

EFFECTOS DE LA INTENSIDAD LUMÍNICA SOBRE LA ANATOMÍA FOLIAR DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO *BRACHIARIA* Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DEL FORRAJE

Light intensity effects upon leaf anatomy of three Brachiaria species and its relation with forage quality

Guenni Orlando¹, Camacho Fanny¹, Seiter Stefan²

¹ Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela (UCV). Apdo.4579, Maracay, Venezuela. E-mail: guennio@agr.ucv.ve.

² Department of Agricultural Sciences, Linn-Benton Community College, Albany, Oregon, 97321, USA.

Resumen

En este estudio realizado en condiciones de invernadero, se evaluó el potencial de aclimatación de tres especies de *Brachiaria* (*B. brizantha*, *B. decumbens* y *B. dictyoneura*) a tres intensidades de luz, a través de los cambios respectivos en la anatomía y el valor nutricional de la lámina foliar. Las plantas fueron cultivadas en potes durante 41 días de rebrote, bajo mallas de sombreado de dos diámetros distintos, obteniéndose así tres intensidades contrastantes de densidad de flujo fotónico (DFF) sobre las plantas: 100, 57 y 29% de la radiación incidente. Los estudios anatómicos en la sección transversal de la lámina foliar mostraron una tendencia a que el grosor de la pared celular del esclerénquima libre como el asociado a los haces vasculares, disminuyera a medida que lo hacía la DFF; siendo este cambio relativamente similar entre las especies estudiadas. Sin embargo, a excepción de *B. brizantha* y *B. dictyoneura* donde se observó un incremento en los niveles de fibra detergente ácida en los rangos 24-28% y 30-34%, respectivamente, con la disminución de la DDF, las concentraciones de lignina y celulosa en el tejido foliar no mostraron cambios marcados con la reducción en la intensidad lumínica. En contraste con las otras dos especies, se observó en *B. dictyoneura* un incremento aparente en el espesor del tejido parenquimático a nivel de la costilla central cuando disminuía la DFF. En general, la concentración de N, P y K en el tejido foliar incrementó a DFF bajas. Estos cambios pudieran indicar un mejoramiento importante de la calidad nutricional del forraje de estas especies cuando crecen bajo sombra en sistemas silvopastoriles.

Palabras clave: *Brachiaria*, anatomía foliar, valor nutricional, intensidad lumínica, sistemas silvopastoriles.

Abstract

In this glasshouse experiment, the acclimation potential of three *Brachiaria* species (*B. brizantha*, *B. decumbens* y *B. dictyoneura*) to decreasing light intensity was studied in terms of the corresponding changes in leaf anatomy and leaf nutritional value. Plants of the three species were cultivated in pots under two different shade cloths and over a regrowth period of 41 days. The exposure to the shade cloths resulted in 3 contrasting photon flux densities (FFD) over the plants: 100, 57 and 29% of the incoming radiation. In general, anatomical studies on the transverse section of the leaf-blade showed an apparent general reduction in the cell wall thickness of the free sclerenchyma and that associated with vascular bundles as FFD decreased; such reduction being relatively similar in all species. However, with the exception of *B. brizantha* y *B. dictyoneura* where the proportion acid detergent fiber increased within the ranges 24-28% and 30-34%, respectively as DDF decreased, lignin and cellulose concentration in the leaf blade were not modified by changes in light intensity. In contrast to the other two species, the proportion of parenchymatic tissue at the level of the midrib in *B. dictyoneura* appeared to increase as DFF decreased. In general, N, P and K concentrations in the leaf blade increased as DDF decreased. Overall, these changes may indicate an improvement in the nutritional value of these *Brachiaria* species when grown under shade in a silvopastoral system.

Key words: *Brachiaria*, foliar anatomy, nutritional value, light intensity, silvopastoral systems.

INTRODUCCION

El éxito obtenido en el uso de especies de gramíneas forrajeras africanas en el mejoramiento de la productividad animal en las regiones tropicales, ha generado un gran interés en el establecimiento de sistemas silvopastoriles orientados a la recuperación de tierras degradadas, la preservación de los bosques naturales y la conservación de la biodiversidad. El buen manejo de estas asociaciones pasto-árboles depende en gran medida de la selección de especies que conformen una cobertura herbácea tolerante a distintos tipos y niveles de sombreado ejercido por el dosel del estrato arbóreo (Humphreys 1994, Cruz *et al.* 1999). Por consiguiente, la capacidad de crecimiento y el valor nutritivo del forraje son criterios importantes de selección bajo estas condiciones de baja intensidad lumínica (Wilson y Ludlow 1991, Humphreys 1991/1994).

En la naturaleza, la disponibilidad de luz varía tanto temporal como espacialmente. Como respuesta a esta variabilidad, las plantas producen en una escala de tiempo que puede variar de días a meses, hojas con diferentes características morfo-anatómicas y funcionales. Este proceso conocido como aclimatación (Chapin III, Matson y Money 2002), genera dos tipos de hojas: las llamadas “de sol”, las cuales son en general más gruesas y con un mayor contenido de nitrógeno utilizado en la construcción de enzimas fotosintéticas; por consiguiente estas hojas poseen una mayor capacidad de asimilación de CO₂ que aquellas “de sombra”, producidas dentro del propio dosel de la planta o bajo los árboles (Chapin III, Matson y Money 2002; Oguchi, Hikosaka y Hirose 2003). Esta plasticidad fenotípica determina el potencial de una especie para persistir bajo condiciones variables de disponibilidad lumínica. Las plantas que crecen en ambientes sombreados en general mantienen un balance de carbono dirigido a incrementar la expansión del área foliar debido a la competencia por luz, lo cual está asociado directamente a un marcado incremento del área foliar específica (Ludlow y Wilson 1971; Wong, Rahim y Sharudin 1985; Guenni, Seiter y Figueroa 2007). Estas hojas más delgadas poseen un menor grosor de la pared de células epidérmicas que las hojas expuestas constantemente al sol, además de contener en el mesófilo una menor densidad de células, las cuales son a su vez, más pequeñas (Ludlow y Wilson 1971; Allard, Nelson y Pallardy 1991; Deinum *et al.* 1996). Estas respuestas morfo-anatómicas contribuyen a maximizar la interceptación de luz bajo condiciones de sombra, con una mínima inversión de energía (Cruz *et al.* 1999, Durr y Rangel 2000). Adicionalmente, en los sistemas silvopastoriles es común observar cambios marcados en el contenido nutricional del forraje como consecuencia del efecto que sobre la fertilidad del suelo tiene la presencia del componente arbóreo (Scholes y Archer 1997, Cruz *et al.* 1999). Por lo tanto, cualquier cambio significativo tanto en el contenido de nutrimentos como en la morfo-anatomía de los componentes de la planta que sirven como forraje, tiene implicaciones importantes desde el punto de vista de la nutrición animal. La ingestión de pasto por el rumiante, o su tiempo de retención en el rumen, aumenta en la

medida que la concentración de nutrimentos esté por encima de su valor crítico y la proporción de hojas incrementa en la biomasa del forraje (Humphreys 1991). Esto último puede manejarse agrónomicamente en aquellas especies con una alta plasticidad fenotípica ante el efecto de la sombra. Diferencias en la proporción hoja/tallo podrían entonces explicar diferencias en la tasa de digestibilidad entre especies de gramíneas con el mismo tipo de metabolismo fotosintético (Humphreys 1991). Igualmente, la digestibilidad de la materia seca en las gramíneas tropicales es inversamente proporcional al contenido relativo de vaina vascular y haces conductores, y proporcional al de mesófilo, dado que este último es en general, más fácilmente degradable (Wilson, Brown y Windham 1983, Humphreys 1991, Paciullo *et al.* 2001). Por lo tanto, una alta proporción parénquima mesofilar/esclerenquima o un bajo contenido de tejido lignificado incrementa el valor nutritivo del forraje. El efecto que tiene la intensidad lumínica sobre la proporción de estos tejidos y por consiguiente la calidad nutricional de las plantas forrajeras tropicales es muy variado y parece depender de la especie, edad de la planta, parte de la planta (tallo, vaina y lámina foliar) y su proporción dentro del pasto (Wilson y Wong 1982; Samarakoon, Wilson y Shelton 1990; Senanayake 1995; Deinum *et al.* 1996).

Con el fin de contribuir a un mejor entendimiento sobre la respuesta de gramíneas de alto valor económico a cambios en la intensidad de radiación, se llevó a cabo un experimento de invernadero donde se evaluó el efecto de diferentes intensidades de luz sobre la anatomía foliar y el valor nutritivo de la lámina en tres especies forrajeras del género *Brachiaria*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se utilizaron tres gramíneas tropicales C₄ (subtipo PEP-CK) de origen africano (Renvoize, Clayton y Kabuye 1998): *B. brizantha* CIAT 6780 *B. dictyoneura* CIAT 6133 y *B. decumbens* CIAT 606. *B. dictyoneura* es considerada un “tipo morfológico” similar a *B. humidicola* (Renvoize, Clayton y Kabuye 1998). Las tres especies difieren en cuanto a la forma de crecimiento (Guennet *et al.* 2006), siendo *B. brizantha* una planta caespitosa, mientras que *B. dictyoneura* es estrictamente rastrera, con fuerte enraizamiento en los estolones. *B. decumbens* forma tallos decumbentes sin enraizar. La semilla utilizada fue suministrada por el Programa de Semillas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Maracay, Venezuela. El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero en la Universidad de New Hampshire, Durham, USA (43,14 N; -70,94 O).

Condiciones de crecimiento y tratamientos aplicados

Las condiciones de crecimiento fueron descritas en detalle por Guenni, Seiter y Figueroa (2008). En resumen, las especies de *Brachiaria* se cultivaron bajo tres proporciones contrastantes de

densidad de flujo fotónico (DFF): 100, 57 y 29% del total incidente dentro del invernadero. Los distintos tratamientos se obtuvieron al superponer sobre las plantas mallas negras de sombreo a una altura de 1,5 m sobre la superficie de cada pote. El medio de cultivo consistió en una mezcla (1:1) de suelo orgánico y perlita gruesa. Al cabo de 34 días después de la siembra (ie. 27 días después de colocar las mallas de sombreo), las plantas fueron cortadas a una altura aproximada de 5 cm del suelo y cultivadas por otros 41 días bajo las mismas condiciones, hasta cosecharse las láminas foliares utilizadas en el estudio anatómico y el análisis bromatológico. Al quinto día después del rebrote se aplicó una fertilización con los siguientes nutrimentos (mg/pote): P (213), K (617), Ca (700), Mg (134) y S (185), mientras que cada dos semanas se añadía N a razón de 500 mg por pote (Guenni, Seiter y Figueroa 2008).

Comparación de la anatomía foliar entre especies y tratamientos

La porción media de la lámina foliar de las hojas más jóvenes recién expandidas, se fijó en una solución de FAA (formalina-ácido acético-etanol 50%) por un mínimo de 48 horas. Posteriormente, el material fue seccionado transversalmente a mano alzada. Las secciones foliares fueron teñidas con azul de toluidina acuosa (0,05%) y montadas en agua-glicerina (v:v) para obtener láminas semipermanentes. Las observaciones y fotografías respectivas (100X) de las secciones foliares se hicieron usando un microscopio óptico binocular (Biomed-Leitz) con cámara incorporada (Leica-Leitz). En total se analizaron cuatro muestras de hojas distintas por especie y tratamiento de luz, para luego proceder a la descripción cualitativa de los tejidos presentes en la lámina foliar.

Determinación de la calidad nutricional del forraje

La calidad nutricional de las láminas foliares se determinó después de secar el material vegetal en una estufa a 65°C por tres días. Las muestras (n = 4 por especie y tratamiento) fueron molidas y pasadas por una malla de 1 mm de espesor. El contenido de nitrógeno total (N) fue determinado por digestión Kjeldahl, mientras que el fósforo (P) y potasio (K) fueron obtenidos por el método de azul de molibdeno y espectrofotometría de absorción atómica, respectivamente (AOAC 1990). Los contenidos de fibra insoluble en detergente ácido (FDA), lignina y celulosa fueron determinados a partir del método de Van Soest, Robertson y Lewis (1991).

Diseño experimental y análisis estadísticos de los resultados

Los resultados de N, P, K, FDA, lignina y celulosa fueron analizados con un factorial de 3 intensidades de luz por 3

especies, bajo un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. Las medias de las variables medidas se compararon mediante un análisis de varianza (SAS Institute 1989) y la prueba de Duncan ($P < 0,05$). Todas las variables fueron normalizadas con la transformación del arcoseno (Zar 1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación de la anatomía foliar entre especies

Los resultados del presente estudio permitieron confirmar que desde el punto de vista anatómico, las especies *B. brizantha*, *B. decumbens* y *B. dictyoneura* poseen una anatomía foliar tipo "Kranz", y por lo tanto pertenecen al grupo de gramíneas C₄ (Oliveira *et al.* 1973) del sub-tipo fotosintético PCK (Renvoize 1987, Dengler *et al.* 1994). Sin embargo, a diferencia de lo reportado por Renvoize (1987), las células que conforman la vaina parenquimática vascular se disponen en una única capa en forma de roseta cerrada (Fig. 1), tal y como lo reportan Oliveira *et al.* (1973) y Alves de Brito y Rodella (2002) para estas especies, lo que representa una característica distintiva en el género *Brachiaria* (Metcalf 1960). Igualmente, todas las especies mostraron casquetes esclerenquimáticos en la porción abaxial de los haces vasculares de la costilla central. En general, las hojas de *B. brizantha* expuestas a 100% de luz presentaron en su sección transversal, una costilla central muy pronunciada (Fig. 1A). La misma está formada por un haz de primer orden y 4 laterales de segundo y tercer orden, mostrando en general una aparente mayor proporción de células lignificadas. Se observó igualmente una mayor proporción de parénquima incoloro (5-8 capas de células) entre los haces vasculares y la epidermis adaxial. Por debajo de esta última región se observó además conformando la subepidermis, un total de 3-5 grupos de células esclerenquimáticas fuertemente teñidas. Ambos grupos de células epidérmicas y subepidérmicas mostraron un grado evidente de lignificación. Estas observaciones concuerdan con lo señalado por Alves de Brito y Rodella (2002). En la semi-lámina de *B. brizantha* (Fig. 2A) se observaron igualmente células con paredes gruesas, así como una epidermis altamente cutinizada y un esclerénquima muy desarrollado. En la epidermis adaxial de esta semi-lámina las células buliformes están ubicadas en los surcos epidérmicos en grupos de 4 a 6 células, siendo la central de mayor tamaño. Por su parte, la epidermis abaxial posee células de paredes externas gruesas y muy cutinizadas. Su constitución es similar a la adaxial, pero con células buliformes más pequeñas. En el caso de *B. decumbens*, la costilla central (Fig. 1D) presentó un haz medio de primer orden lignificado, y un grupo de 4 a 6 haces laterales de aparente segundo orden. Los haces vasculares se ubican en la cara abaxial de la lámina y, al igual que en *B. brizantha*, muestran un grado alto de lignificación. Así mismo,

se observó la presencia de 4-6 capas de células parenquimáticas incoloras entre los haces vasculares y la epidermis adaxial. Finalmente, la epidermis adaxial de esta zona costal presentó tres grupos de células esclerenquimáticas de paredes gruesas a medianamente gruesas. Incluso las paredes de las células epidérmicas ubicadas sobre estos últimos grupos celulares también evidenciaron lignificación. La semi-lámina en *B. decumbens* (Fig. 2D) mostró en su epidermis adaxial, grupos de 3-5 células buliformes ubicadas en los surcos epidérmicos. Los haces de primer orden tienden a ser esféricos y con casquetes de fibras que interrumpen la

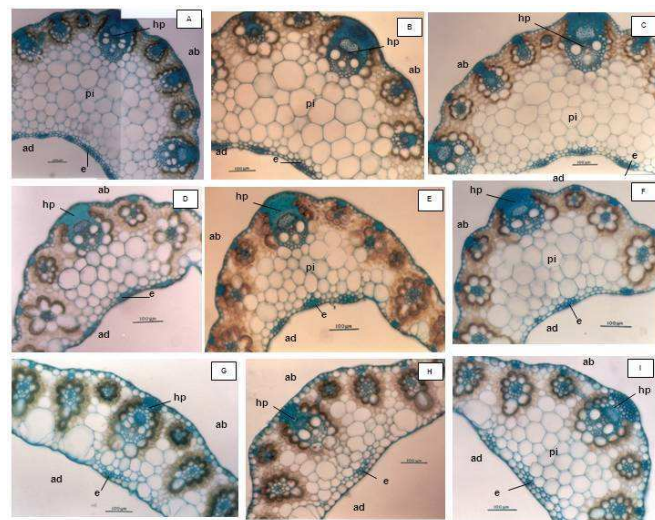


Figura 1. Sección transversal de la costilla central de la hoja (100X) de especies de *Brachiaria* al ser expuestas bajo condiciones de invernadero a tres fracciones de luz incidente: 100%, 57% y 29% de DFF. **A:** *B. brizantha* 100%, **B:** *B. brizantha* 57%, **C:** *B. brizantha* 29%, **D:** *B. decumbens* 100%, **E:** *B. decumbens* 57%, **F:** *B. decumbens* 29%, **G:** *B. dictyoneura* 100%, **H:** *B. dictyoneura* 57%, **I:** *B. dictyoneura* 29%. **hp:** haz vascular de primer orden, **pi:** parénquima incoloro, **e:** esclerenquima subepidérmica, **ab:** epidermis abaxial, **ad:** epidermis adaxial. Escala utilizada: 15mm=100µm.

vainaparenquimática solo hacia la epidermis abaxial. Los de segundo y tercer orden tienden a ser elípticos, con y sin casquetes esclerenquimáticos, respectivamente. En ambos casos la extensión de los casquetes de fibra no interrumpe la vaina vascular. Al igual que en la costilla central, el parénquima clorofiliano mesofilar se presentó irregularmente radiado. La epidermis abaxial mostró una conformación similar a la adaxial, pero con células buliformes más pequeñas. Las células epidérmicas revelaron una pared externa gruesa y muy cutinizada. En *B. dictyoneura* a 100% DFF, la costilla central se mostró poco pronunciada (Fig. 1G), estando conformada por un haz vascular medio de primer orden y de dos a tres haces laterales de segundo y tercer orden; todos ellos ubicados abaxialmente. En contraste con las dos especies anteriores, entre los haces y la epidermis adaxial se observó poco desarrollo de células parenquimáticas incoloras (de 2 a 3 capas). El esclerenquima entre los haces, tal y como se observó en *B. brizantha* y *B. decumbens*, presentó una disposición

irregularmente radiada. Entre los haces se presentan células parenquimáticas incoloras que se extienden hacia ambas epidermis, estableciendo contacto con las células buliformes de la superficie adaxial. Hacia esta última, se observó de una a dos capas de células esclerenquimáticas subepidérmicas, situadas frente al haz medio y de paredes poco engrosadas. La semi-lámina de *B. dictyoneura* (Fig. 2G) mostró una epidermis parecida a *B. decumbens*. En los grupos de células buliformes (3-5) ubicados en los surcos de la epidermis adaxial, la central es la de mayor tamaño y entra en contacto con células parenquimáticas incoloras, las cuales se extienden a su vez.

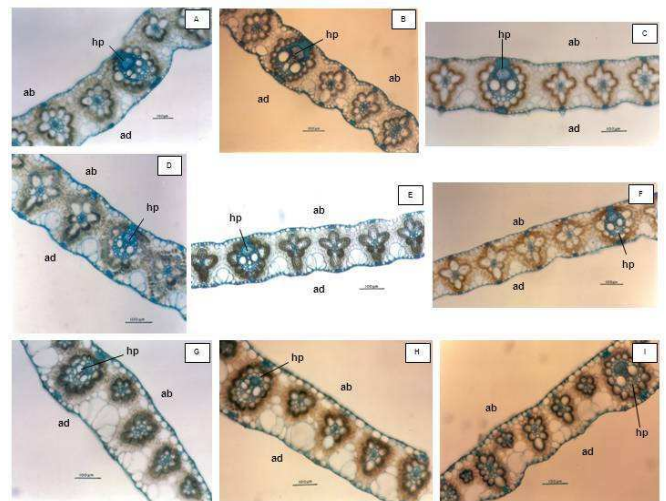


Figura 2. Sección transversal de la semi-lámina foliar (100X) de especies de *Brachiaria* al ser expuestas bajo condiciones de invernadero a tres fracciones de luz incidente: 100%, 57% y 29% de DFF. **A:** *B. brizantha* 100%, **B:** *B. brizantha* 57%, **C:** *B. brizantha* 29%, **D:** *B. decumbens* 100%, **E:** *B. decumbens* 57%, **F:** *B. decumbens* 29%, **G:** *B. dictyoneura* 100%, **H:** *B. dictyoneura* 57%, **I:** *B. dictyoneura* 29%. **hp:** haz vascular de primer orden, **ab:** epidermis abaxial, **ad:** epidermis adaxial. Escala utilizada: 15mm=100µm.

hasta la epidermis abaxial. Los haces de primer orden tienden a ser esféricos y con casquetes de fibras de poco desarrollo que no interrumpen la vaina parenquimática. Los de segundo orden son de forma casi elíptica, con casquetes de fibras solo abaxialmente y con vaina vascular continua. El parénquima clorofiliano mostró una distribución radiada pero irregular, con gran cantidad de cloroplastos. La epidermis abaxial mostró en general células con paredes gruesas muy cutinizadas. La lámina en esta región no evidenció surcos y las células buliformes se mostraron más pequeñas que en la epidermis adaxial. Esta caracterización de la lámina foliar en *B. dictyoneura* coincide con la reportada para *B. humidicola* (Alves de Brito y Rodella 2002), por lo que aparentemente desde un punto de vista anatómico tal similitud apoyaría lo planteado por Maass (1998) y Renvoize, Clayton y Kabuye (1998) sobre la existencia de solo una especie (i.e. *B.*

humidicola). Adicionalmente, Alves de Brito, Rodella y Deschamps (2003) reportan mayor proporción de células buliformes en la lámina foliar de *B. humidicola* que en *B. brizantha*, lo cual parece ser también el caso para *B. dictyoneura* en este estudio.

Cambios en la anatomía foliar inducidos por la sombra

En *B. brizantha*, la disminución en la intensidad lumínica a 57%, indujo una reducción marcada en el número de células parenquimáticas de la costilla central (Fig. 1B), con un total de solo cuatro a cinco capas entre los haces y la epidermis adaxial, por lo que el grosor del parénquima disminuyó aparentemente en comparación con la condición de 100% luz (Fig. 1A). La reducción en el grosor del parénquima pudo haber contribuido en parte al aumento considerable en el área foliar específica (AFE) (240 a 315 cm²/g) encontrado en esta especie cuando la DFF se redujo de 100 a 57% (Guenni, Seiter y Figueroa 2008). En este caso, la estructura anatómica de la semi-lámina (Fig. 2B) fue similar a la de las hojas expuestas a 100% de luz (Fig. 2A). Igualmente, en la costilla central de *B. decumbens* a 57% DFF (Fig. 1E) se apreció una cantidad menor de tejido parenquimático incoloro (3-4 capas de células) desde los haces hasta la epidermis adaxial, contribuyendo esto al menor grosor de la sección transversal de esta región al comparar con el observado a 100% de luz (Fig. 1D) al mismo aumento (i.e. 100X).

La epidermis adaxial presentó, al igual que a 100% de luz, un número igual (3) de grupos de células esclerenquimáticas. En el caso de la semi-lámina (Fig. 2E), esta presentó una estructura similar a la condición de plena luminosidad, aunque se observó más estrecha en su sección transversal. A un 57% de intensidad lumínica, la sección transversal de la costilla central de la lámina de *B. dictyoneura* presentó un aumento en el grosor del tejido parenquimático incoloro (Fig. 1H). En este caso, se mantuvo una sola capa de células esclerenquimáticas subepidérmicas de paredes celulares poco engrosadas hacia la epidermis adaxial, frente al haz medio. De igual forma, la semi-lámina (Fig. 2H) mostró una estructura similar a 100% de luz. A 29% de luz, la costilla central y semi-lámina de *B. brizantha* (Figs. 1C y 2C, respectivamente), mostraron una contribución relativa de cada tejido similar a lo descrito para 57% de luz, aunque con una tendencia general a disminuir el grosor de las paredes celulares (principalmente del esclerenquima ubicado debajo de la epidermis adaxial).

En esta condición de intensidad lumínica baja, el AFE en *B. brizantha* incrementó a 390 cm²/g (Guenni, Seiter y Figueroa 2008). Allard, Nelson y Pallardy (1991) observaron efectos similares en *Festuca arundinacea*, donde el aumento en el AFE con la sombra estuvo asociado a una disminución significativa en el volumen celular del mesófilo y a un incremento en el espacio intercelular del mismo. Igualmente, en láminas foliares de *Panicum maximum* y *B. brizantha* (Deinum et al. 1996), la disminución de la intensidad lumínica causó una reducción tanto en el número de células del esclerenquima, como en el grosor de sus paredes celulares.

En *B. decumbens*, la reducción en la DFF hasta un 29% no produjo cambios marcados en la anatomía de la lámina foliar tanto de la costilla central (Fig. 1F) como de la semi-lámina (Fig. 2F), aunque se apreció una zona mucho más estrecha en las secciones transversales correspondientes. Además, el grosor de la pared, especialmente en las células epidérmicas y esclerenquimáticas, fue aparentemente menor que en las otras condiciones de luz. En este caso el color de los cloroplastos fue aún más claro (casi amarillo) que a 57% de luz. Por su parte, la costilla central en *B. dictyoneura* tampoco mostró cambios anatómicos importantes a 29% de luz (Fig. 1I). Sin embargo, se dedujo un mayor espesor de su sección transversal debido aparentemente a la presencia de una cantidad mayor de células parenquimáticas incoloras.

En la semi-lámina (Fig. 2I) se encontraron cloroplastos más claros y paredes más delgadas en las células epidérmicas y parenquimáticas, así como un aparente menor grado de cutinización de las paredes externas de las células epidérmicas. En resumen, la composición tisular en la lámina foliar evidenció cambios relativamente similares en las tres especies de *Brachiaria* estudiadas. La disminución de la intensidad lumínica tuvo un efecto más marcado sobre el esclerenquima, principalmente en el grosor de la pared celular, la cual tendió a disminuir con la menor intensidad lumínica (i.e. 29%) en comparación con 57 y 100% de luz. Esto ocurrió tanto en el esclerenquima libre como el asociado a los haces vasculares. Tal disminución en el grosor de la pared celular en este tejido, pudiera estar asociado a su vez a una reducción del grado de lignificación de las paredes del mismo. Se observó igualmente en *B. dictyoneura*, una tendencia clara a aumentar la proporción de tejido parenquimático incoloro a nivel de la costilla central, a medida que la lámina foliar crecía a bajas intensidades lumínicas.

Cuadro 1. Proporción de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la biomasa foliar (g g de peso seco de hojas⁻¹ x 100, n = 4) de tres especies del género *Brachiaria* cultivadas en invernadero a tres fracciones de luz incidente.

Variable/Especie	Fracción de luz incidente (%)		
	100	57	29
Nitrógeno (N)			
<i>B. brizantha</i>	1,9 ^{cB}	2,2 ^{bB}	3,3 ^{aA}
<i>B. decumbens</i>	2,0 ^{cB}	2,8 ^{bA}	3,3 ^{aA}
<i>B. dictyoneura</i>	2,8 ^{bA}	3,0 ^{abA}	3,1 ^{aB}
Fósforo (P)			
<i>B. brizantha</i>	0,24 ^{bA}	0,23 ^{bA}	0,28 ^{aA}
<i>B. decumbens</i>	0,18 ^{bB}	0,22 ^{aA}	0,24 ^{aB}
<i>B. dictyoneura</i>	0,22 ^{bA}	0,23 ^{bA}	0,28 ^{aA}
Potasio (K)			
<i>B. brizantha</i>	3,0 ^{bB}	2,8 ^{bB}	5,3 ^{aA}
<i>B. decumbens</i>	2,3 ^{cC}	3,0 ^{bB}	4,6 ^{aB}
<i>B. dictyoneura</i>	3,8 ^{cA}	4,4 ^{bA}	5,0 ^{aAB}

Letras minúsculas diferentes a lo largo de una fila, implican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de una misma especie. Letras mayúsculas diferentes en una columna, implican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies dentro de un mismo tratamiento.

Cuadro 2. Proporción de fibra detergente ácida (FDA), celulosa y lignina en la biomasa foliar (g g de peso seco de hojas⁻¹ x 100, n = 4) de tres especies del género *Brachiaria* cultivadas en invernadero a tres fracciones de luz incidente.

Variable/Especie	Fracción de luz incidente (%)		
	100	57	29
FDA			
<i>B. brizantha</i>	29,5 ^{bA}	31,4 ^{aA}	29,1 ^{bB}
<i>B. decumbens</i>	24,1 ^{bB}	27,7 ^{aB}	28,1 ^{aB}
<i>B. dictyoneura</i>	29,8 ^{bA}	32,3 ^{aA}	33,5 ^{aA}
Celulosa			
<i>B. brizantha</i>	24,3 ^{aA}	25,1 ^{aA}	22,4 ^{bB}
<i>B. decumbens</i>	19,6 ^{bB}	22,0 ^{aB}	22,2 ^{aB}
<i>B. dictyoneura</i>	24,3 ^{aA}	26,5 ^{aA}	26,5 ^{aA}
Lignina			
<i>B. brizantha</i>	3,8 ^{aA}	4,2 ^{aA}	4,1 ^{aA}
<i>B. decumbens</i>	2,9 ^{aB}	3,2 ^{aB}	3,2 ^{aB}
<i>B. dictyoneura</i>	2,8 ^{abB}	2,6 ^{bC}	3,1 ^{aB}

Letras minúsculas diferentes a lo largo de una fila, implican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de una misma especie. Letras mayúsculas diferentes en una columna, implican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies dentro de un mismo tratamiento.

Influencia de la sombra en la calidad nutricional de la lámina foliar de *Brachiaria*

La variación debida al efecto de luz fue proporcionalmente mayor que la de especie ($F_{luz} > F_{especie}$) en los casos de los nutrimentos N, P y K. Por otro lado, la interacción especie x intensidad lumínica fue significativa ($P < 0,05$) en casi todas las variables medidas excepto lignina y P, lo que pudiera indicar una respuesta diferencial a la intensidad de luz (Deinum *et al.* 1996). Al comparar las especies entre sí y exceptuando la lignina y el N a 29% de luz, para todas las otras variables nutricionales medidas, los valores observados en *B. dictyoneura* estuvieron siempre entre los más altos (Cuadros 1 y 2). Esta especie es de crecimiento lento (Guenni, Gil y Guedez 2005; Guenni, Seiter y Figueroa 2008), por lo que el efecto de dilución de los nutrimentos durante el crecimiento pudiera ser menos marcado que en las otras dos especies. Sin embargo, *B. dictyoneura* es considerada una de las especies de *Brachiaria* con relativo menor valor nutricional en términos de su contenido proteico y digestibilidad, al compararla con otras como *B. decumbens* (Lascano y Euclides 1998). En todas las especies estudiadas, el valor de las variables nutricionales en la lámina foliar tendió a mostrar una relación inversa con la intensidad lumínica, a excepción de la lignina y celulosa, las cuales fueron relativamente menos afectadas por la sombra (Cuadros 1 y 2), tal y como lo reportado por Wong y Wilson (1980) y Wilson y Wong (1982) en *P. maximum*. El incremento observado en la concentración de N, P y K en el tejido foliar a 57 y 29% de luz pudo estar asociado a la menor producción de biomasa forrajera observada en esos tratamientos, en especial para *B. dictyoneura* (Guenni, Seiter y Figueroa 2007), aunque es reconocido el efecto positivo de la sombra en el mejoramiento del contenido de nutrimentos en los pastos tropicales, especialmente en el follaje (Kephart y Buxton 1993; Deinum *et al.* 1996; Durr y Rangel 2000; Castro *et al.* 2001; Carvalho, Freitas y Xavier 2002; Guenni, Seiter y Figueroa 2008). La exposición de las plantas a una intensidad lumínica tan baja como la utilizada en este experimento en comparación con otros estudios (Norton *et al.* 1991), pudiera también explicar las diferencias marcadas en la acumulación de nutrimentos en la hoja (Deinum *et al.* 1996). Es evidente que una condición de baja luminosidad estimula en mayor medida la absorción de N en comparación con la acumulación de biomasa, aún más si las plantas son fertilizadas y cultivadas en potes. En todo caso, un incremento del contenido de proteína cruda (N x 6,25) y nutrientes en estos pastos sombreados, sobre todo en suelos con baja fertilidad

nitrogenada (Guenni, Seiter y Figueroa 2008), debería verse reflejado en un forraje de mayor calidad, aunque esto dependerá mayormente del efecto final de la sombra sobre la densidad del follaje, la relación hoja/tallo, la digestibilidad de la materia seca y el contenido de carbohidratos solubles en el forraje (Wilson y Wong 1982). La anatomía foliar propia de las gramíneas estudiadas en este trabajo, representa por sí misma una limitante importante desde el punto de vista nutricional, dada la alta proporción de haces vasculares y de células que conforman la vaina del haz vascular. Esto, además de la baja proporción de tejido parenquimático (mesófilo) entre grupos de haces vasculares, caracteres típicos de la anatomía "Kranz", representan además adaptaciones a ambientes con sequía prolongada (Wilson, Brown y Windham 1983). Entre los componentes de la pared celular se encuentran la celulosa y la lignina. La primera es la molécula más abundante como componente estructural de la pared celular de las plantas. Debido a su configuración, este polisacárido es esencialmente insoluble, siendo hidrolizado solo por ácidos fuertes (Maynard *et al.* 1981). La lignina es un polímero que se deposita progresivamente en las paredes celulares como resultado del proceso de maduración fisiológica (Moore y Jung 2001; Alves de Brito, Rodella y Deschamps 2003). Dado que este compuesto bloquea la digestión de polisacáridos de la pared celular por parte de los microorganismos del rúmen, tiene una relación inversa con la energía digestible del forraje (Moore y Jung 2001). Por consiguiente, tejidos con paredes celulares gruesas o altamente lignificados como la vaina parenquimática del haz vascular, el esclerénquima, el xilema y la epidermis, son difíciles de degradar (Paciullo *et al.* 2002). La FDA representa la mayor proporción de fibra no digerible o no aprovechable en el forraje cuando el contenido de hemicelulosa es bajo (Maynard *et al.* 1981), como es el caso de los pastos utilizados en este estudio (datos no reportados). Los componentes más importantes de la FDA en estos pastos son la lignina y celulosa (Maynard *et al.* 1981, Moore y Jung 2001). Por otro lado, la variación en la proporción de esclerénquima ha sido asociada con una variación de los componentes de la pared celular en dicho tejido (Deinum *et al.* 1996), por lo que se esperaría una relación directa entre la cantidad de esclerénquima y la fracción de FDA (i.e. lignina y celulosa). En este estudio, no se observaron cambios significativos en el contenido de FDA para *B. brizantha* por efecto de la sombra, aunque hubo una tendencia a incrementar su valor en el caso de *B. decumbens* y *B. dictyoneura* (Cuadro 2). Este aumento, aunque estadísticamente significativo

($P < 0,05$), no tuvo un rango de variación superior a cuatro unidades (ie., 24-28%, 30-34%) (Cuadro 2). Paciuolo *et al.* (2001) encontraron en *B. decumbens* y otras gramíneas C_4 una relación positiva entre el grosor de la pared celular del esclerénquima y el contenido de FDA, lignina y celulosa, pero fuertemente negativa con el contenido de nitrógeno foliar y la digestibilidad “in vitro” de la materia seca (DIVMS). Esta relación sin embargo, no se cumplió en este estudio, pues la aparente disminución observada tanto en la proporción de tejido de soporte de la hoja como en el grosor de sus paredes celulares con la disminución en la DFF, no fue acompañada de una reducción proporcional en FDA, celulosa o lignina.

De hecho, estos resultados junto a la posible reducción en el número de células parenquimáticas debido al incremento de la sombra, pudieran no haber afectado, o aún disminuir la DIVMS de las hojas de las especies de *Brachiaria* estudiadas. Wilson y Wong (1982) reportan una disminución en la digestibilidad del forraje (hojas y tallos) con la sombra.

Este patrón de respuesta lo observaron en el forraje de *P. maximum*, y estuvo asociado a una disminución en el contenido de carbohidratos no estructurales y a un aumento en la proporción de lignina, particularmente en los tallos. En este caso, sin embargo, el contenido de pared celular calculado como la proporción de fibra en detergente neutro, tuvo una relación inversa con la sombra, mientras que el contenido de lignina no varió significativamente en la lámina foliar.

El efecto negativo de la sombra sobre la digestibilidad del forraje pudiera ser revertido por el incremento sustancial en el contenido de nitrógeno y por ende de proteína cruda en los pastos (Wilson y Wong 1982, Samarakoon, Wilson y Shelton 1990). En todo caso, al igual que con otros factores ambientales, el grado de lignificación alcanzado como respuesta a la cantidad de luz recibida dependerá más de cómo sea afectado el desarrollo en la planta, que de los posibles cambios inducidos directamente a nivel celular (Buxton y Casler 1993). Samarakoon, Wilson y Shelton (1990) concluyen que dependiendo del balance de los cambios inducidos sobre los constituyentes de los tejidos en cada especie, el efecto de la sombra pudiera ser positivo, negativo o nulo.

Por consiguiente, no parece posible la generalización y aún la predicción de cómo la digestibilidad del forraje en una especie en particular cambiará cuando crece bajo sombra.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio aportaron un conocimiento adicional sobre el grado de plasticidad fenotípica a la baja disponibilidad lumínica que poseen las hojas de tres especies forrajeras del género *Brachiaria*. La aparente reducción observada en la proporción de tejidos lignificados con la sombra, no se correspondió con la relativa poca variación en el contenido de los componentes indigeribles de la pared celular.

Sin embargo, el incremento en el contenido de nutrimentos y en especial el de proteína cruda, pudiera indicar un mejoramiento importante de la calidad nutricional del forraje de estas especies cuando crecen bajo la sombra de árboles en sistemas silvopastoriles.

Se requieren entonces estudios más detallados sobre los cambios morfo-anatómicos y nutricionales asociados a las distintas partes de la planta que integran el forraje disponible de estas especies, así como su posible variación con la edad fisiológica y época del año.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al personal técnico del Laboratorio de Morfoanatomía Vegetal “Antonio Fernández” del Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía, UCV; en especial a la Señora Norbelys de Benítez, por los cortes anatómicos efectuados.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por el apoyo financiero para realizar tanto la pasantía de investigación en el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de New Hampshire, durante la cual se colectaron las muestras utilizadas en este estudio, así como para la ejecución de los cortes anatómicos respectivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Allard G., C.J. Nelson and S.G. Pallardy. 1991. Shade effects on growth of Tall Fescue: I. Leaf anatomy and dry matter partitioning. *CropScience*. 31: 163.167.
- Alves de Brito C.J.F. e R.A. Rodella. 2002. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiariabrizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. 25(2): 221-228.

- Alves de Brito C.J.F., R.A. Rodella e F.C. Deschamps. 2003. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. Revista Brasileira de Zootecnia. 32(6) (Supl.2): 1835-1844.
- A.O.A.C. 1990. Association of Official Analytical Chemists. (AOAC). 1984. Official Methods of Analysis, 13th. ed. Washington, D.C.
- Buxton D.R. and M.D. Casler. 1993. Environmental and genetic effects on cell wall composition and digestibility. En: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Jung H.G., D.R. Buxton, R.D. Hatfield and J. Ralph (Eds.). ASA-CSSA-SSSA, Madison, Wisc. pp: 685-714.
- Carvalho M.M., V.P. Freitas e D.F. Xavier 2002. Início de florecimiento, produção e valor nutritivo de gramíneas forrageiras tropicais sob condição de sombreamento natural. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília. 37(5): 717-722.
- Castro C.R.T. de, R. Garcia, M.M. Carvalho e V.P. Freitas 2001. Efeitos do sombreamento na composição mineral de gramíneas forrageiras tropicais. Revista Brasileira de Zootecnia. 30(6S): 1959-1968.
- Chapin III F.S., P.A. Matson and H.A. Mooney 2002. Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. Cap. 5: Carbon input to terrestrial ecosystems. Springer-Verlag. New York. pp: 97-122.
- Cruz P., J. Sierra, J.R. Wilson, M. Dulorme and R. Tournebise. 1999. Effects of shade on the growth and mineral nutrition of tropical grasses in silvopastoral systems. Annals of Arid Zones. 38(3&4): 335-361.
- Deinum B., R.D. Sulastri, M.H.J. Zeinab and A. Maassen. 1996. Effects of light intensity on growth, anatomy and forage quality of two tropical grasses (*Brachiaria brizantha* and *Panicum maximum* var. *trichoglume*). Netherlands Journal of Agricultural Sciences. 44: 111-124.
- Dengler N., R. Dengler, P. Donnelly and P. Hattersley. 1994. Quantitative leaf anatomy of C₃ and C₄ grasses (*Poaceae*): Bundle sheath and mesophyll surface area relationships. Annals of Botany. 73: 241-255.
- Durr P.A. and J. Rangel 2000. The response of *Panicum maximum* to a simulated subcanopy environment I. Soil x shade interaction. Tropical Grasslands. 34: 110-117.
- Guenni O., J.L. Gil, Z. Baruch, L. Márquez y C. Núñez. 2006. Respuestas al déficit hídrico en especies forrajeras de *Brachiaria* (*Trin.*) *Griseb.* (*POACEAE*). Interciencia. 31(7): 505-511.
- Guenni O., J.L. Gil and Y. Guedez. 2005. Growth, forage yield and light interception and use by stands of five *Brachiaria* species in a tropical environment. Tropical Grasslands. 39: 42-53.
- Guenni O., S. Seiter and R. Figueroa. 2008. Growth responses of three *Brachiaria* species to light intensity and nitrogen supply. Tropical Grasslands. En prensa.
- Humphreys L.R. 1991. Tropical Pasture Utilisation. Cambridge University Press. Cambridge. 206 p.
- Humphreys L.R. 1994. Tropical Pastures: Their Role in Sustainable Agriculture. Longman Scientific and Technical/John Wiley and Sons, Inc. New York. 414 p.
- Kephart K.D. and D.R. Buxton. 1993. Forage quality responses of C₃ and C₄ grasses to shade. Crop Science. 33: 831-837.
- Lascano C.E. y V.P.B. Euclides. 1998. Calidad nutricional y producción animal en las pasturas de *Brachiaria*. En: *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*. Miles J.W., B.L. Maass y C.B. do Valle (Eds.). CIAT-EMBRAPA/CNPQC, Cali. pp. 116-135.
- Ludlow M.M. and G.L. Wilson. 1971. Photosynthesis and tropical pasture plants. 2. temperatura and illuminance history. Australian Journal of Biological Sciences. 24: 1065-1075.
- Maass B.L. 1998. Identificación y nomenclatura de las especies de *Brachiaria*. En: *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*. Miles J.W., B.L. Maass y C.B. do Valle (Eds.). CIAT-EMBRAPA/CNPQC, Cali. pp. ix-xii.
- Metcalf, C.R. 1960. Anatomy of Monocotyledons. *Gramineae*. Vol. 1. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Maynard L.A., J.K. Loosli, H.F. Hintz y Warner R.G. 1981. Nutrición Animal. 4^{ta} Ed. Cap. 6 : Los carbohidratos y su metabolismo. McGraw Hill. México. pp: 78-108.
- Moore K.J. and H.G. Jung. 2001. Lignin and fiber digestion. Journal of Range Management. 54: 420-430.
- Norton B.W., J.R. Wilson, H.M. Shelton and K.D. Hill 1991. The effect of shade on forage quality. En: Forages for Plantations Crops. Shelton H.M. y W.W. Stür (Eds.). ACIAR Proceedings No. 32, Canberra. pp. 83-88.
- Oguchi R., K. Hikosaka and T. Hirose. 2003. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy?. Plant, Cell and Environment. 26: 505-512.
- Oliveira B.A.D. de, P.R.S. Faria, S.M. Souto, A.M. Carneiro, J. Döbereiner e S. Aronovich. 1973. Identificação de gramíneas tropicais com via fotossintética "C₄" pela anatomia foliar. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Sér. Agrom. 8: 267-271.
- Paciullo D.S.C., J.A. Gomide, D.S. Queiroz e E.A.M. da Silva 2001. Correlações entre componentes anatómicos, químicos e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de gramíneas forrageiras. Revista Brasileira de Zootecnia. 30(3): 955-963.
- Paciullo D.S.C., J.A. Gomide, E.A.M. da Silva, D.S. Queiroz e C.A.M. Gomide. 2002. Degradação *in vitro* de tecidos da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais,

- emfunção do estágio de desenvolvimento. Revista Brasileira da Zootecnia. 31(2): 900-907.
- Renvoize S.A. 1987. A survey of leaf-blade anatomy in grasses. XI *Panicaceae*. Kew Bulletin. 42:739-768.
- Renvoize S.A., W.D. Clayton y C.H.S. Kabuye. 1998. Morfología, taxonomía y distribución natural de *Brachiaria* (Trin.) Griseb. En: *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*. Miles J.W., B.L. Maass y C.B. do Valle (Eds.). CIAT-EMBRAPA/CNPQC, Cali. pp. 1-17.
- Samarakoon S.P., J.R. Wilson and H.M. Shelton. 1990. Growth, morphology and nutritive quality of shaded *Stenotaphrum secundatum*, *Axonopus compressus* and *Pennisetum clandestinum*. Journal of Agricultural Science. 114: 161-169.
- Senanayake S.G.J.N. 1995. The effects of different light levels on the nutritive quality of four natural tropical grasses. Tropical Grasslands. 29: 111-114.
- SAS Institute. 1989. SAS/STATTM. Guide for personal computers. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1028 pp.
- Scholes R.J. and S.R. Archer. 1997. Tree-grass interactions in savannas. Annual Review of Ecology and Systematic. 28: 517-544.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74: 3583-3597.
- Wilson, J.J., R.H. Brown and W.R. Windham. 1983. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. Crop Science. 23: 141-146.
- Wilson, J.R. and M.M. Ludlow. 1991. The environment and potential growth of herbage under plantations. En: Forages for Plantation Crops. Shelton, H.M. and W.W. Stur (Eds.). Canberra. ACIAR Proceedings. 32: 10-24.
- Wilson J.R. and C.C. Wong. 1982. Effects of shade on some factors influencing nutritive quality of green panic and siratro pastures. Australian Journal of Agricultural Research. 33: 937-949.
- Wong C.C., H. Rahim, and M.A.M. Sharudin. (1985) Shade tolerance potential of some tropical forages for integration with plantations. I. Grasses. MARDI Research Bulletin. 13: 225-247.
- Wong C.C. and J.R. Wilson. 1980. Effects of shading on the growth and nitrogen content of green panic and Siratro in pure and mixed swards defoliated at two frequencies. Australian Journal of Agricultural Research. 31: 269-285.
- Zar J.H. 1984. Biostatistical Analysis. 2nd Ed. Prentice-Hall International, Inc., New Jersey. 718 pp.