



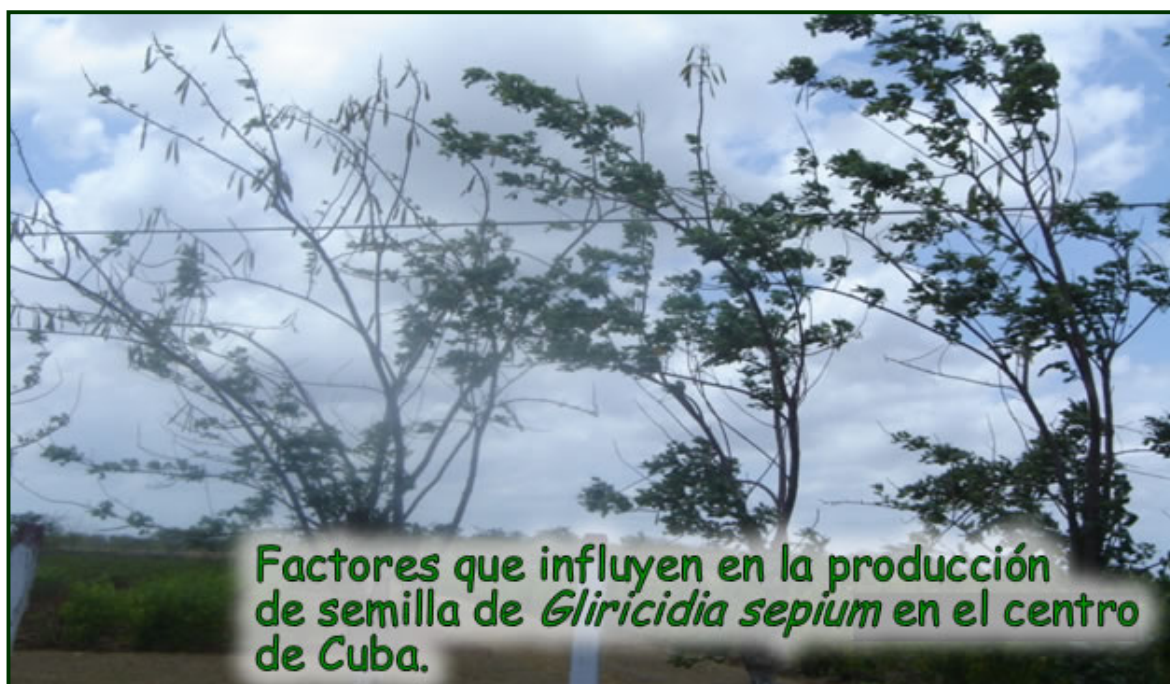
UNIVERSIDAD DE MATANZAS

“CAMILO CIENFUEGOS”

ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES

"INDIO HATUEY"

Tesis presentada en opción al Título Académico
de Máster en Pastos y Forrajes



Factores que influyen en la producción
de semilla de *Gliricidia sepium* en el centro
de Cuba.

Matanzas, Cuba

2009



UNIVERSIDAD DE MATANZAS

“CAMILO CIENFUEGOS”

ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES

"INDIO HATUEY"

*Factores que influyen en la producción
de semilla de *Gliricidia sepium* en el centro de Cuba.*

Tesis presentada en opción al Título Académico
de Máster en Pastos y Forrajes

Aspirante: Lic. José A. Sardiñas Alfonso

Tutor: Dr. Arístides Pérez Vargas

Cotutora: Dra. Hilda B. Wencomo Cárdenas

Consultante: Dra. Hilda Machado Martínez

Matanzas, Cuba

2009

A Ernesto Che Guevara por su extraordinario ejemplo, por ser mi paradigma de hombre social y político, gracias por su ejemplo.

Al Dr. Arístides Pérez Vargas y a la Dra. Hilda B. Wencomo por su empeño en el éxito de este trabajo, por su dedicación y paciencia.

A la Dra. Hilda Machado Martínez por su papel como consultora de este trabajo.

Al colectivo de excelentes profesionales de la EEPF Indio Hatuey doctoras Martha Hernández, Maikelys Díaz, Odalys Toral, Tania Sánchez; a los doctores Luis Lamela, Marcos Esperance, Anesio Mesa, Rey Machado, Félix Ojeda, Leonel Simón, Javier Arece, a la MSc. Yuseika Olivera, al Ing. Pedro Duquesne y a otros investigadores jóvenes como la MSc. Taymer Miranda, el MSc. Antonio Suset, MSc. Yolai Noda, el MSc. Francisco González Nodarse y otros que harían interminable esta relación; a la dirección de esta prestigiosa institución, al Dr. Giraldo Martín, al Dr. Jesús Iglesias, a la Dra. Mildrey Soca, en primer lugar por haberme dado toda la confianza y la posibilidad de lograr este resultado y por su apoyo sin límites en cada momento.

A mis compañeros de trabajo Carlos López Torres, Yadián González, El Gallego, Osmany Castro por su extraordinario apoyo y ayuda en el logro de este resultado.

A Milagros Milera mi compañera y amiga, por sus consejos y tu buena voluntad llena de optimismo y consagración. Gracias.

Al Dr. Alberto Caballero y al Msc. Pedro José González por sus horas de coordinación y trabajo dedicados a este empeño.

Al ingeniero Armando Martínez Linares por su constante dedicación al desarrollo de los pastos y la ganadería en Cuba, gracias amigo por ese extraordinario espíritu de superación constante.

A mi familia por todo el apoyo.

En primer lugar a la memoria de mi padre, campesino humilde que lleno de amor y sencillez me enseñó el camino correcto por el que los hombres deben transitar por la vida, paradigma de mis actos cada día.

A mi esposa Idania que con tanta paciencia me acompaña en cada momento de extraordinarios esfuerzos, amor y sacrificio, también a mis hijos Liudmila y Jesús (ojalá les sirva para seguir andando y haciéndose hombre y mujer de bien ambos) que cada día me impulsan a seguir adelante. A mi madre que de manera humilde me formó para la vida y que día a día se esmera porque mi salud funcione como un reloj, en fin a toda mi gran familia.

Al Dr. Arístides Pérez Vargas, tutor y amigo por su dedicación y esmero en tantos años de pujanza y trabajo porque este momento llegara, por su optimismo sin límites. Gracias amigo.

“...En la tierra hace falta personas que trabajen más y critiquen menos, que construyan más y destruyan menos, que prometan menos y resuelvan más, que esperen recibir menos y den más, que digan mejor ahora que mañana...”

Che

SÍNTESIS

Con el propósito de determinar los factores que influyen en la producción de semilla de *G. sepium*, se realizaron estudios, divididos en tres etapas, en cinco zonas pertenecientes a las provincias de Cienfuegos y Matanzas. Las mediciones fueron: inicio de la floración, producción de legumbres y producción de semilla, en plantas naturalizadas e introducidas en Indio Hatuey, de plantas procedentes de las regiones de Veracruz y Puebla, en México. Con el uso de variables climáticas de los años y los datos de producción de legumbres por planta y de plantas productoras, mediante análisis matemáticos, se evaluó la influencia del clima en la variación interanual de la producción de la especie. Igualmente se determinó a través de la electroforesis de isoenzimas la variabilidad isoenzimática del material vegetal colectado de varias plantas.

Los resultados indican que en la zona de Indio Hatuey donde no se produce semilla por las plantas naturalizadas, se logran producciones con la introducción de material genético de zonas donde existen plantas productoras; se demostró que para un mismo lugar, en similares condiciones de suelo y clima, se puede producir, y que estos factores no definen su producción, lo cual se le atribuye a la genética de las procedencias.

Se observó variación en la producción de legumbres entre los años, lo que también se relaciona con los factores climáticos. Ello se explica en diferentes teorías de investigadores a nivel internacional, entre las que se menciona el *mast seeding*, conocido como “la producción intermitente de semillas en poblaciones de plantas perennes”.

Se recomienda introducir estos resultados en los programas de pregrado y de posgrado de las facultades, centros de investigación e institutos politécnicos agropecuarios.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
1.1 Papel de los árboles en los agro-ecosistemas agroforestales y ganaderos.....	5
1.2 Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie <i>Gliricidia sepium</i>	8
1.3 Origen, distribución y ecología.....	10
1.4 Agronomía y manejo	11
1.4.1 Siembra, establecimiento y manejo	11
1.4.2 Plagas y enfermedades.....	14
1.5 Producción de semillas y diseminación de <i>G. sepium</i>	15
1.5.1 El proceso de formación de las semillas en las plantas superiores.....	15
1.5.1.1 Factores que influyen en la formación de las semillas en las plantas superiores..	17
1.5.1.2 Variación interanual en la producción de semillas en plantas perennes	18
1.6 Usos potenciales	19
1.7 Estudios de variabilidad genética en árboles forrajeros	22
1.8 Isoenzimas	24
1.9 Algunas consideraciones socioeconómicas y ambientales	26
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	28
2.1 Descripción del área	29
2.1.1 Ubicación del área experimental	29
2.1.2 Tipos de suelos	30
2.1.3. Clima	30
2.2 Descripción de la investigación.....	31
2.2.1 Material vegetal utilizado.....	31
2.2.2 Primera etapa	32
2.2.3 Segunda etapa	32
2.2.4 Tercera etapa	33
2.2.5 Detección del polimorfismo isoenzimático	33
2.2.5.1 Material vegetal y extracción enzimática.....	33
2.2.5.1.1 Preparación de las muestras y electroforesis.....	33
2.2.5.1.2 Tinción	34
2.2.6 Valoración económica	35
2.2.7 Procesamiento estadístico	35
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
3.1 Primera etapa.....	37
3.2 Segunda etapa.....	44
3.3 Tercera etapa.....	52
3.4 Detección del polimorfismo isoenzimático	56
CAPÍTULO 4. VALORACIÓN ECONÓMICA	63
CONCLUSIONES	65
RECOMENDACIONES.....	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la ganadería tropical, especialmente la cubana, está condicionado por la creación y desarrollo de sistemas sostenibles de producción, y es definitorio el trabajo que se realice en el fomento de la base alimentaria a partir de pastos y forrajes de alto valor nutritivo, con el empleo de semilla de calidad; en estos sistemas se deben incluir los árboles multipropósitos, especialmente los leguminosos forrajeros tales como *Leucaena*, *Albizia*, *Bahuinia*, *Gliricidia sepium*, entre otros.

Gliricidia sepium (Jacq.) Walp, conocido como piñón cubano, Júpiter, mata ratón, etc, ha sido utilizada desde hace muchos años por los agricultores cubanos y de los países de la región tropical y subtropical; sus usos más prácticos son principalmente como seto vivo en cercas perimetrales de potreros, en áreas de producción de café como generadores de sombra natural (Benavides, 2003) y en la producción apícola, al ser un árbol melífero que dispone de excelente polen y néctar en sus flores. Esta planta, si bien se utiliza en las áreas ganaderas, - aún no se explota en toda su dimensión, por lo que debe ser estudiada profundamente, a partir de sus bondades como árbol leguminoso incorporador de nitrógeno al suelo, por ser altamente productor de forraje de calidad óptima y además por su facilidad de propagación (se reproduce de forma vegetativa y botánica).

En los últimos 15-20 años los estudiosos de varios países, de América Central en lo fundamental (Benavides, 2003 y 2009; Murgueitio, 2003), han incluido a *G. sepium* en sistemas agroforestales integrales que se destinan al desarrollo del ganado vacuno (fotos 1 y 2), tanto en producción de leche como de carne, pero esta práctica no se encuentra generalizada en nuestro país, en lo cual *leucaena*, (*L. leucocephala*) ocupa las preferencias de científicos y ganaderos.

Sin embargo, la multiplicación de *G. sepium* en los mencionados sistemas de producción es por estacas y en escasas oportunidades se ha utilizado la semilla, debido al desconocimiento o a que en determinadas regiones las plantas existentes no producen semilla.



Fotos 1 y 2: Sistema silvopastoril de producción de ganado de carne en Salcedo, República Dominicana, con árboles de *G. sepium* logrados por estacas de 2 m de altura

En Cuba se registran de forma natural producciones de semilla de *G. sepium* en la costa sur, desde La Habana hasta el Oriente y también en gran parte de la Sierra Maestra; así las poblaciones de estos árboles en estas zonas son abundantes y no solo se encuentran en cercados, sino también en laderas de las montañas en rodales que protegen las plantaciones de café.

En varias investigaciones realizadas con esta especie en Cuba se plantea que su inclusión como cerca viva o como alternativa en la alimentación de los animales en períodos de escasez (seca) (Reinoso, 2008; Pedraza *et al.*, 2001; Pedraza *et al.*, 2004) en los sistemas silvopastoriles que se explotan en la actualidad, constituye una opción viable para el desarrollo de la ganadería: A pesar de ello la inclusión de este árbol dentro de los potreros es limitada debido a la baja e inestable producción de semillas que presenta.

Existen árboles que producen semillas de forma intermitente, a pesar de florecer abundantemente cada año; mientras otros de la propia población florecen y dan semillas cada año, aunque la producción no es abundante. También se presenta una gran variabilidad en la producción entre árboles de la misma población y entre años; en algunas localidades los árboles presentes nunca producen semillas. Aparentemente existe poca información acerca del problema de la producción de semilla, lo cual ha sido atribuido en algunos casos al clima y en otros al suelo, sin que haya una definición clara al respecto, pero puede también influir la falta de insectos, ya que se plantea que su polinización es entomófila.



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Glicidía sepium*

El presente trabajo propone un cambio en la forma de propagación y uso de este árbol en el desarrollo de sistemas silvopastoriles destinados al ganado mayor y al menor en Cuba, al considerarse que el componente arbóreo más empleado en la ganadería lo constituye *L. leucocephala*, ello es contraproducente si se tiene en cuenta que la poca variabilidad genética puede provocar ataques de plagas y enfermedades, como ocurrió en Indonesia, donde con la intensificación y la comercialización se prestó más atención a unas pocas especies, en especial la leucaena (Shelton, 2000). La aparición de la plaga del insecto psílido de la leucaena en esta región fue particularmente devastadora.

La baja biodiversidad arbórea es poco flexible ante el cambio climático, motivo por el cual deben desarrollarse diferentes opciones de arborización de la ganadería, donde *G. sepium* puede desempeñar un importante papel dadas sus características para favorecer la biodiversidad; asimismo permitirá incrementar la diversidad biológica a utilizar en el mencionado sistema.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Existe desconocimiento sobre los factores que determinan la inestabilidad productiva y la distribución geográfica de los árboles productores de semillas de *G. sepium* en Cuba, lo cual limita su propagación en los sistemas silvopastoriles como árboles de ramoneo.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Conocer los factores que influyen en la producción de semilla de *G. sepium*, permitirá realizar acciones que ayuden a minimizar las influencias negativas y de esta forma incrementar su producción de legumbres, su estabilidad productiva anual y distribución geográfica de los árboles productores de semilla, su multiplicación por semilla, su eficacia y conveniencia económica, además del incremento de la población de esta especie en los sistemas ganaderos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los factores que influyen en la producción de semilla de *G. sepium* a partir de la introducción de plantas procedentes de la región centro sur de Cuba y de zonas tropicales de México, y extender sus resultados a fincas de producción ganadera.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar el comportamiento de la producción de legumbres en plantas procedentes de árboles productores de semilla de *G. sepium* (naturalizados e introducidos).



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Giricidia sepium*

2. Evaluar la relación de la producción de legumbres con diferentes factores del clima en la localidad Indio Hatuey.
3. Determinar la variabilidad isoenzimática de poblaciones de *G. sepium* según sus procedencias.
4. Transferir a localidades de la región central de Cuba la tecnología de multiplicación por semilla de *G. sepium*.

NOVEDAD CIENTÍFICA

Por primera vez en Cuba:

- Se realiza un estudio sobre *G. sepium*, en un hábitat determinado, al evaluar material genético de diferentes procedencias y demostrar las causas de la producción o no de legumbres y semillas de esta especie.
- Se evalúa la variabilidad interanual (mast seeding) de la producción de semillas de *G. sepium*.
- Se realizan estudios de polimorfismo isoenzimático en *G. sepium*.
- Se estandariza el método de extracción y los ensayos electroforéticos para esterasas y peroxidasas en *G. sepium*.
- Se demuestra que existe variabilidad genética en el material estudiado.
- Al evaluar plantas de diferentes procedencias que produjeron semilla en una zona donde las plantas locales no las producían, se demuestra que la producción no depende solamente de factores ambientales, sino que existe una fuerte intervención del genotipo.
- Queda demostrado en *G. sepium*, mediante el análisis económico, las ventajas del empleo de la semilla respecto a la multiplicación por la vía vegetativa.
- Se demuestra que en la zona Indio Hatuey-Perico se puede producir semilla; además, se han creado bancos productores y multiplicadores en los municipios de Aguada de Pasajeros y Sagua la Grande.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Papel de los árboles en los ecosistemas agroforestales y ganaderos

Diversos autores, entre los que se encuentran Benavides (1993) y Hernández *et al.* (1998), han demostrado la importancia de la domesticación de especies leñosas para el desarrollo de la ganadería en el trópico; ello ha adquirido relevancia a medida que se manifiestan o amenazan los efectos del cambio climático, lo cual requiere acciones urgentes dirigidas a la mitigación. En Cuba, donde se pronostican como efecto del cambio climático, el aumento del nivel del mar y aumento de la temperatura media por encima de 26°C, disminución de la lluvia anual acumulada por debajo de 1 000 mm, interacciones del aumento del mar con la sequía e incremento de los eventos meteorológicos extremos (Álvarez *et al.*, 2009), reviste particular importancia la arborización de la ganadería, por cuanto los árboles constituyen el mejor sumidero de carbono y es la forma más efectiva de incrementar la disponibilidad de alimento animal, además de mejorar el consumo de alimentos a partir de gramíneas y alimentos fibrosos (García, 2003).

La arborización es una de las acciones importantes para la mitigación del cambio climático, ya que reduce el efecto de los daños causados por el viento, los extremos térmicos (reducción de la temperatura máxima y aumento de la temperatura mínima), la radiación global y la emitida por la superficie, impidiendo el enfriamiento nocturno; además, hace que disminuya de 20 a 30% la irradiación (Murgueitio, 2009). Al respecto Preston (1996) expresó: “es claro que las mejoras en los sistemas de producción animal en el trópico no hay que buscarlas mirando hacia abajo (buscando pastos y leguminosas rastreras), sino hacia arriba (buscando árboles y arbustos forrajeros). En otras palabras, se tiene que regresar a modelos más cercanos a la vegetación original, pero específicamente diseñados para aumentar la productividad animal de los mismos”.



Por otra parte, Burley y Speedy (1998) presentaron un resumen de las perspectivas globales en investigación agroforestal y proponen que un área particular para la investigación futura está en las mezclas de especies de árboles multipropósito desde los puntos de vista de agronomía, manejo de plagas, efectos en suelos (incluyendo microbiología) y valor nutricional, lo cual debe extenderse a estudios de ecosistemas completos incluyendo agroecosistemas con agroforestería, y se corrobora la necesidad de la búsqueda de árboles diversos para el establecimiento de sistemas agrosilvopastoriles y para la recuperación de las áreas degradadas por mal uso del suelo.

La creación de sistemas agroforestales y silvopastoriles podría atenuar la difícil situación que hoy se presenta por la vasta deforestación (Benavides, 2003), y con la aplicación de los principios de la Agroforestería, donde los sistemas diseñados involucran el uso de árboles o arbustos con cultivos o animales en la misma unidad de terreno, se crea una fuerte interacción ecológica entre los componentes arbóreo, animal, cultivo/pasto, suelo y otros entes de índole biótica y abiótica (Hernández *et al.*, 2000).

Según Wencomo (2008), en Cuba las áreas ganaderas han sufrido una drástica reducción de sus arboledas por efecto de la tala, la quema y el empleo de postes de cemento o madera seca en sus cercados, lo que redujo sensiblemente las áreas de sombra natural, las cercas de postes vivos y una de las posibles fuentes de alimento para el ganado, así como influyó en el aumento de la degradación de los pastizales.

El estudio de árboles y arbustos para su empleo en la ganadería con diferentes propósitos, de forma dirigida o espontánea, no es una actividad nueva (Murgueitio, 2003). En este sentido, modernamente la reconversión social y ambiental de la ganadería es una urgencia y una prioridad para la región latinoamericana y caribeña, donde la agroforestería pecuaria, como sistema no agresivo al entorno, puede constituir una parte sustancial de este proceso de cambio (Murgueitio e Ibrahim, 2003; Funes, 2004).

En este contexto, el estudio de los sistemas silvopastoriles alcanza una importancia creciente como alternativa viable para la producción, sostenimiento e incremento de la biodiversidad dentro de la ganadería comercial (Rosales *et al.*, 1999; Ibrahim y Mora, 2003), ya que ofrecen una opción para producir leche y carne bovina, con uso mínimo de fertilizantes; estas plantas tienen la capacidad de reciclar y movilizar las reservas de fósforo y potasio entre otros macro y microelementos presentes en el suelo y, como ventaja adicional, constituyen una vía de conservación del entorno, al promover el mantenimiento de la cubierta arbórea en las



explotaciones ganaderas. Es por ello que se consideran como sumideros de carbono y hábitat amigable para diversos organismos, lo cual permite desarrollar la interrelación entre diversos ecosistemas más estables (Alonso *et al.*, 2003; Harvey, 2006; Ibrahim y Mora, 2006).

No obstante, el fomento de estos sistemas implica la selección de especies ecológica y económicamente apropiadas para los fines que se persiguen. De ahí la necesidad de la puesta en marcha de un programa encaminado a la búsqueda, introducción, evaluación y selección de estos importantes recursos fitogenéticos, como una fase imprescindible para su futura extensión. En relación con ello, es válido mencionar que la introducción de nuevas especies y variedades es una tarea vital para el mejoramiento de la cantidad y la calidad de la dieta alimenticia de los animales, y surge por la necesidad de reemplazar los ecotipos de bajo valor nutritivo y productividad existentes (Machado y Seguí, 1997; Guillot *et al.*, 2002).

Los problemas relativos al uso de la tierra con el continuo avance de la frontera agrícola-pecuaria a expensas de la eliminación del bosque, han convertido la práctica agropecuaria en la actividad económica que provoca mayor destrucción de los recursos naturales en América Central y el Caribe (Kolmans y Vásquez, 1996). La complejidad ambiental de la agricultura consiste en cómo especializar el ecosistema, interviniéndolo de tal forma que genere productos socialmente útiles, al mínimo costo ecológico posible (CEPAL/PNUMA, 1985)

Los sistemas agroforestales, para la rama agropecuaria, constituyen formas de uso y manejo de los recursos naturales en las que se pueden asociar especies forestales, cultivos agrícolas y/o animales, en forma simultánea o en secuencia temporal, sobre un mismo terreno (Montagnini *et al.*, 1992). Los beneficios que se asocian con estos sistemas son: aumento de la productividad vegetal y animal; reducción del uso intensivo de la tierra; diversificación en la producción de alimentos; obtención de productos como leña y madera; y servicios como reducción de la escorrentía del agua y la erosión de los suelos por efecto de la lluvia, refugio de la fauna y secuestro de carbono, entre otros.

Dentro de las especies más recomendadas para su uso en la ganadería en Cuba se encuentra la *G. sepium*, debido a sus importantes atributos alimenticios, por su capacidad de adaptación a las diversas condiciones del suelo (condiciones estresantes) y adicionalmente su capacidad de captura de carbono, potencial que está estrechamente relacionado con la producción de tallos leñosos (Arias *et al.*, 2001). Sin embargo, existe un problema asociado a la cultura de reproducción de esta especie por semilla en las condiciones de Cuba, ya que no abundan árboles de alta producción; y en algunos casos, la producción es inestable de un año a otro y



existen aparentes diferencias atribuibles a la localidad en la producción de legumbres (Sardiñas *et al.*, 2009).

1.2 Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie *Gliricidia sepium*

La *G. sepium* (Jacq.) Walp. es un árbol de la familia de las leguminosas, natural de México y Centroamérica. Se ha introducido en el pasado en muchas zonas tropicales y se cultiva y a veces está naturalizada en el norte de Sudamérica, el Caribe, Hawái, África Occidental y esporádicamente en África Oriental y meridional, India, Sri Lanka, Sudeste de Asia (incluyendo Tailandia, Filipinas e Indonesia) y Australia.

Sinónimos: *Robina sepium* Jacq.

Lonchocarpus sepium DC.

Nombres vulgares: piñón, piñón florido, piñón amoroso, piñón cubano, bienvestido y piñón francés. También se le conoce como: bala (CR, PA); balo (CR, Chiriquí-PA); cacaguanance (GU); cacahuananche (GU); cansím (GU); canté (Petén-GU); madero (Limón-CR, NI); madero negro (CR, NI, PA); madreado (HO); madre real (HO); madre cacao (ES, GU, HO); mata ratón (Cartago-CR, GU); palo de hierro (ES); sangre de drago (CR).

Según Sablón (2007) se le conoce como árbol pequeño, caducifolio, muy ornamental y de crecimiento rápido; puede alcanzar de 2-15 m de altura (ocasionalmente hasta 20 m) y 5-30 cm de DAP (máximo 1 m). A menudo presenta múltiples tallos, copa abierta, redondeada en árboles no descopados. Se utiliza frecuentemente para formar cercas vivas y como sombra para el café. Florece de diciembre a marzo y sus frutos maduran de abril a mayo. Las hojas son compuestas, imparipinnadas; estipulas aovadas o lanceoladas, de 2 cm o más de largo; de 7 a 17 folíolos, aovados a oblongo lanceolados, de 3 a 7 cm de largo y de 2 a 3 cm de ancho; agudos o acuminados en el ápice.

Sus flores son hermafroditas; rosadas, en racimos axilares, de 7 a 10 cm, con pequeñas brácteas deciduas; cáliz brevemente acampanado, de 4 a 5 mm de largo y corola de 1,5 a 2 cm de largo. Los frutos son legumbres leñosas de 10 a 15 cm de largo y de 1 a 1,5 cm de ancho y cada legumbre puede poseer de 9 a 10 semillas.

Las semillas de esta especie son lenticulares de 1 cm de diámetro aproximadamente (fotos 3, 4 y 5); un kilogramo contiene alrededor de 6 000 a 8 000 semillas; el poder germinativo varía desde el momento de cosecha hasta los seis meses posteriores. Con la semilla recién cosechada de alta calidad puede lograrse hasta el 100% de germinación, que paulatinamente se reduce próximo a los seis meses de conservación en condiciones medioambientales,



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliciridia sepium*

debido a que en el trópico existe una elevada humedad relativa y temperaturas superiores a los 35°C. Estas comienzan a germinar entre los tres y cuatro días de sembradas, completando su germinación entre los 12 y 15 días posteriores.



Fotos 3 y 4 (tomadas de Cordero y Boshier); foto 5 propiedad del autor.

Existe una variación considerable en el color de las semillas, en su peso y en la morfología de las vainas, flores y hojas. Se reportaron variaciones en las tasas de crecimiento de las plántulas entre las procedencias de varias localidades en Guatemala y Costa Rica. El peso de las semillas aumenta definitivamente con el aumento en la altitud (Sumberg, 1985; Salazar, 1986). Se han reportado también variaciones significativas entre las procedencias y las características del sitio, con respecto al crecimiento inicial (Glover, 1987).

La corteza es lisa, pardo grisácea en ramas jóvenes o gris pálido con lenticelas pardas, fisurada en troncos de mayor tamaño.

La composición química de esta especie ha sido estudiada por varios investigadores; Gómez *et al.*, (1990) en estudios realizados informan que *G. sepium* alcanza altos niveles de proteína en hojas. Reporta que a los 45, 90 y 270 días después del transplante los niveles oscilaron de 21 a 29, de 28 a 31 y de 31 a 33% de PC, respectivamente y que mantiene equilibrado su contenido en minerales. Por su parte, Galindo *et al.* (1989) reportan que el contenido de minerales y nitrógeno en follaje de matarratón sobre la base del porcentaje de materia seca es de 0,34; 2,42; 2,4; 0,41 respectivamente para P, K, Ca y Mg; y con niveles de nitrógeno de 2,6%.

Peralta *et al.* (1992) evaluó la calidad nutritiva de hojas y de hojas más tallos tiernos en algunas leguminosas arbustivas, como el Coccoite (*G. sepium*) reportando valores en porcentaje de la MS de PC, FDN, FDA, y DIVMS (72 hrs. de incubación) de $23,1 \pm 1,1$, $40,0 \pm 2,1$, $29,7 \pm 2,2$ y $80,9 \pm 3,6\%$ respectivamente para las hojas, las que resultaron de mejor



calidad sobre follaje que las hojas más tallos finos)con valores del 15.2 ± 1.4 , 45.6 ± 0.9 , 35.3 ± 4.2 y 53.0 ± 5.6 % respectivamente); sin embargo, a pesar estos últimos son de mejor calidad nutritiva que muchas gramíneas forrajeras.

1.3 Origen, distribución y ecología

Esta planta ha sido domesticada por muchos siglos y ampliamente plantada y extendida a nuevas áreas donde se ha naturalizado. La baja producción de semilla en las zonas más húmedas de la vertiente del Atlántico de América Central sugiere que el rango nativo se limita a los bosques secos deciduos de México y América Central, desde Sinaloa en el noroeste de México hasta Guanacaste en Costa Rica. El borde norte de su distribución sigue el límite de zonas. Una temperatura anual promedio de entre 22 y 28°C es característica de las áreas de distribución natural y artificial de la especie, con una máxima promedio de 34 a 41°C durante los meses más calientes y una mínima promedio de 14 a 20°C durante los meses más fríos. Esta especie se encuentra en un rango de temperaturas de 22 a 30°C. Normalmente crece en sitios bajos, a menos de 500 msnm.

Siguiendo una iniciativa de colaboración entre CATIE, la Universidad de Hawai, la Escuela Superior de Agricultura del Estado de Visayas de Filipinas, y el Instituto Forestal de Oxford (IFO), este último completó en 1983 (Glover y Brewbaker, 1984), en colaboración con nueve países latinoamericanos, la colección de una extensa variedad de semilla de *Gliricidia*. Las recolecciones realizadas a lo largo de cuatro temporadas, desde 1983 a 1986, tomaron muestras de más de 2 400 individuos de 30 procedencias en ocho países libres de heladas (figura 1.1) (Cordero y Boshier, 2003).

Posee adaptabilidad a diferentes condiciones adversas (en su hábitat natural se le encuentra en lugares con precipitaciones de 900 a 1 500 mm anuales y cinco meses de estación seca), pero puede crecer en lugares con precipitaciones de hasta 500-600 mm/año y también se le ha reportado en lugares húmedos de hasta 3 500 mm anuales, aunque Botero y Russo (1998) informan que la *Gliricidia* no tolera suelos mal drenados, lámina de agua o alto nivel freático.

Crece bien en suelos de secos a húmedos, resiste a períodos prolongados de sequía y tiene capacidad de prosperar en suelos relativamente pobres, aspectos que hacen de esta una opción inevitable en la selección de especies para zonas difíciles que cumplan con sus requerimientos ambientales, por lo cual es una de las plantas más recomendadas y utilizadas en los sistemas agroforestales tanto en América Latina como en África (Stewart, 2007; Murgueitio, 2009).

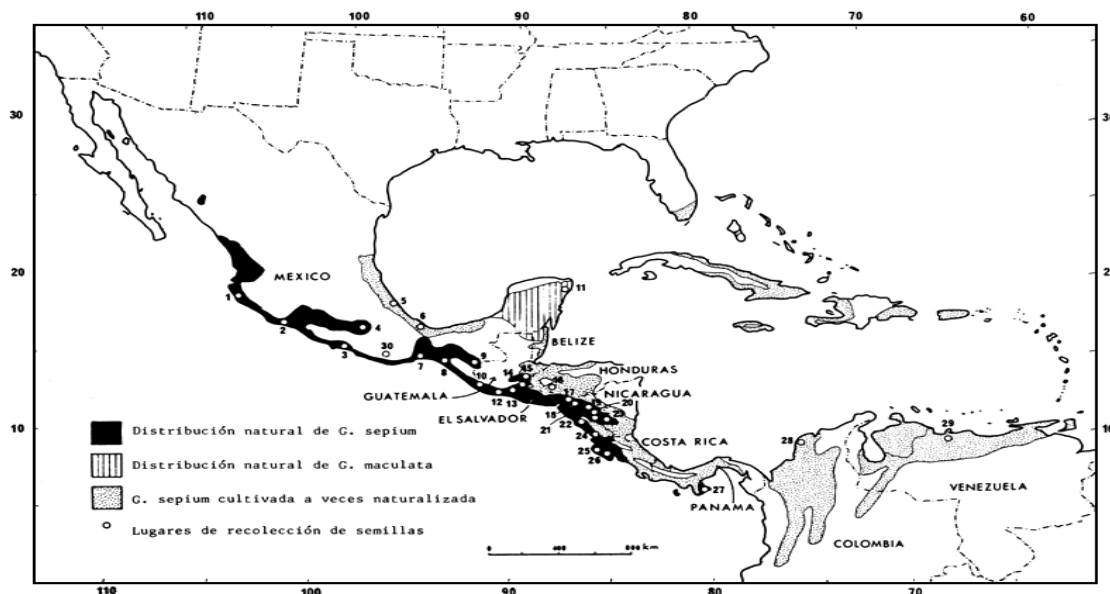


Figura 1.1 Distribución geográfica de *G. sepium* (tomado de Cordero y Boshier, 2003).

En el caso de Cuba, esta especie se encuentra naturalizada en toda su geografía; no obstante, su uso fundamentalmente se ha limitado a postes para cercas de áreas ganaderas, como sombra de cafetales; siendo muy limitado, casi nulo, su empleo en sistemas silvopastoriles, donde ha predominado la inclusión de *Leucaena leucocephala* como árbol predominante; igualmente no se aprovechan las bondades de esta especie en la producción y empleo de abonos verdes, cuestión en la que se debe trabajar para cambiar la conducta actual.

1.4 Agronomía y manejo

1.4.1 Siembra, establecimiento y manejo

Su reproducción es alógama y entomófila. La siembra de *G. sepium* puede realizarse por semilla o por semilla agámica; en Cuba mayoritariamente se emplea esta última, debido a que en una parte considerable del territorio nacional esta especie no produce semilla. La germinación en el madre de cacao es epigea. Las semillas germinan con facilidad sin ningún tratamiento previo, aunque algunos autores recomiendan remojarlas en agua caliente (Webb *et al.*, 1980), para luego enfriarlas por aproximadamente 12 horas antes de sembrarlas. La germinación en las semillas frescas es usualmente es del 90 al 100% y tiene lugar entre 3 y 15 días después de la siembra (Salazar, 1986; Hughes, 1987).

Las estacas en el vivero generalmente se plantan en suelos de textura ligera y bien drenados; las plántulas a los 2 ó 3 meses están listas para ser plantadas en campo (Webb *et al.*, 1980). Las plantaciones se establecen usando plántulas en contenedores o estacas derivadas de



ramas (Webb *et al.*, 1980). En áreas de poca precipitación, se prefieren las estacas de 1,0 m a las de 2,0 m de largo (Yamoah *et al.*, 1987). La época del año óptima para la siembra de las estacas, se enmarca entre enero y abril, durante los períodos de luna menguante, con tamaño de los esquejes entre 2 y 3 metros, edad de 2 años, y se deben enterrar a una profundidad entre 15 y 20 cm, con sus puntos en bisel o corte en ángulo para una buena fijación al suelo (González *et al.*, 2001). Es importante considerar el tiempo que transcurre entre el corte de la estaca y su uso, por su posible marchitez, lo cual puede influir de manera negativa en los resultados de una determinada investigación; además del efecto del fuego, que es pernicioso (González *et al.*, 2001).

Otros autores consideran que *G. sepium* (madre de cacao) se propaga con facilidad mediante estacas con o sin tratamiento con auxinas, siempre que las estacas sean de una edad y tamaño adecuados (Falvey, 1982). Se obtienen buenos resultados usando estacas de tallos que tengan 6 meses o más de edad, con una longitud mínima de 50 cm, y plantando las estacas en suelo húmedo a una profundidad mínima de 10 cm (Wiersum y Dirdjosoemarto, 1987).

Pérez (comunicación personal) afirma que cuando se planta por vía agámica, el establecimiento y crecimiento de los postes ocurre independientemente de cualquier fase lunar y que lo principal estriba en conservar la humedad del suelo y que la estaca no se remueva hasta que enraice.

Las estacas de tallos pueden ser tan grandes como los postes para cerca. En este sentido, se han efectuado experimentos con estacas de madera blanda de 20 cm de largo (de 6 meses de edad) y de madera madura (de 6 a 12 meses de edad) bajo regímenes de riego, aplicación de hormonas y tratamientos de remoción de la corteza (de la base de la estaca) diferentes. Según reportes de Glover (1986), las estacas cortas de madera blanda no se arraigan, sin importar el tratamiento usado; además, tanto el polvo de hormonas para la producción de raíces, como la remoción de la corteza aumentaron la tasa de supervivencia de las estacas maduras a los 35 días después del establecimiento. El tratamiento más exitoso (supervivencia del 86%) para las estacas maduras fue el de la remoción de la corteza y la irrigación por un tiempo de 3,5 minutos a intervalos de 12 horas.

En pruebas de vivero en Costa Rica, con 10 procedencias centroamericanas, las alturas promedio de las plántulas para todas las procedencias fue de 4,9 cm a los 15 días y 42,2 cm a los 60 días, con un diámetro promedio del collar radical de 6,3 mm a los 60 días (Salazar,



1986). Por otra parte, en pruebas efectuadas en Puerto Rico, con la siembra directa de semillas, durante los primeros 3 meses después de la siembra se obtuvo buena supervivencia y crecimiento de las plántulas (con una altura promedio de 1,3 m), pero durante los 15 meses subsecuentes, sólo el 7,5% de ellas sobrevivió.

La producción abundante de semillas, la germinación rápida y el vigoroso crecimiento inicial de las plántulas hacen del madre de cacao un colonizador agresivo en hábitats perturbados, tales como la orilla de los caminos y las áreas deforestadas en su área de distribución natural en México y América Central (Hughes, 1987). La regeneración natural del madre de cacao tiende a ser muy pobre en áreas de Puerto Rico y Nigeria, donde fue plantado (Atta-Krah, 1987).

Para hacer el primer corte o pastoreo se debe esperar que la leñosa desarrolle un buen sistema radical y haya engrosado su tallo. En el trópico con sequía estacional se debe esperar hasta 12 ó 18 meses; mientras que en el trópico húmedo el corte de uniformización se puede realizar a los 8 meses. ¿Cuál es el sistema de pastoreo más apropiado?. El más recomendable es el pastoreo rotacional de manejo flexible. Este consiste en ajustar la intensidad de defoliación al nivel de oferta de las leñosas y herbáceas. En temporadas de crecimiento acelerado se puede acortar el período de descanso, incrementar la carga y/o alargar el período de ocupación. Si la leñosa no se recupera adecuadamente se debe alargar el período de descanso, y acortarlo cuando el remanente de la leñosa sea elevado después del pastoreo (Camero e Ibrahim, 1995).

Cuando se maneja como una siembra en forma de hileras de setos o como una cerca viviente, el madre de cacao se planta a espaciamientos de 30-45 cm o más. En este caso, la producción de biomasa foliar se optimiza mediante la cosecha una o dos veces al año durante los primeros 2 años, y cada 3 meses subsecuentemente (Wiersum y Dirdjosoemarto, 1987).

Los árboles usualmente se cortan cerca de la superficie en plantaciones madereras y en sistemas agroforestales de tipo mixto de setos en hileras, o a una altura de 1 a 2 m en el caso de árboles de sombra o cercas vivas (Wiersum y Dirdjosoemarto, 1987). Las tasas de crecimiento del madre de cacao al igual que la producción de follaje y madera, son altamente variables y dependen de las condiciones y del manejo del sitio. Durante los primeros 2 años, los incrementos anuales en altura variaron entre 0,4 y 4,3 m por año (Wiersum y Dirdjosoemarto, 1987), y en el diámetro del tallo oscilaron entre 1,9 y 3,5 cm por año (Amara *et al.*, 1987; Parrotta, 1990).



Al inicio de la década de 1980, se comenzó un estudio del madre de cacao en plantaciones experimentales de leña a través de una gran variedad de condiciones de sitio en Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá, el cual aportó información abundante sobre el crecimiento y el rendimiento. Basado en este estudio se han desarrollado curvas de índice de sitio para la altura dominante, el área basal y la producción total de madera, para rodales de 12 a 60 meses de edad con un aprovisionamiento inicial de 2 500 árboles/ha (Hughell, 1990). En sitios de calidad intermedia, el incremento anual para leña terminó a los 2 años, con aproximadamente 4,5 kg/árbol; el incremento anual promedio en la madera para leña culminó entre los 3 y 4 años con aproximadamente 3,5-4,0 kg/árbol (Hughell, 1990).

Las plántulas son susceptibles a la competencia con gramíneas y hierbas durante el primer año de crecimiento. Sin embargo, una vez establecido el madre de cacao se convierte en un competidor agresivo. Por esta razón, ha sido cultivado en África Occidental e Indonesia para recuperar pastizales dominados por la gramínea *Imperata cylindrica* (L.) Beauv. (Aken'Ova et al., 1987).

1.4.2 Plagas y enfermedades

Varias plagas de insectos causan un daño menor al madre de cacao en Trinidad (Simmonds, 1951), incluyendo el cóccido *Orthezia praelonga* Douglass, Puto barberi, y el 240 áfido *Aphis liburni* (Little et al., 1964). La especie es huésped del gorgojo *Ceutorhynchus asperulus*, el cual es una plaga del guisante *Cajanus cajan* (L.) Millsp. en el sur de la India (Subramanian, 1977) y de los ácaros polífagos *Oligonychus biharensis* Hirst (ChannaBasavanna et al., 1972) y *Eutetranychus orientalis* Klein en el estado de Karnataka, en la India (Banu et al., 1972).

El madre de cacao es un alimento alternativo de las plagas lepidópteras *Orgyia postica* (Wlk.) y *Dasychira mendosa* (Hb.) (Rao et al., 1974) y para el áfido del maní *Aphis crassivora* (Koch.) en la India (Patel et al., 1971). En Puerto Rico se ha reportado la mancha foliar causada por *Cercospora gliricidia* Syd. y el añublo causado por *Pellicularia koleroga* Cke. (United States Department of Agriculture, 1960). *Colletotrichum gloeosporoides* Penz. y *Cercosporidium gliricidiasis* se han identificado como los causantes de la mancha foliar en el madre de cacao en Nigeria (Lenne et al., 1986).

Se encontró una especie de *Cladosporium* que causaba una defoliación severa en árboles jóvenes en Costa Rica (Glover et al., 1985.). El hongo de las raíces *Sphaerostilbe repens* Berk. & Br. infecta al madre de cacao en Trinidad (Simmonds, 1951). Los tallos de las plantas



jóvenes y las ramas de los árboles de mayor edad son quebradizos, lo que hace que el madre de cacao sea susceptible al daño por vientos fuertes y por el ganado.

1.5 Producción de semillas y diseminación de *G. sepium*

Aunque se recomienda la propagación por semilla como el método más efectivo y ventajoso, en Cuba la siembra por estacas ha sido un método viable en condiciones de carencia de semilla, pues en una parte del territorio nacional las plantas de *G. sepium* no producen semilla y su principal uso ha sido como poste vivo en las cercas; además, las necesidades de siembra de estas y otras plantas para el desarrollo ganadero, en general, superan las disponibilidades de semilla existentes.

Sin embargo, no se debe obviar que una de las posibles desventajas de este método se relaciona con su pobre desarrollo radicular respecto a su copa aérea, que lo hace muy vulnerable a los vientos huracanados en los países afectados por estos eventos meteorológicos (Corbea y Blanco, 2005); se ha observado que las plantas tienden a ser arrancadas por el ramoneo de los animales en el potrero al no desarrollar adecuadamente su raíz pivotante. Por su parte, la siembra con semilla posibilita una mejor relación de la copa aérea respecto a su sistema subterráneo (Greaves *et al.*, 1999).

Las semillas de *G. sepium* son elípticas, en forma de frijol, brillantes, de un color pardo claro a oscuro y de 10 mm de largo. Hay aproximadamente entre 6 000 y 11 000 semillas por kilogramo, con una variación considerable en su peso, dependiendo de la procedencia (Sumberg, 1985). Se necesitan aproximadamente 1 000 legumbres para producir un kilogramo de semilla, cada árbol produce entre 300 y 400 gramos y su pureza suele ser de 99% (Salazar *et al.*, 2000). Las legumbres dehiscentes se rizan y liberan las semillas en forma explosiva, las cuales pueden ser dispersadas hasta una distancia de 25 m, incluso a partir de árboles pequeños.

En la costa del Pacífico de Centroamérica la producción de semillas de *G. sepium* se inicia a finales de enero y se extiende hasta comienzos de abril. Los frutos deben colectarse cuando presentan una coloración amarillo pardusca. Una vez colectadas, las semillas se colocan al sol. Cuando están frescas tienen un alto porcentaje de germinación, entre 90-100%, sin necesidad de tratamiento pregerminativo (García, 2003).

1.5.1 El proceso de formación de las semillas en las plantas superiores

En la reproducción sexual la flor es el órgano que da origen a las semillas, de las cuales nacerán las nuevas plantas; la principal es la fecundación, es decir, la unión de las células



sexuales masculina y femenina, también llamadas gametos, para formar el cigoto. En las plantas con flor, el cigoto es el óvulo fecundado, contiene los cromosomas de los padres y es la primera célula de un nuevo individuo. El cigoto se desarrolla en el interior de la semilla y se convierte en embrión, y éste, al germinar la semilla, dará origen a la planta adulta. Puesto que el embrión contiene las aportaciones genéticas del óvulo y del polen, las potencialidades heredadas son transmitidas, mediante la semilla, de una generación a otra (Flores, 2003).

De los órganos de la flor, sólo dos, los estambres y los pistilos, operan directamente en la reproducción sexual. Los estambres forman los granos de polen y éstos, a su vez, engendran los gametos masculinos. El óvulo, que es el gameto femenino, se encuentra en la parte inferior y ensanchada del pistilo, denominada ovario. Cuando un grano de polen llega al pistilo, en el proceso de la polinización, se forma un tubo polínico. Los gametos masculinos, o contenidos en el polen, se desplazan a través de ese tubo por los tejidos del pistilo, y llegan al óvulo, donde son liberados para realizar la fecundación, iniciándose así el desarrollo de la semilla a partir del óvulo.

La semilla se desarrolla de un óvulo que se encuentra situado en el interior del ovario de una flor. Este ovario puede contener uno o varios óvulos. Mientras que el óvulo da lugar a la semilla, el ovario da lugar al fruto que, por tanto, puede tener una o varias semillas en su interior. Una vez se deposita el grano de polen sobre el estigma, comienza su proceso de germinación; éste larga el tubo polínico hasta alcanzar el óvulo, fecundándolo mediante la transmisión del gameto masculino. De esta forma nace la semilla. Las condiciones climáticas que favorecen la germinación de los granos de polen son las mismas que favorecen el vuelo y pecoreo de la abeja: alta humedad relativa con temperatura de 15 a 25°C. Por otro lado, la apertura de la antera.

Cuando el polen llega al estigma se pone en marcha un sistema de "reconocimiento" que involucra un contacto entre receptores estigmáticos y componentes de la exina. Un grano de polen germina solamente cuando se pone en contacto con un estigma de su propia especie, a menos que exista incompatibilidad genética. Se define como autoincompatibilidad la imposibilidad fisiológica, controlada genéticamente, de producir fruto por autofecundación. En otras palabras, los granos de polen incompatibles liberan sustancias que no son reconocidas por el tejido estigmático (de distinta constitución genética) y se inhibe el crecimiento del tubo polínico. Un ejemplo de esto es el girasol como se vera más adelante"



1.5.1.1 Factores que influyen en la formación de las semillas en las plantas superiores

Varios autores, como De Nettancourt (1977); Muschietti, 1994 y Liedl y Anderson (1994), han expuesto los mecanismos que regulan la interacción polen-pistilo. Las plantas con flores (Angiospermas) son consideradas como el mayor grupo vegetal, incluyendo alrededor de 300 000 especies con una gran diversidad de formas y hábitats. Mientras que en el reino animal predomina la unisexualidad con el fin de reducir la endogamia y aumentar el intercambio genético, esto no ocurre en el reino vegetal. El 96% de las Angiospermas son hermafroditas, con ambos órganos sexuales en la misma flor. Todo esto induce a pensar que, desde el punto de vista probabilístico, la autofecundación debe estar altamente favorecida entre las Angiospermas, lo cual llevaría asociado un empobrecimiento de la variabilidad genética y hubiera sido completamente perjudicial para su evolución.

Sin embargo las Angiospermas se han extendido, diversificado y llegado a conquistar casi todos los hábitats disponibles en la naturaleza. Una de las razones que explican su éxito es que han desarrollado un amplio espectro de estrategias reproductivas para prevenir la autofecundación, promover la fecundación cruzada y favorecer así el intercambio de genes. El grupo de estrategias más sofisticado y distribuido en la naturaleza es el de las barreras de cruzamiento. Las barreras intraespecíficas (dentro de la misma especie vegetal) son las más extensamente estudiadas y afectan un amplio rango de procesos fisiológicos que ocurren a lo largo de la vida de la planta, siendo particularmente importantes las que se desarrollan durante el intercambio de información entre el gameto masculino (polen) y los tejidos reproductivos femeninos (el pistilo, formado por el estigma, el estilo y el ovario) durante la polinización y fertilización.

Dentro de los diferentes tipos de barreras de cruzamiento intraespecíficas, el mecanismo más estudiado y difundido es el de la autoincompatibilidad (SI) que involucra específicamente las interacciones polen-pistilo. En la mayoría de los casos la autoincompatibilidad está controlada por un único locus multialélico, el locus S. en SI el grano de polen y las células del pistilo que tienen alelos S idénticos, interactúan de manera tal de inhibir el crecimiento del tubo polínico evitando la autofecundación.

El locus (en algunos casos existen hasta tres loci) de incompatibilidad (**locus S**, o **self-incompatibility locus**) es multialélico (S_1, S_2, S_3, S_4, S_n), es decir sus miembros constituyen una serie alélica y, por tanto, se comportan como tales. Entre los miembros de la serie existe dominancia total o completa (jerarquía de dominancia), aunque en algunos casos puede existir



dominancia intermedia o incompleta, o incluso aparecer genotipos nuevos resultantes de interacción entre los dos alelos del locus. Ejemplo: $S_1 > S_2 > S_3 > S_4 > S_5 > S_n$.

Las plantas que han desarrollado mecanismos de incompatibilidad son heterocigóticas para este locus (o loci).

1.5.1.2 Variación interanual en la producción de semillas en plantas perennes

De acuerdo con Kelly (1994) la variación interanual en la producción de semillas (*mast seeding*) es un fenómeno habitual de las plantas perennes que se define como “la producción intermitente de semillas en poblaciones de plantas perennes,” también llamado fructificación masiva, floración periódica, floración supra-anual, sincronía esporádica estacional y otros. Es más usual en plantas perennes que son menos afectadas el costo de no reproducirse en determinados años; aunque los árboles son los ejemplos más conocidos, especialmente en el hemisferio norte, también se presenta en plantas herbáceas. La más reciente explicación de *mast seeding* es la hipótesis de la armonía con los recursos combinados (*matching resources*): la producción de semillas varía porque la disponibilidad de recursos de la planta varía. Es un fenómeno que no puede aplicarse a individuos, sino que es propio de poblaciones.

Rosas *et al.* (2004) reseñan las características de la variación interanual de diversas poblaciones vegetales en la producción de semillas, y las teorías que se han desarrollado al respecto por diversos autores. (Donoso *et al.*, 1993; Piovesan y Bernabei, 1997; McKone *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2000; Kelly *et al.*, 2001; Piovesan y Adams 2001; Hoshizaki y Hulme 2002).

Los procesos de producción de semillas que el silvicultor necesita conocer son los relacionados con la floración, fructificación, diseminación y la periodicidad de la producción, viabilidad y germinación de ellas. El conocimiento de la mayor parte de esta información sólo puede obtenerse de la observación en el tiempo, de la investigación y experimentación. Estos procesos pueden variar considerablemente para una misma especie en sus diferentes edades o estados de desarrollo, dependiendo de que ella se desarrolle en disímiles latitudes y condiciones de suelo o asociaciones con otras especies (Donoso, 1999).

Donoso *et al.* (1993) ha obtenido información en cuanto a la producción de semillas y hojarasca en los bosques siempreverdes de la ladera occidental y en los bosques de alerce de la Cordillera de la Costa de Valdivia para *Drimys winteri* s. Los primeros se ubican generalmente entre los 600 msnm de altitud y los segundos por sobre los 600 msnm. Se



observó cierta tendencia en cuanto a la periodicidad o variación anual en la producción de semillas en un ciclo de un año de alta producción cada 4 ó 5 años. En los cuales la producción fue desde muy baja a intermedia. En los ocho períodos de evaluación se destacaron tres por una alta producción relativa; se manifestó una tendencia a un ciclo de un año de alta producción (con relación al promedio) cada 2 ó 3 años de producciones muy bajas o casi nulas.

1.6 Usos potenciales

Uno de los árboles multipropósito más promisorios para la ganadería lo constituye *G. sepium*. De acuerdo con García (2003) esta especie se destaca por su capacidad de fijar nitrógeno, lo cual es muy significativo para la recuperación de suelos degradados. La nodulación de las estacas ocurre en los 3 meses después de plantados (Wiersum y Dirdjosoemarto, 1987). Las tasas de fijación de nitrógeno anuales para el madre cacao se han calculado en 13 kg/ha (Roskoski *et al.*, 1986).

La madera de esta especie sirve para construcciones pesadas, postes, mangos de herramientas, artículos de artesanía e implementos agrícolas. Es excelente para leña (sobre todo la de los árboles viejos). El duramen quema lentamente, produciendo buenas brasas y poco humo. Asimismo, tiene buena capacidad de rebrote y facilidad para podarla y cortarla. Aunque raramente se planta para leña, este es un subproducto obtenido de cercas vivas o árboles de sombra. Estudios realizados por diferentes científicos entre los que se encuentran Chamberlain *et al.* (1996), plantean la utilidad del empleo de *G. sepium* en diversos sistemas (originalmente para proveer sombra a las plantaciones de cacao, café y té).

La madera es resistente, de textura gruesa, con grano irregular y de buen secado. Aunque es difícil de trabajar, toma un buen lustre y es muy duradera (resistente a termitas y hongos de pudrición), por lo que es valiosa para construcción de viviendas. Es de dimensiones suficientes para aserrío, pero raramente se encuentra disponible, por lo que comercialmente no tiene importancia en este sentido.

También se utiliza para la producción de forraje y abonos verdes. De igual forma es muy usado como estacas para cercas vivas, como tutor para cultivos de enramada (uva, granadilla, paste, pitahaya, etc), forraje y sombra. Es una de las especies preferidas por los campesinos para leña y carbón. Su poder calorífico es de 4 900 kcal/kg (García, 2003). Es muy utilizada para plantaciones de café y cacao.



Es ampliamente usada como forraje para los animales y presenta diferentes niveles de aceptabilidad (Stewart, 2007). Su uso como forraje es poco uniforme. En algunos países, no necesariamente en la misma región (incluyendo Indonesia, Sri Lanka y Colombia), es un árbol forrajero importante; mientras que en otras partes se ha reportado un problema de palatabilidad y no se utiliza como forraje. Su forraje es tan solo uno de sus usos, otros incluyen cercas vivas (su uso principal en gran parte de su rango nativo), postes, sombra o apoyo para cosechas perennes, y abono verde.

Según reportes de Stewart (2007), *G. sepium* y varias especies de *Leucaena* están ampliamente distribuidas en el mundo, han sido investigadas a profundidad y han estado sujetas a las redes de investigación en mejoramiento genético a nivel mundial, por la importancia que poseen los sistemas agroforestales debido a su diversidad de usos; igualmente informa que en las colinas de Nepal, por ejemplo, los árboles forrajeros son de especial importancia en el sistema agropecuario y el conocimiento indígena acerca de su uso está desarrollado en forma amplia.

Cordero y Boshier (2003) informan que bajo condiciones promedio un banco forrajero suele rendir de 3-4 kg de hojas/árbol/cosecha, equivalente a 9-16 t/ha/año de materia seca o 43 t/ha/año de hojas frescas. Para el caso de la producción de leña un banco energético a 2 x 2 m (2 500 árboles/ha), cortado a 10-20 cm en un ciclo de corte de 3 años, dio un rendimiento anual de 2,0-2,3 t/ha de leña seca. Para madera de mayores dimensiones, una primera cosecha a los 3-4 años produce típicamente 8,15 m³/ha y cortes posteriores cada 2-3 años deberían rendir un 40% más que lo que se obtuvo en la primera cosecha.

Gómez *et al.* (1990) estudiaron seis ecotipos de *G. sepium* en la hacienda El Hatiko, situada en el Valle del Cauca, Colombia, a 1 020 msnm, con una temperatura promedio de 24°C, una precipitación de 1130 mm anuales, latitud 3° 54' N y longitud 76° 22' Oeste en Colombia; estas procedían de la colección del Instituto Forestal de Oxford (obtenidos en México, Guatemala, Costa Rica y Colombia). Con dos densidades de siembra: 50 x 50 cm y 100 x 100 cm, se alcanzaron 40 000 y 10 000 plantas por ha, respectivamente. El contenido de materia seca de las hojas y el de tallos verdes al primer corte (270 días) estuvo en un rango de 26-27% y 16-25%, respectivamente. Igualmente el contenido de proteína bruta (N x 6,25) en base seca fue de 21-29% y 9-11%, respectivamente. La proporción de hoja-pecíolo en el total de biomasa comestible en los cortes 3 y 4 varió entre 53 y 63% entre ecotipos y fue 54-57 y 60% para la baja y alta densidad de siembra, respectivamente.



El total de biomasa comestible (hojas y tallos verdes), después de cuatro cortes (el primero a los 270 días de sembrado), varió entre 71 y 98 t de materia fresca/ha en la densidad de siembra alta y de 53-71 t para la baja. El ecotipo de mayor producción fue el de Guatemala (Vado Hondo, Chiquimula) y el más bajo fue el de Costa Rica (Playa Tamarindo, Gunacaste).

La producción se incrementó sucesivamente en los cortes y promedió entre 21-31 y 17-28 t/ha para la siembra a alta y baja densidad, respectivamente. Esto equivale a un rango total de 60-125 t de biomasa/ha año, con lo cual se comprobó el alto potencial de producción de proteína de este árbol. Al seleccionar los mejores ecotipos e incrementar la densidad de árboles, se alcanzaron producciones superiores a 4 t de proteína/ha/año, como en la ecotipo Vado Hondo Chiquimula de Guatemala (G3), cuya producción fue de 4,67 t/ha/año.

Rosales *et al.* (1998) destacaron que los trabajos sobre genética, adaptación, consumo y productos del metabolismo secundario, realizados a nivel mundial con arbóreas entre las que se encuentra *Gliricidia*, han evidenciado la necesidad de profundizar en las diferencias al nivel infra-específico (ecotipos, procedencias, variedades o clones), lo cual amplía el reto científico para el futuro inmediato.

En Cuba se han realizado estudios profundos sobre *L. leucocephala* (Hernández *et al.*, 1998; Machado, 2008; Wencomo, 2008 y Reinoso, 2008), la leñosa forrajera más extendida (aunque no suficiente) en la ganadería. Esta especie constituye literalmente la opción disponible para los ganaderos, entre otros aspectos por la gran cantidad de semillas que produce en cualquier localidad, lo que facilita su multiplicación. No obstante, la utilización de un solo género o especie leñosa forrajera trae consigo la posibilidad del ataque de un determinado insecto potencialmente plaga o enfermedad, o que no se adapte a todas las limitantes que presentan los suelos dedicados a este fin, con el consiguiente peligro de reducir la biodiversidad vegetal. Existen estudios sobre otras arbóreas como *Bahuinia*, *Gliricidia* y *Albizia* (Toral, 2005), también promisorias en este sentido; no obstante, existe coincidencia sobre las bondades de *G. sepium* desde el punto de vista de su producción de forraje y otros usos.

Entre los resultados obtenidos en Cuba con la especie están los obtenidos por Pedraza *et al.* (2001), quienes evaluaron su follaje y la utilización de urea como suplemento en vacas lecheras en pastoreo de gramíneas tropicales de secano durante la época de seca. Como resultados, no existieron diferencias significativas en la producción de leche (5,3 a 5,7 kg/vaca/día), ni en los indicadores de la calidad de la leche (grasa, acidez, densidad, sólidos totales y proteína bruta), que mantuvieron valores normales. Los cambios de peso de las



vacas durante el experimento fueron positivos con follaje de *G. sepium* y negativos con el uso de la urea y en el control, que alcanzó 13 kg. Los autores concluyeron que el follaje de esta especie puede ser superior al uso de la urea como suplemento a vacas lecheras en pastoreo.

De igual forma Pedraza *et al.* (2004) evaluaron, *in vitro*, el valor nutritivo de cuatro muestras de follaje de *G. sepium*, mediante la técnica de producción de gases, incluyendo el posible efecto de sus taninos. Los resultados indicaron una velocidad de producción de gas entre 0,059 y 0,114 mL h⁻¹ y un potencial de producción de gas entre 21,6 y 34,8 mL. Los follajes de menos edad de rebrote y sin la inclusión de tallos fueron los de mejor comportamiento ($P < 0,001$). Estos valores fueron superiores al del follaje de otras especies arbustivas utilizadas usualmente en la alimentación de rumiantes.

1.7 Estudios de variabilidad genética en árboles forrajeros

Como plantea Stewart (2007) la única forma confiable de obtener una imagen completa de la variación genética existente en una especie arbórea requiere de una exploración exhaustiva del rango nativo de la misma, seguida por la colección de semilla de todas las partes del rango. Esta recolección debe diseñarse para muestrear tanto como sea posible la variación ambiental. A continuación se debe evaluar el germoplasma, preferiblemente bajo un rango amplio de condiciones agroecológicas, en función de características cuidadosamente definidas, relacionadas con la producción y la calidad del forraje y otras de interés para el carácter de que se trate. En el presente trabajo, el interés principal es la producción de legumbres en *G. sepium*. Sólo se pueden hacer comparaciones válidas entre genotipos que crezcan juntos en el mismo sitio, para evitar confusión en los efectos genotípicos y ambientales.

Por otra parte la evaluación morfológica y agronómica de interés económico, como parte de la medición de la variabilidad de un cultivo, puede ser complementada por estudios más directos del genoma a través de la técnica de electroforesis de enzimas y proteínas o del uso de marcadores moleculares (ADN), los cuales según afirman Rodríguez y Arencibia (2002) pueden ser utilizados para la selección de caracteres agronómicos, en la construcción de mapas genéticos y en la identificación y aislamiento de genes o de grupos de éstos (para el caso de los marcadores de ADN).

Al respecto Stewart *et al.* (1996) y Stewart (2007) informan que en el caso de *G. sepium* la mayoría de las introducciones no han sido documentadas y su calidad genética es desconocida; muchas probablemente tuvieron una base estrecha, debido a la utilización de



semillas de solo uno o pocos árboles. El hecho de que este árbol sea preferido para cercas vivas que generalmente se siembran a partir de estacas, reduciría aún más la variabilidad genética de esta especie.

Esta misma autora propone la comparación de colecciones de diferentes procedencias para evaluar las diferencias en cuanto a producción de forraje y palatabilidad; esta última es una de las características más problemáticas y, por tanto, más estudiadas. En estudios realizados en procedencias de Guatemala y Nicaragua se encontraron diferencias significativas.

Burley y Speedy (1998) reseñan los estudios realizados con arbóreas (que incluyen *Gliricidia*) a nivel global, por diversas instituciones. Así, el Centro Internacional para Investigación en Agroforestería (ICRAF, 1988) ha incluido a *G. sepium* en investigaciones donde se han concentrado cultivos mezclados y en sistemas de cultivos intercalados con énfasis en ganadería.

En el CATIE se efectúan análisis de laboratorio detallados de un rango amplio de especies, con énfasis en *Morus* spp., *Gliricidia sepium* y *Erythrina poeppigiana*. También se han realizado ensayos de alimentación con animales para medir el consumo de materia seca y la ganancia de peso de ovejas, cabras y ganado (incluyendo vacas de leche). El Grupo de Genética del Instituto Forestal de Oxford (Reino Unido) ha emprendido estudios científicos de un número importante de especies agroforestales, que incluyen la adquisición y evaluación de germoplasma. En años recientes se realizan investigaciones sobre biología reproductiva, genética sistemática y manejo en *Acacia*, *Calliandra*, *Gliricidia*, *Faidherbia* y *Leucaena* spp. Para ello se han establecido colecciones y se desarrollan estudios de crecimiento utilizando diseños experimentales estándar en un amplio número de localidades tropicales.

En el caso de *G. sepium*, especie para la cual se han reportado problemas de aceptabilidad de su follaje por parte del ganado en los trópicos, se ha investigado la variación genética de su calidad mediante ensayos de alimentación basados en procedencias, utilizando ovejas y cabras. Para esto se establecieron bloques de forraje que contenían de cinco a seis procedencias de *Gliricidia* de cinco sitios, en colaboración con instituciones de investigación en ganadería en Colombia, Costa Rica, Indonesia, Nigeria y Sri Lanka.

Por otra parte, Cornide *et al.* (2002) plantean que la genética, en su sentido más amplio, será uno de los ejes principales del desarrollo tecnológico y el conocimiento impulsor de la economía mundial en el siglo XXI.



En el campo de las plantas, el hombre fabricaba sus variedades desde tiempos inmemoriales y la genética ofreció al mejorador los conocimientos para hacer más eficiente este trabajo, emplear caracteres heredables y velar por el manejo varietal en aquellos casos cuya expresión estuviera muy influida por la interacción con el ambiente.

Cornide *et al.* (2002) plantean que la casi totalidad de las variedades modernas provienen del mejoramiento tradicional. Otros métodos, tales como la inducción de mutaciones, la variación somaclonal y la transferencia de genes foráneos por ingeniería genética, se han usado en la mejora para caracteres específicos, a fin de extender la vida agrícola de las variedades seleccionadas.

A partir de la última década del siglo XX, las técnicas de marcadores moleculares dieron un vuelco al conocimiento genético de las especies vegetales, posibilitaron localizar genes y marcarlos para hacer más eficiente su selección; es por esto que los marcadores constituyen una herramienta biotecnológica en la actualidad y una alternativa a la transgénesis para obtener nuevas variedades por métodos tradicionales (Cornide *et al.*, 2002).

Sin embargo, de acuerdo con Jara (1995) las especies forestales difieren en muchos aspectos de los cultivos agrícolas. En términos genéticos, los bosques naturales, al contrario de los cultivos agrícolas que han sido seleccionados durante miles de años, son una enorme fuente de variabilidad genética que debe ser utilizada y conservada. El mejoramiento forestal debe seleccionar lo que ya existe en la naturaleza antes de invertir en métodos genéticos más avanzados, por lo cual las etapas del mejoramiento en árboles suelen ser:

1. Selección entre especies
2. Selección entre poblaciones dentro de especies (subespecies, variedades, razas, procedencias, fuentes semilleras, entre otros).
3. Selección entre individuos dentro de poblaciones superiores.
4. Cruzamiento controlado, incluyendo hibridación entre especies, poblaciones, progenitores y descendientes seleccionados.

1.8 Isoenzimas

El descubrimiento de las isoenzimas favoreció el empleo de marcadores genéticos más eficientes que los morfológicos, ya que por lo general permiten distinguir los genotipos homocigóticos y heterocigóticos e igualan el fenotipo con sus respectivos genotipos (González, 2002).



También se conoce la existencia de otras técnicas de mayor precisión que las isoenzimas, conocidas como marcadores moleculares o marcadores de ADN (marcadores del ácido desoxirribonucleico), los cuales según afirman Rodríguez y Arencibia (2002) revelan sitios de variación de la secuencia de ADN y, a diferencia de los marcadores morfológicos, las variaciones no se muestran por sí mismas en el fenotipo, porque pueden tener diferencias en un solo nucleótido del gen o en una secuencia repetitiva del ADN, además de ser mucho más numerosos que los morfológicos.

Independientemente de que con los marcadores moleculares se logra un polimorfismo que sobrepasa el de otras variantes genéticas, incluyendo las isoenzimas, estas últimas en colecciones de germoplasma son muy útiles e importantes para el reporte y mantenimiento de la diversidad genética. Las isoenzimas se han utilizado para estudiar la dinámica poblacional, agrupar los sistemas de varias especies y según reporta González (2002), permiten estimar la variabilidad genética presente en especies y variedades de diferentes cultivos y en la caracterización de *loci* potencialmente marcadores.

Existe abundante literatura relacionada con el estudio de proteínas y enzimas, en la cual los resultados de la electroforesis muestran una alta correlación con las relaciones taxonómicas, mediante criterios morfológicos y citológicos, especialmente cuando los electroforetogramas presentan un considerable número de bandas (González *et al.*, 1999).

El término 'isoenzimas' fue propuesto por Markert y Moller (1959) para designar cada una de las múltiples formas enzimáticas que catalizan una misma reacción, con similar o idéntica especificidad de sustrato y que están presentes en el mismo organismo. En este sentido, González (2002) plantea que debe ser restringido a formas moleculares múltiples de enzimas que deriven del mismo tejido u órgano con orígenes genéticos similares, ya que posee actividades catalíticas muy semejantes, no exactamente superpuestas.

Este mismo autor refiere que la multiplicidad isoenzimática puede ser el resultado de diferencias en las secuencias de aminoácidos o deberse a las modificaciones post-traduccionales. En el primer caso, las isoenzimas pueden haber sido codificadas por distintos alelos del mismo *locus* (aloenzimas o aleloenzimas), o por diferentes *loci* (isoenzimas no alélicas); y en el segundo caso, ocurren cambios conformacionales o de dobleces en la estructura terciaria por mecanismos epigenéticos (isoenzimas conformacionales).

El descubrimiento y utilización de los marcadores isoenzimáticos en plantas a finales de los años 70, permitió elevar el número de marcadores genéticos disponibles en, al menos, un



orden (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Entre sus principales ventajas radica el hecho de ser una técnica relativamente accesible con respecto a los marcadores de ADN, en análisis que no requieren amplio muestreo del genoma. Los alelos isoenzimáticos son codominantes, lo que permite estimar directamente los indicadores de análisis genético, como las frecuencias genotípicas, las frecuencias alélicas, los coeficientes de diversidad genética y la heterocigosidad, entre otros.

Los marcadores isoenzimáticos constituyen herramientas muy útiles en la clasificación de diferentes cultivos en una extensa escala geográfica (Glaszmann, 1988) y contribuyen, de manera importante, al entendimiento de su estructura genética y de poblaciones naturales de especies silvestres (Gao *et al.*, 2000). Sin embargo, el limitado número de sistemas (entre 20 y 30 por especie) y de *loci* isoenzimáticos que pueden ser resueltos, así como la detección del polimorfismo sólo en regiones modificantes del genoma, pueden influir en la precisión de los estimados de diversidad genética a partir de estos marcadores (Gao *et al.*, 2002).

Por su parte, el análisis del polimorfismo a nivel de ADN puede brindar el estimado de diversidad genética, que tiene varias ventajas sobre los marcadores morfológicos y bioquímicos. Estos se basan en el muestreo directo del genoma, pueden ser determinados para cualquier combinación de genotipos, están libres de influencias ambientales y carecen de efecto pleiotrópico. El valor de los marcadores de ADN es mayor entre genotipos muy cercanos o cuando los datos de genealogía no son seguros (Fuentes *et al.*, 1999; Fuentes, 2003).

1.9 Algunas consideraciones socioeconómicas y ambientales

Los problemas relativos al uso de la tierra con el continuo avance de la frontera agrícola-pecuaria a expensas de la eliminación del bosque, han convertido la práctica agropecuaria en la actividad económica que provoca mayor destrucción de los recursos naturales en América Central y el Caribe (Kolmans y Vásquez, 1996).

Aunque hay diferentes visiones sobre los problemas generados por la ganadería extensiva y estos varían de una región a otra y de un país a otro, existen consensos importantes sobre los impactos más preocupantes, entre los que se destacan la deforestación de los bosques tropicales, la erosión y compactación de los suelos frágiles, las emisiones de gases nocivos para la atmósfera (efectos de invernadero y daño en la capa de ozono), polución de aguas, eutrofización de zonas costeras, cambios en la cobertura vegetal y disminución de la biodiversidad (Rosales *et al.*, 1998).



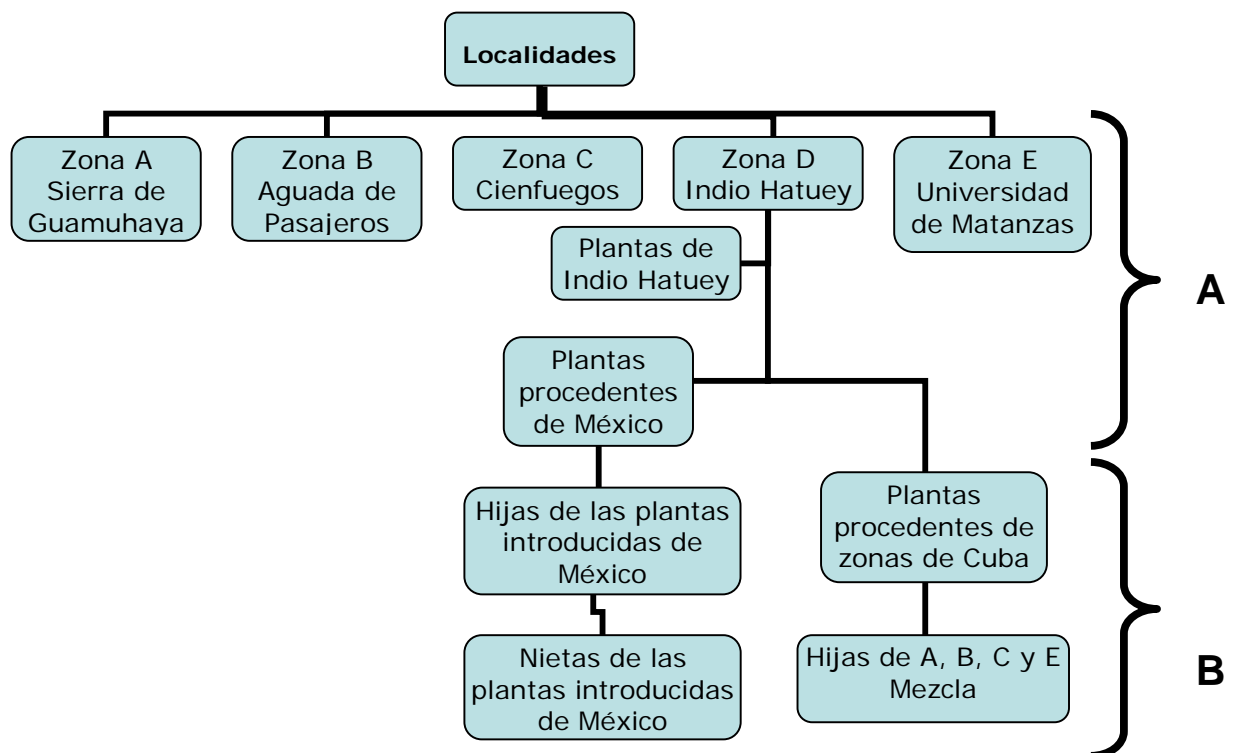
En este sentido, los sistemas agroforestales se presentan como una opción para hacer una ganadería más amigable con la diversidad biológica y el manejo de suelos y aguas, pues constituyen formas de uso y manejo de los recursos naturales en las que se pueden asociar especies forestales, cultivos agrícolas y/o animales, en forma simultánea o en secuencia temporal, sobre un mismo terreno (Montagnini *et al.*, 1992).

En el caso de las fincas ganaderas, tanto las plantas herbáceas como las arbóreas cumplen un papel importante en el incremento de la rentabilidad, al ofrecer beneficios económicos adicionales Camero *et al.*, (2001); los árboles, además, tienen un alto potencial para mejorar la producción animal, gracias al aporte de condiciones mejoradas para el bienestar de los animales (Souza, 2002).

Dentro de las especies más recomendadas se encuentra *G. sepium*, por sus importantes atributos. No obstante, existe un problema asociado a la cultura de reproducción de semilla de esta especie por semilla; por ello, en esta investigación se realizó una valoración económica relacionada con esta temática.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La secuencia experimental está estructurada de la siguiente forma (figura 2.1): una primera etapa que trata sobre la evaluación y caracterización de las procedencias en las cinco zonas estudiadas; una segunda que está relacionada con la evaluación de las descendencias introducidas de las diferentes zonas y de México, además de las plantas naturalizadas en el área de Indio Hatuey-Perico (testigo); una tercera que trata sobre la transferencia de tecnología de la producción de semilla en Aguada de Pasajeros y Sagua la Grande. Posteriormente se procedió a realizar la electroforesis, para corroborar la caracterización y evaluación morfoagronómica de las procedencias evaluadas. Asimismo, se realizó una valoración económica considerando la multiplicación de semilla.



A Primera etapa; **B** Segunda etapa

Figura 2.1 Secuencia experimental.



2.1 Descripción del área

2.1.1 Ubicación del área experimental

En la figura 2.2 se muestran las cinco zonas de las provincias de Matanzas y Cienfuegos, con sus correspondientes letras e identificación, que fueron seleccionadas para realizar la investigación

A Rodal y cerca viva en Sierra Guamuhaya, Cienfuegos.

B Finca “Las Maravillas”, Aguada, Cienfuegos.

C Vaquería “La Muralla”, Ariza, Cienfuegos.

D Plantas naturalizadas y plantas introducidas de México, ambas en Indio Hatuey-Perico, Matanzas.

E Universidad de Matanzas.



Figura 2.2 Zonas y territorios seleccionados.

Las zonas A, B, C y E se seleccionaron por la presencia de plantas productoras de semillas, e Indio Hatuey (D) porque las plantas existentes nunca han producido semillas, además de que posee una Estación Meteorológica; por ello, esta última se definió como el área de investigación principal.

Asimismo, para el estudio se consideró la selección de dos puntos cercanos a las costas cubanas y tres en el interior de las provincias, para que estuviera representado tanto el relieve montañoso como las llanuras, lo cual se hizo siguiendo una línea imaginaria norte-sur. Este criterio se siguió teniendo en consideración su origen y su distribución nativa y naturalizada



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

(Glover, 1986). Un aspecto común de las áreas es la existencia de poblaciones de insectos polinizadores, fundamentalmente colmenas de abejas.

2.1.2 Tipos de suelos

Las zonas seleccionadas estuvieron ubicadas sobre dos tipos de suelo, según refieren Hernández *et al.* (2006). En el caso de la zona A predominan los suelos Pardos con Carbonatos y los Húmicos Sialíticos calcimórficos (anexo 1); mientras que en las zonas B, C, D y E, los suelos que predominan son los Ferralíticos Rojos típicos (anexos 2 y 3).

2.1.3 Clima

En las tablas 2.1, 2.2, 2.3 y 2.4 se presentan los datos de clima de las zonas estudiadas.

Tabla 2.1 Temperatura y precipitación de la zona de Aguada de Pasajeros (B) durante el tiempo de evaluación.

Meses	Precipitación (mm)			Temperatura media (°C)			Temperatura mínima (°C)			Temperatura máxima (°C)		
	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998
Enero	30,3	41,2	80,1	20,4	20,1	22,2	15,0	-	17,8	27,6	-	28,0
Febrero	56,8	39,8	91,6	20,0	23,7	21,8	13,2	-	16,8	28,4	-	28,7
Marzo	90,5	43,1	129,8	21,5	22,8	21,8	16,2	-	16,6	28,7	-	27,9
Abril	99,2	73,7	0,6	23,9	24,8	24,2	17,8	19,8	18,3	31,8	31,1	31,2
Mayo	549,4	205,7	95,7	25,1	26,3	26,4	20,9	21,7	20,9	31,4	32,8	33,2

Tabla 2.2 Temperatura y precipitación de la zona de Cienfuegos (C) durante el tiempo de evaluación.

Meses	Precipitación (mm)			Temperatura media (°C)			Temperatura mínima (°C)			Temperatura máxima (°C)		
	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998
Enero	34,4	52,3	111,7	21,1	21,4	22,5	16,3	16,7	18,6	27,1	27,5	27,7
Febrero	20,2	9,9	73,8	20,7	23,9	22,6	15,0	19,4	17,7	27,1	30,2	28,5
Marzo	66,9	11,9	145,8	22,1	24,7	22,3	17,4	20,0	17,7	27,8	31,3	27,9
Abril	118,5	36,5	59,8	24,4	25,1	24,2	19,3	20,7	18,9	30,8	30,7	30,0
Mayo	311,6	92,7	30,7	25,2	26,8	26,3	21,7	22,4	21,8	30,8	32,8	32,2



Tabla 2.3 Temperatura y precipitación de la zona de la Universidad, Matanzas (E) durante el tiempo de evaluación.

Meses	Precipitación (mm)			Temperatura media (°C)			Temperatura mínima (°C)			Temperatura máxima (°C)		
	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998
Enero	-	47,5	174,9	-	22,4	23,1	-	20,4	21,3	-	24,9	25,4
Febrero	*	31,1	204,1	-	24,4	23,0	-	22,4	20,5	-	26,8	25,8
Marzo	-	37,0	217,0	-	25,1	22,9	-	23,0	20,9	-	27,8	25,1
Abril	-	21,3	47,2	-	25,6	25,0	-	23,3	22,5	-	28,6	28,1
Mayo	-	103,8	96,8	-	27,4	26,9	-	24,4	24,4	-	30,5	30,2

Tabla 2.4 Temperatura y precipitación de la zona de Indio Hatuey-Perico (D) durante el tiempo de evaluación.

Meses	Precipitación (mm)			Temperatura media (°C)			Temperatura mínima (°C)			Temperatura máxima (°C)		
	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998	1996	1997	1998
Enero	82	85,5	53,8	20	20,2	21,5	13,8	13,6	14,5	27	27,1	26,5
Febrero	42,6	14,9	78,7	19,1	22,9	-	11,2	13,9	14,2	27,6	30,2	28,2
Marzo	28,3	19,9	84,4	21,2	23,9	-	15	17,4	16,8	28,5	31,4	29,3
Abril	53,2	11,3	trazas	23,7	24,9	25,9	16,2	18,8	17,9	31,7	32,2	30,5
Mayo	137,4	61,9	129,3	25,3	26,6	26,1	19,9	21	20,7	31,5	33,5	32,1

En la tabla 2.5 se presentan los datos climatológicos de Indio Hatuey-Perico, en la cual se incluyeron más variables por ser esta la zona principal de evaluación y donde las plantas naturalizadas no produjeron semilla.

En la zona Indio Hatuey-Perico a diferencia del resto de las zonas evaluadas en la primera etapa, se registran temperaturas mínimas más bajas en los meses de floración y polinización de *G. sepium*.

2.2 Descripción de la investigación

2.2.1 Material vegetal utilizado

Durante la primera etapa de evaluación experimental se caracterizaron las plantas existentes en las zonas A, B, C, D (naturalizadas e introducidas desde México) y E. En una segunda etapa se trabajó con semillas descendientes de las plantas introducidas desde México y cuarentenadas en Indio Hatuey-Perico, además de semillas traídas a Indio Hatuey-Perico desde las zonas A, B, C y E.

Tabla 2.5 Factores climáticos de la zona Indio Hatuey-Perico durante el tiempo de evaluación.

Indicador/Meses	Año 2003-04			Año 2004-05			Año 2005-06			Año 2006-07			Año 2007-08		
	D	E	F	D	E	F	D	E	F	D	E	F	D	E	F
Temperatura mínima	-	-	15,5	13,8	12,2	11,4			11,8	18,2	15,1	19,6	14,6	13	15,4
Temperatura media	20,3	19,4	22,2	19,8	19,2	19,8	20,3	20	19,4	22,3	21,7	21,5	21,3	20,2	22,3
Temperatura máxima	26,9	27,8	29,7	27,1	27,3	28,7	28	27,5	27,4	28,2	28,8	28,7	29,2	28,1	30,4
HR mínima	55,1	50,4	45,8	51,4	49,4	44,7	49,5	49,1	46,3	62,2	47,7	46,4	53	51	46
HR, media	80,6	79,3	76,1	80,4	80,1	75,1	79,9	78,7	76,6	86,3	77,5	76,1	84	80	79
HR, máxima	95,5	97,4	96,3	96,8	97,1	96,2	96,9	96,4	96,8	99,2	96,3	94,7	100	99	99
Frecuencia de llluvias	8	6	9	5	9	4	3	8	3	9	11	9	4	8	6
Acum. llluvias (mm)	10,9	12,3	19	0,5	3,1	20,7	2,2	30,3	45,6	69,2	45,6	72,6	16,7	6,5	68
VMP (km/h)	38,9	37,2	40	37,4	40,7	42,1	23,2	32	28,8	26,6	31	35,5	9	12	12

D= Diciembre; E= Enero; F= Febrero; HR máxima= Humedad relativa máxima; HR mínima= Humedad relativa mínima; HR media= Humedad relativa media; Acum, llluvias (mm)= Acumulación de llluvias; VM P Vientos máximos promedio (km/h)



2.2.2 Primera etapa

En cada una de las zonas evaluadas (A, B, C, D, y E) se seleccionó un grupo de plantas en un número superior al 10%, las cuales fueron enumeradas con chapillas metálicas, con la condición de que todas florecieran. En todas las zonas existían plantas naturalizadas, y en D se establecieron además nueve plantas procedentes de diferentes estados de México. El diseño utilizado fue completamente aleatorizado, y se realizaron observaciones sobre la producción de legumbres.

Este estudio tuvo una duración de tres años (1996-1998). Las mediciones realizadas fueron: inicio de la floración, fecha de floración masiva y fecha de cosecha, con una frecuencia semanal; se consideró en la información el 50% o más de flores y de frutos. Para ello, se utilizó la simbología establecida con este fin (Machado *et al.*, 1999). Asimismo, se determinaron otros componentes del rendimiento como: legumbres/planta y número de plantas que producen semilla. Estas mediciones y observaciones, se realizaron en 15 flores y en las legumbres (Cronquist, 1981).

2.2.3 Segunda etapa

En esta etapa se evaluaron los individuos provenientes de las semillas cosechadas en Cuba, de la colección introducida de México y de la cuarentena de la EE “Indio Hatuey”, de las que se tomaron semillas de las plantas: 2, 3, 4, 5, 8 y 9; y de semillas colectadas de las procedencias de las zonas A, B, C y E, las cuales se mezclaron formando una población (primera generación descendiente de las plantas cubanas). Estas fueron sembradas en un área donde los tratamientos tenían una dimensión de 54 m² y 12 m² de parcela. Cada tratamiento fue replicado cuatro veces, se estudiaron seis plantas por parcela, es decir, 24 plantas por tratamiento. Se tomó como testigo el grupo naturalizado de Indio Hatuey.

La distancia de siembra utilizada fue de 3 m entre surcos y 2 m entre plantas; se empleó un diseño completamente aleatorizado y se estudiaron las tres poblaciones formadas por: las plantas naturalizadas en Indio Hatuey-Perico (no productoras), las descendientes de plantas introducidas de diferentes regiones de México y una mezcla de las introducidas de las zonas A, B, C y E, estas dos últimas obtenidas a partir de semilla.

La evaluación duró cinco años (2004-2008); las mediciones coinciden con las realizadas en la primera etapa.



2.2.4 Tercera etapa

En esta etapa se crearon bancos de semilla en Aguada de Pasajeros, Cienfuegos y en la Empresa Pecuaria Macún de Sagua la Grande, Villa Clara (de 1 ha de extensión cada uno, utilizando un marco de siembra de 4 x 2 m, lo que permitió obtener 1 250 plantas por hectárea en ambos casos), con las cosechadas del banco de semilla básica creado en la finca de la EE Indio Hatuey, provenientes de las plantas introducidas de México.

Se cosechó la semilla durante tres años (2007, 2008 y 2009). Las mediciones realizadas fueron: legumbres por planta, semillas promedio por legumbre, semillas por kilogramo y producción total. Se sembró en el lugar seleccionado un banco de semilla, para ponerlo en producción y a su vez valorar su potencial.

2.2.5 Detección del polimorfismo isoenzimático

Se realizó la detección del polimorfismo isoenzimático, con comportamientos distintos en la producción de legumbres y semillas, que podían justificar un estudio amplio y completo de la composición y la variabilidad isoenzimática de estas plantas.

2.2.5.1 Material vegetal

Para los análisis isoenzimáticos se emplearon rebrotes nuevos (de las hojas) de cada una de las procedencias. Las muestras se tomaron en horas tempranas de la mañana (7:00-9:00 a.m.), se guardaron en neveras y posteriormente se congelaron a -70°C. Las extracciones se realizaron en frío, según lo recomendado por González (2002) y Álvarez (2005).

2.2.5.1.1 Preparación de las muestras y electroforesis

Se maceraron en un mortero 0,5 g de hojas en nitrógeno líquido, a los cuales se les añadió 500 µL de sacarosa al 20% (Soltis y Soltis, 1989). Los extractos se guardaron en tubos *ependorf* de 0,5 µL a -4°C hasta su posterior utilización. Las primeras corridas electroforéticas se realizaron en gel de poliacrilamida (PAGE), utilizando un gel de separación de 8,5% con tampón (*buffer*) de corrida Tris-Glicina 0,04 M de pH 8,3, y gel concentrador de 4% en cámara de electroforesis vertical (Model V 16) y en sistemas tampón discontinuos para las isoenzimas peroxidasas, α- y β- esterasas y alcohol deshidrogenasas, según las metodologías descritas por según Álvarez *et al.* (2000). En todas las corridas se añadieron 30 µL de cada una de las muestras y 10 µL de tampón de carga (BC).



Posteriormente se utilizó el método recomendado por Chamberlain *et al.* (1996), el que se ajustó (anexo 4) debido a que las bandas observadas no estaban bien definidas. Se maceraron 0,5 g del tejido foliar en nitrógeno líquido y se añadió tampón de extracción 1/1 (m/v). El extracto se centrifugó a 14 000 rpm durante tres minutos y se colectó el sobrenadante para la electroforesis. Se empleó un tampón Tris-Citrato pH 8,3 al que se añadió KCl 0,08%, $MgCl_2$ 0,2%, EDTA 0,04%, 0,5 mL de Tritón x 100 1%, 2 mL 10% DTT y 25 mg PVP-40 4%.

Las corridas se efectuaron en cámaras de electroforesis vertical (Model V 16) y geles de poliacrilamida (al 8,5% para peroxidasas y alcohol deshidrogenasas y al 12% para esterasas), a 4°C, a 120 V, 20 mA, durante cuatro horas.

2.2.5.1.2 Tinción

Se realizaron las tinciones específicas (anexo 4) para peroxidasas (**Prx EC, 1,11,1,7**), α - y β -esterasas (**Est EC, 3,1,1-**) y alcohol deshidrogenasas (**Adh EC, 1,1,1,1**), según Álvarez *et al.* (2005).

Las corridas electroforéticas se repitieron tres veces y sólo se registraron las bandas consistentes y reproducibles. Los fenotipos isoenzimáticos de cada accesión se registraron como presencia/ausencia de cada banda (1/0, respectivamente).

Para la preparación de los extractos se tomaron muestras de 0,5 g del tejido foliar y en esta fase se realizaron estudios de la composición de isoenzimas para valorar la posible variabilidad dentro de los individuos y entre las procedencias de éstos, se homogenizaron en frío con tampón, el cual contenía 50 mL tampón (0,54 g Tris base, 0,128 g de ácido cítrico y 100ml de agua bidestilada, a pH 8,3), además de 40 mg de KCL, 100 mg de $MgCl_2$, 18 mg de EDTA, 0,5 mL de Tritón X-100, 2 mL al 10% de DTT y 2 g de PVP-40. El extracto se centrifugó a 14 000 rpm durante 3 minutos y se sometió entonces a los estudios electroforéticos.

En todos los casos, las corridas electroforéticas para los sistemas isoenzimáticos se efectuaron en geles de poliacrilamida al 8,5% para el caso de las peroxidasas y al 12% para las esterasas y la alcohol deshidrogenasa. El tiempo de corrida en cada caso estuvo determinado por el sistema isoenzimático en cuestión y por la intensidad de la corriente; la cámara de electroforesis utilizada fue una vertical sencilla Chamber Model V 16.

Después de efectuada la separación, se realizaron las tinciones específicas para la caracterización en los sistemas peroxidasas (**Prx EC, 1,11,1,7**), esterasas (**Est EC, 3,1,1**) y



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

alcohol deshidrogenasas (*Adh EC, 1,1,1,1*), según las metodologías descritas por Iglesias (1994). Los fenotipos isoenzimáticos de cada accesión en estudio fueron establecidos sobre la base del número y la presencia de cada banda, así cada banda detectada se caracterizó por un valor numérico de tinción de 0 (ausencia de la banda) y de 1 (presencia de la banda).

2.2.6 Valoración económica

Para realizar esta valoración se empleó la medida más directa del flujo de caja, lo que es igual al valor actualizado del saldo entre los ingresos en efectivo proyectados (VAN). El VAN representa la medida dinámica de la rentabilidad absoluta neta de cualquier actividad productiva o proyecto; en este caso se tomaron como referencia los cuatro años del estudio y se usó una tasa de actualización igual al 10%; se hizo un estudio comparativo de los ingresos y costos (siembra, establecimiento y explotación) de un sistema de producción de semilla de *G. sepium* plantado por estacas y de un sistema sembrado por semilla.

Para ello, se tomaron los registros de gastos e ingresos de la finca, con el objetivo de comprobar su factibilidad económico-financiera a mediano plazo. Se consideró una hectárea por sistemas, los indicadores analizados para los cálculos, fueron:

- Gastos de siembra, establecimiento y explotación
- Ingresos por venta de semilla
- Relación beneficio/costo
- Período de recuperación de la inversión
- Valor presente neto

2.2.7 Procesamiento estadístico

Los resultados de la primera y la segunda etapa se sometieron a un ANOVA, según modelo lineal de clasificación simple; se utilizó la prueba de comparación de medias de Duncan (Duncan, 1955) para un 5% de significación, después de verificarse que se cumplía con el ajuste de distribución normal y homogeneidad de varianza.

Se hizo además el análisis de correlación y descriptivo de las variables: porcentaje de plantas que producen legumbres durante los años de investigación, en las tres poblaciones formadas por las plantas naturalizadas en Indio Hatuey-Perico (no productoras), las descendientes de plantas introducidas de diferentes regiones de México y una mezcla de las introducidas de las zonas A, B, C y E. Todos los análisis mencionados anteriormente se realizaron a través del programa estadístico Infostat, versión 20071.



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

La matriz binaria de datos isoenzimáticos se usó para generar una matriz de similitud genética entre todos los pares de genotipos, expresada como el complemento del coeficiente de Dice (Dice, 1945), usando el programa SIMQUAL del paquete estadístico NTSYS-pc versión 2 (NTSYS-pc, 1997). Se hizo un análisis de conglomerados, basado en la matriz de similitud de Dice; para ello se generó un dendrograma en el programa SHAN, del mismo paquete estadístico. El criterio de agregación utilizado fue el método de la media aritmética de grupos no ponderada (UPGMA) (Sneath y Sokal, 1973). También se determinó la correlación cofenética (r), para hallar la homogeneidad entre la matriz de similitud y el dendrograma, y para representar la exactitud de la técnica utilizada (NTSYS-pc, 1997).

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Primera etapa

Hughes (1998) plantea que las principales características de todo patrón fenológico son su frecuencia, su amplitud (intensidad de respuesta), su duración (corta o extensa), la fecha y la sincronía en que se expresa. Este mismo autor afirma que las referencias de fenología para las especies de *Gliricidia*, están limitados a resúmenes a nivel de procedencias basados solamente en observaciones obtenidos en expediciones de recolección de semillas y en datos de especímenes de herbarios o de observaciones realizadas en lugares donde estas especies son nativas. Esta situación en mantiene vigente aún.

La aparición de flores y frutos en las especies de este género, según indica Hughes (1998) puede ocurrir de forma diferente, aun en las mismas condiciones de clima y suelo (figura 3.1). Es importante señalar que de acuerdo con las observaciones en campo, las procedencias de todas las zonas evaluadas tuvieron un comportamiento similar, tanto en la primera como en la segunda etapa, y por ello sólo se muestra la figura en esta etapa.

Las observaciones realizadas durante las dos primeras etapas de este estudio permitieron conocer que la floración masiva de *Gliricidia sepium* ocurre entre el 25 de diciembre y el 5 de enero en las diferentes zonas; de igual forma, coincide con la fecha de aparición masiva de legumbres, la cual se enmarca entre el 28 de enero y el 5 de febrero de cada uno de estos años. Lo anterior ratifica el criterio de Glover y Brewbaker (1984) cuando plantean que en esta especie la reproducción está condicionada por la existencia de épocas de lluvia y sequía bien definidas.

La fenología de *G. sepium* fue examinada en sus límites nativos por Simons (1996), quien refiere que las plantas estudiadas estaban reproducidas por cortes vegetativos o estacas, obtenidas de setos vivos. El mismo autor comenta que la mayoría de los estudios fuera de su origen nativo han sido conducidos por Sumberg (1985) en Nigeria, donde el clima es atípico para la floración y consideran que los descubrimientos no pueden ser considerados representativos.



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

FLORACIÓN

Especie	E	F	M	A	My	Jn	Jl	Ag	S	O	N	D
<i>G. sepium</i>												

FRUCTIFICACION

Especies	E	F	M	A	My	Jn	Jl	Ag	S	O	N	D
<i>G. sepium</i>												

E: Enero; F: Febrero; M: Marzo; A: Abril; My: Mayo; Jn: Junio; Jl: Julio; Ag: Agosto; S: Septiembre; O: Octubre; N: Noviembre; D: Diciembre

Figura 3.1 Comportamiento en los patrones fenológicos de floración y fructificación de las procedencias de *G. sepium* evaluadas (50% o más).

Asimismo agrega que en países como Nigeria las plantas florecen, pero fructifican poco o no lo hacen. Hughes (1987) sugiere que esto puede deberse a la ausencia de agentes polinizadores adecuados. Esto último es bien conocido; tal es así que Simons (1996) plantea que *G. sepium* atrae pocos visitantes a sus flores por causas de la dificultad en el apretamiento de la quilla de los pétalos para ganar el acceso al nectario.

Respecto a esto, este mismo autor afirma que de los 250 especies de abejas que existen en los bosques de América Central, menos de 10 han sido observadas en las flores de *G. sepium*; y añade que otros insectos como los thrips pueden ser agentes polinizadores. De hecho, este aspecto fue considerado para la conducción de este trabajo y se tuvo la precaución de que en cada uno de los hábitat en estudio existieran colmenas de abejas, productoras de miel; se constató además, en cada una de las observaciones, su presencia en las flores y su actividad. Debido a esto se puede afirmar que lo mencionado anteriormente no constituyó un factor limitante.

Simons (1996) explica que el hecho de que *G. sepium* florezca en el período seco una vez que pierde sus hojas, sustenta fuertemente la hipótesis de que es nativa de las costas del Pacífico con períodos secos, por ello, la escasez de la producción de semilla en la mayoría de los ambientes húmedos, tales como Campeche (en México), y Atlántide (en el norte de Honduras), sugiere que esta planta no es nativa de allí. En muchos casos, como afirma este autor, las condiciones biológicas y del clima son tales que los arbustos no son capaces de reproducirse sexualmente, y estos tienen que ser plantados con partes vegetativas. Sin embargo, si se quiere



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

incluir esta especie como forrajera de ramoneo en los nuevos sistemas silvopastoriles que se fomenten, es más factible su siembra por semilla.

Atendiendo a lo anteriormente planteado se deduce la importancia de crear bancos de producción de semilla, en diferentes zonas, que permitan propagar a *G. sepium* por esta vía, pues se garantizará que esta planta pueda ser utilizada exitosamente en los mencionados sistemas, ya que al ser sembrada a partir de su propia semilla, dispondrá de un sistema radicular caracterizado por una raíz principal pivotante que le garantiza un mejor anclaje, y la hace resistente a la acción de ramoneo de los animales en pastoreo, lo que no son capaces de resistir los árboles plantados por estacas, pues solo tienen raíces laterales que las hacen frágiles ante la acción de los animales en el ramoneo y generalmente son arrancadas; asimismo, a los eventos meteorológicos con alta velocidad del viento, afectan mucho más a plantas logradas por estacas que las que resultan de la siembra por semilla.

Por otra parte, las plantas resultantes de la siembra por semilla disponen de raíz que alcanza mayor profundidad subterránea y ello le permite acceder a nutrientes y al agua a niveles más profundos, lo que representa una gran ventaja en países con marcadas épocas de sequía; así se favorece el propósito de estas plantas al ser utilizadas como productoras de forrajes y sombra y aportadoras de nitrógeno al suelo, que es aprovechado por el pasto acompañante de los sistemas silvopastoriles, lo que les permite ser más sostenibles.

En la tabla 3.1 se muestra el comportamiento de la producción de semilla en las cinco zonas seleccionadas en el primer año de evaluación. Como se puede observar se destacan las zonas A y E (costeras), con 40 y 43 legumbres/plantas, que de acuerdo con lo informado por Salazar *et al.* (2000) son valores bajos. Estos autores refieren además que las producciones de semilla en los países de origen de *G. sepium* oscilan entre 300 y 400 gramos de semillas/planta, lo cual significa una producción de 300-400 legumbres/planta; por ello, señalan que se requieren aproximadamente 1 000 legumbres para producir un kilogramo de semilla, que a su vez contiene entre 6 000 y 11 000 semillas.

En años anteriores a la presente investigación, se sostenían criterios muy generalizados de que existían zonas más productoras de legumbres por árboles en la especie *G. sepium* y que se debía fundamentalmente a cuestiones inherentes al clima, determinado por el régimen pluviométrico; mientras que lo adjudicaban al suelo. Pero sí era irrefutable que existían lugares como el territorio del municipio de Perico y la EEPF "Indio Hatuey", donde estos árboles a pesar



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

de la abundante floración masiva posterior a diciembre (como en las restantes zonas del país), no producían legumbres.

Tabla 3.1 Comportamiento de los componentes de la producción de semilla en el primer año.

Zonas	Legumbres/ plantas	Gramos de semillas/ planta	Semillas/ legumbres	Número de plantas que producen semillas	Total de plantas	% de plantas
Rodal y cerca de Cienfuegos (A)	40,4	29	3,3	17	18	94,4
Finca "Las Maravillas", Aguada (B)	5	-	-	1	5	20
Vaquería "La Muralla", Ariza ©	4,5	1,8	2,7	9	12	75
Perico-Indio Hatuey (D)	0	-	-	0	0	0
Plantas introducidas de México cuarentenadas en Indio Hatuey	NP	-	-	-	-	-
Matanzas-Universidad (E)	43	16,8	2,9	1	1	100

NP : no producen

No obstante, hoy los argumentos anteriores son discutibles, es decir no pueden ser expuestos de forma categórica sin conocer sus verdaderas causas. En la zona D, en el primer año de estudio, la aparición de legumbres fue prácticamente nula; mientras que en la zona A, considerada como alta productora, el 94,4% de las plantas produjeron legumbres, en cantidad significativa. En este momento las plantas introducidas y cuarentenadas desde México en Indio Hatuey no producen semillas pues no estaban aptas biológicamente para producir.

Este comportamiento de la producción de semilla puede atribuirse a que los patrones fenológicos se manifiestan de forma muy diferente cuando los árboles crecen fuera de sus zonas nativas, ya que como plantean Allison y Simons (1996) *G. sepium* fuera de los lugares de origen, particularmente en los ambientes húmedos sin período seco bien definido, tiene producciones de semilla muy bajas. Lo anterior se ratifica con lo planteado por Hughes (1987), acerca de que esta especie en su área de distribución natural, produce semillas en la mayoría de los años a un tiempo altamente pronosticable. Este no parece ser el caso donde la especie es cultivada, posiblemente debido a los factores genéticos y a la falta de insectos polinizadores.

Resultados similares han sido observados en Centroamérica y México por el mencionado autor, en Sri Lanka (Glover, 1986) y en Nigeria por Sumberg (1985). Por otra parte, pudieron influir las condiciones edafoclimáticas presentes, las cuales en determinados lugares no son las idóneas



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

para que las plantas manifiesten su capacidad de reproducción y adaptación al medio en que se encuentran, como refiere Hidalgo (2003); a la expresión genética de las plantas en determinantes ambientes o a estrés fisiológico.

Asimismo, pudo estar muy relacionado con las barreras de cruzamiento y dentro de ellas las intraespecíficas (dentro de la misma especie vegetal), las cuales afectan un amplio rango de procesos fisiológicos que ocurren a lo largo de la vida de la planta; son particularmente importantes las que se desarrollan durante el intercambio de información entre el gameto masculino (polen) y los tejidos reproductivos femeninos (el pistilo, formado por el estigma, el estilo y el ovario) durante la polinización y fertilización (Flores, 2003).

Dentro de los diferentes tipos de barreras de cruzamiento intraespecíficas, el mecanismo más estudiado y difundido es el de la autoincompatibilidad (SI) que involucra específicamente las interacciones polen-pistilo. La autoincompatibilidad se define como la inhabilidad de una planta hermafrodita fértil para producir cigotos luego de la autopolinización. Alrededor de 71 familias de Angiospermas poseen dicho mecanismo para promover la alogamia. La autoincompatibilidad involucra el intercambio de información entre el polen y el tubo polínico con el pistilo, permitiendo al estigma y al estilo diferenciar el polen proveniente de plantas genéticamente idénticas del polen proveniente de otros miembros de la misma especie. Así, las plantas autoincompatibles son completamente estériles con respecto a su propio polen, pero fértiles con respecto a granos de polen que no son propios (Liedt y Anderson, 1994).

También pudiera explicarse a través de *mast seeding*, fenómeno habitual de las plantas perennes que se define como “la producción intermitente de semillas en poblaciones de plantas perennes”, también llamado: fructificación masiva, floración periódica, floración supra-anual, sincronía esporádica estacional y otros. Esto es muy usual en las plantas perennes, ya que son las menos afectadas en el costo de no reproducirse en determinados años; aunque los árboles son los ejemplos más conocidos, especialmente en el hemisferio norte, también se presenta en plantas herbáceas (Rosas *et al.*, 2004).

La más reciente explicación de *mast seeding* es la hipótesis de la armonía con los recursos combinados (*matching resources*): la producción de semilla varía porque la disponibilidad de recursos de la planta varía. Es un fenómeno que no puede aplicarse a individuos, sino que es propio de poblaciones.



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Girardinia sepium*

En la tabla 3.2 se presenta el comportamiento durante el segundo y el tercer año de evaluación, donde se incluyen las plantas introducidas desde México. Las plantas seleccionadas en la finca “Las Maravillas”, en la vaquería “La Muralla” (ambas situadas en Cienfuegos) y las plantas naturalizadas en “Indio Hatuey” no produjeron legumbres ni semillas, pero a su vez, las plantas evaluadas en la zona A (Rodal y cerca de Cienfuegos) y las introducidas de México en Indio Hatuey sí produjeron.

Se debe señalar que estas plantas no productoras en el segundo y tercer año, aunque tuvieron una cantidad insignificante de legumbres por planta en el primer año, no produjeron semilla y en alguno de los casos sólo se observó la presencia de una o dos legumbres, lo cual no es significativo a la hora de predecir su verdadero potencial de producción, ya que este depende también de otros factores tanto bióticos como abióticos, lo que se corrobora con las investigaciones realizadas por Sumberg (1985) en un huerto de semilla de 18 meses de edad en Nigeria, donde se alcanzó un promedio de 37 kg de semilla/ha.

En estos dos años con respecto al primero, en las zonas A y D se observó un comportamiento diferente. En este caso la zona D, que ya tenía árboles en producción de germoplasma colectado e introducido desde México, mostró los valores más elevados por planta, aun cuando solo fructificó el 55,5% en el tercer año. En cambio en las plantas naturalizadas, que se evaluaban en la zona D, desde el primer año de estudio fue nula su producción, aunque florecieron de forma abundante.

Por otra parte, en 1997 produjo frutos el 100% de las plantas; en cambio, durante 1998 sólo ocurrió en el 55,56% de los árboles, lo cual puede que esté muy relacionado con la fecundación realizada por los insectos en la polinización, ya que como se observó en el primer año todas fueron fecundadas. Esto podría atribuirse a la acción de los agentes polinizadores o a la sincronización en la maduración en tiempo del óvulo de alguna de las plantas. Del mismo modo, las mayores precipitaciones posiblemente afectaron la actividad polinizadora.

Esta variabilidad de los rendimientos pudo haber ocurrido en otras zonas, ya que como se observa en la zona A en el año 1996 (bajo rendimiento), el 94% de sus árboles aportaron legumbres; mientras que en 1997 la totalidad de ellos tuvieron un rendimiento del 70% superior, en lo que pudo también influir el clima. Es preciso hacer referencia a lo señalado por Glover (1986), acerca de que la precipitación durante el período en el que florece la girardinia en el Pacífico a veces impide su fructificación, lo que también pudo haber sucedido en esta investigación.

Tabla 3.2 Comportamiento de los componentes de la producción de semilla en el segundo y tercer año.

Variables	Legumbres/ plantas		Gramos de semillas/ planta		Semillas/ legumbre		Número de plantas que producen semillas		Total de plantas		% de plantas		
	Año	97	98	97	98	97	98	97	98	97	98	97	98
Plantas introducidas de México cuarentenadas en Indio Hatuey Rodal y cerca de Cienfuegos (A)		104,7	85	65,9	18,7	6,8	7,2	9	5	9	9	100	55,5
Finca “Las Maravillas”, Aguada (B)		50	25,2	12,4	12,5	4,7	4,6	19	15	19	22	100	68,1
Vaquería “La Muralla”, Ariza (C)		0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0
Plantas naturalizadas en el lugar IH (D)		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	0	0
Matanzas-Universidad (E)		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0
		70,3	148	40,6	93,2	4,1	4,6	1	4	1	4	100	100



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Glyricidia sepium*

En este sentido, Wilsie (1970) señaló que en el estado reproductivo y el desarrollo de las plantas tiene importancia no sólo el valor absoluto del elemento climático, sino también su frecuencia y distribución. Posiblemente, debido a esto el mayor rendimiento de semilla por planta en 1997 fue aproximadamente 13 veces superior al de 1998, ya que en este caso se apreció un mayor volumen de precipitación, el cual pudo haber favorecido el mejor llenado de las legumbres. Este es el elemento del clima que influye favorablemente en los rendimientos, sobre todo cuando no se presenta en exceso, y no interacciona negativamente con otros factores bióticos o abióticos.

Los indicadores del clima que favorecen el desarrollo no siempre lo hacen de la misma forma para el crecimiento vegetativo y el rendimiento. Estos fenómenos proporcionan elementos al análisis, que lo hacen un tanto más complejo. Por ello, Wilsie (1970) plantea que los ecólogos y agrónomos han buscado métodos con los que expresan las relaciones que existen entre las condiciones del medio y la productividad de la cosecha, y uno de los más importantes es el hecho de conocer la correlación entre la magnitud de ciertos factores y el rendimiento final.



3.2 Segunda etapa

En la tabla 3.3 se muestran las correlaciones entre los factores del clima con la producción de legumbres. Se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,05$), aunque las correlaciones fueron bajas en valor absoluto (R no fue superior en ningún caso a 0,4). En este sentido, Shepard (1913) en su "teoría de la tolerancia", afirma que todas las especies son capaces de reproducirse dentro de los límites climáticos y edáficos bien definidos, y estos representan su tolerancia; aunque el período de reproducción es usualmente crítico cuando los factores son limitantes.

Tabla 3.3 Correlación simple de Pearson entre el número de legumbres y algunos factores climáticos.

Legumbres por planta	r	p	
Temperatura mínima de diciembre	-0,348	0,002	**
Temperatura mínima de enero	-0,357	0,001	**
Temperatura media de diciembre	-0,211	0,016	**
Temperatura media de enero	-0,293	0,001	**
Temperatura máxima de diciembre	-0,241	0,006	**
Temperatura máxima de febrero	0,259	0,003	**
Humedad relativa mínima enero	0,249	0,004	**
Humedad relativa mínima de febrero	-0,304	0,000	**
Humedad relativa media de enero	0,283	0,001	**
Frecuencia de las lluvias en enero	-0,233	0,008	**
Lluvia acumulada en enero	-0,332	0,000	**
Lluvia acumulada en febrero	-0,302	0,000	**
Nubosidad enero	-0,191	0,029	*
Nubosidad febrero	0,229	0,009	**
Evaporación febrero	0,312	0,000	*

*La correlación es altamente significativa al nivel de 0,01

**La correlación es significativa al nivel de 0,05

Al hablar de las precipitaciones deben incluirse las temperaturas que como se plantea en la literatura, es el elemento climático que más interactúa como factor limitante para esta especie (Glover, 1986). Sin embargo, como es posible apreciar en la tabla 2.4 las temperaturas medias, mínimas y máximas están dentro de los valores que informa Glover (1986) para este árbol leguminoso en su origen nativo, lo que confirma las posibilidades climáticas para el crecimiento y el desarrollo de esta especie en Cuba.

En este análisis no debe obviarse el posible efecto de la edad de los árboles en la producción de legumbres, ya que el mismo puede influir de forma significativa, como ocurrió en la zona B (Las Maravillas), donde fueron seleccionados árboles de más de 40 años y no produjeron legumbres a pesar de florecer abundantemente. Esto no se le puede atribuir a la ausencia de insectos



polinizadores, pues se pudo comprobar que árboles más jóvenes cercanos al lugar e idéntico hábitat produjeron gran cantidad de legumbres.

En este sentido, Donoso (1993) al estudiar la variación en una planta arbórea, no halló relación con los factores climáticos; por su parte, Kelly (1994) no menciona esta como causa probable del *mast seeding*; sin embargo, en esta investigación se encontraron correlaciones significativas estadísticamente, entre la producción de legumbres y varios factores climáticos (tabla 3.3). Las correlaciones con las temperaturas de diciembre y enero son negativas, lo que pudiera indicar que la localidad Indio Hatuey no es la más apropiada para la producción de semilla de gliricidia, ya que esta es una de las localidades donde se presentan las temperaturas más bajas del país en los meses de diciembre y enero. No obstante, los valores extremos de producción de legumbres en plantas introducidas en esta zona, demuestran que no solo las temperaturas son determinantes, pues existen plantas que sobrepasan las 1 100 legumbres, (valor considerado como significativo para esta especie), que a veces no se logran en regiones consideradas como óptimas.

Asimismo, se presentaron correlaciones negativas con la frecuencia y el acumulado de lluvias de enero, al igual que con la nubosidad; mientras que hubo correlación positiva con la humedad relativa mínima de ese mes, por lo que se deduce que la humedad del aire perjudica de alguna forma la polinización o la presencia de los insectos en la flor, o la formación del embrión y desarrollo de la semilla.

Probablemente, el inconveniente de que al menos tres procedencias o clones no producen ninguna semilla, esté relacionado con factores genéticos tales como los alelos S de incompatibilidad; y en aquellas descendencias de distintas procedencias que muestran variabilidad en cuanto a la producción (cantidad) de legumbres, puede deberse a la variación interanual, lo que pudiera ser un indicador de que unas tienen mayor capacidad de reproducción y adaptación (a los factores climáticos) que las otras (Hidalgo, 2003). Dicho aspecto coincide con los resultados obtenidos de este estudio; por ejemplo, las progenies de las plantas procedentes de México (Veracruz y Puebla), que provienen de altitudes de msnm muy superiores a la localidad Indio Hatuey, produjeron mayor cantidad de legumbres que las progenies de árboles naturalizados en Cuba.

Al respecto Salazar *et al.* (2000) plantean que las altas producciones de semilla no son típicas de las áreas donde la especie ha sido introducida como cultivo, debido probablemente a la falta de



insectos polinizadores o a factores genéticos relacionados con la adaptación, lo que parece ser el caso de las procedencias de Cuba; mientras que Glover (1989) informa que en América Central la floración y fructificación ocurren durante el período seco (febrero-abril), y en otras partes de Asia y el Pacífico Sur la floración se manifiesta en el período lluvioso, pero no siempre se producen legumbres o semillas.

En las tablas 3.4, 3.5 y 3.6 se exponen los resultados de las correlaciones con las temperaturas y las lluvias acumuladas durante el invierno y el verano del mismo año de la cosecha, del año anterior, y de los dos años anteriores. Como se puede observar en la tabla 3.4, existe correlación negativa con la lluvia de invierno del mismo año de cosecha que coincide con la floración y la fructificación, lo que pudiera indicar que la humedad perjudica la fructificación o la polinización.

Tabla 3.4 Correlaciones entre el número de legumbres y las temperaturas y las lluvias de verano e invierno del mismo año de cosecha.

	TMINV	LLUVINV	TMVER	LLUVVER
r	0,002	-0,216	0,304	0,149
p	0,980	0,013	0,000	0,093
		**	**	

TMINV: temperatura mínima de verano; LLUVINV: lluvia de invierno ; TMVER: temperatura mínima de verano ; LLUVVER: lluvia de verano

*La correlación es altamente significativa al nivel de 0,01

**La correlación es significativa al nivel de 0,05

También existe correlación con la temperatura de invierno de un año antes (tabla 3.5) y con la lluvia de invierno de dos años antes (tabla 3.6), y correlación negativa con la lluvia acumulada del verano de un año antes; ello demuestra la influencia que tienen la humedad del suelo y las temperaturas en los períodos de acumulación de las reservas de la planta para la fructificación, lo que pudiera ser un indicio del efecto de los factores climáticos en la variación interanual de la producción de semilla. Al parecer, los árboles requieren cierto período de tiempo de acumulación de reservas, para una etapa reproductiva eficiente. Resultados similares fueron encontrados por Rosas *et al.* (2004).

Este mismo autor, en su teoría de la armonía con los recursos, plantea que la producción de semilla de los árboles suele tener correlación con las temperaturas y las lluvias del año anterior y/o de los dos años anteriores de la cosecha evaluada, ya que dedica recursos a prepararse para la reproducción y el almacenaje de nutrientes que se produce durante algunos años previos al florecimiento y a la semillación. Por su parte, Jara (1995) afirma que la selección natural favorece en la naturaleza aquellos especímenes mejor adaptados a las condiciones presentes en un



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

determinado ambiente, dando lugar a nuevos genotipos, por lo que este comportamiento incluye la intervención de factores genéticos; mientras que Stewart (2007) atribuye gran importancia a la evaluación de la variabilidad genética en el estudio de las procedencias.

Tabla 3.5 Correlaciones entre el número de legumbres y las temperaturas y las lluvias de verano e invierno del año anterior a la cosecha.

	TMINV	LLUVINV	TMVER	LLUVVER
r	0,340	0,131	0,203	-0,229
p	0,000	0,136	0,021	0,009
	**		*	**

TMINV: temperatura mínima de verano; LLUVINV: lluvia de invierno ; TMVER: temperatura mínima de verano ; LLUVVER: lluvia de verano

*La correlación es altamente significativa al nivel de 0,01

**La correlación es significativa al nivel de 0,05

Tabla 3.6 Correlaciones entre el número de legumbres y las temperaturas y las lluvias de verano e invierno de dos años anteriores a la cosecha.

	TMINV	LLUVINV	TMVER	LLUVVER
r	0,230	0,411	-0,025	-0,076
p	0,009	0,000	0,775	0,395
	**	**		

TMINV: temperatura mínima de verano; LLUVINV: lluvia de invierno ; TMVER: temperatura mínima de verano ; LLUVVER: lluvia de verano

*La correlación es altamente significativa al nivel de 0,01

**La correlación es significativa al nivel de 0,05

Es importante señalar, que las descendencias de las procedencias relativamente altas productoras de semilla (como las procedentes del rodal cerca de Cienfuegos y las de México) también mostraron gran variabilidad interanual e intrapoblacional en la producción de semilla, de lo que se pudiera deducir que son varios los factores que intervienen en dicho proceso, en esta especie.

Las plantas que no produjeron semilla responden posiblemente a incompatibilidades polen-pistilo, debido a genes de incompatibilidad (alelos S) que podrían estar presentes en las plantas no productoras (es decir, aquellas que nunca produjeron semilla), como las naturales de Indio Hatuey. *Gliricidia* se reporta como planta de polinización entomófila, y aunque no se estudió la población de insectos, lo más probable es que la ausencia de estos no sea la causa de que no haya producción, ya que todas las procedencias estuvieron sometidas a las mismas condiciones durante varios años, con un comportamiento similar.



Al respecto Kelly y Sork (2002) concluyeron que la variación interanual es una característica reproductiva adaptativa, pero influida por el clima. Ellos analizaron que en ausencia de la selección para una variabilidad más alta o más baja, las plantas variarían en correspondencia con el ambiente, y que dos factores selectivos favorecen a menudo la evolución del *masting*: 1) la eficacia creciente de la polinización en especies anemófilas; y 2) la saciedad de los depredadores de la semilla (cuando las plantas producen poco, los depredadores no pueden reproducirse y le sigue una etapa de alta producción). Otros factores, tales como la polinización y la dispersión por animales, seleccionan en contra de la variación interanual.

Estos mismos autores, al analizar 570 bases de datos, demostraron que las especies polinizadas por el viento tenían coeficientes de variación (CVs) más altos de producción de semilla, que los polinizados bióticamente. El patrón global de *masting* (Kelly y Sork, 2002) muestra que la variabilidad de la producción de semilla es más alta en las latitudes medias (que es el caso de Cuba), lo cual concuerda con los resultados de este trabajo, donde se puede afirmar que en la producción de semilla de esta especie intervienen tanto los factores genéticos como los climáticos (los primeros son determinantes).

Por otra parte, se produjo una marcada variación interanual (figura 3.1) de la producción de legumbres, tanto en las plantas productoras de semilla cubanas como mexicanas. Evidentemente, las plantas procedentes de México presentaron una producción de legumbres relativamente mayor (hasta más de 1 200 en los años de mayor producción) que las procedencias de regiones cubanas (figura 3.2), que presentaron producciones inferiores a 200 legumbres por año.

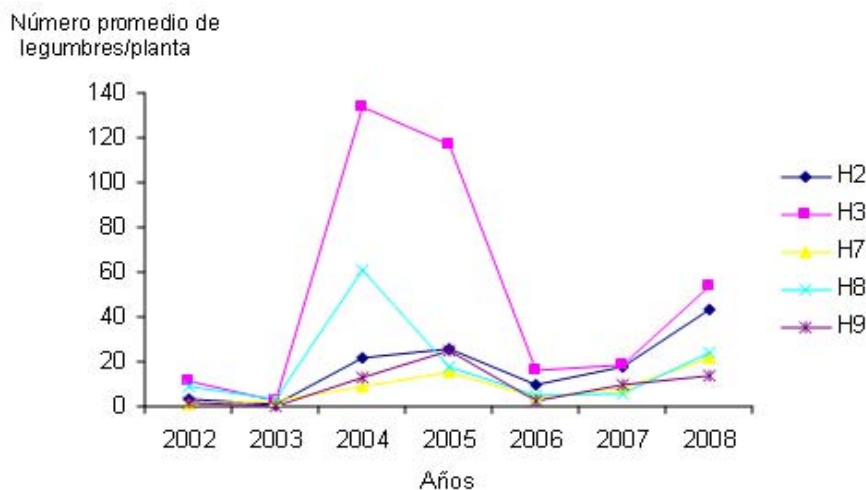
Sin embargo, la variación dentro de las poblaciones también fue marcada y hubo plantas en ambas procedencias que no produjeron ninguna semilla en algunos años o con niveles de producción fueron muy variables de un año al otro; así como existió correlación significativa para cinco de los siete años evaluados y de estos con las medias de las plantas individuales muestreadas (tabla 3.5).

También debe considerarse la variación interanual de la producción de semilla, la cual según reportes de Kelly (1994) se presenta por diversas causas. Por un lado, se plantea que tiene relación con la acción conjunta de variables fisiológicas y morfológicas dentro de la planta, debido a que el proceso de almacenaje de nutrientes se produce durante algunos años previos al



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Glyricidia sepium*

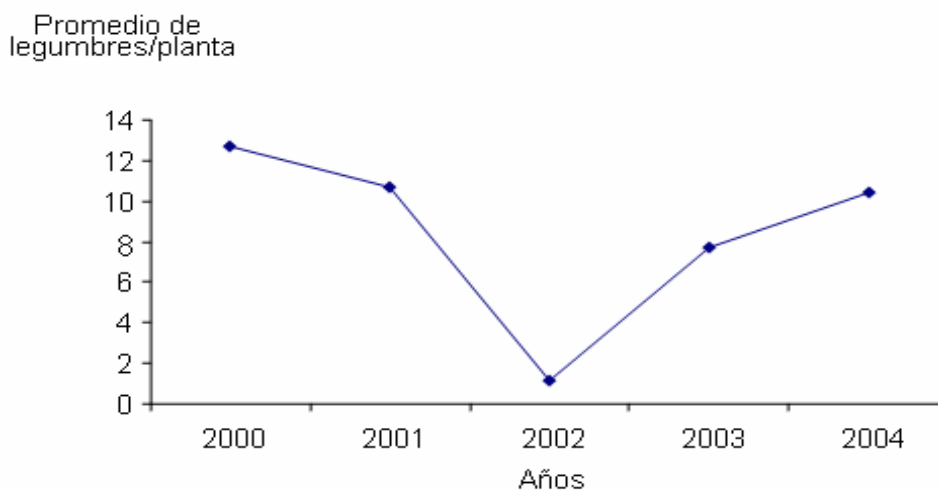
floreCIMIENTO y la semillación. Se plantea que esto es una respuesta a variaciones climáticas, adaptaciones frente a depredadores y optimización de la eficiencia en la polinización.



Escala 1-10

Figura 3.1 Variación interanual de la producción promedio de legumbres de cinco procedencias (plantas introducidas de México).

H₂:hijas de la planta 2; H₃:hijas de la planta 3; H₇:hijas de la planta 7; H₈:hijas de la planta 8; H₉:hijas de la planta 9.



Escala 1-10

Figura 3.2 Variación interanual de la producción promedio de legumbres en la descendencia de plantas cubanas.



En este caso, la hipótesis relacionada con el clima sostiene que las variaciones interanuales en la producción de semilla pueden ser simplemente una consecuencia de las fluctuaciones en los factores climáticos, pero a veces responde a la temperatura y/o a la precipitación de uno a dos años antes. No obstante, no existe un consenso general acerca de los factores medioambientales que estimulan la inducción floral (temperatura, sequía) y sobre todo con respecto a los efectos específicos de éstos en los procesos fisiológicos de la producción de semilla. Por esta razón, la hipótesis climática es frecuentemente empleada como hipótesis nula para explicar las variaciones en este sentido.

Por otro lado, se postula en relación con la hipótesis de depredación se basa en que una alta variación interanual permite la supervivencia de muchas semillas en los años de alta producción, debido a la saciedad de las poblaciones de depredadores. Estas, limitadas por la magra disponibilidad de alimento en los años de baja producción, serían incapaces de aumentar su abundancia con rapidez suficiente como para aprovechar el incremento repentino de los recursos alimenticios (Kelly, 1994).

La hipótesis de eficiencia en la polinización establece que las variaciones en la producción de semilla serían consecuencia de una sincronización en el florecimiento de las especies a través de los años. Esta hipótesis condicionaría que la variación interanual en la producción, se desarrolle debido al aumento en el éxito en la fertilización que ocurre cuando está disponible una mayor cantidad de polen (Sork, 1993).

Aunque las hipótesis mencionadas pueden explicar por sí solas la periodicidad en la producción de semilla y la sincronía entre individuos y poblaciones, existe consenso entre diferentes autores, en que la variación interanual en este indicador puede ser el resultado de una combinación de ellas (Donoso *et al.*, 1993; Piovesan y Bernabei, 1997; McKone *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2000; Kelly *et al.*, 2001; Piovesan y Adams, 2001; Hoshizaki y Hulme, 2002).

Todo ello coincide con lo reportado a nivel mundial respecto al fenómeno del *mast seeding*, expuesto profusamente en la literatura mundial e informado en Cuba por Pérez *et al.* (1988), Pérez *et al.* (1997) y por Pérez y Rolo (1998), con variación entre la cantidad de legumbres de este y otros árboles leguminosos y los años. Donoso *et al.* (1993) han obtenido información en cuanto a la producción de semilla y hojarasca en los bosques siempreverdes de la ladera occidental y en los bosques de alerce de la Cordillera de la costa de Valdivia para *Drimys winteri* s.



Al evaluar las descendencias de las procedencias de México, que son las más productoras, aunque hubo diferencias en el promedio de legumbres por planta, se observó una tendencia similar en el comportamiento y los años 3 y 4 fueron los más productores; aunque es válido señalar que no existió total coincidencia en los años más productores de ambas procedencias. La progenie H₃ (hijas de la planta 3) fue la más productora.

De acuerdo con Kelly (1994), en los últimos años se ha observado una revolución en la comprensión de las causas de la variación interanual de la producción de semilla en las plantas perennes. Antes de 1987, las dos teorías principales eran la armonía con los recursos (las plantas varían su resultado reproductivo para armonizar con los recursos variables) y el consumo por los depredadores (las pérdidas por los depredadores se reducen mediante la variación en la producción de semilla). Actualmente, la primera teoría está restringida a un papel secundario, y el consumo por los depredadores es sólo una de las muchas hipótesis para fundamentar la variación interanual de la producción de semilla. La anemofilia, la predicción de los años favorables para el establecimiento de las plántulas, la polinización por los animales, la dispersión de frutos por los animales, los altos costos de la reproducción y el gran tamaño de las semillas han sido presentados como causas posibles de la variación interanual de la producción de semilla.

De estas, la anemofilia, el consumo por los depredadores y la predicción ambiental son las más estudiadas para un gran número de especies, a diferencia de las otras. En el futuro deben producirse avances importantes a partir de la cuantificación de la sincronía dentro de una población y el examen de especies con reproducción interanual muy constante. En el presente caso se trata de una planta entomófila de semilla pequeña que parece ser afectada también por los factores del clima.

Respecto a la calidad de la semilla, no se brinda información en los resultados, ya que no fue objetivo fundamental en este trabajo. No obstante, se puede plantear que la germinación de esta especie no presenta dificultades, ya que en todas las pruebas efectuadas estuvo por encima del 90%. Al parecer, el problema principal está en los períodos largos de almacenamiento.

Respecto a esto, Allison y Simons (1996) plantean que su mejor rango de contenido de humedad oscila entre 6 y 10%, y que almacenada por debajo de 4°C puede durar más de 10 años con más del 90% de germinación. Su fácil y rápido brote corrobora lo planteado por Hughes (1987) referente a que esta semilla no necesita pretratamiento. CATIE (1991), señala que cuando la semilla posee más de un año, es recomendable sumergirla en agua a temperatura ambiente durante 24 horas.



3.3 Tercera etapa

En las fotos 6, 7, 8 y 9 se muestra el comportamiento de los diferentes grupos de plantas introducidas o naturalizadas en Indio Hatuey-Perico, de acuerdo con su procedencia y características productivas, las cuales se obtuvieron en viveros para diferentes objetivos: como cercas, setos vivos, para rodales o como productoras de semilla básica.



Foto 6 Plantas naturalizadas en la zona de Indio Hatuey-Perico (no productoras de legumbres).



Foto 7 Plantas introducidas de Guamuhaya en la zona de Indio Hatuey-Perico (productoras). Muestreo de 40 plantas, 140 legumbres/planta.

En un lugar o zona con el mismo tipo de suelo o clima, en el cual no se producía legumbres o semilla, con la introducción de nuevos genes de plantas productoras se puede cambiar ese comportamiento; ello demuestra que el factor principal que influye en la producción o no de legumbres en estas plantas, en áreas externas a sus áreas de origen, está muy relacionado con su composición genética. Este resultado corrobora lo planteado por Sumberg (1985), acerca de que *G. sepium* en su área de distribución natural produce semilla en la mayoría de los años a un



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

tiempo altamente pronosticable, lo cual no ocurre cuando la especie es cultivada, posiblemente debido a los factores genéticos y a la falta de insectos polinizadores.



Foto 8 Plantas introducidas de México en la zona de Indio Hatuey-Perico (hijas productoras). Muestreo de 40 plantas, 150 legumbres/planta.



Foto 9 Plantas introducidas de México (nietas productoras). Muestreo de 40 plantas, 130 legumbres/planta.

En la tabla 3.7 se muestran los resultados en el banco de semilla en la Empresa Pecuaria Macún, del municipio Sagua la Grande en la provincia de Villa Clara. Se puede apreciar la variabilidad en los rendimientos en producción de legumbres y la diferencia significativa entre el año tres y los dos iniciales.

Tabla 3.7 Resultados en el banco de legumbres de la Empresa Pecuaria Macún.

Legumbres/planta										
Años	No. de plantas									Promedio
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
2007	68	77	62	45	67	81	76	95	128	78
2008	75	82	69	53	58	92	81	122	97	81
2009	320	455	378	376	443	501	442	498	541	439



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Gliricidia sepium*

En la foto 10 se muestra momentos de la cosecha de semilla en el banco de la Empresa Pecuaria Macún, lugar donde las plantas naturalizadas de *G. sepium* nunca han producido semilla. En la foto 11 se puede observar la cosecha de legumbres en el banco de la UBPC Aguada y la gran cantidad de legumbres producidas por estas plantas, a diferencia de la empresa anteriormente mencionada (realizada el 5 de mayo de 2009).



Foto 10 Banco de semilla de Macún, Sagua la Grande.



Foto 11 Banco de semilla UBPC Aguada.

En estas fotos se muestra como al introducir material genético procedente de plantas altamente productoras en los municipios Aguada de Pasajeros y Sagua la Grande, sitios donde las plantas naturalizadas de *G. sepium* no producen o producen muy pocas legumbres, se pueden lograr producciones significativas. Asimismo, se inició en este lugar, la introducción de esta especie en sistemas silvopastoriles dedicados a la alimentación de terneros. Lo anterior reafirma el criterio de que el factor principal que influye en la producción de legumbres y semilla en la región central de Cuba (donde *G. sepium* es cultivada, fuera de su área de distribución natural) es la genética



.....Factores que influyen en la producción de semilla de *Girardinia sepium*

de su procedencia, la cual varía en función de la alta variabilidad de la especie, al ser esta, una planta alógama.

La tabla 3.8 muestra los resultados de producción de legumbres en el banco de semillas existente en la UBPC Aguada, municipio Aguada de Pasajeros, Cienfuegos.

Tabla 3.8 Resultados en la producción de legumbres en el banco de la UBPC Aguada.

Legumbres/planta										
Años	No. de plantas									Prom.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
2007	78	89	79	85	74	96	88	97	95	87
2008	69	84	73	81	89	83	78	90	89	82
2009	549	556	600	589	458	521	599	567	603	560

Se debe señalar que el crecimiento productivo en el tercer año fue significativo con respecto a los demás, situación similar a la descrita en los resultados del banco de semilla de Macún, lo que pudo ser motivado por la madurez alcanzada por las plantas al tercer año de vida. Esto coincide con lo planteado por Kelly (1994) acerca de que la variación interanual en la producción de semillas (*mast seeding*) es un fenómeno habitual de las plantas perennes que se define como “la producción intermitente de semillas en poblaciones de plantas perennes”, y además en su más reciente explicación al plantear la hipótesis de la armonía con los recursos combinados (*matching resources*). En este caso, la producción de semilla varía porque la disponibilidad de recursos de la planta también varía.



3.4 Detección del polimorfismo isoenzimático

Los estudios de polimorfismo isoenzimático en colecciones de germoplasma, pueden ser útiles para el informe y mantenimiento de la diversidad genética presente en las colecciones. Las isoenzimas han sido utilizadas para estudiar la dinámica poblacional, agrupar los sistemas de varias especies y para estimar la variabilidad genética presente en especies y accesiones de diferentes cultivos (Acosta, 1999; Florido, 1999).

Según informes de Clavero (1998) y García (2003) la especie *G. sepium* presenta alto contenido de metabolitos secundarios; en las extracciones enzimáticas con sacarosa al 20%, tal y como se hacen en otros cultivos (anexo 2), se observaron muestras muy viscosas y pigmentadas, las corridas electroforéticas muy lentas y los perfiles tenían poca definición.

Debido a esto y sobre la base de estudios isoenzimáticos reportados para esta especie, Stewart (1998 y 2007) y para especies de árboles leguminosos como *L. shannonii*, se probó con el tampón de extracción empleado por Chamberlain *et al.* (1996) y estandarizado por Wencomo (2008), en el cual se utilizó gel tampón con pH 8,3 compuesto por 5,4 g Tris-base, 1,28 g ácido cítrico en 1 L de H₂O y tampón de extracción con 50 mL tampón, 40 mg KCl, 100 mg MgCl₂, 18 mg EDTA (sal disódica), 0,5 mL Tritón X-100, 2 mL 10% DTT y 2 g PVP-40, con el que se observaron bandas muy tenues y aún poco definidas.

Atendiendo a los resultados, se le hicieron varios ajustes al protocolo de Chamberlain *et al.* (1996), hasta que posteriormente se estandarizó el método de extracción de los sistemas isoenzimáticos utilizados. Se empleó un tampón Tris-Citrato pH 8,3 al que se le añadió KCl 0,08%, MgCl₂ 0,2%, EDTA 0,04%, 0,5 mL de Tritón X100 1%, 2 mL 10% DTT y 25 mg PVP-40 4%, con el cual se obtuvieron los resultados que se exponen a continuación.

De los sistemas isoenzimáticos probados, peroxidasas (*Prx*), α - y β - esterasas (*Est*) y alcohol deshidrogenasas (*Adh*), los primeros fueron polimórficos, a diferencia del último en el cual no se visualizaron las bandas. En las figuras 3.3 y 3.4 se observan los patrones isoenzimáticos para los sistemas peroxidasas y α - y β - esterasas. El análisis cualitativo de la composición electroforética de los sistemas mencionados en el tejido foliar, permitió apreciar un total de 10 bandas en las nueve procedencias evaluadas.

En el zimograma de isoenzimas peroxidasas (figura 3.3) se detectaron siete patrones isoenzimáticos en toda la muestra; se constató la existencia de actividad enzimática, pues este



sistema presentó un total de cinco bandas bien definidas, de las cuales dos (cuatro y cinco) fueron comunes para la mayoría de las procedencias, excepto para la procedencia ocho y tres, respectivamente.

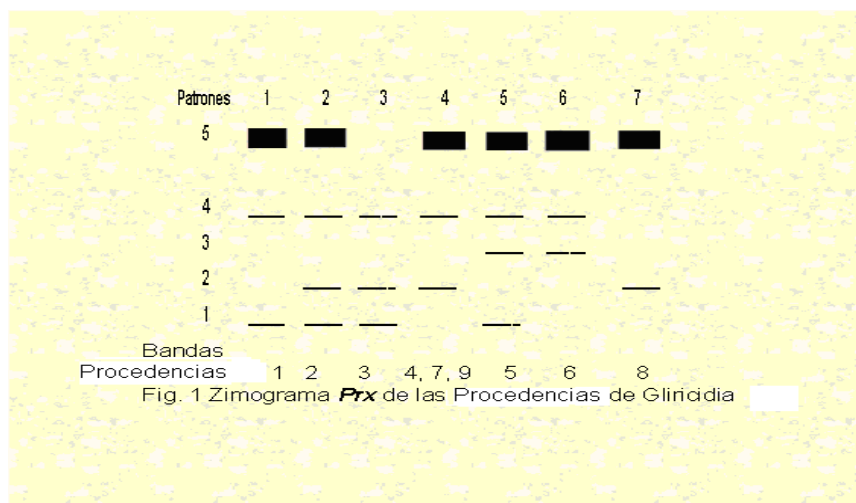


Figura 3.3 Patrones del sistema isoenzimático peroxidasa (*Prx*).

1. hijas de la planta 3; 2. hijas de la planta 4; 3 hijas de la planta 5; 4 hijas de la planta 8; 5 hijas de la planta 9, 6 hijas de la planta 2, 7; mezcla de las plantas madres de todas las plantas. Los números representan el total de bandas y los que están entre paréntesis el valor de Rf.

Las bandas uno y dos resultaron ser las de mayor movilidad electroforética, con 0,300 y 0,183 unidades, y sólo estuvieron presentes en las procedencias 1, 2, 3 y 5 (hijas de las plantas 3, 4, 5 y 9) y en 2,3,4, y 8 (hijas de las plantas 4, 5, 8 y mezcla de plantas introducidas de Guamuhaya y Aguada de Pasajeros), respectivamente. Asimismo, la banda 3 de 0,173 unidades estuvo presente únicamente en 5 y 6 (hijas de las plantas 9 y 2). Las bandas de 0,167 (4) y 0,157 (5) (hijas de las plantas 5 y 8) unidades caracterizaron a casi todas las procedencias, excepto a la procedencia 8 (mezclas de procedencias de plantas de Guamuhaya y Aguada de Pasajeros), para el caso de la segunda banda. Es importante señalar que el patrón 4 fue común para las procedencias 4, 7 y 9 (hijas de las plantas 8 y de las mezclas de plantas madres de todas las plantas y de plantas naturalizadas en Perico-Indio Hatuey-no productoras).

Diversos estudios realizados han permitido conocer que este sistema de isoenzimas es uno de los más empleados en los estudios genético-bioquímicos en diferentes géneros de plantas, por ser de los más polimórficos y por la estabilidad y reproducibilidad de sus bandas, además del



importante papel que ellas desempeñan, según describen Díaz *et al.* (2001), en la biosíntesis de los componentes de la pared celular, así como en la regulación del crecimiento, la diferenciación celular y su relación con la resistencia a factores adversos tanto bióticos como abióticos.

Similar polimorfismo isoenzimático (figura 3.4) se observó en la composición del sistema isoenzimático α - y β - esterasas (*Est*), que permitió apreciar mayor presencia de bandas en la procedencia dos (hijas de la planta 4) con respecto a las restantes procedencias. En este sistema isoenzimático se observaron un total de cinco bandas, al igual que en el sistema anterior, de las cuales la banda cuatro es común para todas, excepto para la procedencia tres.

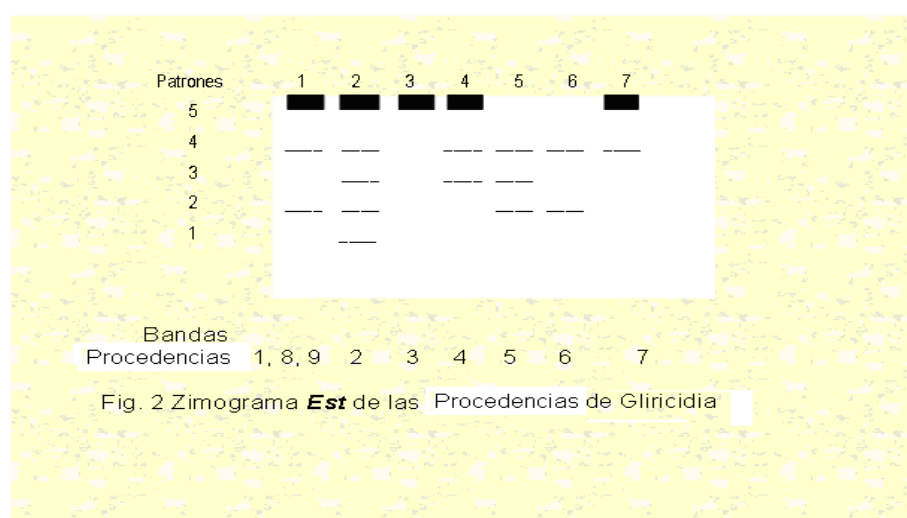


Figura 3.4 Patrones del sistema isoenzimático esterasas (*Est*).

En este sistema las bandas de mayor movilidad electroforética fueron la uno (0,675 unidades) y la dos (0,656), la primera sólo es para la procedencia 2 (hijas de la planta 4), y la segunda para las accesiones 1, 2, 5 y 6 (hijas de las plantas 3, 4, 9 y 2). La banda tres (0,646 unidades) estuvo presente únicamente en las procedencias 2, 4 y 5 (hijas de las plantas 4, 8 y 9). Por su parte, la banda 4 (0,626 unidades) es común para todas las procedencias, excepto para la 3 (hijas de la planta 5); mientras que la banda cinco se encuentra en las procedencias 1, 2, 3, 4 y 7 (hijas de las plantas 3, 4, 5, 8 y de plantas madres de todas las plantas). En este caso el patrón 1 fue común para las procedencias 1, 8 y 9 (hijas de la planta 3, de las plantas de procedencias de Guamuhaya y Aguada de Pasajeros, y de las plantas naturalizadas en Indio Hatuey-Perico (no productoras).



Con respecto a las isoenzimas α - y β - *Est*, se debe señalar que están constituidas por un grupo complejo de proteínas asociadas con proteínas intracelulares específicas que presentan un total de ocho sitios polimórficos en el caso del tomate (Florido *et al.*, 2002). El marcado polimorfismo que se presenta en este sistema ha sido informado también por otros autores al estudiar el nivel de poliploidía en clones de plátano (Román *et al.*, 1997), en el tejido foliar de tomate (Florido *et al.*, 2002) y en la caracterización de clones de yuca (Schmidt *et al.*, 2003), lo que ha permitido diferenciar accesiones en estos cultivos, al igual que en estudios realizados en diferentes especies de *Leucaena* (Wencomo, 2008).

De igual forma, se pudo constatar que no aparecieron isoformas *Adh* en el tejido foliar; este resultado está en correspondencia con lo planteado por Loulakis y Roubelakis (1990) y Menezes *et al.* (1995), quienes informaron que en condiciones normales, la actividad enzimática de estos sistemas desaparece en etapas muy tempranas del desarrollo de las plantas, a pesar de que puede inducirse cuando se presentan condiciones de anaerobiosis (Iglesias, 1994); aunque no debe descartarse que esto puede deberse a problemas de concentración de las muestras, manejo de estas o sensibilidad de la técnica. Resultados similares fueron informados por Wencomo (2008) al determinar el polimorfismo isoenzimático en 23 accesiones de *Leucaena* spp.

Con lo antes señalado se reafirma que no todos los sistemas tampones y procedimientos de extracción son efectivos para todas las enzimas de un tejido, ni para todas las condiciones de laboratorio. Como ejemplo se puede citar a Ramírez *et al.* (1987), quienes probaron 16 sistemas isoenzimáticos en cinco tipos de tejidos de yuca y sólo recomendaron α y β -*Est* para la caracterización e identificación de duplicados de la colección del mencionado cultivo. Mientras que Lefèvre y Charrier (1993), al trabajar con hojas jóvenes no expandidas y polen de yuca, encontraron polimorfismo en 10 sistemas enzimáticos. Por ello pudiera inferirse que para las accesiones estudiadas sólo pueden recomendarse los sistemas de peroxidasas y α y β esterases, independientemente de que debe probarse con otros que se hayan utilizado en diferentes cultivos.

En la tabla 3.9 se muestra la frecuencia de cada patrón de las nueve procedencias evaluadas. El nivel de polimorfismo isoenzimático detectado pudiera considerarse de medio a alto, ya que la mayoría de los patrones presentaron frecuencias altas (85, 71 y 57%) de la muestra con un



mismo patrón para α - y β - esterasas y peroxidasas, respectivamente, y pocas procedencias mostraron patrones únicos (4 para peroxidasas, de ellos 2 con 0,85 y 2 con 0,57 y ninguno para esterasas).

Tabla 3.9 Frecuencia de cada patrón isoenzimático.

<i>Est</i>		<i>Prx</i>	
Patrón	Frecuencia	Patrón	Frecuencia
1	0,14	1	0,57
2	0,57	2	0,57
3	0,43	3	0,28
4	0,85	4	0,85
5	0,71	5	0,85

Se comprobó que existe alta resolución electroforética para los sistemas mencionados (tabla 3.10), lo que indica que son de utilidad en la evaluación del polimorfismo varietal existente en este material y demuestra que las enzimas peroxidasas y esterasas son las más recomendadas por su polimorfismo, como refieren Schmidt *et al.* (2003). Resultados similares fueron obtenidos al realizarse el análisis integral de la variabilidad enzimática en *L. leucocephala* (Harris *et al.*, 1994a). En general, se ha determinado que las isoenzimas peroxidasas y esterasas se encuentran entre los sistemas más polimórficos en las plantas (Fuentes *et al.*, 1999).

Tabla 3.10 Análisis integral de la variabilidad genética.

	<i>Est</i>	<i>Prx</i>
Bandas polimórficas	5	5
Bandas monomórficas	-	-
Bandas totales	5	5
Índice de polimorfismo	100%	100%

Tomando en consideración los resultados del análisis isoenzimático, se puede plantear que los sistemas peroxidasas y α y β - esterasas tuvieron el mismo polimorfismo, permitieron detectar la misma cantidad de bandas polimórficas, el número de patrones electroforéticos y su frecuencia en la muestra, lo cual se corresponde con lo reportado acerca del alto polimorfismo de estos sistemas para otras especies vegetales (Schmidt *et al.*, 2003).

A partir de la frecuencia de aparición de las bandas de los sistemas isoenzimáticos mediante el programa SHAN, se obtuvo el dendrograma de la figura 3.5, en el que se muestra el agrupamiento de las procedencias evaluadas en cinco grupos. El grupo I incluyó las procedencias 1, 5, 6 de producción de legumbres estables. En el grupo II se encuentra la



procedencia 2 la cual mantenía producciones de legumbres menos estables que en las primeras; en el III se encuentra las procedencias 4 y 7 con producciones de semillas regulares; en el IV la 8 (poca producción de legumbres y la 9, esta última sin producción; mientras que en el grupo V está la procedencia 3 (mayor productora de legumbres).

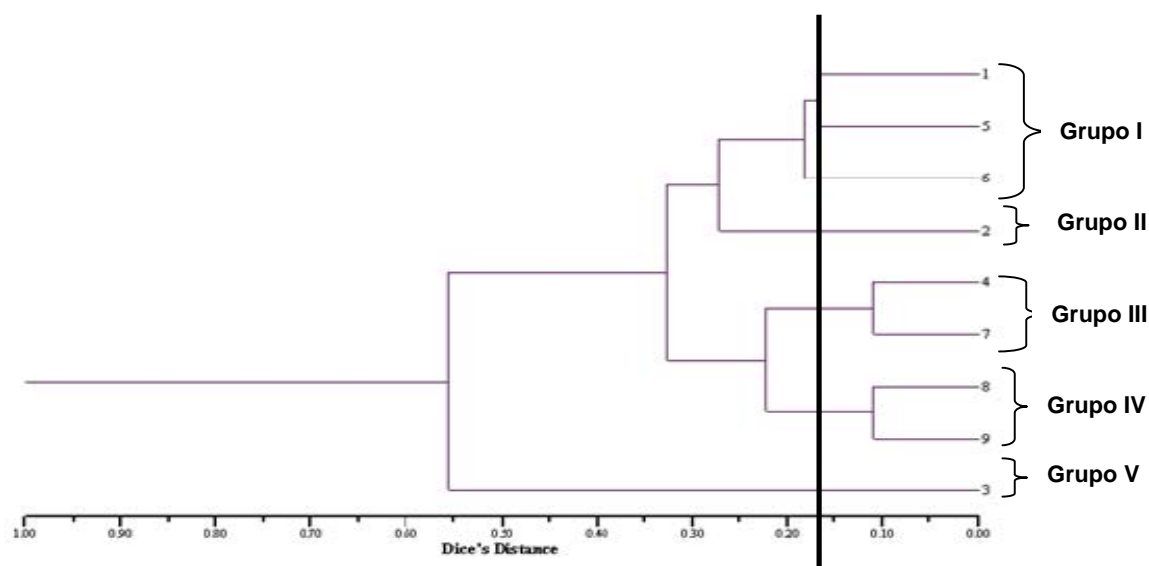


Figura 3.5 Dendrograma UPGMA obtenido mediante el análisis de conglomerados de los resultados de los sistemas isoenzimáticos de las nueve procedencias.

La procedencia 3, no formó un grupo bien definido en el dendrograma, aspecto a destacar puesto que en las evaluaciones con respecto a la fenología y a la producción de legumbres, de forma general se observó un comportamiento similar. Debe destacarse que dentro del grupo I las afinidades genéticas son mayores. El resto de las procedencias tuvieron un comportamiento diferencial en su fenotipo con respecto a las de este grupo.

Los grupos varietales se formaron a valores de distancia genética bajos, considerándose un nivel de truncadura de 0.27, lo que sugiere un alto nivel de similitud genética para los sistemas enzimáticos probados. Esto era de esperarse, dado que se trata de marcadores isoenzimáticos que corresponden a regiones codificantes y altamente conservadas en el genoma. A pesar de que la muestra incluyó procedencias de plantas introducidas de México y naturalizadas de la zona Indio Hatuey-Perico. Estos resultados evidencian la base relativamente estrecha de variación isoenzimática existente en el material evaluado, y se corresponden, en general, con lo planteado por Chamberlain *et al.* (1996) y Harris *et al.* (1994a). La delimitación de procedencias ha sido controversial en este género, tanto desde el punto de vista morfológico, genético como



de la diversidad isoenzimática. Resultados similares fueron obtenidos para el género *Leucaena*, específicamente para la especie *L. shannonii* (Chamberlain *et al.* 1996).

Como se observa, las nueve procedencias de plantas, de acuerdo con el comportamiento de las bandas isoenzimáticas mencionadas, proporcionan cinco grupos que analizados detalladamente todos difieren entre sí, lo que determina el gran polimorfismo de esta especie. Esto fue expuesto y confirmado también por Stewart (2007) al estudiar un conjunto de plantas en bancos de forraje de las tres procedencias de mejor comportamiento que se establecieron en instituciones de investigación en ganadería en cinco países tropicales: La Universidad de Peradeniya, Sri Lanka; BALITNAK, Java, Indonesia; CATIE, Costa Rica; ILRI, Nigeria y CIPAV, Colombia (Stewart *et al.*, en prensa), cuando evaluó niveles de aceptación de forrajes por animales y concluyó que los diferentes niveles de aceptabilidad se deben a la alta variabilidad genética de la especie. En ese estudio los resultados isoenzimáticos permitieron conformar 9 grupos, lo que está confirmado además por los estudios realizados por Chamberlain, Galway y Simons (1996).

CAPÍTULO 4. VALORACIÓN ECONÓMICA

Una alternativa rápida, económica y al alcance del productor consiste en cosechar semillas a bajo costo y de buena calidad en las plantaciones de árboles de esta especie, u otras de interés. Ello le permitiría utilizar las áreas dedicadas a la producción de alimentos para el ganado, cuando las plantas superen la altura de consumo por los animales, mediante la modalidad conocida como agregación para las especies de características herbáceas, para lo cual la suspensión del pastoreo por un período determinado es una premisa indispensable (Gómez, 2002).

Esta práctica no solo reporta beneficios por su rápida y garantizada reproducción, sino también porque permite usar el área, de manera estable, en otras actividades productivas (leche o carne) que a la par generan ingresos a los productores, aspecto que ha sido poco atendido en los estudios de producción de semilla reportados en la literatura y que, sin embargo, tiene un peso importante en la economía familiar.

Tomando en consideración que el análisis económico es de vital importancia para lograr la aceptación, por parte del productor, de una tecnología y su introducción a escala comercial (Cino *et al.*, 2006) y que este es el eslabón más importante de la cadena de producción, cobra especial importancia disponer de información económica que permita comparar y seleccionar sistemas productivos viables, tanto desde el punto de vista técnico y medioambiental como económico.

En las tablas 4.1 y 4.2 se presentan las valoraciones económicas realizadas. El análisis permitió corroborar que ambos sistemas (producción de semilla y semilla agámica) tienen diferencias. En el caso del sistema de producción por estacas, el establecimiento de las áreas presenta en una marcada desventaja frente al sistema establecido por semilla. En primer lugar, los costos directos de producción aumentan producto del incremento de los gastos en semilla (estacas), en traslado, así como en mano de obra a partir de la incorporación de las actividades de troceado y descortezado, no presentes en el otro sistema analizado.

Tabla 4.1 Costos de la inversión inicial en siembra y establecimiento de una hectárea de *G. sepium* (por semilla).

Actividades	Insumos	UM	Cantidad	Precio unitario	Importe
Costes directos					
Preparación de tierra y siembra	Combustibles	Litros	60,00	1,00	60,00
	Lubricantes	Litros	20,00	1,75	35,00
	Semillas	Kg.	2,00	6,00	12,00
	Fertilizantes	Kg.	50,00	25,00	1 250,00
					1357,00
Costes indirectos		Valor total CUP	% de inclusión	Importe	Total
Gastos administrativos		4 500,00	7,00	315,00	315,00
Mano de obra	Salarios preparación	Jornales	3,00	44,00	132,00
	Siembra manual (salario)	Jornales	4,00	15,00	60,00
	Limpieza (escarde)	Jornales	12,00	15,00	180,00
	Fertilización	Jornales	6,00	15,00	90,00
Sub total					462,00
Costes totales CUP					2 134,00

Tabla 4.2 Datos generales del área de producción por estacas. Costos de siembra y establecimiento de una hectárea de *G. sepium* plantada por estacas

Actividades	Insumos	UM	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Costos directos					6 392,50
Preparación de tierra y siembra	Costo de poste vivo	U	12500,00	0,50	6 250,00
	Combustible (chapea)	Litros	30,00	1,00	30,00
	Combustibles	Litros	60,00	1,00	60,00
	Combustible traslado	Litros	35,00	1,00	35,00
	Lubricante	Litros	10,00	1,75	17,50
Mano de obra					1 064,00
	Troceado	Jornales	4,00	25,00	100,00
	Descortezado	Jornales	4,00	25,00	100,00
	Cargue y descargue	Jornales	6,00	30,00	180,00
	Plantación	Jornales	12,00	30,00	360,00
	Chapea mecanizada	Jornales	4,00	48,00	192,00
	Salarios preparación	Jornales	3,00	44,00	132,00
Costos indirectos		Valor total CUP	% de inclusión	Importe	Total
	Gastos administrativos	4800,00	6,00	288,00	288,00
Costos totales CUP año 1					7 744,50

Continuación. Costos de la explotación de una hectárea de *G. sepium* plantada por estacas

Actividades	Insumos	UM	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Costos directos					52,50
Cosecha	Combustible traslado en campo	Litros	35,00	1,00	35,00
	Lubricante	Litros	10,00	1,75	17,50
Mano de obra					1 500,00
	Salario de cosecha (corte de semilla)	Jornales	20,00	30,00	600,00
	Cargue y descargue	Jornales	10,00	30,00	300,00
	Mantenimiento área	Jornales	24,00	25,00	600,00
Costes indirectos		Valor total CUP	% de inclusión	Importe	Total
	Gastos administrativos	3 500,00	7,00	245,00	245,00
Totales costo año (Para cada año del 2 al 4)					1 797,50
Ingreso de venta estacas en una hectárea por año					
Cantidad de plantas por ha	Estacas/plantas promedio	Producción	Precio unitario de venta	Importe	
1 250	16	20 000	0,50	10 000,00	



El costo de explotación, igualmente, fue mayor en el caso del área en explotación por estacas que en la explotación por semilla, pues aunque en el caso de los costos directos de la segunda son mayores, determinado por la compra de envases; los gastos de mano de obra en la primera superan al sistema de producción por semilla por los valores erogados para cubrir los salarios por cosecha y mantenimiento de las áreas, así como por el cargue y descargue de la producción final.

El análisis de los resultados del análisis en ambos sistemas, permitió corroborar la superioridad económica de la reproducción por semilla (tabla 4.3), pues aunque ambas actividades se justifican económicamente, en esta alternativa se obtienen resultados que superan en 7 900 pesos a la alternativa de reproducción por estacas.

Tabla 4.3 Valores por sistema de producción (CUP).

Indicador	Estacas	Semilla
Costos totales	13 137,00	6 473,50
Ingresos totales	30 000,00	33 636,00
Valor actual neto	12 653,90	20 574,45
Beneficio/Costo	2,04	4,59
Período de recuperación	2 años	-

En ambos casos, la actividad de producción de semilla y el reconocimiento por la contribución ambiental de los sistemas (fijación de nitrógeno y almacenamiento de carbono, entre otros) representan un valor agregado a la producción de leche o carne en el sector agropecuario.

Estos están diseñados para obtener productos (maderables y semilla) de alta calidad, mientras proveen un ingreso a corto plazo derivado de la ganadería. En ellos la interacción que se establece entre los diferentes componentes del sistema permite obtener productos de manera simultánea, intensiva y eficiente.

En correspondencia, los sistemas silvopastoriles pueden proveer ingresos económicos, a la vez que crean un sistema sostenible con muchos beneficios ambientales. Cuando estos sistemas son bien administrados, ofrecen una variedad de oportunidades que pueden ayudar a estimular el desarrollo de la economía rural (Anon., 2008).

CONCLUSIONES

- ✓ *G. sepium* posee polimorfismo isoenzimático, lo cual confirma la variabilidad genética presente entre las procedencias. Para lograr un nivel superior en la domesticación de esta especie, se necesita realizar otros estudios isoenzimáticos y/o genéticos más polimórficos.
- ✓ La especie presenta una marcada variación interanual en la producción de semillas, aspecto que debe ser estudiado con mayor detenimiento con vistas a determinar los factores que la producen en Cuba.
- ✓ Para cada zona, en los diferentes años, las precipitaciones del lugar (cantidad y frecuencia) influyeron en el período de polinización de las flores (enero-febrero) y en los rendimientos.
- ✓ Las correlaciones positivas de un año y dos años anteriores, al de la cosecha de legumbres, la lluvia y la temperatura, combinadas con la variación interanual, muestran que las plantas de *G. sepium* requieren de un período largo de acumulación de reservas, como estrategia reproductiva.
- ✓ Existe presencia de autoincompatibilidad polen-pistilo (ya sea morfológica o bioquímica), ya que al menos una procedencia nunca produjo semillas aunque estuviera en el mismo ambiente que las otras que produjeron profusamente.
- ✓ La utilización de semilla constituye la vía idónea para la siembra y el establecimiento de *G. sepium*, dado por la capacidad de multiplicación de esta especie, así como desde el punto de vista de sostenibilidad ambiental y económico, lo que garantiza una mayor expresión productiva de la planta.
- ✓ Se comprobó que la variedad de tipos de suelos en los que se evaluó la producción de semilla de *G. sepium*, no constituyó un factor limitante.

RECOMENDACIONES

- ✓ Combinar los análisis morfoagronómicos y genético-bioquímicos para la caracterización de los bancos de germoplasma del país, además de continuar con la búsqueda de nuevas formas polimórficas del cultivo, incorporando en lo posible técnicas que detecten mayor polimorfismo que permitan revelar la variación existente a nivel de ADN a través de otros sistemas isoenzimáticos.
- ✓ Usar el método de extracción estandarizado para los sistemas α y β esterasas y peroxidasas en la determinación del polimorfismo isoenzimático de otras especies de este género.
- ✓ Incluir las plantas que ya se conocen como altas productoras en otras áreas, es decir extender este resultado hacia otras áreas donde no se produce semilla.
- ✓ Utilizar *G. sepium* como una alternativa forrajera a incluir en los nuevos sistemas silvopastoriles que se implementen y de esa forma contribuir al aumento de la biodiversidad de plantas, considerando su siembra por semilla y no por estacas.
- ✓ Introducir los resultados de esta investigación en los programas de pregrado y de posgrado de las facultades, centros de investigación e institutos politécnicos agropecuarios.



- Acosta, R. 1999.** Caracterización citogenética, morfoagronómica y genético-bioquímica de diez clones de plátano burro (*Musa* spp., Grupo ABB). Tesis de Grado. Facultad de Biología, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. 65 p.
- Aken'Ova, M.E. & Atta-Krah, A.N. 1986.** Control of spear grass (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) in an alley cropping fallow. ***Nitrogen Fixing Tree Research Reports***. 4:27-28
- Allison, G.E. & Simons, A.J. 1996.** Propagation and husbandry. In: *Gliricidia sepium*, genetic resources for farmers. (Stewart, J.L.; Allinson, G.E. and Simons, A.J., Eds.). Oxford Forestry Institute. Department of Plant Sciences, University of Oxford. United Kingdom. p. 49-71
- Alonso, J. 2003.** Factores que intervienen en la producción de biomasa de un sistema silvopastoril leucaena (*Leucaena leucocephala* cv. Perú) y guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni). Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 109 p.
- Álvarez, A.; Fuentes, J.L.; Deus, J.E.; Duque, M.C. & Cornide, M.T. 2000.** Genetic diversity analysis in rice mutants using isozyme and morphological markers. ***Cultivos Tropicales***. 21(4):39
- Álvarez, A. 2005.** Análisis de la diversidad genética de variedades tradicionales de arroz (*Oryza sativa* L.) basado en marcadores morfoagronómicos y moleculares. Tesis en opción al Título de Máster en Biología vegetal. Mención en Biología vegetal. La Habana, Cuba. 95 p.
- Amara, D.S. 1987.** Evaluation of *Gliricidia sepium* for agroforestry in Sierra Leone. In: *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.: Management and Improvement. Special publication 87-01. Nitrogen Fixing Tree Association. Waimanalo, HI. p. 135-141
- Anon. 2008.** Silvopastoreo, una práctica agroforestal. Departamento de Agricultura. Centro Nacional de Agroforestería, Servicio Forestal del Departamento de Agricultura de los EE.UU. Estación de las Montañas Rocosas. Servicio de Conservación de Recursos Naturales. EUA. [Disponible en:] www.produccion-animal.com.ar [Consultado: Octubre 2009]
- Araya, J.; Benavides, J.E.; Arias, R. & Ruiz, A. 1993.** Identificación y caracterización de árboles y arbustos con potencial forrajero en Puriscal, Costa Rica. Memorias II Seminario Centroamericano y del Caribe sobre Agroforestería y Rumiantes Menores. Comisión Nacional para el Desarrollo de la Actividad Caprina. San José, Costa Rica.. p. 145
- Arias, K.; Ruiz, C.; Milla, M.; Fabio, H. & Escobar, A. 2001.** Almacenamiento de Carbono por *Gliricidia sepium* en sistemas agroforestales en Yaracuy, Venezuela. ***Livestock Research for***



- Rural Development.** (13)5:2001. [Disponible en:] www.cipav.org.co. [Consultado en Octubre 2007]
- Atta-Krah, A.N. 1987.** Flowering and seed production of *Gliricidia sepium*. In: *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.: Management and Improvement. Publicación especial 87-01. Nitrogen Fixing Tree Association. Waimanalo, HI. p. 142-145
- Banu, K. & ChannaBasavanna, G.P. 1972.** Plant feeding mites of India-1. A preliminary account of the biology of the spider mite *Eutetranychus orientalis* (Klein) (Acarina: Tetranychidae). **Mysore Journal of Agricultural Science.** 6(3):253-268
- Benavides, J. 2003.** Árboles y arbustos forrajeros: Una alternativa para la sostenibilidad en la ganadería. Taller Internacional Ganadería, Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. La Habana, Cuba. 157 p.
- Botero, R. & Russo, R O. 1998** Utilización de árboles y arbustos fijadores de nitrógeno en sistemas sostenibles de producción animal en suelos ácidos tropicales. Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda. San José de Costa Rica. [Disponible en:] www.fao.org/ag/aga/AGA/FRG/agrofor1/Agrofor1.htm. [Consultado: Octubre 2009]
- Burley, J. & Speedy, A.W. 1998.** Investigación agroforestal: Perspectivas globales. Instituto Forestal de Oxford (OFI). Oxford, Reino Unido www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/.../burley2.txt. [Consultado: Octubre 2009]
- Camero, L.A. 1994.** Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Madero negro (*Gliricidia sepium*) como suplementos proteicos en la producción de leche. **Agroforestería en las Américas.** 1(1):6-8
- Camero, A. & Ibrahim, M. 1995.** Bancos de proteína de poró (*Erythrina berteroana*) y madero negro (*Gliricidia sepium*). Cómo hacerlo?. **Agroforestería en las Américas.** 8:31-32
- Camero, A.; Ibrahim, M. & Kass, M. 2001** Improving rumen fermentation and milk production with legume-tree fodder in the tropics. **Agroforestry Systems.** 5(2):157-166
- CATIE. 1991.** Madreado, (*Gliricidia sepium* (Jacq Kunth ex Walpers), especie de árbol de uso múltiple en América Central. Resultados de 5 años de investigación. Serie Técnica. Informe técnico 180. CATIE. Turrialba. Costa Rica. 79 p.
- CEPAL/PNUMA. 1985.** Avances en la interpretación ambiental del desarrollo agrícola de América Latina. CEPAL-PNUMA. Santiago de Chile. 236 p.
- Chamberlain, J.R.; Galway, N.W. & Simons A.J. 1996a.** Population structure in *Gliricidia sepium* (Leguminosae) as revealed by isozyme variation. **Silvae Genetica.** 45:2



- Chamberlain, J.R.; Hughes, C.E. & Galwey, N.W. 1996b.** Patterns of isozyme variation in the *Leucaena shannonii* Alliance (Leguminosae:Mimosoidae). ***Silvae Genetica***. 45:1
- ChannaBasavanna, G.P. & Banu, K. 1972.** Plant feeding mites of India-3. Spider mites of the species of *Oligonychus* (Acarina:Tetranychidae). ***Mysore Journal of Agricultural Sciences***. 6(2):163-168
- Cino, Delia; Castillo, E. & Hernández, J. 2006.** Alternativa de ceba vacuna en sistemas silvopastoriles con *Leucaena leucocephala*, Indicadores económicos y financieros. ***Revista cubana de Ciencia agrícola***. 40:25
- Corbea, L.A. & Blanco, F. 2005.** Factores que influyen en el establecimiento de árboles. En: El Silvopastoreo: Un nuevo concepto de pastizal. (Simón, L., ed.). Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba-Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. p. 29
- Cordero, J. & Boshier, D.H. 2003.** Árboles de Centroamérica. Un manual para Extensionistas. (Cordero, J. y Boshier, D.H., eds.). CATIE. Costa Rica. 1079 p.
- Cornide, M.T.; Arencibia, A.; Berovides, V.; Calvo, D.; Canales, E.; Coto, O.; González, C.; Rodríguez, M.; Sánchez, J.; Sigarroa, A. & Xiqués, X. 2002.** Marcadores moleculares. Nuevos horizontes en la genética y selección de las plantas. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. 367 p.
- De Nettancourt, D. 1977.** Incompatibility in angiosperms. In Monographs on theoretical and applied Genetics. (Franke, I.R.; Gall, Gae and Linskens, H.F., eds.). New York: Springer-Verlag.
- Díaz, S.; Morejón, R.; González, C. & Xiqués, X. 2001.** Caracterización bioquímica de accesiones de arroz (*Oryza sativa* L.). ***Cultivos Tropicales***. 22:47-52
- Donoso, C. 1993.** Producción de semillas y hojarasca de las especies del tipo forestal Alerce (*Fitzroya cupressoides*) de la Cordillera de la Costa de Valdivia, Chile. ***Revista Chilena de Historia Natural***. 66:53-64
- Donoso, C.; Maureira, C.; Zuñiga, A. & Castro, H.; 1999.** Producción de semillas y hojarasca en renovales de canelo (*Drimys winteri* Forst.) en la Cordillera de la Costa de Valdivia, Chile. ***Bosque***. 20(2):65-78
- Donoso, C.; Hernández, M. & Navarro, C. 1993.** Valores de producción de semillas y hojarasca de diferentes especies del tipo forestal siempreverde de la Cordillera de la Costa de Valdivia obtenidos durante un período de 10 años. ***Bosque***. 14(2):65-84



- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11:1
- Falvey, J.L. 1982. *Gliricidia maculata*-a review. *International Tree Crops Journal*. 2:1-14
- Ferreira, M. & Grattapaglia, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. 1. EMBRAPA-CENARGEN. Brasilia, Brasil. 220 p. (Mimeo)
- Flores, E.M. 2003. Seed Biology. In: Tropical tree seed manual. Chapter 1. USDA Forest Servics/Reforestation, Nurseries & Genetics Resources. USA. p. 13
- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R.M.; Plana, D.; Varela, M.; Shagarodsky, T. & Moya, C. 2002. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon* spp.). *Cultivos Tropicales*. 23:61-69
- Fuentes, J.L. 2003. Diversidad genética y utilización comercial de variedades de arroz en Cuba. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencia Agrícolas. La Habana, Cuba. 140 p.
- Fuentes, J.L.; Escobar, F.; Álvarez, A.; Gallego, G.; Duque, M.; Ferrer, M.; Deus, J.E. & Thome, J. 1999. Analysis of genetic diversity in Cuban rice varieties using AFLP, RADP and isoenzyme marker. *Euphytica*. 83:1-9
- Funes, F. 2004. Sistemas ganaderos agroecológicos. Experiencias del Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes y su red de estaciones experimentales. Simposio Internacional sobre Ganadería agroecológica. La Habana, Cuba. p. 1
- Gao, L.Z.; Schaal, B.A.; Zhang, C.H.; Jia J.Z. & Dong, Y.S. 2002. Assessment of population genetic structure in common wild rice *Oryza rufipogon* Griff. using microsatellite and allozyme markers. *Theor Appl Genet*. 106:173-180
- García, D.E. 2003. Efectos de los principales factores que influyen en la composición fotoquímica de *Morus alba* (Linn.). Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Pastos y Forrajes. Matanzas, Cuba. 92 p.
- Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. (1842). — FABACEAE —. *Repertorium Botanices Systematicae*. 1(4):679
- Glover, N. 1986. Collection conservation and evaluation of *Gliricidia sepium* (Jacq.) steed germplasm. M.Sc. Thesis University of Hawaii
- Glover, N. 1989. *Gliricidia*: production and use. Nitrogen Fixing Tree Association. Waimalao, USA. 44 p.
- Glover, N. & Brewbaker, J.L. 1984 Network trials of *Gliricidia sepium*. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. 2:34



- Glover, N. & Heuvelodop, J. 1985.** Multipurpose tree trials in Acosta-Puriscal, Costa Rica. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. 3:4-6
- Gómez, M.E.; Molina, C.H.; Molina, E.J. & Murgueitio, E. 1990.** Producción de biomasa en seis ecotipos de matarratón (*Gliricidia sepium*). *Livestock Research for Rural Development*. 2(2)
- González, C. 2002.** Detección del polimorfismo genético mediante marcadores bioquímicos en plantas. En: Marcadores moleculares. Nuevos horizontes en la genética y la selección de las plantas. (Cornide, M.T.; Arencibia, A.; Berovides, V.; Calvo, D.; Canales, E.; Coto, O.; González, C.; Rodríguez, M.; Sánchez, J.; Sigarrosa, A & Xiqués, X, Eds.). Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. p. 36-66
- González, M.G.; Pedraza, R.O.; Guevara, G.V.; Curbelo, L.; Estévez, J.; Martínez, S.; Campollo, C.; Spencer, M. & Rodríguez, L. 2001.** Establecimiento de cercas vivas de *G. sepium* y su empleo como forraje dentro de los sistemas de producción de leche en fincas comerciales. www.reduc.edu.cu/147/01/2/14701206.pdf. [Consultado: noviembre de 2009]
- Guillot, J.; Vigil, M.C. & Acuña, B. 2002.** Hierba buffel: una solución para la ganadería de la franja costera sur de Guantánamo. *ACPA*. 21(3):14
- Harris, S.A.; Hughes, C.E.; Abbot, R.J. & Ingram, R. 1994a.** Genetic variation in *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (Leguminosae:Mimosoideae). *Silvae Genetica* 43:159-167
- Harris, S.A.; Hughes, C.E.; Ingram, R. & Abbot, R.J. 1994b.** A phylogenetic analysis of leucaena (Leguminosae:Mimosoideae). *Pl. Sys. Evol.* 191:1-26
- Harvey, C. 2006.** La conservación de la biodiversidad en sistemas silvopastoriles. En: Memorias de una conferencia electrónica "Potencialidades de los sistemas silvopastoriles para la generación de servicios ambientales". (Ibrahim, M.; Mora, J. y Rosales, M., Eds.). CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 23
- Hernández, A.; Hernández, A.; Ascanio, M.O.; Morales, Marisol & León, A. 2006.** La historia de la clasificación de los suelos en Cuba. Editorial Félix Varela. Cuba. 98 p.
- Hernández, I. 2000.** Utilización de las leguminosas arbóreas *L. leucocephala*, *A. lebbbeck* y *B. purpurea* en sistemas silvopastoriles. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. ICA, La Habana-EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba. 118 p.
- Hernández, I.; Milera, M.; Simón, L.; Hernández, D.; Iglesias, J.; Lamela, L.; Toral, O.; Matías, C. & Francisco, G. 1998.** Avances en las investigaciones en sistemas silvopastoriles en Cuba. Conferencia electrónica FAO-CIPAV sobre "Agroforestería para la Producción Animal en Latinoamérica".



- Hoshizaki, K. & Hulme, P.E. 2002.** Mast seeding and predator-mediated indirect interactions in a forest community: evidence from post-dispersal fate of rodent-generated caches. In: Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation (Levey, D.J.; Silva, W.R. & Galleti, M., Eds.). CAB International. p. 227-239
- Hughell, D. 1990.** Modelos para la predicción del crecimiento y rendimiento de *Eucalyptus camaldulensis*, *Gliricidia sepium*, *Guazuma ulmifolia* y *Leucaena leucocephala* en América Central. Technical Series, Tech. Bull. 22. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.. 57 p.
- Hughes, C.E. 1987.** Biological considerations in designing a seed collection strategy for *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. (Leguminosae). Commonwealth Forestry Review. 66(1): 31-48. (citado por John A. Parrotta: *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. *Gliricidia*, madre de cacao Leguminosae (Papilionoideae) Familia de las leguminosas. Faboideae Subfamilia de las habas)
- Ibrahim, M. & Mora, J. 2003.** Criterios y herramientas para la promoción de una ganadería eco-amigable en el trópico americano. Memorias Taller Internacional Ganadería, Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. p. 23
- Ibrahim, M. & Mora, J. 2006.** Potencialidades de los sistemas silvopastoriles para la generación de servicios. En: Memorias de una conferencia electrónica "Potencialidades de los sistemas silvopastoriles para la generación de servicios ambientales". (Ibrahim, M.; Mora, J. y M. Rosales, Eds.). CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 10
- ICRAF. 1988.** Home Page. [Disponible en:] www.cgiar.org/icraf. [Consultado: Octubre de 2009]
- Iglesias, L. 1994.** Utilización de marcadores bioquímicos y moleculares en el mejoramiento genético de la papa. *Cultivos Tropicales*. 15:108
- Jara, L.F. 1995.** La variación natural como base del mejoramiento genético forestal. En: Mejoramiento Forestal y Conservación de Recursos Naturales. Vol. 1. CATIE. Danida Forest Seed Centre. Turrialba, Costa Rica.
- Jordano, P. 1988.** Polinización y variabilidad de la producción de semillas en *Pistacia lentiscos* L. (Anacardiaceae). *Anales Jará. Bot. Madrid* 45(1):213-231
- Kelly D. 1994.** The evolutionary ecology of mast seeding. *Tree*. 9:465-470
- Kelly, D.; Harrison, A.L.; Lee, W.G.; Payton, J.; Wilson P.R. & Schaubert, E.M. 2000.** Predator satiation and extreme mast seeding in 11 species of *Chionochloa* (Poaceae). *Oikos*. 90:477-488



- Kelly, D.; Hart, D.E. & Allen, R.B. 2001. Evaluating the wind pollination benefits of mast seeding. *Ecology*. 138:117-126
- Kelly, D. & Sork. V.L. 2002. Mast seeding in perennial plants: why, how, where?. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 33:427-447
- Kolmans, E. & Vásquez, D. 1996. Manual de agricultura ecológica: una introducción a los principios básicos y su aplicación. MAELA-SIMAS. Nicaragua. 222 p.
- Lapponi, J. 2000. Proyectos de inversión. Construcción y evaluación del flujo de caja. Lapponi Treinamiento y Editora Ltda: SP.
- La semilla de los árboles. [Disponible en:] www.arbolesornamentales.com/semillas1.htm
[Consultado: 12 de noviembre de 2009]
- Lenne, J.M. & Sumberg, J. 1986. Two foliar diseases of *Gliricidia sepium*. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. 4:31
- Liedl, B. & Anderson, N. 1994. Reproductive barriers: Identification, uses and circumvention. *Plant Breeding Reviews*. 11:11-154
- Little, E.L., Jr. & Wadsworth, F.W. 1964. Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agric. Handb. 249. Washington D.C., U.S. Department of Agriculture. 548 p.
- Loulakis, C.A. & Roubelakis, K.A. 1990. Immunocharacterization of NADH- Glutamate dehidrogenase from *Vitis vinifera*. *Plant Physiol*. 94:109-113
- Machado, R. & Seguí, E. 1997. Introducción, mejoramiento y selección de variedades comerciales de pastos y forrajes. *Pastos y Forrajes*. 20:1
- Machado R. L. 2008. Adaptabilidad de leguminosas arbóreas en suelos hidromórficos de la provincia de Matanzas, Cuba. *Zootecnia Trop*. 26(3)
- McKone, M.J.; Kelly, D. & Lee, W.G. 1998. Effect of climate change on mast seeding frequency of mass flowering and escapes from specialist insect seed predators. *Global Change Biology* 4:591-596
- Markert, C.L. & Moller, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 45:753-763
- Montagnini, F & colaboradores. 1992. Sistemas agroforestales. Principios y aplicaciones en los trópicos. OET. San José, Costa Rica. 622 p.
- Murgueitio, E. 2003. Investigación participativa en sistemas silvopastoriles integrados: La experiencia de CIPAV en Colombia. Taller Internacional Ganadería, Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. La Habana, Cuba. 207 p.



- Murgueitio, E. 2009** Diversidad biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. [Disponible en:] www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/.../Agrofor1.htm. [Consultado: Octubre de 2009]
- Murgueito, E. & Ibrahim, M. 2003.** Agroforestería pecuaria para la reconversión de la ganadería en Latinoamérica. Retos futuros. Curso Internacional Ganadería, Desarrollo y Medio Ambiente. La Habana, Cuba. p. 30
- Parrotta, J.A. 1990.** Hurricane damage and recovery of multipurpose tree seedlings at a coastal site in Puerto Rico. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. 8:64-66
- Patel, R.M. & Patel, C.B. 1971.** Factors contributing to the carry over of groundnut aphid (*Aphis craccivora* Koch) through the off season in Gujarat. *Indian Journal of Entomology*. 33(4):404-410
- Pedraza, R.M., Gálvez, M.; Guevara, G.F. & Martínez, S.J. 2001.** Follaje de *Gliricidia sepium* o urea como suplementos a vacas lecheras en pastoreo de gramíneas tropicales durante la época de seca. *Rev. prod. anim.* 13(2):23
- Pedraza, R.M.; De Castro, F.B. & Ørskov, E.R. 2004.** Evaluación *in vitro* del valor nutritivo de follajes de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. *Revista cubana de Ciencia agrícola*. 38(2):155
- Pérez, A.; González, Y. & Matías, C. 1988.** Problemática de la producción de semilla en los pastos tropicales. Primera parte. *Pastos y Forrajes* 11:1
- Pérez, A.; Matías, C., González, Y. & Alonso, O. 1997.** Tecnologías para la producción de semillas de gramíneas y leguminosas tropicales. *Pastos y Forrajes*. 20:21
- Pérez, A. & Rolo, R. 1998.** Efecto de las dosis de fósforo y potasio sobre la producción de semillas de leguminosas. II. *Lablab purpureus*. *Pastos y Forrajes* 21:219
- Piovesan, G. & Adams, J.M. 2001.** Masting behaviour in beech: linking reproduction and climatic variation. *Canadian Journal of Botany* 79:1039-1047
- Piovesan, G. & Bernabei, M. 1997.** L'influenza delle precipitazioni estive sulla crescita e la riproduzione del faggio (*Fagus sylvatica* L.) in una stazione meridionale dell'areale. *Italia Forestale e Montana* 6:444-459
- Polanco, D. 1998.** Caracterización morfológica, isoenzimática, contenido de cianuro y almidón en el banco de germoplasma *in vivo* de yuca (*Manihot esculenta* C.) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. 96 p.



- Preston, T.R. 1996.** Tropical animal feeding. A manual for research workers. FAO Animal Production and Health Paper 126. FAO. Rome
- Ramírez, H.; Hussain, A.; Roca, W. & Bushuk, W. 1987.** Isozymes electrophoregrams of sixteen enzymes in five tissue of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. *Euphytica*. 36:39-48
- Rao, P.V.S. & Bucker, A.H.A. 1974.** Alternate host plants for two lepidopterous pests. *Indian Journal of Entomology*. 36(4):353-354
- Recompenza, C. & Angarica, L.C. 2002.** Introducción a la economía agrícola (apuntes para un libro de texto). Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". Cuba. 150 p. (Mimeo)
- Reinoso, M. 2008.** Los árboles fuera del bosque, una opción para incrementar la biodiversidad y productividad en agroecosistemas frágiles. III Congreso de Agricultura Tropical
- Rodríguez, M. & Arencibia, A. 2002.** Principales tipos de marcadores del polimorfismo de los ácidos nucleicos. Técnicas analíticas. Capítulo 1. En: Marcadores moleculares. Nuevos horizontes en la genética y selección de las plantas. (Cornide, M.T.; Arencibia, A.; Berovides, V.; Calvo, D.; Canales, E.; Coto, O.; González, C.; Rodríguez, M.; Sánchez, J.; Sigarroa, A. & Xiqués, X., Eds.). Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. p. 13-35
- Román, M.J.; Rodríguez, A.; Xiqués, X.; Gonzáles, C.; Rayas, A. & González, M.J. 1997.** Caracterización isoenzimática de 17 clones diploides de plátano fruta *Musa* spp. *Biología*. 11:61-70
- Rosales, M.; Murgueitio, E.; Osorio, H.; Speedy, A. & Sánchez, M. 1998.** Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica. Conclusiones y evaluación de la conferencia electrónica. [Disponible en:]. www.pic.int/incs/dipcon/b/Spanish/Conf-1Add1.pdf. [Consultado: Octubre 2009]
- Rosales, M.; Murgueito, E.; Osorio, M.; Speedy A. & Sánchez M. 1999.** Conclusiones y evaluaciones de la conferencia electrónica "Agroforestería para la producción animal en América Latina". FAO. Roma. p. 492
- Rosas, M.; Espinosa, M.; Acuña, E. & Sáez, K. 2004.** Variación interanual en producción de semillas de algunas especies arbóreas en Cordillera Pelada, Centro-Sur De Chile. *Gayana Bot.* 61(1):32-41
- Roskoski, J.P.; Pepper, I. & Pardo, E. 1986.** Inoculation of leguminous trees with rhizobia and VA mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management*. 16:57-68



- Sablón, M. 2006.** Dendrología. Biblioteca Facultad de Montaña de Guantánamo. Intranet.MES. 115 p.
- Salazar, R. 1986.** Genetic variation in seeds and seedlings of ten provenances of *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. ***Forest Ecology and Management***. 16(1-4):391-401
- Salazar, R.; Sohiet, Carolina & Méndez, J.M. 2000.** Manejo de semillas de 100 especies forestales en América latina. Vol. 1. Proyecto de Semillas Forestales, Danida Forest Sedd. CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- Sardiñas, J.A. & Pérez, A. 2009.** Nuevos aportes y fundamentación sobre la producción de semilla de *Gliricidia sepium* en el centro de Cuba. ***ACPA***. 2
- Schmidt, A.; Fuenmayor, F. & Fuchs, M. 2003.** Caracterización de clones de yuca (*Manihot esculenta*) mediante marcadores proteicos e isoenzimáticos. ***Interciencia***. 28:690-698
- Shelton, M. 2000.** Leguminosas forrajeras tropicales en los sistemas agroforestales. ***Revista internacional de silvicultura e industrias forestales***. 51/1
- Simmonds, N.W. 1951.** Notes on field management at the Botany Department of the Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. ***Tropical Agriculture*** (Trinidad). 28(1-6):70-75
- Simons, A.J. 1996.** Seed orchards and breeding. In: *Gliricidia sepium*. Genetic resources for farmers. (Stewart, J.L.; Allison, G.E. and Simons, A.J., Eds.). Oxford Forestry Institute of Plant Sciences University of Oxford United Kingdom p. 119-125
- Soltis, D.E. & Soltis, P. 1989.** Isozymes in plant biology. Department of Botany, Washington State University Pullman. Washington. 45 p.
- Sork, V.L. 1993.** Evolutionary ecology of mast seeding in temperate and tropical oaks (*Quercus* spp). ***Vegetatio*** 107/108:133-147
- Souza de Abreu, M.H. 2002.** Contribution of trees to the control of heat stress in dairy cows and the financial viability of livestock farms in the humid tropics. Ph.D. Thesis. CATIE. Turrialba, CR. p. 105
- Stewart, J.L.; Allison, G.E. & Simons, A.J. 1996.** *Gliricidia sepium*-genetic resources for farmers. Tropical Forestry Papers No. 33. Oxford Forestry Institute. Oxford, Reino Unido
- Stewarts, J.L. 1998.** *Gliricidia sepium*. Manual de Recursos Genéticos. No 36. Oxford Forestry Institute. Department of Plant Sciences. University of Oxford. 285 p.
- Stewart, J.L. 2007.** Variación genética en árboles forrajeros. Instituto Forestal de Oxford, Universidad de Oxford. [Disponible en: <http://www.engormix.com/>

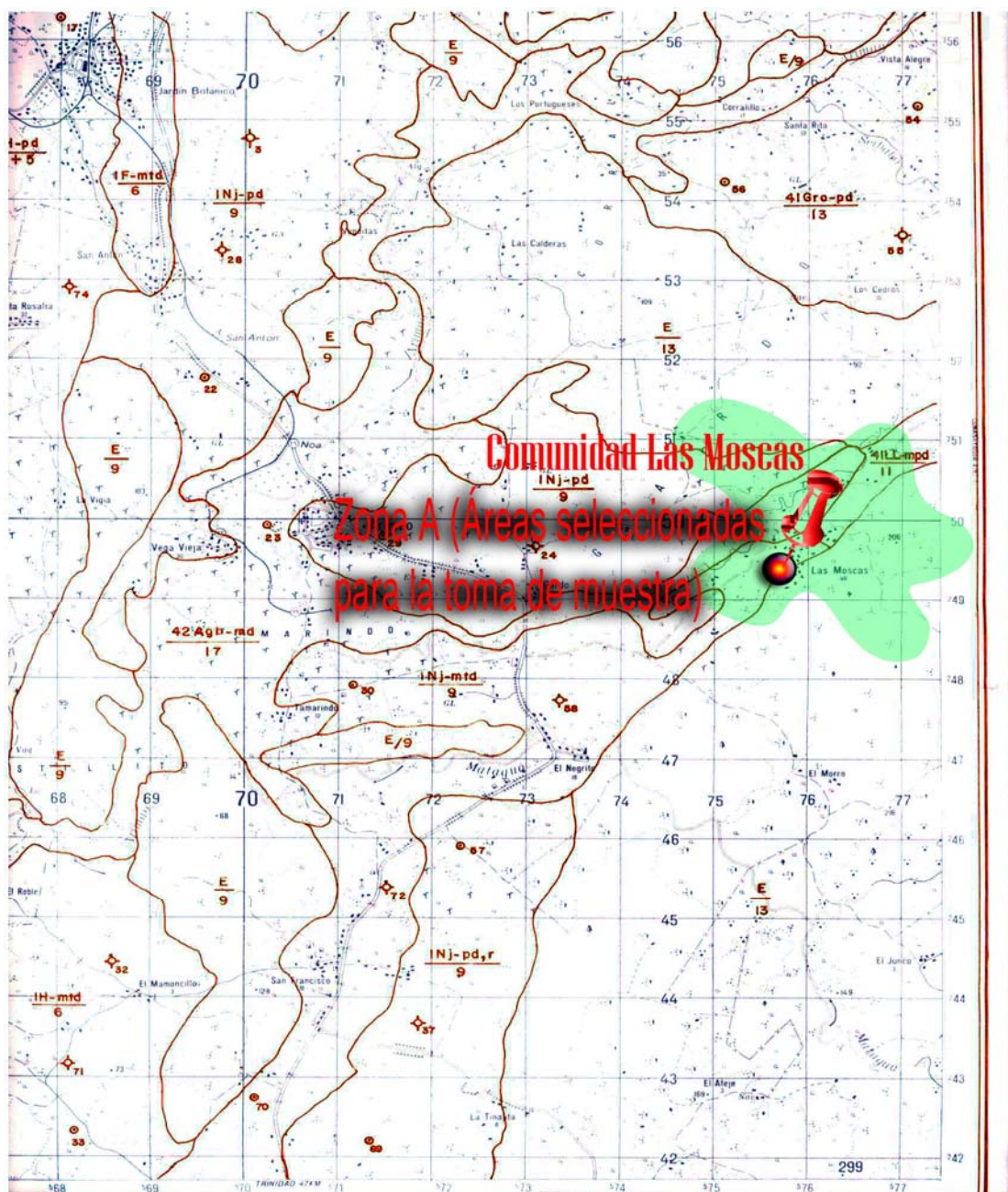


[variacion genetica arboles forrajeros s articulos 1730 AGR.htm](#). [Consultado: 3 de noviembre de 2009]

- Subramanian, T.R. 1977.** Bionomics of the red gram bud weevil, *Ceuthorrynchus asperulus* Faust. *Journal of Entomological Research*. 1(1):40-46
- Sumberg, J.E. 1985** Collection and initial evaluation of *Gliricidia sepium* from Costa Rica. *Agroforestry Systems* 3:357–361.
- Sumberg, J.E. 1985.** Note on flowering and seed production in a young *Gliricidia sepium* seed orchard. *Tropical Agriculture*. 62(1):17-19
- Toral, O. 2005.** La utilización del germoplasma arbóreo forrajero. En: El Silvopastoreo.:Un Nuevo concepto de pastizal. (Simón, L., ed.). Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Cuba. Universidad de San Carlos de Guatemala. p. 33
- United States Department of Agriculture. 1960.** Index of plant diseases in the United States. Agric. Handb. 165. U.S. Department of Agriculture. Washington D.C. 531 p.
- Valega, O. 2008.** Polinización intensiva de cultivos frutales y de semilla. 1ra. Parte. [Disponible en:] Noticias Apícolas [NoticiasApicolas.com.ar](#) 09/02/ Dirección de Ganadería. Gobierno de la Provincia de Mendoza. [Consultado: Noviembre de 2009]
- Webb, D.B.; Wood, P.J. & Smith, J. 1980.** A guide to species selection for tropical and subtropical plantations. Tropical Forestry Paper 15. Commonwealth Forestry Institute, Department of Forestry, University of Oxford. Oxford, UK. 256 p.
- Wencomo, H.B. 2008** Evaluación morfoagronómica e isoenzimática y selección de accesiones de *Leucaena* spp. con fines silvopastoriles. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Departamento de Genética y Mejoramiento. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". 103 p.
- Wiersum, F. & Dirdjosoemarto, S. 1987.** Past and current research with gliricidia in Asia. In: *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.: Management and Improvement. Publicación especial 87-01. Nitrogen Fixing Tree Association. Waimanalo, HI. p. 20-28
- Wilsie, P. 1970.** Aclimatación y distribución edición revolucionaria. Instituto del Libro. Cuba. p. 441-447
- Yamoah, C.F.; Ay, P. & Agboola, A.A. 1987.** The effects of some methods of establishing *Gliricidia sepium* on food crop performance, growth and survival rate of gliricidia. *International Tree Crops Journal*. 4(1):17-31

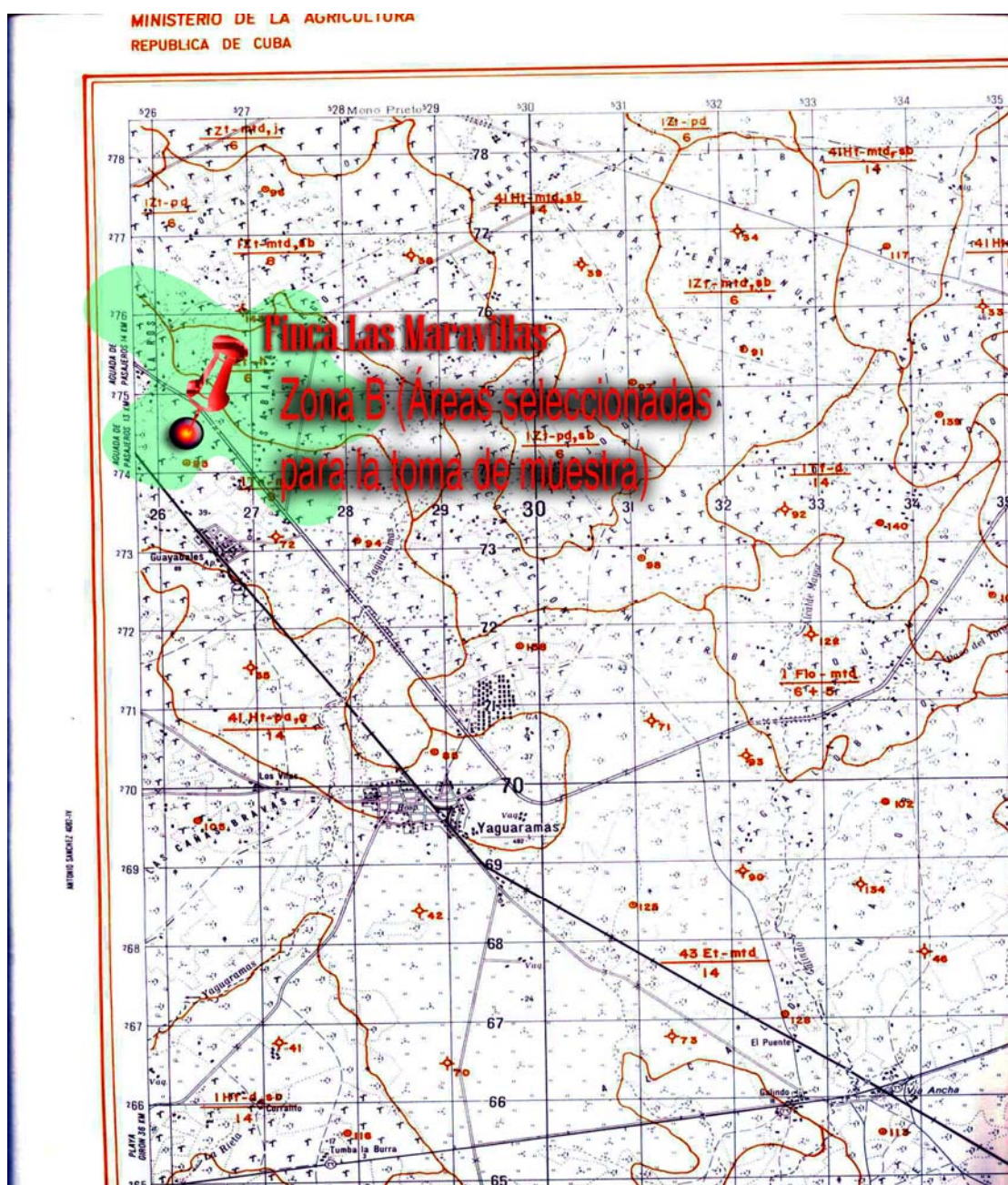


Anexo 1. Mapa de suelos Zona A, Sierra de Guamuhaya.



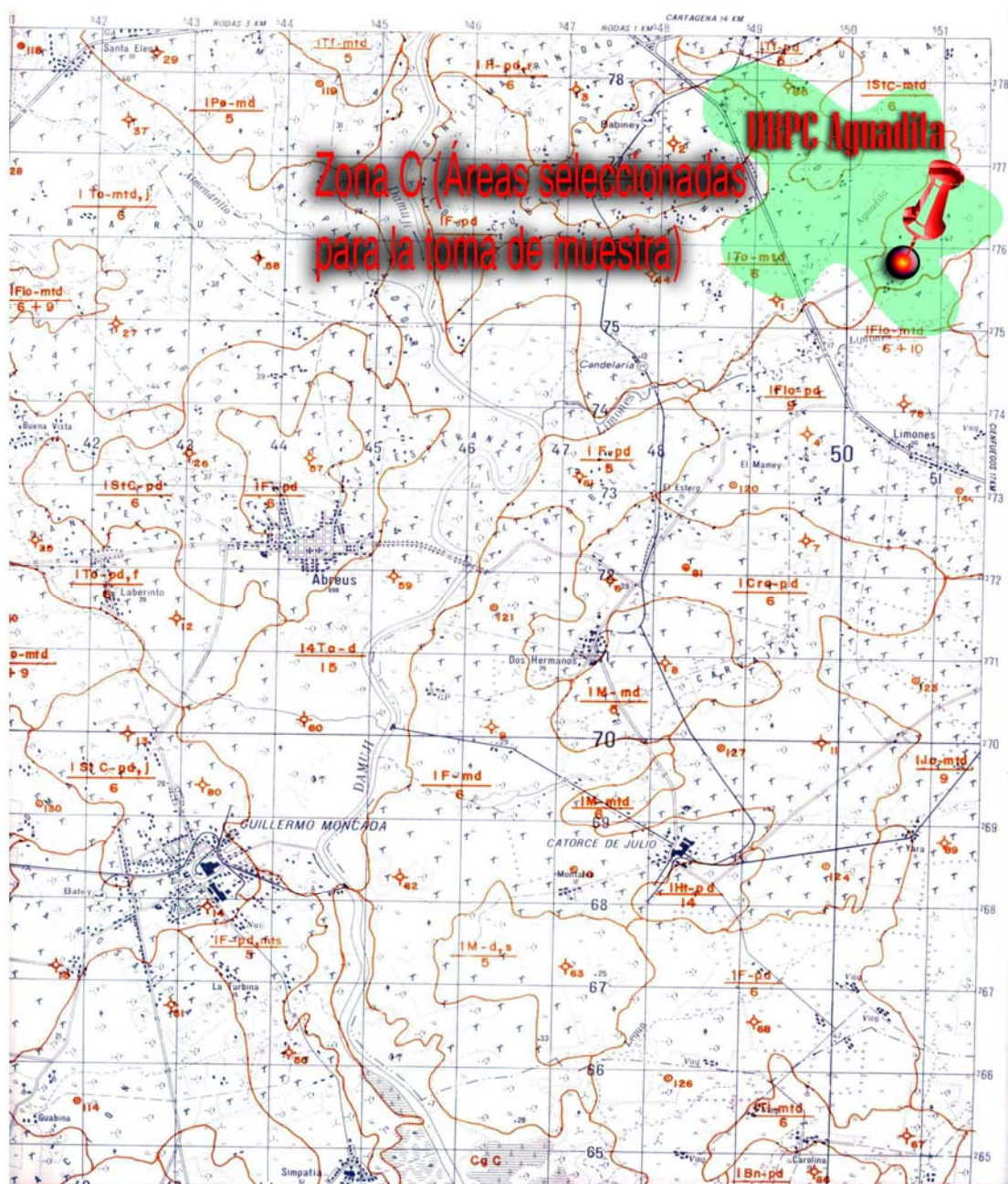


MINISTERIO DE LA AGRICULTURA
REPUBLICA DE CUBA





Anexo 3. Mapa zona C, Cienfuegos.





Anexo 4. Electroforesis para la determinacion de isoenzimas.

Preparación de soluciones madres.

1. Solución madre Buffer Tris-Gly (20x)

- 50 g de Gly
- 96.6 g de Tris

Disolver en volumétrico de 1 L con H₂O desionizada.

2. Solución madre Buffer Tris-HCl (2x)

- 46 g de Tris
- 900 ml H₂O desionizada

Disolver

- Añadir HCl hasta pH 8.9

Completar a 1 L

3. Solución madre Gel de Poliacrilamida 8.5 % pH 8.9 (2x)

- 163.1 g de Acrilamida
- 8.9 g de Bis-acrilamida
- Disolver en solución de Tris-HCl
- Añadir 2 ml de TEMED
- Llevar a 1 L con Tris-HCl

Nota: **Guardar en frasco ambar**

4. Preparación de geles en cubeta.

GEL SEPARADOR:

- 25 ml de gel de poliacrilamida
- 25 ml de H₂O desionizada
- 0.7 ml de persulfato de amonio (AMPS) al 10 %

5. Buffer de corrida.

- 25 ml de la solución madre de Tris-Gly en volumétrico de 2 L
- Añadir H₂O desionizada
- Ajustar pH 8.3
- Enrasar.

6. Corrida



7. Polo negativo: Rg de cubeta de las muestras.

Corriente 40-50 nA y 120 V

T de corrida 4 h

8. Tinción de geles.

A) Verter en una probeta 14 ml de HAc glacial

Añadir 0.25 g de benzidina diHCl hasta disolver

Enrasar a 50 ml con H₂O desionizada

B) Se vierte 0.5 ml de H₂O₂ (28-32 %)

Se completa a 50 ml con H₂O desionizada

C) Unir A y B 10 min antes de usarlo.

Procedimiento de tinción:

1. Situar el gel durante 5-10 min hasta aparición de bandas.
2. Lavar 2 ó 3 veces con H₂O d
3. Cubrir el gel con HAc al 10 %.

Según Chamberlain, Hughes y Galvey, 1996

GEL BUFFER

5,4 g Tris-base

1,28 g ácido cítrico

1L de H₂O

pH 8,3

BUFFER DE EXTRACCIÓN

50 mL buffer

40 mg KCl

100 mg MgCl₂

18 mg EDTA (sal disódica)

0,5 mL Tritón X-100

2 mL 10% DTT

2 g PVP-40

ESTANDARIZADO

Se empleó un buffer Tris-Citrato pH 8.3 al que se añadió KCl 0.08%, MgCl₂ 0.2%, EDTA 0.04%, 0,5 mL de Tritón X100 1%, 2 mL 10% DTT y 25 mg PVP-40 4%.