de hoja y vida de hoja (Duru y Ducrocq, 2000). La longitud de lámina sucesiva, su duración del crecimiento y vida se incrementó mientras su tasa de aparición decrecía, de tal manera que la tasa de expansión de la lámina y el nivel de tallo permanecieron constantes. Estos cambios fueron asociados con incremento en longitud de vaina, la cual regula tanto la tasa de aparición de la lámina y la duración del crecimiento. Así, conforme se incrementa la temperatura, la tasa de expansión de la lámina y el número de láminas, se incrementan simultáneamente. Por tanto, la temperatura elevada acelera los cambios en las características del tallo, los cuales ocurren como un crecimiento progresivo. Para algunas gramíneas y maleza de hoja ancha se reportaron valores de filocrón de 37.2, 34.4, 17.3, 42.2, 65.2 y 34.2 días grado de crecimiento por hoja (Gramig y Stoltenberg, 2007).

La variabilidad intraespecífica para filocrón fue reportada en arroz y mostró alta dependencia en genotipo y/o duración del crecimiento; sin embargo, no mostró asociación con iniciación floral o temperatura, indicando que los cambios del filocrón podrían reflejar cambios internos o fisiológicos los cuales ocurren durante el ciclo de vida del arroz (Itoh *et al.*, 2001). Trabajos previos sobre la significancia ecológica de la variación en tamaño del genoma entre especies de plantas sugerirían que plantas tetraploides, debido a su genoma amplio y mayor tamaño de las células, mostrarían mayor capacidad para crecer a bajas temperaturas en comparación a plantas diploides. Contrariamente a las predicciones, las diploides produjeron más hoja en todos los ambientes durante el invierno y en periodos tempranos de primavera, en comparación con los tetraploides. Por tanto, los incrementos de ADN nuclear no permitieron un crecimiento más rápido en invierno en tetraploides de *Dactylis glomerata*. Sin embargo, las tetraploides florecieron más temprano que las diploides en todos los ambientes, confirmando que las diferencias observadas en el tiempo de floración tienen una base genética en *Dactylis glomerata* (Bretagnolle y Thompson, 1996)

La fertilización con N influenció el filocrón de *Brachiaria brizantha* y *B. decumbens*. El filocrón también fue influenciado por la interacción de especie con dosis de N (Silva *et al.*, 2009). Por su parte, *B. brizantha* mostró mejor respuesta a dosis de 160 mg N/dm³ de suelo, proporcionando menor valor de filocrón de 6.8 días/hoja. En *B. decumbens* la dosis que proporcionó menor valor de filocrón fue de 160 mg N/dm³ de suelo con 6.0 días/hoja. (Silva *et al.*, 2009). *B. decumbens* presentó menor valor de filocrón en relación a *B. brizantha* para todas las dosis de N. Estos resultados indican diferencias entre las dos especies: *B. brizantha* es clasificada como gramínea de exigencia nutricional de media a alta, en tanto que *B. decumbens* es clasificada como de exigencia nutricional de media a baja.

Alejandrino *et al.* (2004), evaluando el filocrón en *B. brizantha*, encontraron que con el aumento N, el filocrón se redujo de 12.2 a 6.99 días, respectivamente, en plantas fertilizadas con 0 a 40 mg de N/ dm³ de suelo. Asimismo Martuscello *et al.* (2005), encontraron valores de filocrón para *B. brizantha* de 11.45 a 8.81 días, fertilizado con 120 mg N/dm³. Se observó un efecto significativo en la fertilización con N sobre las características estructurales y morfogenéticas y en rendimiento de MS, excepto en MS de raíz. La tasa de elongación de hoja se incrementó linealmente hasta 37% a una tasa de fertilización con N de 120 mg/dm³. La defoliación influenció la tasa de elongación de hoja, filocrón, longitud de hoja, hoja vivas por tallo, tasa de senescencia y rendimiento de MS de retoño y raíz.

En *B. brizantha* la tasa de aparición de hoja mostró efecto significativo cuando el nivel de N se incrementó. Las plantas que recibieron 40 mg dm⁻³ semana⁻¹ de N mostraron menor filocrón (6.99 días hoja⁻¹) en comparación al control (12.20 días hoja⁻¹). La tasa de aparición de hoja fue muy sensible a N y se incrementó conforme el nivel de N se incrementó, 185.24 y 264.32%, respectivamente, para plantas que recibieron 20 y 40 mg dm⁻³ semana⁻¹ de N. La longitud media de hoja mostró un efecto positivo y significativo, cuando el nivel de N se incrementó. Los niveles de N y edad de rebrote mostraron efecto significativo positivo sobre

número de hojas vivas por tallo y peso medio del tallo. Aunque el número de hojas vivas por tallo fue más alto, las plantas que recibieron niveles de N tuvieron mayores pérdidas por senescencia. Los factores cuantitativos también mostraron efecto significativo y positivo en densidad de tallos (Alexandrino *et al.*, 2004).

El filocrón de *Paspalum notatum* y *Coelorhachis selloana* no mostraron respuesta a asignación de forraje. Las diferencias observadas fueron relacionadas a condiciones de humedad del suelo y, con la temperatura, influyó en el filocrón (Eggers *et al.*, 2004). En cultivos, dependiendo de la fecha de siembra, las plantas pueden producir de 12 hasta más de 40 hojas en el culmo principal, en las cuales la altura varía de 1 m a más de 5 m en variedades de sorgo. Las tasas de iniciación y aparición de hojas (plastocrón y filocrón) fueron constantes para una fecha de siembra, en algunos casos se produjeron menos de 20 hojas (generalmente en siembras tardías). En contraste las tasas fueron bilineales para fechas de siembra tempranas, por lo cual las plantas produjeron más de 20 hojas. Las tasas secundarias, las cuales ocurrieron de 20 hojas en adelante, fueron únicamente la mitad de la tasa inicial. El plastocrón y el filocrón mostraron grandes variaciones a través de las fechas de siembra y fueron correlacionadas con el incremento en la tasa de altura de la planta. Plastocrón y el filocrón se correlacionaron positivamente con temperatura del suelo y negativamente con longitud del día y cambios día a día de la longitud de día prevalecientes en la emergencia de la planta, pero estos factores explicaron únicamente la mitad de la variación observada. Aunque llegaron a ser grupos genéticamente diferentes y tener diferente altura y sensibilidad al fotoperiodo, las variedades de sorgo estudiadas mostraron un patrón similar de respuesta y de tasas de desarrollo entre fases fenológicas y estaciones (Clerget *et al.*, 2008). Se observó mayor filocrón a menores frecuencias de defoliación, con 14.93 y 13.35 días para frecuencias de defoliación de 9 y 7 hojas, respectivamente. No se observaron diferencias en el filocrón para intensidades de defoliación de 10 y 20 cm (Marcelino *et al.*, 2006).

El brote del ápice es el lugar donde las interacciones entre señales internas y externas actúan cooperativamente en las células (Itoh *et al.*, 1998; Asai *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005; Tamaki *et al.*, 2007; Itoh *et al.*, 2012). Por lo tanto el comportamiento del ápice da una pista para entender la variabilidad de un fenotipo particular a través de los entornos (o plasticidad fenotípica); Schlichting, 2008; Itoh *et al.*, 2012).

En Poaceae, la mayor parte del desarrollo de hoja desde primordio, se encuentra posicionado en la base del tallo, oculta entre las vainas de hojas maduras. Posteriormente, una lámina de hoja en desarrollo comienza a aparecer desde la vaina de la hoja superior y éste es el único evento de referencia de desarrollo vegetativo que puede ser captado visualmente (Itoh *et al.*, 2012). Generalmente, el crecimiento y el desarrollo ocurren de forma simultánea. Sin embargo, éstos no son mutuamente incluyentes ni excluyentes. Bajo condiciones específicas, puede ocurrir uno sin el otro. El estrés ambiental frecuentemente permite al desarrollo avanzar mientras se detiene el crecimiento (Wilhelm y McMaster, 1995). Una forma de estimar la tasa de aparición de hoja es utilizando el concepto de filocrón, que se define como intervalo entre aparición de hojas sucesivas, en un tallo con dimensión: tiempo, hoja (Telles *et al.*, 2011). Un concepto más amplio se utiliza cuando el intervalo entre los eventos se puede medir de diferentes maneras: tiempo, calor o unidades fototérmicas. La única restricción es que la medida de tiempo significativa refleja la respuesta de la planta para estos intervalos. Varios términos han sido utilizados indistintamente para describir la tasa de aparición de hoja: plastocrono, auxochron, y filocrono (Wilhelm y McMaster, 1995). El filocrón puede utilizar mediciones estándar de tiempo así como tiempo térmico (Wilhelm y McMaster 1995; Hokmalipour, 2011) y éste se basa en el hecho de que la tasa de producción de nuevos fitómeros tiende a ser constante de la etapa de plántula a la expansión de la hoja bandera, cuando se expresa en unidades de tiempo térmicas (grados-día) en trigo, maíz y sorgo (Hokmalipour, 2011).

El estudio de filocrón permite explicar el crecimiento vegetativo y ayuda a simular el crecimiento de la planta. Además, es el parámetro basal en la predicción de número total de hojas y fecha de floración. El número de hojas por planta en cualquier etapa se calcula determinando cuando aparece la punta de la hoja y el tamaño máximo de hoja puede modelarse como función de la posición de hoja (Dwyer y Stewart, 1986; Teixeira *et al.*, 2011). Las hojas se expanden en progresión aproximadamente lineal, desde la aparición del ápice, hasta la de la lígula, cuando la hoja ha alcanzado su máximo tamaño al inicio de senescencia de hoja, el área foliar se mantiene constante. Después de esto, comienza la senescencia y avanza hasta que la hoja se desprenda (Teixeira *et al.*, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del área experimental

El trabajo se llevó a en condiciones de invernadero en instalaciones del Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo en Texcoco, Estado de México, entre 19°29' latitud norte y 98°53' de longitud oeste, a 2250 msnm. El clima es Cb(wo)(w)(i)g, correspondiente a templado con veranos frescos, temperatura media anual entre 12 y 18°C (García, 1998). Las variables de respuesta fueron determinadas en el Laboratorio de Histoquímica y Microscopia del Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

3.2 Material Genético

Se utilizaron ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), incluyendo como testigo Buffel naturalizado (Americano, T-4464, Común). Los pastos se trasplantaron en macetas de polietileno de 30x30cm, con volumen de 5 l con suelo arcilloso como sustrato este fue esterilizado a vapor para evitar maleza. Los materiales vegetales tenían dos años de establecido al inicio del experimento, una vez trasplantados a las macetas mencionadas se les dio riego cada tercer día para evitar estrés hídrico y se fertilizaron con 1g de triple 17 (NPK) por litro de agua cada 8 días, durante el periodo de evaluación.

3.3 Elongación y senescencia de hoja

Se utilizaron nueve macetas por genotipo, en cada maceta se marcaron cinco macollos individuales (15 tallos por repetición) y éstos fueron identificados con anillo de plástico de color, en cada maceta. Se midió cada tercer día la longitud de hoja,

desde punta emergente visible, hasta que ésta alcanzó máxima elongación (lígula expuesta), cada tercer día, con vernier de acero (30 ± 0.01 cm).

El muestreo permitió detectar el momento de máxima longitud (lígula visible) de lámina. Posteriormente, conociendo la elongación máxima de hoja, se contaron días Gregorianos para la colecta de material testigo y senescente de hoja; Estados de desarrollo de hoja (J, S1, S2 y S3), donde:

- J Hoja joven con el 50% de su longitud a madurez (testigo).
- S1 Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de lígula
- S2 Hoja senescente de 35 días después de la exposición de lígula.
- S3 Hoja senescente de 45 días después de la exposición de lígula.

3.4 Clorofila, fijación, tinción y cuantificación de tejidos fotosintéticos

Se colectaron tres hojas por genotipo para cada estado de desarrollo de hoja; posteriormente, éstas se fragmentaron, se registró peso fresco por muestra y se maceraron en mortero con N líquido y cada muestra se colocó en tubo de ensayo con 5ml de etanol (96%) y se centrifugaron, por cinco minutos. Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.5ml de sobrenadante y se colocó en celda de cuarzo para medir absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo Genesys 10w) utilizando etanol al 96% como control, las longitudes de onda utilizadas fueron 470, 649 y 665nm. Los datos de absorbancia para cada longitud de onda se usaron para calcular la concentración de cada tipo de clorofila (*a*, *b*, xantofilas y carotenoides de acuerdo a Lichtenthaler y Wellburn (1983):

Etanol (96%)

$$C_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$$

$$C_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$$

$$C_{x+c} = (1000A_{470} - 2.05C_a - 114.C_b/245) 5$$

donde:

13.95, 6.88, 24.96, 7.32, 1000, 2.05, 104 y 5 son constantes; mientras que, A_{665} , A_{649} y A_{470} , son valores de absorbancia obtenidos en espectrofotómetro para cada longitud de onda. Los resultados obtenidos en cada ecuación son los valores de concentración de las diferentes clorofilas en $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.5 Caracterización anatómica de hoja

Se colectaron cinco hojas por genotipo a (J, S1, S2, S3), se cortaron 2cm de hoja transversal, en la parte media de hoja y se conservaron en formaldehído: ácido acético: agua: etanol al 90% (FAA). Posteriormente, se deshidrataron en series de etanol y xileno, se infiltraron en parafina, a continuación realizaron cortes de tejido de 10-15 μm en micrótopo, se montaron en portaobjetos y se tiñeron con safranina O y verde rápido (Johansen, 1940). Finalmente, las muestras se observaron en microscopio óptico (20x), se tomaron imágenes de la parte central, lateral y marginal de la hoja (Motic Cam 2.5 megapíxeles con dimensiones 1600x1200). Posteriormente, se calculó la proporción de tejido componente de la hoja para el estadio de desarrollo (S1), los tejidos se dividieron de acuerdo a digestibilidad: 1). alta Digestibilidad (AD): mesófilo y floema, 2). medianamente digestible (MD): vaina del haz y epidermis y 3). no digestible (ND): xilema, fibras de extensión de la vaina y fibras marginales (Meenwttemeyer, 1978), seccionando las áreas de tejido de interés de las imágenes, con el software GIMP 2.8.8 (GNU Image Manipulation Program, <http://www.gimp.org>). Una vez que se obtuvieron las imágenes segmentadas, se estimó el área (Image Tools). Para determinar el porcentaje de lignina, se calcularon las áreas con GIMP 2.8.8 y con Image Tools (<http://sourceforge.net/projects/imagetoolsnet/>) de edades de hoja senescente.

3.6 Filocrón

Se utilizaron las mismas macetas con el mismo manejo que las de desarrollo de hoja para morfología, se siguió el crecimiento de hojas individuales debidamente marcadas. Los tratamientos estuvieron compuestos por tres repeticiones, cada repetición estuvo formada por tres macetas, con marcado de cinco tallos por

maceta. Se realizaron cortes a 5 cm sobre el nivel de suelo, para promover rebrote. Durante el desarrollo vegetal se registró temperatura máxima y mínima diaria dentro del invernadero con termómetro digital HOB0® data logger ± 0.01 °C. Se utilizaron ocho genotipos de Buffel *Cenchrus ciliaris*, incluyendo al testigo Buffel Común (Sin. T-4464; Americano). Los pastos tenían dos años de establecimiento. Se eligieron cinco macollos marcados de forma individual (50 tallos por tratamiento), identificados con anillo de plástico de color dentro de cada maceta. Se midió longitud de hoja, desde punta visible, hasta que la hoja alcanzó máxima elongación (lígula expuesta), los valores de medición se registraron registrados cada tercer día, utilizando regla de acero de 30cm ± 0.01 cm, lo que permitió detectar el momento en que la lámina alcanzó su máxima longitud.

Con esta información se calculó la duración de crecimiento de la hoja, periodo entre la aparición de la lámina foliar y el momento de lígula visible). Conociendo la longitud de hoja madura y la duración del crecimiento, será posible calcular la tasa de crecimiento promedio de la lámina, una vez que ésta haya aparecido.

3.7 Análisis de Fibras y Lignina

Se muestreó el desarrollo de hoja y se colectaron 3 g de hoja para cada estado de desarrollo (J, S1, S2 y S3) de los ocho genotipos de Buffel). Posteriormente, se realizaron análisis bromatológicos en el Laboratorio de Nutrición Animal del programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Las muestras colectadas se secaron en una estufa a 70°C durante 48h. Posteriormente, se molieron en molino Wiley con malla 20; a continuación, se realizaron las determinaciones. Para determinar Fibra Detergente Acido (FDA) Fibra Detergente Neutro, FDN y Lignina se utilizaron bolsas (F57 Fiter bags AT; Ankom).

3.7.1 Materia seca

Se tomaron crisoles de porcelana de la estufa libres de humedad y se colocaron en desecadores a continuación se les tomo el peso seco, después se agregaron 0.5 g de muestra de hoja posteriormente se colocaron en estufa a 102 °C por 24 horas, transcurrido tiempo se retiraron las muestras y se colocaron en desecador para evitar humedad y finalmente se pesaron.

3.7.2 Proteína Cruda

Se pesaron 0.3 g de muestra, se colocaron en tubos de ensayo en Microkjeldahl, se agregaron 3ml de ácido sulfúrico concentrado y 200µg de catalizador de proteína. Las muestras se colocaron en bloque Biodigestor a 350°C durante 50 minutos bajo la campana de extracción (AOAC, 1975). Posteriormente las muestras se pasaron a un microdestilador y se les agregaron 10ml de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% y, finalmente, las muestras destiladas se titularon con 6ml de ácido bórico (H₃BO₃) con ácido clorhídrico (HCl) al 100%. Posteriormente, se calculó la proteína cruda con la siguiente ecuación:

$$\%N = \frac{(\text{ml})(\text{Normalidad del ácido})(1.4)}{\text{Peso de la muestra en gramos}}$$

la proteína calculada se obtiene con % N x 6.25.

3.7.3 Fibra detergente neutro (FDN)

Mediante la técnica de bolsa de filtro Ankom²⁰⁰ en una Balanza Analítica Ohaus (100 g ±0.1mg), se pesaron 0.5mg de muestra de hoja con los estados de desarrollo mencionados y estas se colocaron en bolsas filtro previamente pesadas (F57 Fiter bags AT). A continuación, estas muestras se colocaron en un digestor (Ankom²⁰⁰, 65rpm, Ankom Technology– AT) al que se le agregaron 1800ml de solución detergente neutro con pH de 6.9 y 7.1, se agitaron por 45 minutos a 100°C, posteriormente, se enjuago tres veces por 5 minutos con 1800ml de agua

desionizada, las muestras libres de exceso de agua se sumergieron durante 5 minutos en acetona (99.6%) se retiraron las muestras y se secaron por 24 h a 102 ± 2 °C, en estufa. Se retiraron las muestras de la estufa cuidadosamente en un desecador, evitando que las muestras adquiriesen humedad ambiental y se procedió a pesar cada una de las muestras, Finalmente se procedió a realizar los cálculos mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ NDF} = \frac{[W_3 - (W_1 \times C_1)]}{W_2} \times 100$$

donde:

W_1 = peso de bolsa

W_2 = peso de muestra

W_3 = peso seco de bolsa con muestra, después de la extracción

C_1 = corrección por blanco

3.7.4 Lignina

Las muestras secas y libres de humedad se depositaron en 400ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) por tres horas. Posteriormente éstas se enjuagaron tres veces en el analizador de fibras por 5 min; enseguida, se sumergieron en acetona (99.6%) por 5 min y se colocaron a 102 ± 2 °C, por 24hrs y, finalmente, se pesaron.

3.7.5 Fibra detergente ácido

Mediante la técnica de bolsa filtro Ankom²⁰⁰ en una Balanza Analítica Ohaus (100 g ± 0.1 mg) se pesaron 0.5 miligramos de muestra de hoja con edades de desarrollo antes mencionadas, éstas se colocaron en bolsas filtro previamente pesadas (F57 Fiter bags AT), 24 A continuación, estas muestras se colocaron en un digestor (Ankom²⁰⁰, 65rpm, Ankom Technology– AT) al que se le agregaron 1800ml de solución detergente en medio ácido, se agitaron por 45 minutos a 100°C, posteriormente, se enjuago tres veces por 5 minutos con 1800ml de agua desionizada, las muestras libres de exceso de agua se sumergieron durante 5

minutos en acetona (99.6%) después se retiraron las muestras y se secaron por 24 h a 102 ± 2 °C, en estufa, por último se sacaron las muestras de la estufa cuidadosamente en un desecador, evitando que las muestras adquiriesen humedad ambiental y se procedió a pesar cada una de las muestras, Finalmente se procedió a realizar los cálculos mediante la siguiente ecuación

$$\% \text{ FAD} = \frac{[W_3 - (W_1 * C_1)] 100}{W_2}$$

donde:

W_1 = peso de bolsa

W_2 = peso de muestra

W_3 = peso seco de bolsa con fibra después de extracción

C_1 = corrección por blanco

3.7.6 Cenizas

Se reutilizaron las muestras que sirvieron para la determinación de lignina, previamente pesadas, éstas se colocaron en crisoles de porcelana y se llevaron a la Mufla a 550 y 600°C por tres horas, después se bajó a 100°C, hasta que llegaron a temperatura ambiente a continuación se colocaron en desecador, finalmente se pesaron inmediatamente para evitar absorción de humedad ambiental.

Para determinar la cantidad de cenizas presentes en la muestra se utilizó la fórmula:

$$\% \text{Cenizas} = \frac{(\text{Peso crisol} + \text{muestra}) - (\text{Peso crisol} + \text{cenizas})}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

3.8 Análisis estadísticos

3.8.1 Cuantificación de pigmentos

Se utilizó un modelo mixto:

$$y_{ijk} = \mu + g_j + \beta_1 t_{ijk} + \beta_2 t_{ijk}^2 + u_i + e_{ijk}, \quad (1)$$

donde:

y_{ijk} variable respuesta, para la maceta i -ésima ($i=1, \dots, 24$), genotipo j -ésimo ($j=1, \dots, 8$)

y repetición k -ésima ($k=1, 2$),

g_j efecto de genotipo j -ésimo,

t_{ijk} es el tiempo en el que se realizó la medición y_{ijk} ,

β_1 y β_2 coeficientes de regresión para cambios en el tiempo de y_{ijk} , u_i intercepto

aleatorio que induce dependencia entre las observaciones. Se supone $u_i \sim N(0, \sigma_m^2)$,

($i=1, \dots, 24$), $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$, u_i y e_{ijk} se suponen independientes.

El modelo fue ajustado mediante la rutina PROC MIXED de SAS 9.1 para Windows.

3.8.2 Anatomía de hoja

Se ajustó el modelo MANOVA con dos criterios de clasificación (genotipos y secciones), dadas las múltiples variables respuesta (área total, mesófilo, floema, epidermis, vaina del haz, xilema, fibras del margen). El modelo estadístico estuvo dado por:

$$y_{ijk} = \mu + s_i + g_j + e_{ijk}, \quad (2)$$

donde y_{ijk} es el vector de variables respuesta (área total, mesófilo, floema, epidermis,

vaina del haz, xilema fibras del margen) para la sección i -ésima ($i=1, \dots, 3$), genotipo j -

ésimo ($1, \dots, 8$) y replica k -ésima ($1, \dots, 3$). s_i es el efecto de la sección i -ésima g_j efecto

del genotipo j -ésimo y e_{ijk} error aleatorio. El modelo fue ajustado en el programa SAS

9.1 para Windows usando la rutina GLM.

3.8.3 Composición química

Para el análisis estadístico de calidad de hoja se utilizó un análisis de covarianza (ANCOVA). El modelo estadístico utilizado es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \text{gen}_i + \beta \text{Edad}_{ij} + \text{gen} \times \text{Edad}_{ij} + e_{ij} \quad (3)$$

donde μ es la media general, y_{ij} es el valor de la variable respuesta para el genotipo i -ésimo y edad j -ésimo gen_i es el efecto del genotipo i -ésimo, β es el efecto de la edad, $\text{gen} \times \text{Edad}_{ij}$ es la interacción genotipo-edad y e_{ij} es el error aleatorio. El modelo fue ajustado mediante el procedimiento GLM del programa estadístico SAS 9.1 para Windows.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversos aspectos afectan la utilización eficiente (95% de interceptación luminosa durante la época de crecimiento activo) de los pastos en zonas áridas: baja cobertura vegetal, pobre infraestructura para pastoreo planeado y tamaño de potreros, entre los principales. Lo anterior, provoca que la lámina foliar de los pastos inicie senescencia sin ser cosechada y se reduzca tanto el rendimiento por efecto compensatorio como la calidad del forraje cosechado (Da Silva *et al.*, 2008).

4.1 Clorofila a

Los pigmentos vegetales están integralmente relacionados a la funcionalidad de la hoja, las clorofilas absorben energía luminosa y la transfieren al aparato fotosintético; los carotenoides contribuyen con energía a éste y la función de las xantofilas, bajo un exceso de luz, es disipar el exceso de energía, evitando daños al sistema; por su parte, las antocianinas (pigmentos rojo-rosados y morados) pueden proteger a las plantas del exceso de luz (Sims y Gamon, 2002). La senescencia es un proceso programado de degradación y muerte que origina movilización y exportación de minerales y nitrógeno, con la desintegración del aparato fotosintético en los cloroplastos y la reducción colateral de la actividad fotosintética: pérdida de RuBP-carboxilasa-oxigenasa (Buchanan-Wollaston, 1997). Los pigmentos del ciclo de xantofilas, zeaxantina y antexantina se forman a partir de la violaxantina bajo condiciones de exceso de energía de excitación y se cree que están involucrados en el proceso de disipación fotoprotectiva (Gilmore, 1997).

Debido a la importancia de los pigmentos para la función foliar, las variaciones en su contenido proveen información sobre el estado fisiológico de las hojas; la clorofila tiende a declinar más rápido que los carotenoides bajo estrés o en senescencia (Gamon y Surfus, 1999). El estado de desarrollo de la hoja y el genotipo influyeron en el contenido de clorofila a ($P < 0.05$), mostrando variabilidad para las edades evaluadas después de la senescencia, siendo (J) edad 1 como testigo. Se encontraron diferencias significativas entre genotipos ($P < 0.001$) los resultados de la

comparación de medias de Tukey se muestran en el Cuadro 1. Los genotipos con mayor concentración de clorofila durante las cuatro edades fueron G-10, G-11 y BC (Fig. 4). Dentro de fecha, G-10 y G-11 mostraron mayores niveles de clorofila *a*, respecto al resto de los genotipos, a los 15 días de senescencia. Por su parte, a los 35 días de senescencia G-5, BC y G-10 fueron similares entre ellos ($P>0.05$) y diferentes al resto de los genotipos ($P<0.05$), mostrando mayor contenido de clorofila *a*; a los 45 días, los genotipos con mayor contenido de clorofila *a* incluyeron a G-10 y G-11 ($P<0.05$), los cuales son valiosos para una menor reducción en el contenido de clorofila *a* durante los periodos considerados.

Cuadro 1. Contenido de clorofila *a*, y *b* de hoja en cuatro estados de desarrollo de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.)

Genotipo	Chl <i>a</i> (mg g PF ⁻¹)				Chl <i>b</i> (mg g PF ⁻¹)			
	Estados de desarrollo							
	J	S1	S2	S3	J	S1	S2	S3
11	1.04 ^{ab}	0.88 ^a	0.66 ^{ab}	0.73 ^a	0.86 ^a	0.53 ^a	0.47 ^a	0.55 ^a
10	0.67 ^{abc}	0.94 ^a	0.75 ^{ab}	0.71 ^a	0.47 ^{bc}	0.54 ^a	0.51 ^a	0.44 ^{ab}
8	0.30 ^c	0.6b ^c	0.70 ^{ab}	0.62 ^a	0.21 ^c	0.47 ^a	0.45 ^a	0.30 ^{ab}
7	0.50 ^c	0.62 ^{bc}	0.56 ^{ab}	0.52 ^a	0.36 ^{bc}	0.41 ^a	0.36 ^a	0.45 ^{ab}
5	0.52 ^c	0.53 ^c	0.86 ^a	0.59 ^a	0.36 ^{bc}	0.41 ^a	0.53 ^a	0.39 ^{ab}
3	0.56 ^c	0.56 ^c	0.50 ^{ab}	0.51 ^a	0.46 ^{bc}	0.39 ^a	0.29 ^a	0.42 ^{ab}
1	0.65b ^c	0.54 ^c	0.73 ^{ab}	0.54 ^a	0.49 ^{bc}	0.38 ^a	0.41 ^a	0.36 ^{ab}
BC	1.10 ^a	0.76 ^{ab}	0.78 ^{ab}	0.61 ^a	0.64 ^{ab}	0.55 ^a	0.53 ^a	0.23 ^b

J= Hoja joven con el 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de lígula.; S3= Hoja senescente a 45 días después de la exposición de lígula; La media de los genotipos con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

El contenido de clorofila *a* fue superior al de clorofila *b*, lo que reafirma lo planteado por Herrera (2004), quien señaló que, en los pastos, los principales pigmentos en la absorción de la luz en la fotosíntesis son la clorofila *a* y clorofila *b*, especialmente la primera por su mayor tenor, sin embargo, los carotenoides son pigmentos accesorios

que pueden absorber y transferir la luz hacia la clorofila *a* así como evitar la fotooxidación de las clorofilas.

4.2 Clorofila *b*

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre genotipos para el estado de desarrollo J y S3 donde el genotipo G11 presento mayor contenido de clorofila, y en S1 y S2 no se encontraron diferencias significativas, se muestran en el cuadro 2. Se observó amplia variabilidad. Se concluye que los genotipos que presentaron mayor contenido para este pigmento se encontraron en G-11 G-10 y BC, respectivamente (Fig. 5). Cabe señalar que el contenido de clorofila *a* y *b* indican la capacidad fotosintética de las plantas superiores es la cantidad de clorofila por unidad de las hojas ya que representa una medida de las dimensiones del sistema fotosintético y de su eficiencia (Huang et al., 2004).

Cuadro 2. Contenido de carotenoides+xantofilas (c+x) y clorofila total de hoja en cuatro estados de desarrollo de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.)

Genotipo	C+x(mg g/PF)				Clorofila total (mg g/PF)			
	Estados de desarrollo							
	J	S1	S2	S3	J	S1	S2	S3
11	0.04 ^a	0.17 ^a	0.08 ^a	0.10 ^{ab}	1.89 ^a	1.39 ^a	1.13 ^{ab}	1.27 ^a
10	0.07 ^a	0.15 ^{ab}	0.12 ^a	0.12 ^a	1.14 ^{bc}	1.48 ^a	1.26 ^{ab}	1.16 ^a
8	0.22 ^a	0.05 ^c	0.10 ^a	0.09 ^{ab}	0.51 ^c	1.06 ^{bc}	1.15 ^{ab}	0.92 ^a
7	0.02 ^a	0.09 ^{bc}	0.08 ^a	0.02 ^b	0.87 ^c	1.03 ^{bc}	0.92 ^{ab}	0.97 ^a
5	0.11 ^a	0.04 ^c	0.13 ^a	0.06 ^{ab}	0.86 ^c	0.95 ^c	1.39 ^a	0.99 ^a
3	0.03 ^a	0.06 ^c	0.09 ^a	0.10 ^{ab}	1.02 ^{bc}	0.94 ^c	0.79 ^b	0.93 ^a
1	0.06 ^a	0.07 ^c	0.09 ^a	0.06 ^{ab}	1.13 ^{bc}	0.92 ^c	1.13 ^{ab}	0.89 ^a
BC	0.14 ^a	0.07 ^c	0.09 ^a	0.13 ^{ab}	1.74 ^{ab}	1.32 ^{ab}	1.30 ^{ab}	0.83 ^a

J= Hoja joven con el 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de lígula.; S3= Hoja senescente a 45 días después de la exposición de lígula; La media de los genotipos con la misma letra no son estadísticamente diferentes

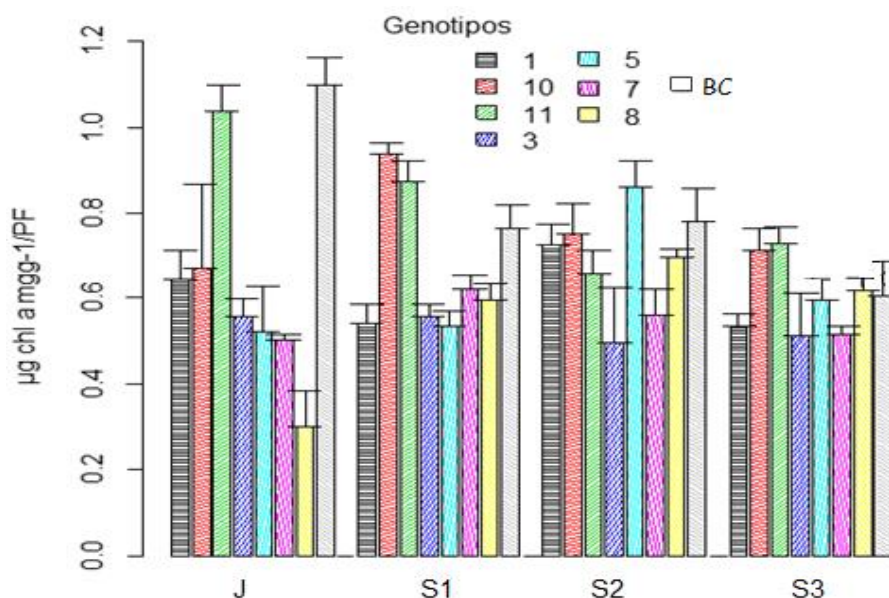


Figura 4. Contenido de clorofila a en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (*Cenchrus ciliaris* L). J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1=Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de la lígula; S3=Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula.

4.3 Clorofila total (a+b)

Similarmente, se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para contenido de clorofila $a+b$ en J, S1 y S2 con respecto al estado de hoja y genotipo, y no se encontraron diferencias significativas para S3 (Cuadro 2) Fig. 6). Los genotipos con mayor concentración durante las cuatro edades fueron G-11, G-10 y BC. La suma de las clorofilas tuvo el mismo patrón de respuesta.

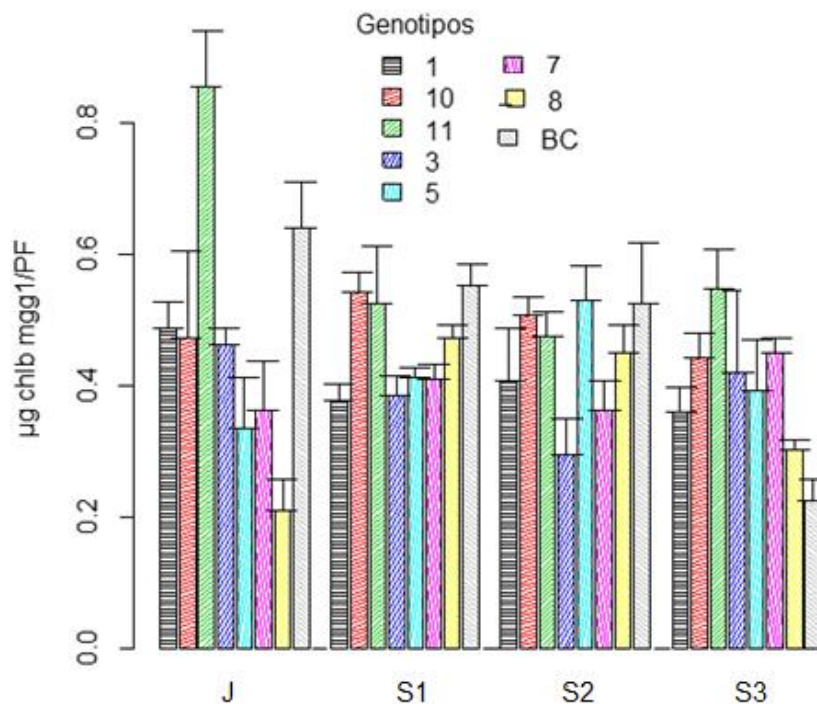


Figura 5. Contenido de clorofila b en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (*Cenchrus ciliaris* L). J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de la lígula; S3=Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula.

4.4 Xantofilas y carotenoides

No se observó significancia para xantofilas y carotenoides ($P > 0.05$; Fig. 7). Los carotenoides son componentes integrales de la membrana tilacoide y están, por lo general, asociados a muchas proteínas que constituyen el aparato fotosintético y su función principal es proteger al mismo durante las fluctuaciones de energía luminosa (Young y Briton, 1990)

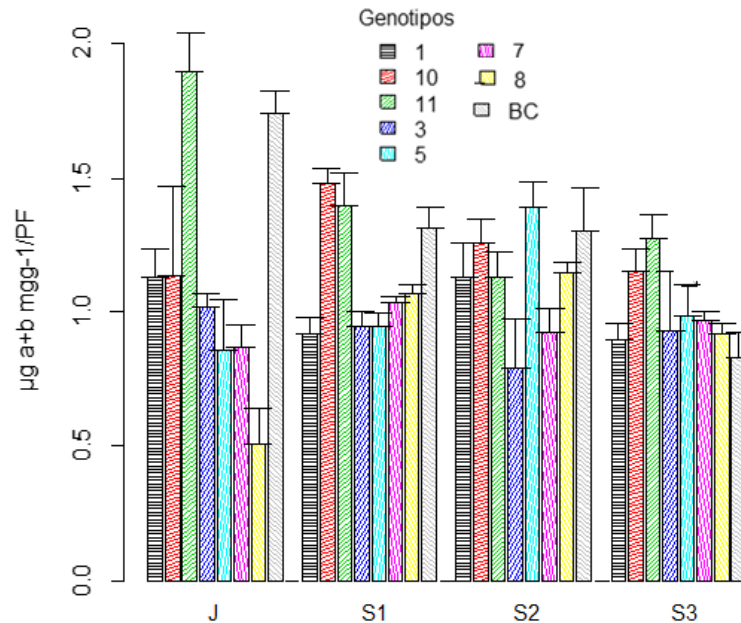


Figura 6. Contenido de clorofila a+b en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (*Cenchrus ciliaris* L). J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de la lígula; S3=Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula

Lu *et al.*, 2001 al evaluar la senescencia en trigo indican que la clorofila total se redujo de 550 a 100 $\mu\text{ mol m}^{-2}$, mientras que la proporción de clorofila *a:b* se incrementó de 2.5 a 3.5; lo anterior desde la antesis hasta 28 días después de ésta. La reducción de clorofila en la hoja bandera no fue notoria antes del día 20 post-antesis y fue marcada del día 20 al 28, pasando de 524 a 110 $\mu\text{ mol m}^{-2}$. El contenido de clorofila (mg g^{-1} peso fresco) fue determinado en respuesta a varios tratamientos y días de exposición en hojas de trigo fluctuó de 1.33, 1.24, 0.82, 0.67 y 0.46 a 48 h en control, denaliadenina, ABA o metil jasmonato (Ma y Wang, 2003). Las técnicas espectrales tienen baja correlación con el contenido de clorofila, debido a que la reflectancia foliar tiene efecto en la variación de éstas. Sims y Gamon (2002), desarrollaron una técnica que considera esta reflectancia y se ajusta mejor a la lectura de reflectancia en contenido de clorofila, indicando que otros pigmentos no afectan la lectura, e indican que un índice de reflectancia fotoquímica desarrollado originalmente para pigmentos del ciclo de las xantofilas se relaciona positivamente a la razón carotenoides: clorofila en hojas verdes sin

importar la arquitectura de la hoja. Existen amplias correlaciones entre el método de medición.

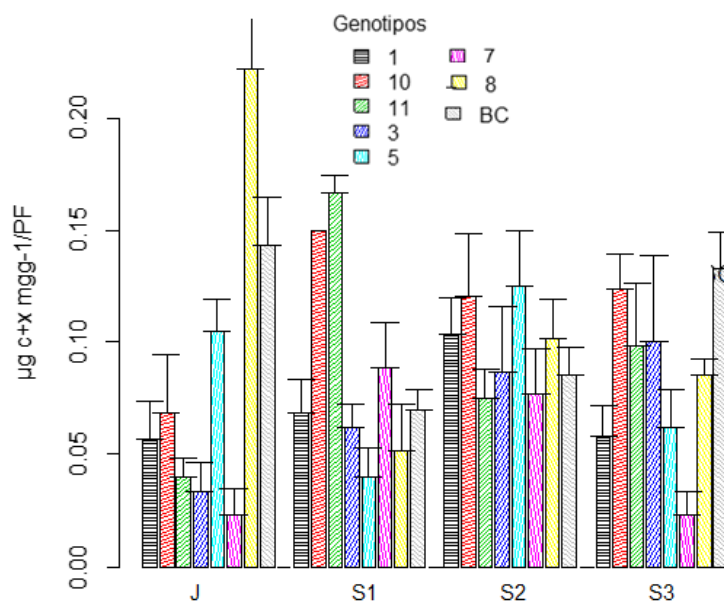


Figura 7. Contenido de carotenoides + xantofilas en cuatro estados de desarrollo de hoja en ocho genotipos de buffel (*Cenchrus ciliaris* L). J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición; S3=Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula.

4.5 Análisis Anatómico

Durante su vida, la hoja sufre, al menos, tres fases de desarrollo: 1) rápida expansión, importación de N y C, síntesis rápida de proteínas y activación de la fotosíntesis 2) Hoja madura, contribuye a la captura de C y la renovación de proteínas se mantiene baja hasta que las condiciones internas y externas inician la senescencia 3) Hoja senescente, periodo de movilización masiva de N, C y minerales desde la hoja madura hacia otras partes de la planta en un proceso altamente regulado, involucrando cese de la fotosíntesis, lisis de proteínas, pérdida de clorofila y remoción de amino ácidos (Buchanan-Wollaston, 1997), amarillamiento de las hojas (por degradación de clorofila) hidrólisis de membranas lipídicas y removilización de macromoléculas (Lim *et al.*, 2007; Yue *et al.*, 2012). Los factores internos de senescencia incluyen estadio de desarrollo y niveles de fitohormonas

(Ruey-Hua *et al.*, 2001). En especies anuales, ha sido bien establecida la relación de la senescencia con la floración y desarrollo de la semilla; sin embargo, no se tiene claro cómo funcionan los genes que controlan este proceso (Lacerenza *et al.*, 2010).

En la figura 8, se observan los diferentes tejidos que se obtuvieron para la segmentación de áreas de interés a) imagen de la parte central de la hoja con diferentes tejidos, b) Secciones de hoja donde se señalan los tejidos; alta digestibilidad, mediana digestibilidad y no digestible c) es la region lateral y d) la región marginal de la hoja.

En general se observaron diferencias significativas ($P < 0.01$) para el área total de los genotipos entre los genotipos G7, G3 y G8 mostraron mayor área respecto a BC (Fig.9).

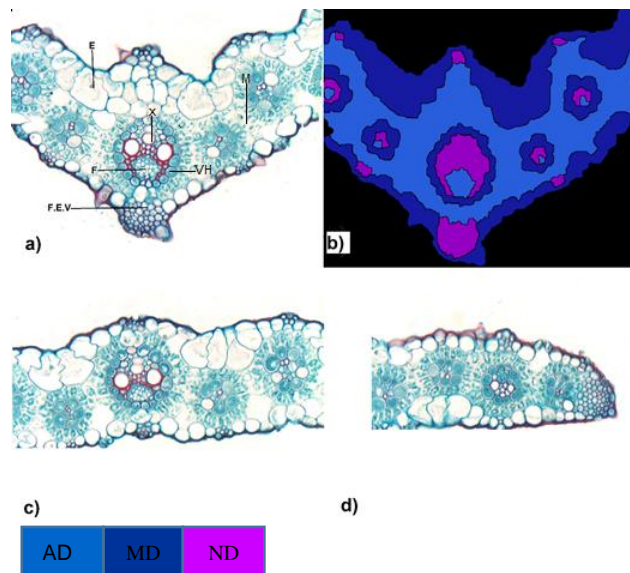


Figura 8. Corte transversal de hoja, a) Región central, M: Mesófilo, F: Floema, E: Epidermis, VH: Vaina del haz, X: Xilema, F.E.V: Fibras de la extensión de la vaina b) AD: Alta digestibilidad, MD: Mediana Digestibilidad, ND: No digestible c) Región lateral. de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

Se ajustó el modelo MANOVA con dos criterios de clasificación (genotipos y secciones), dadas las múltiples variables respuesta (área total, mesófilo, floema, epidermis, vaina del haz, xilema, Fibras de la extensión de la vaina).

En el área total de la hoja no se encontraron diferencias ($P>0.05$) para región central y lateral pero si diferencias significativas para la región marginal con ($P<0.05$). Para mesófilo se encontraron diferencias ($P<0.005$). para floema y epidermis no se encontraron diferencias en las tres regiones de la hoja, tampoco se encontraron diferencias para la vaina del haz, en la región central y lateral, mientras que en la región marginal se encontraron diferencias Cuadro 3, 4 y 5.

Cuadro 3. Porcentaje de áreas de la región central de hoja en Buffel (*Cenchrus ciliaris* L).

Genotipo	A. Digestible		M. Digestible		V. del haz	N. Digestible	
	Área total μm^2	Mesófilo	Floema	Epidermis		Xilema	F. ext. vaina
11	1230642 ^a	71.46 ^{ab}	2.02 ^a	8.65 ^a	7.7 ^a	6.16 ^{bc}	4.00 ^a
10	1344640 ^a	74.54 ^a	1.98 ^a	7.87 ^a	6.64 ^a	5.65 ^{bc}	3.32 ^a
8	1570736 ^a	62.03 ^{ab}	2.00 ^a	10.90 ^a	14.63 ^a	7.18 ^{ab}	3.26 ^a
7	1309857 ^a	66.56 ^{ab}	2.59 ^a	8.63 ^a	7.94 ^a	9.57 ^{abc}	4.71 ^a
5	1342979 ^a	60.88 ^{ab}	2.08 ^a	18.16 ^a	8.08 ^a	6.73 ^{ab}	4.06 ^a
3	1281482 ^a	63.19 ^{ab}	2.46 ^a	9.81 ^a	10.76 ^a	9.17 ^{ab}	4.61 ^a
1	1766485 ^a	47.35 ^{ab}	1.89 ^a	33.19 ^a	7.70 ^a	6.74 ^a	2.99 ^a
BC	1047539 ^a	50.21 ^b	2.04 ^a	26.88 ^a	11.83 ^a	5.53 ^c	3.51 ^a

Letras diferentes dentro de columnas son estadísticamente significativas según Tukey.

Por otro lado el área total se tomó como base (100%), para ver los porcentajes de las proporciones de tejido AD (mesófilo y floema), MD (epidermis y vaina del haz)) y ND (Fibras y extensión de la vaina). Se obtuvieron porcentajes indicando para todos los genotipos que el tejido AD mesófilo se encuentra 30 -75% y floema con 1-4%.

En el tejido MD para epidermis existe una proporción de 7-39% y vaina del haz de 7-24% y para Tejido ND las proporciones para xilema van de 2-13.5% y fibras de la extensión de la vaina de 0.5-5% (Cuadro 3,4 y 5).

Cuadro 4. Porcentaje de áreas de la región lateral de hoja en Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

Genotipo	A. Digestible		M. Digestible		N. Digestible		
	Área total µm ²	Mesófilo	Floema	Epidermis (%)	V. del haz	Xilema	F. ext. vaina
11	1078431 ^{ab}	50.15 ^{ab}	2.46 ^a	23.79 ^a	13.28 ^a	7.25 ^{cd}	3.07 ^{ab}
10	1141339 ^{ab}	48.28 ^{ab}	2.47 ^a	27.46 ^a	12.18 ^a	7.04 ^{cd}	2.58 ^{ab}
8	1185516 ^{ab}	44.05 ^{ab}	2.27 ^a	23.59 ^a	18.96 ^a	7.62 ^{bc}	3.50 ^a
7	1303766 ^a	49.09 ^a	2.63 ^a	20.05 ^a	15.19 ^a	9.36 ^{ab}	3.68 ^a
5	1010838 ^{ab}	45.22 ^{ab}	2.82 ^a	30.44 ^a	12.36 ^a	6.76 ^{cd}	2.41 ^{ab}
3	1153881 ^{ab}	48.26 ^{ab}	2.49 ^a	22.29 ^a	16.05 ^a	8.09 ^{abc}	2.83 ^{ab}
1	937744 ^{ab}	32.69 ^b	3.23 ^a	24.07 ^a	23.44 ^a	13.2 ^a	3.38 ^{ab}
BC	808212 ^b	41.15 ^b	1.97 ^a	36.51 ^a	12.97 ^a	6.06 ^d	1.33 ^b

Letras diferentes dentro de columnas son estadísticamente significativas según Tukey

Finalmente los genotipos con mayor proporción de tejido AD de fueron G10 y G11y G1 y GBC con menor porcentaje de área, en MD fueron mínimas las diferencias, y para ND con mayor porcentaje G7, G3, G8 y G5 y el genotipo con menor porcentaje GBC Y G1.

Cuadro 5. Porcentaje de áreas de la región marginal de hoja en Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

Genotipo	A. Digestible		M. Digestible		N. Digestible		
	Área total µm ²	Mesófilo	Floema	Epidermis %	V. del haz	Xilema	F. ext. Vaina
11	559867 ^a	50.56 ^a	2.45 ^a	26.42 ^a	13.55 ^{ab}	4.57 ^a	1.18 ^a
10	633981 ^a	46.82 ^a	1.80 ^a	32.39 ^a	10.75 ^b	4.32 ^a	2.45 ^a
8	838014 ^a	41.89 ^a	1.37 ^a	38.08 ^a	13.13 ^{ab}	3.22 ^a	2.01 ^a
7	684685 ^a	45.78 ^a	1.44 ^a	32.62 ^a	12.83 ^{ab}	3.43 ^a	2.96 ^a
5	499342 ^a	45.48 ^a	2.13 ^a	30.63 ^a	12.36 ^b	3.90 ^a	4.59 ^a
3	804935 ^a	44.55 ^a	1.96 ^a	30.72 ^a	15.13 ^{ab}	4.47 ^a	2.00 ^a
1	790528 ^a	47.51 ^a	1.88 ^a	27.44 ^a	16.89 ^a	3.97 ^a	1.05 ^a
BC	476578 ^a	42.49 ^a	1.21 ^a	38.76 ^a	16.89 ^b	2.55 ^a	0.76 ^a

Letras diferentes dentro de columnas son estadísticamente significativas según Tukey

Batistoti *et al.*, 2011 caracterizaron anatómicamente hojas de nueve genotipos de *Panicum maximun*, las características anatómicas se midieron nervio principal y

por lo general entre dos o tres haces vasculares para cada sección transversal. Se midió el área total seguido por la epidermis adaxial, epidermis abaxial, tejido vascular, vaina del haz, esclerénquima y mesófilo. Las diferencias morfológicas entre los genotipos de *P. maximum* no interfirieron en la acumulación de biomasa.

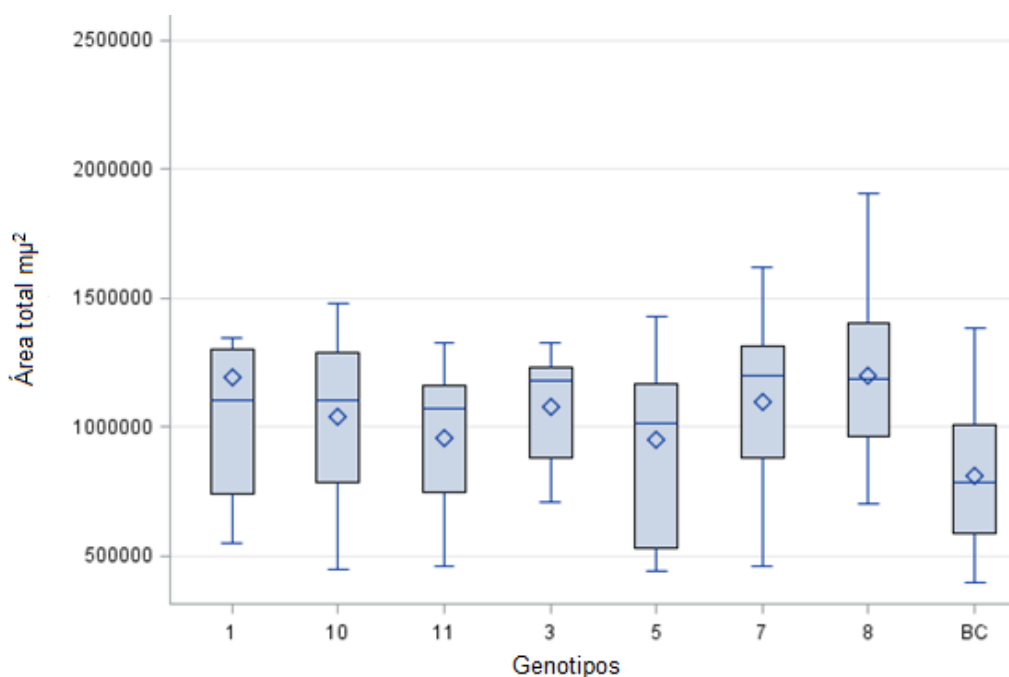


Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área total de tejido foliar en genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

Los pastos C_4 poseen elevada eficiencia fotosintética, lograda mediante la combinación de adaptaciones bioquímicas y estructurales. La fotosíntesis C_4 se conforma a lo largo del eje de desarrollo de la lámina, desde una hoja no diferenciada en la base, sobre la lígula hasta células del mesófilo y de la vaina del haz altamente especializadas en la punta de la hoja extendida. (Majeran *et al.*, 2010). El mesófilo representa el tejido de mayor digestibilidad de la hoja y se observaron diferencias significativas entre genotipos ($P < 0.05$), los genotipos con mayor área de mesófilo fueron G-3, G-7, G-11 y la menor se observó para BC (Fig. 10).

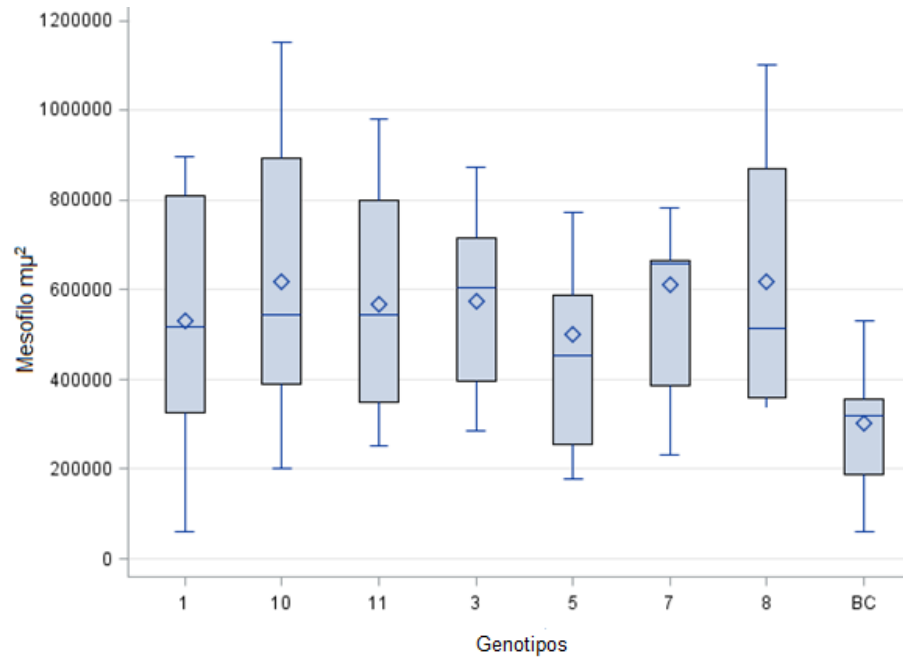


Figura 10. Diagrama de caja y bigotes para la distribución de área de mesófilo en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

Junto con el mesófilo, el floema como área fotosintéticamente activa y de elevado contenido de proteínas fotosintéticas, mostró diferencias significativas como constituyente de la hoja ($P < 0.05$). G7 y G3 mostraron mayor floema y Buffel Común mostró la menor área de floema y fue diferente al resto de los genotipos (Fig. 11)

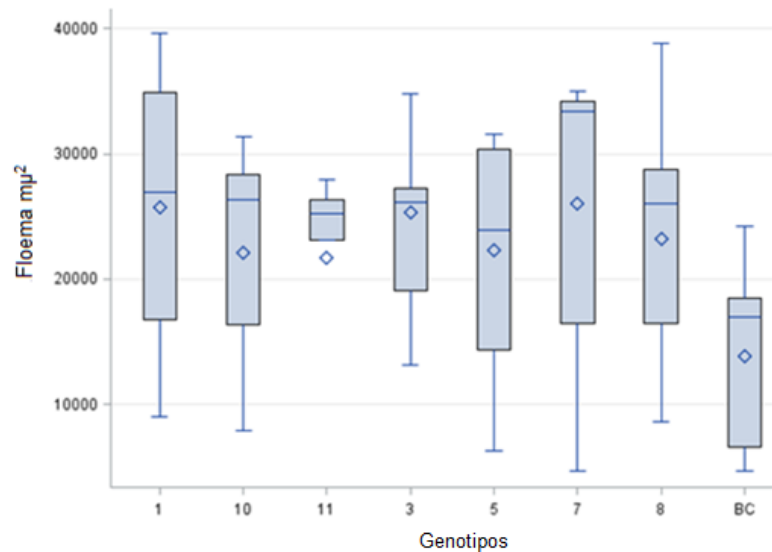


Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de floema en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

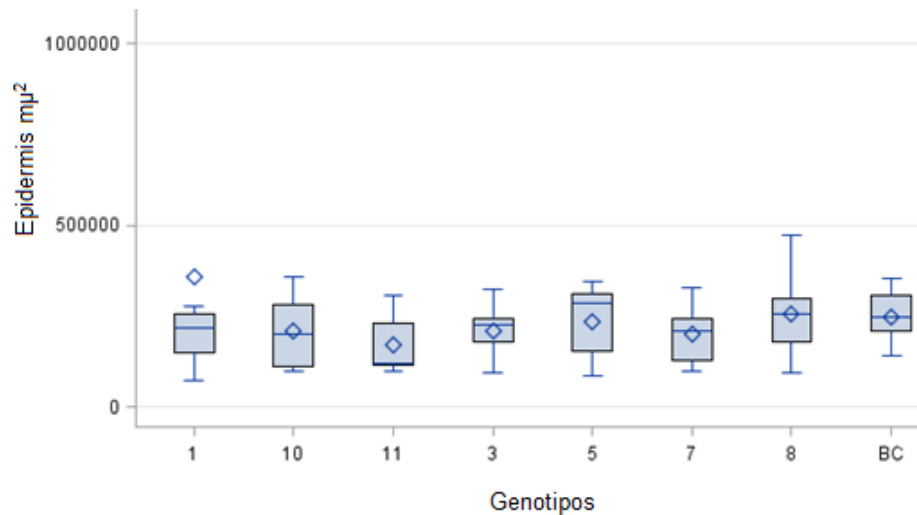


Figura 12. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de epidermis en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

La epidermis es un constituyente de baja digestibilidad, dada su importancia como tejido protector de la hoja, tanto física como biológicamente, representa una barrera de gran importancia selectiva a nivel macro, dado que debe impedir la entrada de agentes patógenos y permitir la movilización de gases y vapor de agua para el mantenimiento de la actividad fotosintética. Los mayores niveles de epidermis se encontraron en G5, G-8, BC. y menor área para G11. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre estos valores ($P > 0.05$; Fig. 12).

La vaina del haz encierra los haces vasculares y tiene varias capas para promover la permeabilidad selectiva, se considera un área de baja a mediana digestibilidad, dada su necesidad de ser impermeable y mantener la condición de soluciones en condiciones selectivas. Al respecto, Buffel Común mostró la menor área y la mayor, se encontró en G1 y G3, observándose diferencias solamente para estos dos grupos ($P < 0.05$; Fig. 13).

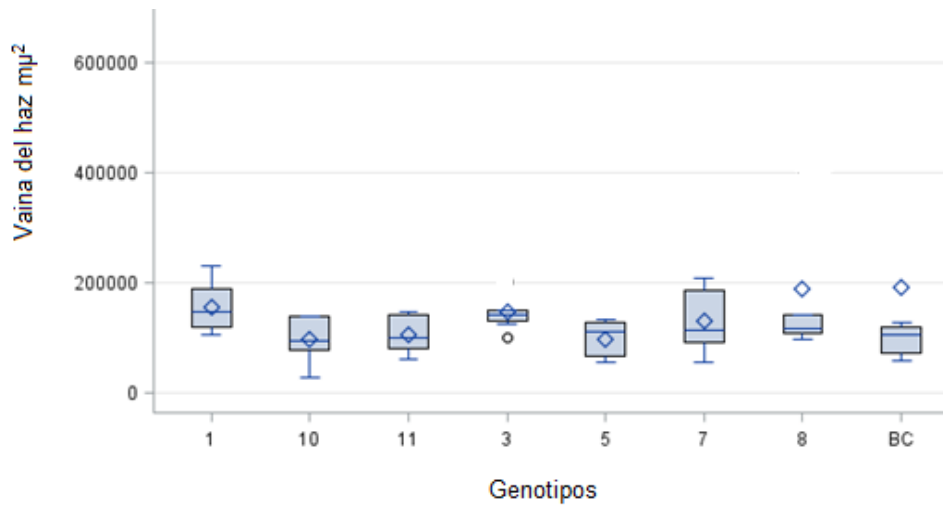


Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución de área de vaina del haz en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

El xilema junto con las fibras de la extensión de la vaina se les considera tejido indigestible, dada su función de transporte de soluciones que deben mantenerse aisladas del metabolismo de las hojas y de las células. Los menores valores de área de xilema se encontraron para hoja de BC, el cual mostró diferencias únicamente con G-1 y G-6, los cuales tuvieron los mayores valores de área de xilema (Fig. 14).

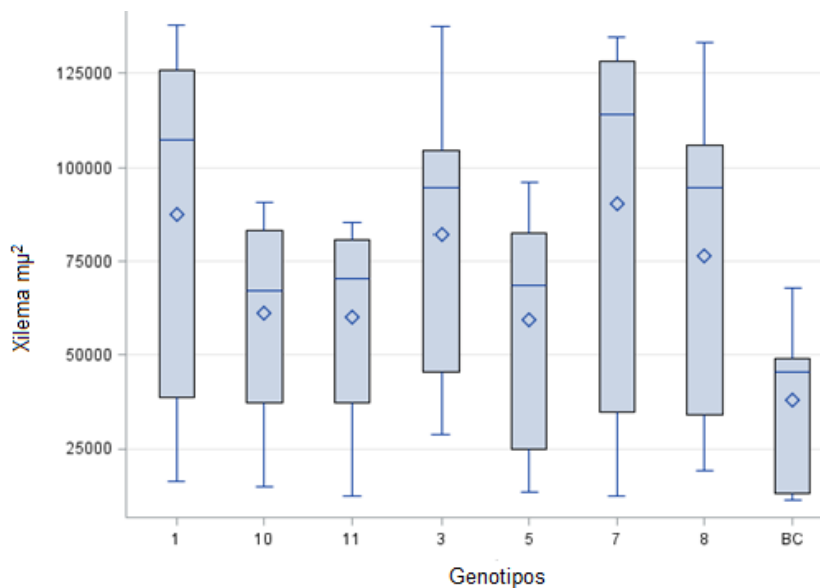


Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área de xilema en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

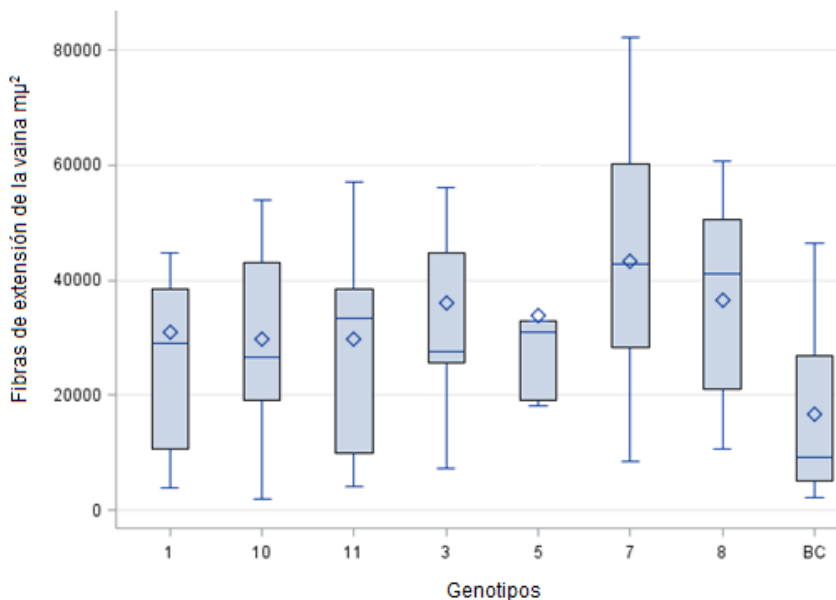


Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes para la distribución del área de fibras de la extensión de la vaina en hoja de ocho genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L)

4.5.1 Porcentaje de lignina

La lignina representa la barrera principal de la calidad de forraje senescente, dado que ésta inhibe el acceso de las enzimas bacterianas a la energía almacenada en compartimentos celulares y en la célula misma debido a su agregación, similarmente en la pared celular. Se observaron diferencias en porcentaje de área lignificada; en hojas con estado de desarrollo J, S1, y S2 ($P < 0.05$) y no hubo diferencias significativas en S3. Para el estado de desarrollo J los genotipos con menor porcentaje de lignina se observaron para los G-10 y G11, y con mayor porcentaje en G7 y G3, en S1 menor porcentaje para G10 y G1B y mayor porcentaje en G7, G5 y G3, en S2 con menor contenido fueron los genotipos GBC y los de mayor contenido de lignina fueron G7, G11 y G5 (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de lignina en hoja de cuatro estados de desarrollo en genotipos de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

Genotipos	Estados de desarrollo			
	J	S1	S2	S3
11	0.16 ^{abc}	0.22 ^{abc}	0.58 ^{ab}	0.69 ^a
10	0.11 ^c	0.14 ^c	0.55 ^{ab}	0.67 ^a
8	0.16 ^{abc}	0.22 ^{abc}	0.53 ^{ab}	0.59 ^a
7	0.23 ^a	0.38 ^a	0.60 ^a	0.56 ^a
5	0.16 ^{abc}	0.33 ^{ab}	0.54 ^{ab}	0.60 ^a
3	0.21 ^{ab}	0.30 ^{ab}	0.52 ^{ab}	0.64 ^a
1	0.12 ^c	0.20 ^{bc}	0.61 ^{ab}	0.62 ^a
BC	0.13 ^{bc}	0.27 ^{abc}	0.46 ^b	0.60 ^a

J= Hoja al 50% de su longitud a madurez; S1= Hoja madura de 15 días posterior a la exposición de la lígula; S2= Hoja senescente de 35 días después de la exposición de la lígula; S3= Hoja senescente a 45 días después de la exposición de la lígula. Letras diferentes entre columnas son estadísticamente significativas según Tukey.

Debido a la importancia de la degradación celular durante la senescencia, 175 de 2500 genes expresados durante la senescencia, codifican para diversas hidrolasas (incluyendo proteasas) (Gepstein, 2004). El gen stay-green y sus ortólogos influyen marcadamente el catabolismo de la clorofila y proteínas en la hoja senescente (Thomas *et al.*, 2002). Esta lisis resulta en moléculas que pueden transportarse, vía floema, a otras partes de la planta (Buchanan-Wollaston *et al.*, 2003).

Uno de los atributos de pasto Buffel es su resistencia a la sequía y uno de los efectos de ésta es la aceleración de la senescencia foliar, promoviendo reducción del dosel, pérdida de la actividad fotosintética y menores rendimientos de materia seca. Rivero *et al.*, 2007 evaluaron la reducción de la senescencia y su efecto sobre la tolerancia a la sequía, y generaron transgénicos que expresaron un gen isopenteniltransferasa, bajo el control del promotor (estrés y maduración). Ellos encontraron que la supresión de la senescencia foliar inducida por la sequía indujo una sobresaliente tolerancia a la sequía, mostrado por un crecimiento vigoroso después de un periodo de sequía que mató a las plantas testigo.

4.6 Composición química

Para contenido de lignina, no se encontraron diferencias significativas en J, S1, S2, y si hubo diferencias en S3 con mayor contenido de lignina G10 y G7 y con menor en G11, Cuadro 7 y 8 se observó efecto significativo ($P < 0.05$) entre edades de genotipo. Para el contenido de proteína cruda (PC) encontraron diferencias entre genotipo, edad y edad x genotipo en edades ($P < 0.05$).

Para Fibra detergente neutro (FDN), se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$), entre genotipos, y no entre edad, ni edad-genotipo ver Cuadro 7 y 8. En cuanto Fibra detergente ácido (FDA) se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), entre genotipos y entre edades para los estados de desarrollo J, S1 y S2 y S3. Con respecto al contenido de cenizas se encontraron diferencias significativas entre genotipos, edad genotipo y edades.

Cuadro 7. Porcentaje de fibras de hoja en cuatro estados de desarrollo de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.)

Genotipos	J					S1				
	Lignina	PC	FDA	FDN	Cenizas	Lignina	PC	FDA	FDN	Cenizas
11	7.32 ^a	20.48 ^{abc}	31.48 ^a	57.42 ^a	12.11 ^{ab}	4.54 ^a	17.57 ^a	35.40 ^{ab}	58.84 ^b	12.56 ^a
10	7.32 ^a	20.22 ^{bc}	30.34 ^a	56.14 ^a	12.24 ^a	3.92 ^a	17.98 ^a	36.02 ^{ab}	60.29 ^{ab}	12.11 ^a
8	6.63 ^a	19.83 ^c	32.41 ^a	55.70 ^a	10.20 ^c	5.38 ^a	16.98 ^a	36.13 ^{ab}	59.89 ^b	12.11 ^a
7	7.00 ^a	7.85 ^e	31.62 ^a	57.02 ^a	10.86 ^{bc}	4.32 ^a	16.67 ^a	35.63 ^{ab}	62.45 ^{ab}	11.46 ^a
5	5.73 ^a	17.92 ^d	32.35 ^a	59.78 ^a	11.12 ^{abc}	6.18 ^a	14.71 ^b	39.32 ^a	65.30 ^a	13.32 ^a
3	5.15 ^a	20.99 ^a	24.77 ^b	48.54 ^b	11.04 ^{abc}	2.32 ^a	17.52 ^a	32.35 ^{bc}	57.75 ^b	14.26 ^a
1	3.81 ^a	20.92 ^{ab}	32.69 ^a	49.65 ^b	10.86 ^{bc}	4.78 ^a	17.48 ^a	34.98 ^b	57.35 ^b	14.80 ^a
BC	5.30 ^a	20.05 ^c	26.09 ^b	48.78 ^b	11.57 ^{ab}	2.40 ^a	14.96 ^b	29.15 ^c	59.70 ^b	12.92 ^a

Letras diferentes entre columnas son estadísticamente significativas según Tukey

Cuadro 8. Porcentaje de fibras de hoja en cuatro estados de desarrollo de Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.)

Genotipos	Lignina	PC.	FDA	FDN	C	Lignina	PC.	FDA	FDN	C
	S2					S3				
11	5.49 ^a	12.13 ^{ab}	30.84 ^c	60.95 ^a	12.73 ^a	5.28 ^b	10.31 ^{bc}	37.27 ^{ab}	57.03 ^a	16.91 ^c
10	3.39 ^a	11.76 ^{ab}	35.62 ^b	57.75 ^{abc}	12.90 ^a	12.90 ^a	11.20 ^{ab}	38.90 ^a	55.41 ^a	16.14 ^c
8	5.48 ^a	11.78 ^{ab}	36.81 ^{ab}	59.81 ^{ab}	12.90 ^a	3.79 ^b	8.74 ^{de}	40.66 ^a	56.40 ^a	19.90 ^b
7	4.48 ^a	11.31 ^b	37.48 ^{ab}	59.04 ^{ab}	13.27 ^a	12.51 ^a	7.85 ^e	31.44 ^b	55.87 ^a	19.50 ^b
5	4.75 ^a	11.21 ^b	39.08 ^a	59.09 ^{ab}	15.38 ^a	9.86 ^{ab}	8.34 ^e	40.98 ^a	56.58 ^a	19.26 ^b
3	3.49 ^a	11.43 ^{ab}	35.20 ^b	54.71 ^{bc}	16.99 ^a	7.96 ^{ab}	9.44 ^{dc}	39.48 ^a	54.48 ^a	23.45 ^a
1	4.98 ^a	12.31 ^a	29.37 ^c	53.27 ^c	17.15 ^a	8.11 ^{ab}	10.58 ^b	39.32 ^a	54.62 ^a	23.05 ^a
BC	3.23 ^a	8.65 ^c	31.51 ^c	59.52 ^{ab}	14.62 ^a	6.74 ^{ab}	11.80 ^a	36.11 ^{ab}	57.48 ^a	16.99 ^c

Letras diferentes entre columnas son estadísticamente significativas según Tukey

La composición química general de las paredes celulares de monocotiledóneas incluye: carbohidratos estructurales, lignina y fenoles, proteínas y materiales hidrofóbicos (ceras, cutinas y suberinas) (Carpita, 1996). En alfalfa, la calidad del forraje declina por la combinación de dos eventos en la maduración (Jung *et al.*, 1997): 1) conforme la maduración avanza, la razón hoja: tallo declina debido a que el material se acumula en el tallo tan rápido como en las hojas y reduce la senescencia y muerte, lo cual es importante debido a que los tallos contienen mayor material de la pared celular que las hojas y las paredes celulares son menos digestibles que los componentes solubles de la hoja; 2) conforme avanza la maduración los tallos acumulan mayor cantidad de material en la pared celular y la digestibilidad de éstas por los rumiantes disminuye. Evaluando alfalfa con diferente edad de rebrote Jung y Engels (2002), indican que después de 21 días los entrenudos han completado su elongación e inician la proliferación de xilema secundario el cual se lignifica inmediatamente y la lignificación del floema primario y el parénquima de la punta radical inician al finalizar la elongación. La maduración incrementó la proporción de xilema secundario no degradable y la composición de polisacáridos de la pared secundaria cambió de la pectina-predominante a celulosa. La degradabilidad de la pectina se mantuvo elevada sin importar la madurez, pero la degradabilidad de la celulosa y hemicelulosa declinaron

conforme el xilema secundario proliferó. La degradabilidad de los tallos de alfalfa mejoraría si la cantidad de xilema secundario lignificado disminuyera (Jung y Engels, 2004).

Los valores de FDN son la fuente potencial de nutrientes digeribles por rumiantes y variaciones en su digestibilidad determinan el valor del forraje. El FDN consiste en dos entidades conceptuales: 1) FDN potencialmente digestible (PDF) y 2) FDN no digestible (IDF); el nivel de IDF en el alimento es un predictor de su calidad (Ellis y Matis, 2005); por tanto es importante diferenciar entre PDF y IDF en el uso de alimentos para rumiantes; sin embargo, se debe especificar el método de evaluación, dado que existen variaciones en los resultados (Ferreira y Mertens, 2007)

Un buen manejo del corte encierra resistencia a sequía y bajas temperaturas (Da Silva *et al.*, 2008), lo cual había sido señalado para tres especies de *Bothriochloa* spp, por Phillip *et al.*, 2005, quienes indicaron que los carbohidratos totales no estructurales y la DMS se redujeron mientras se incrementó la FDN y FDA con mayor irrigación, la cual afectó el valor nutritivo del forraje mediante efectos en la morfología y edad fisiológica del forraje, por lo que este manejo es una opción para mejorar la calidad del forraje.

Los mutantes maíz de la nervadura central café (*bmr*) muestran una coloración café-rojiza en la nervadura central de lámina foliar y en la punta del tallo, lo cual está asociado con una reducción de la agregación de lignina y es observable posterior al estadio de cinco hojas expandidas (Cherney *et al.*, 1991). Dilucidando la información bioquímica y molecular disponible sobre genotipos *bmr* para definir las rutas probables de agregación de lignina y ácido hiroxicinámico en pastos (Barrière *et al.*, 2004), indicaron que es un reto el entendimiento de la función de los genes que agregan lignina y como la diversidad de estos mecanismos impactan la digestibilidad de la pared celular. La lignina interfiere con la digestión de los polisacáridos de la pared celular al actuar como barrera física para las

enzimas microbianas, limitando la digestión de polisacáridos estructurales celulosa y hemicelulosa (Moore *et al.*, 2001). Estos mismos autores indican que aunque los pastos y leguminosas pueden tener similares contenidos de lignina, los pastos tienen mayor concentración de fibras y menor concentración de contenido celular fácilmente digestible, en comparación a las leguminosas. Similarmente, los pastos tropicales poseen mayor contenido de fibra en comparación con los pastos templados, lo que los hace menos digestibles.

Comparando líneas mutantes *bmr* vs. normales para *bmr* en maíz, sorgo y mijo Lam, *et al.*, 1996 observaron que no existen diferencias entre contenidos totales de lignina entre éstas, determinadas mediante la técnica de acetil-bromidio ó la suma de lignina ácido-insoluble (Klason) y lignina ácido-soluble. Lo anterior, indica que los mutantes *bmr* se caracterizan por tener lignina con menor grado de polimerización; indicando qué, el contenido menor de puentes de ácido felúrico en los mutantes *bmr* puede ser el factor para la elevada digestibilidad de tallo. Se ha indicado que la alteración de la estructura o balance de alcoholes componentes de la lignina no influencia la degradabilidad de la pared celular; contrariamente, una reducción en el entreverado de enlaces, hidrofobicidad o concentración de lignina, resultará en mayor hidrólisis enzimática (Grabber, 2005). Enzimas como cinamoil-esterasas pueden atacar ligaduras específicas de la pared celular, pero su eficacia en la pared celular lignificada no ha sido evaluada (Graber, 2005) Existe gran variabilidad intraespecífica para digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS) y ésta es un atributo con heredabilidad, en sentido angosto, de 0.2 a 0.4, similar al rendimiento de forraje; el incremento DIVMS de 1%, origina incrementos de 3.2% en producción animal y ésta se correlaciona positivamente con el rendimiento de MS (Vogel y Miranda, 2009). La concentración de NDF varió de 49.7 a 66.2% y su tasa de digestión varió de 525 a 735⁻¹ g kg NDF (Jung *et al.*, 1998).

Las plantas debieron desarrollar mecanismos evolutivos para iniciar diferentes rutas biosintéticas de los componentes de la pared celular en varios tipos celulares, sintetizar la cantidad correcta de componentes de la pared y

ensamblarlos en el sitio correcto para que la célula funcione de manera específica en la pared celular (Ruiqin y Zheng-Hua, 2007).

Brachypodium distachyon, un modelo genético útil para estudiar la composición de la pared celular y determinar su impacto sobre la digestibilidad ruminal debido al tamaño pequeño de su genoma, agregación de lignina y componentes de la pared celular. Rancour *et al.* (2012) Indican que el contenido de lignina en dos estadios de desarrollo de *B. distachyon* mostraron valores de contenido de lignina desde 53.1 a 157.6 mg⁻¹ de lignina de pared celular. Obel *et al.* (2009), desarrollaron metodología de microdissección láser para estudiar la agregación de carbohidratos en la pared celular y realizar estudios del metabolismo de la maduración de ésta. La diversidad de alelos de dos genes de la Cafeil-CoA 3-O Metil transferasa (CCoAOMT2 y CCoAOMT1), así como la del gen de la aldehído O-Metil transferasa (AldOMT) fue evaluada para 34 líneas de maíz para ensilar seleccionadas por alta variabilidad para la digestibilidad de la pared celular (Gillet-Claude *et al.*, 2004) Los autores reportan la elucidación de un indel de 18 pb asociado a la variación en la digestibilidad de la pared celular, indicando que el gen CCoAOMT2n localizó con un QTL para la digestibilidad de la pared celular y el contenido de lignina.

5. CONCLUSIONES

- Se observaron diferencias en área de forraje digestible entre genotipos.
- No se detectaron diferencias en contenido de lignina para las distintas edades de hojas analizadas. Existen diferencias en contenido de pigmentos fotosintéticos dentro de edad
- Se observaron diferencias en contenido de proteína cruda dentro de edad, y entre los genotipos.
- Se observaron diferencias entre genotipos dentro de edad de hoja para FDA.
- Los genotipos G-11, G-10 y G-5 ofrecen alternativas para potreros de baja infraestructura donde se cosecha forraje senescente, durante el pastoreo.

6. LITERATURA CITADA

- Argillier, O., V. Méchin., Y. Barrière. 2000. Inbred line evaluation and breeding for digestibility-related traits in forage maize. *Crop Sci.* 40: 1596-1600.
- Akin, D. E., L. G. Ljungdahl., J. R. Wilson., P. J. Harris. 1990. Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants. Elsevier Science Ltd. NY, USA. pp. 100.
- Alexandrino, E., J. R. Nascimento, P. R. Mosquim., A. J. Regáis., F. C. Rocha. 2004. Características morfogênicas e estruturais na rebrotagem da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a três doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 33 (6): 1372-1379.
- Asai, K., N. Satoh., H. Sasaki. 2002. A rice heterochronic mutant, *moril*, is defective in the juvenile-adult phase. *Development* 129: 265–273.
- Barrière, Y., J. Ralph., V. Méchin., S. Guillaumie., J. H. Grabber., O. Argillier., B. Chabbert., C. Lapierre. 2004. Genetic and molecular basis of grass cell wall biosynthesis and degradability. II. Lessons from brown-midrib mutants. *C. R. Biol.* 327: 847-860.
- Barry, C. S., R. P. McQuinn., M. Y. Chung., A. Besuden., J. J. Giovannoni. 2008. Amino acid substitutions in homologs of the STAYGREEN protein are responsible for the green-flesh and mutations of tomato and pepper. *Plant Physiol* 147: 179–187.
- Batistoti, C., B Lempp, L. Jank, M. das G. Morais, A.C. Gomes, M.V.B. Ferreira. 2011. Correlations among anatomical, morphological, chemical and agronomic characteristics of leaf blades in *Panicum maximum* genotypes. *Animal Feed Science and Technology* 171 (2012) 173– 180.
- Belanger, G., F. Gastal, G. Lemaire. 1992. Growth analysis of a tall fescue sward fertilized with different rates of nitrogen. *Crop Sci.* 32: 1371-1376.
- Bretagnolle, F., D. Thompson. 1996. An experimental study of ecological differences in winter growth between sympatric and autotetraploid *Dactylis glomerata*. *J of Ecol.* 84: 343-351.

- Brueland, B. A., K. R. Harmony., K. J. Moore., J. R. George., E. C. Brummer. 2003. Developmental morphology of smooth bromegrass growth following spring grazing Crop Sci. 43: 1789-1796.
- Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. J of Exp. Bot. 48: 181-199.
- Buchanan-Wollaston, V., E. Simon., E. Harrison., E. Mathas., S. Navabpour., T. Page., D. Pink. 2003. The molecular analysis of leaf senescence –a genomic approach Plant Biotech. J. 1: 3–22.
- Buxton, D. R., S. L. Fales. 1994. Plant environment and quality. *In*: GC Fahey (ed.) Conference on forage quality, evaluation, and utilization. University of Nebraska, Lincoln, NE. pp. 155.
- Carpita, N. C. 1996. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47: 445–476.
- Chapman, D. F. G. Lemaire. 1993. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. *In*: International Grassland Congress. Proceedings. Palmerston North: New Zealand Grassland Association. pp. 95-104.
- Cherney, J. H., D. J. R. Cherney., D. E. Akin., J. D. Axtell. 1991. Potential of brown-midrib, low-lignin mutants for improving forage quality, Adv. Agron. 46: 157–198.
- Clerget, B., M. Dingkun., E. Gozé., H. W. F. Rattunde., B. Ney. 2008. Variability of phyllochron, plastochron and rate of increase in height in photoperiod-sensitive *Sorghum* varieties. Annals of Bot, 101: 579-594.
- Da Silva, S. C., D. do., N. Júnior., V. P. B. Euclides. 2008. Pastagens: Conceitos Básicos, Produção e Manejo. Ed. Suprema. Bicosá, MG, Brasil. ISBN: 978-85-60249-23-7. 115p.
- Danks, S. M., E. H. Evans., P. A. Whittaker. 1983. Photosynthetic Systems. Structure, Function and Assembly. John Wiley & Sons. Ltd. NY, USA 1st Ed. 174p.
- Demarquilly, C. 1989. The feeding value of forages. *In*: R. Desroches (ed.) Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice. pp. 1817-1823.

- Driehuis, F., P. G. Wikselaar, A. M. Van Veuren., S. F. Spoelstra. 1997. Effect of a bacterial inoculant on rate of fermentation and chemical composition of high dry matter grass silages. *J Agric. Sci*, 128: 323-329.
- Duru, M., H. Ducrocq. 2000. Growth and senescence of the successive grass leaves on a tiller. Ontogenic development and effect of temperature. *Annals of Bot.* 85:635-643.
- Dwyer, L. M., D. W. Stewart. 1986. Leaf area development in field-grown maize. *Agronomy J.* 78: 334-343.
- Eggers, L., M. Cadenazzi, I. I. Boldrini. 2004. Phyllochron of *Paspalum notatum* Fl. and *Coelorhachis selloana* (Hack.) Camus in natural pasture. *Sci. Agric.* 61 (4): 353-357.
- Ellis, W., D. J. H. Matis. 2005. Feed quality: Natural plant markers. Indigestible fibers. In: WG Pond (ed.) *Encyclopedia of Animal Science*. CRC Press. pp. 365-368.
- Evans, J., R. Geerken. 2004. Discrimination between climate and human-induced dryland degradation. *J of Arid. Environ.* 57: 535- 554.
- Ferreira, G., D. R. Mertens. 2007. Measuring detergent fiber and insoluble protein in corn silage using crucibles or filter bags. *Animal Feed Sci. and Technol.* 133: 335-340.
- Fick G. W., P. W. Wilkens., J. H. Cherney. 1994. Modeling forage quality changes in the growing crop. In: G. C. Fahey *et al.*, (eds.). *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison, WI: ASA, Inc. pp. 757- 795.
- Filella, I., L. Serrano, J. Serra., J. Penuelas. 1995. Evaluating wheat nitrogen status with canopy reflectance indices and discriminant analysis. *Crop Sci.* 35: 1400-1405.
- Fukao, T., E. Yeung., J. Bailey-Serres. 2012. The submergence tolerance gene SUB1A delays leaf senescence under prolonged darkness through hormonal regulation in rice. *Plant Physiol.* 160 (4): 1795-1807.
- Gamon, J. A., J. S. Surfus. 1999. Assessing leaf pigment content and activity with a reflectometer. *New Phytologist* 143: 105-117.
- García, E. 1988. *Modificaciones al Sistema de Clasificación climática Köpen*. 4ta Edición, 220p.

- Gastal, F., J. L. Durand., C. Varlet-Grancher., H. Gautier., G. Lemaire., F. Tabourel. 1996. Recherches récentes et en cours á la station d'écophysiologie des plantes fourragères de Lusignan. *Fourrages*148: 333-346.
- Gepstein, S. 2004. Leaf senescence: not just a wear and tear phenomenon *Genome Biology* 5: 212 (1-3).
- Gilmore, A. M. 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photo-protection in higher plant chloroplasts and leaves. *Phys. Plant.* 99: 197-209.
- Gomide, C. A. M., J. A. Gomide. 2000. Morfogenese de cultivares de *Panicum maximum* Jacq. *Rev. Bras. de Zootecnia.* 29. (2): 341-348.
- Gómez, F. E., S. B. Díaz., A. Saldivar, F., E. F. Briones., T. V. Vargas, W. E. Grantd. 2007. Patrón de crecimiento de pasto buffel [*Pennisetum ciliare* L. (Link.) Sin. *Cenchrus ciliaris* L.] en Tamaulipas. *Téc Pec en México.* 45 (1): 1-17.
- Gordon, A. J. 1975. A comparison of some chemical and physical after digestion by sheep. *J.Sci. Food Agri.* 26: 1551-1559.
- Graber, J. H. 2005. How do lignin composition, structure, an cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Sci.* 45: 820-831.
- Gramig G. G., D. E. Stoltenberg. 2007. Leaf appearance base temperature and phyllochron for commom grass and broadleaf weed species. *Weed Technol.* 21: 249-254.
- Guillet-Claude, C., C. Birolleau-Touchard., D. Manicacci., M. Fourmann., S Barraud., V. Carret., J. P. Martinant., Y. Barrie`re. 2004. Genetic diversity associated with variation in silage corn digestibility for three O -methyltransferase genes involved in lignin biosynthesis. *Theor. Appl. Genet.* 110: 126-135.
- Hanselka, C. W. 1985. Grazing management strategies for buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). Rep. No. MP-1575. Texas Agric. Exp. Stat., College Station, TX pp. 23-35.
- Harlan, J. R. 1971. Agricultural origins: Centers and non centers. *Science* 174: 468-474.
- Herrera, R. S. 2004. Fotosíntesis en pastos tropicales contribución a la Fisiología, establecimiento, rendimiento de biomasa y produccion de biomasa, producción

- de semillas y reciclaje de nutrientes. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. P37.
- Hernández, G. F. 2013. Estrategias para establecer pastos de temporal en zonas semiáridas de México. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 122p
- Hides D. H., J. A. Lovatt., M. Hayward. 1983. Influence of stage of maturity on the nutritive value of Italian ryegrass. *Grass and For. Sci* 38(66): 33-38.
- Hokmalipour, S. 2011. The Study of Phyllochron and Leaf Appearance Rate in Three Cultivar of Maize (*Zea mays* L.) At Nitrogen Fertilizer Levels. *World Applied Sciences Journal* 12 (6): 850-856.
- Hörtentsteiner, S. 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 55-77.
- Huang, X. D., Y. E. Alawi., D. M., B. R. Glick., B. M. Greenberg. 2004. Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*. 130:453.
- Huang, T., H. Böhlenius, S. Eriksson. 2005. The mRNA of the Arabidopsis gene moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science* 309: 1694–1696.
- Itoh, J. I., A Hasegua., H. Kitano., Y. Nagato. 1998. A recessive heterochronic mutation, plastochron 1, shorten the plastochron and elongations vegetative phase in rice. *Plant Cell* 10: 1511-1521.
- Itoh, Y., S. Sato., Y. Sano. 2001. Developmental changes of phyllochron in near-isogenic lines of rice (*Oriza sativa* L.) with different growth durations. *Euphytica*. 119: 271-278.
- Itoh, Y., H. Shimizu. 2012. Phyllochron dynamics during the course of late shoot development might be affected by reproductive development in rice (*Oryza sativa* L.). *Dev. Genes Evol.* 222: 341–350.
- Jiménez, G. C. A., P. L. H. Maciel, A. A. Alba., C. F. González. 2005. Siembra de Zacate Buffel. INIFAP-Fundación Produce Ags.-CONAZA. Folleto para Productores No. 37. Pabellón, Ags. 16p.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523p.

- Jung H. G., D. R. Buxton., J. Ralph.1993. Forage Cell Wall Structure and Digestibility. ASA-CSSA. Madison, Wisconsin USA. pp 84.
- Jung, H. G., T. A. Morrison., D. R. Buxton. 1998. Degradability of cell-wall polysaccharides in maize internodes during stalk development. *Crop Sci.* 38: 1047-1051.
- Jung, H. G., C. C. Sheaffer., D. K. Barnes., J. L. Halgerson. 1997. Forage quality variation in the US alfalfa core collection. *Crop Sci.* 37: 1361-1366.
- Jung, H. G., D. R. Mertens., D. R. Buxton. 1998. Forage quality variation among maize inbreds: in vitro fiber digestion kinetics and prediction with NIRS. *Crop Sci.* 38: 205-210.
- Jung, H. G., F. M. Engels. 2002. Alfalfa stem tissues: cell wall deposition, composition, and degradability. *Crop Sci.* 42:524–534. Lam, TBT, K Iiyama, and BA Stone. 1996. Lignin and Hydroxycinnamic Acids in Walls of Brown Midrib Mutants of Sorghum, Pearl Millet and Maize Stems. *J Sci. Food Agric.* 71: 174-178.
- Klepper B., R. W. Rickman., C. M. Peterson. 1982. Quantitative characterization of vegetative development in small cereals. *Agron. J.* 74: 789-792.
- La Cerenza, J. A., D. L. Parrott., A. M. Fischer. 2010. A major grain protein content locus on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome 6 influences flowering time and sequential leaf senescence. *J Exp. Bot.* 61(11): 3137-3149.
- Lemaire, G., D. Chapman. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. *In: Hodgson J y Illius A W. (eds.).The ecology and management of grazing systems.* Wallingford: Cab International. pp. 3 -36.
- LeHoérou, H. N. 1985. Forage and fuel plants in the arid zone of North Africa, the Near and Middle East. *In: GE Wikens, JR Goodin, and DV Field (eds.) Plant for arid lands.* G. Allen & Unwin (Pub.). London. pp 117-141.
- Lichtenthaler, H. K., A. R. Wellburnt. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Transact.* 11: 591-592
- Lim, P. O., H. Kim., H. Nam. 2007. Leaf senescence. *Ann. Rev. Plant Biol.* 58:115–136.

- Lu, C., Q. Lu., J. Zhang., T. Kuang. 2001. Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field. *J Exp. Bot.* 52 (2): 1805-1810.
- Ma, Q. H., X. M. Wang. 2003. Characterization of an ethylene receptor homologue from wheat and its expression during leaf senescence. *J Exper. Bot.* 54 (386): 1489-1490.
- Moore, K. J., G. J. Hans-Joachim. 2001. Lignin and fiber digestion. *J Range Manage.* 54: 420-430.
- Majeran, W., G. Friso., L. Ponnala., B. Connolly., M. Huang., E. Reidel., C. Zhang., Y. Asakura., N. H. Bhuiyan., Q. Sun., R. Turgeon., K. J. Van Wijk. 2010. Structural and Metabolic Transitions of C₄ Leaf Development and Differentiation Defined by Microscopy and Quantitative Proteomics in Maize. *The Plant Cell.* 22: 3509–3542.
- Marcelino, K. R. A., D. N. Junior., C. S. Silva., V. P. E. Euclides., D. M. Fonseca. 2006. Características morfológicas e estruturais e produto de forragem do capim-marandu submetido a intensidades e frequências de desfolhagem. *Rev. Bras. de Zootec.* 35(6): 2243-2252.
- Martuscello, J. A., D. M. Fonseca., J. R. D. Nascimento., M. P. Santos., J. I. R. Junior., D. N. F. V. Cunha., L. M. Moreira. 2005. Características morfológicas e estruturais do capim-xaraes submetido a adubagem nitrogenada e desfolhagem. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 34 (5): 1475-1482.
- Méchin, V., O. Argillier., V. Menanteau., Y. Barrière., I. Mila., B. Pollet., C. Lapierre. 2000. Relationship of cell wall composition to in vitro cell wall digestibility of maize inbred line stems. *J. Sci. Food Agric.* **80**: 574-580.
- Meentemeyer, V. 1978. Macroclimate and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 59: 465-472.
- Minson, D. J. 1990 *Forage in Ruminant Nutrition.* Acad. Press. NY pp 170 176.
- Moore, K. J., H. J. Jung. 2001. Lignin and fiber digestion. *J. Range Manage.* 54: 420-430.

- Mott, G. O., J. E. Moore. 1970. Forage evaluation techniques in perspective. *In: W Fahey (ed.) National Conference on Forage Evaluation and Utilization, Nebraska Center of Continuing Education. Lincoln, Nebraska, pp. 1–10.*
- Obel, N., V. Erben., T. Shwarz., S. Kühnel., A. Fodor., M. Pauly. 2009. Microanalysis of plant cell wall polysaccharides. *Molecular Plant* 2(5): 922-932.
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1975. 12th Ed. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
- Parsons, A. J. 1988. The effects of season and management on the growth of grass swards *In: MB Jones and A Lazenby (eds.), The grass crop: The physiological basis of production. Chapman and Hall, New York, pp. 163.*
- Phillip, D., V. G. Allen., R. B. Mitchell., C. P. Brown., D. B. Wester. 2005. Forage nutritive value and morphology of three old world bluestems under a range of irrigation levels. *Crop Sci.* 45:2258–2268.
- Queiroz, D. S., J. A. Gomide., J. Maria. 2000. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. *R. Bras. Zootec.* 29: 61–68.
- Quero, C. A. R., J. F. Enríquez., Q. C. R. Morales N., L. Miranda. 2010. Apimixis y su importancia en la selección y mejoramiento de gramíneas forrajeras tropicales. Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1(1): 25-42.
- Quero, C. A. R. 2013. A Manera de Prólogo. *In: AR Quero C (ed.). Gramíneas Introducidas. Importancia e Impacto en Ecosistemas Ganaderos. Serie: Biblioteca Básica de Agricultura. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. pp. i-v.*
- Rancour, D. M., J. M. Marita., R. D. Hatfield. 2012. Cell wall composition throughout development for the model grass *Brachypodium distachyon*. *Frontiers in Plant Sci.* 3: 1-14.
- Ren, G., Q. Zhou., S. Wu., Y. Zhang., L. Zhang., J. Huang., Z. Sun., B. Kuai. 2010. Reverse genetic identification of CRN1 and its distinctive role in chlorophyll degradation in *Arabidopsis*. *J Integr. Plant Biol* 52: 496–504.

- Riboulet, C., B. Lefébre., D. Dénoue., Y. Barriéere. 2008. Genetic variation in maize cell wall for lignin content, lignin structure, p-hydroxycinnamic acid content, and digestibility in set of 19 lines at silage harvest maturity. *Maydic* 53: 11-19.
- Rivero, M. R., M. Kojima., A. Gepstein., H. Sakakibara., R. Mittler., S. Gepstein., E. Blumwald. 2006. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104 (49): 19631-19636.
- Rowntree, K., M. Duma., V. Kakembo., J. Thornes. 2004. Debunking the myth of overgrazing and soil erosion. *Land Degrad. and Develop.* 15: 203- 214.
- Ruey-Hua, L., W. Chung-Hua., H. Lin-Tzu., G. C. Shu-Chen. 2001. Leaf senescence in rice plants: cloning and characterization of senescence up-regulated genes. *J Exp. Bot.* 52 (358): 1117-1121.
- Ruiqin, Z., Y. Zheng-Hua. 2007. Regulation of cell wall biosynthesis. *Curr. Opinion Plant Biol.* 10: 564–572
- Sarkanen, K. V., C. H. Ludwig. 1971. Definition and nomenclature. *In: KV Sarkanen and CH Ludwig (eds.) Lignins, occurrence, formation, structure and reactions.* Wiley-Interscience. New York. pp. 1-18.
- Savidan, Y. H. 1991. Germoplasma de plantas forrajeras tropicales: Técnicas modernas de evaluación. *In: J Pérez P y JG Herrera (eds.) Evaluación de praderas tropicales. Memorias del Seminario Internacional. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.* pp. 1-20.
- Schelbert, S., S. Aubry., B. Burla., B. Agne., F. Kessler., K. Krupinska., S. Hortensteiner. 2009. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 767–785.
- Schepers, J. S., T. M. Blackmer., W. W. Wilhelm., M. Resende. 1996. Transmittance and reflectance measurement of corn leaves from plants with different nitrogen and water supply. *J. Plant Physiol.* 148: 523-529.
- Schlichting, C. D. 2008. Hidden reaction norms, cryptic genetic variation, and evolvability. *NY Acad Sci* 1133: 187–203.
- Sherwood, R. T., B. A. Young., E. C. Bashaw. 1980. Facultative apomixis in buffelgrass. *Crop Sci.* 20: 375-379.

- Silva, C. C. F., Bonomo. P., A. J. V. Pires., C. M. A. Maranhao., N. M. S. Patés., L. C. Santos. 2009. Características morfológicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Vol. 38. No. 4. p. 657-661.
- Sims, D. A., J. A. Gamon. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing Environ.* 81: 337-354.
- Skinner, R. H. C. J. Nelson. 1995. Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. *Crop Sci.* 35: 4-10.
- Tamaki, S., S. Matsuo, H. L. Wong. 2007. *Hd3a* protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* 316: 1033–1036.
- Telles, R. H., W. Cristine., S. Augusto., A. Luiz., M. Rocha., S. A. Langner. 2011. Base temperature for leaf appearance and phyllochron of selected strawberry cultivars in a subtropical environment . *Bragantia* 70(4): 939-945.
- Teixeira, E. I., M. George., H. E. Brown., A. L. Fletcher. 2011. A framework for quantifying maize leaf expansion and senescence at the individual leaf level. *Agronomy NZ.* 41: 59-65.
- Theander, O., E. Westerlund. 1993. Quantitative analysis of cell wall components. *Cell Wall Structure and Digestibility*. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. pp 84.
- Thomas, H., H. Ougham, P. Canter., I. Donnison. 2002. What stay-green mutants tell us about nitrogen remobilization in leaf senescence. *J Exper. Bot.* 53 (370): 801-808.
- United States Department of Agriculture (USDA). 1992. Agricultural statistics. US Gov. Print. Office, Washington, DC. <http://www.nass.usda.gov/>. Consultado Abril de 2014.
- Van Esbroeck, G. A., J. A Ruiz., G. J. J. Sánchez., J. B. Holland. 2008. A comparison of leaf appearance rates among teosinte, maize landraces and modern maize. *Plant Sci. Res. Unit. Crop Sci. Dept.* 117-123
- Van Soest, P. I. Nutrition ecology of the ruminant 2nd ed. Ithaca, New York, USA Cornstock Pub. Assoc. and Cornell University Press; 1994. 476p.

- Vogel, K. P., C. H. B. Miranda. 2009. Improving grassland profitability in the Mid continental USA by breeding for improved forage digestibility: lessons learned and applications to South American grasslands. *R. Bras. Zootec.* 38: 160-169 (supl. especial)
- Voigt, P. W., R. S. MacLauchlan. 1985. Native and other western grasses. *In: ME Heath, RF Barnes, and DS Metcalfe (eds.) Forages: The science of grassland agriculture.* Iowa State University Press. pp. 177-187.
- Wei, Q., Y. Guo., B. Kuai. 2011. Isolation and characterization of a chlorophyll degradation regulatory gene from tall fescue. *Plant Cell Rep* 30: 1201–1207.
- Wilkins, R. 1995. Optimisation of grass utilisation in high rainfall temperate conditions. Recent developments in the nutrition of herbivores. *In: M Journet, et al. (eds.) Proc. IVth International Symposium on the Nutrition of Herbivores.* Versailles, France. INRA Editions, 363-377.
- Wilhelm, W. W., G. S. McMaster. 1995. Importance of the phyllochron in studying development and Growth in Grasses. *Crop Sci.* 35: 1-3.
- Wilson, J. R. 1993. Organization of forage plant tissues. *In: HG Jung et al. (eds.), Forage Cell Wall Structure and Digestibility.* ASA-CSSA-SSSA, Madison. WI. pp: 1–32.
- Young, A., G. Britton. 1990. Carotenoids and stress. *In: RG Alscher and JR Coming (eds) Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms.* *Plant Biol.* 12: 87-112 .
- Yue, H., S. Nie., D. Xing. 2012. Over-expression of Arabidopsis Bax inhibitor-1 delays methyl jasmonate-induced leaf senescence by suppressing the activation of MAP kinase 6. *J of Exper. Bot.* 63 (12): 4463-4474.
- Zárate, C. J. L. 2011. Senescencia foliar, componentes del rendimiento y degradación nuclear en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. Lupita y Tollocan. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados 58p.