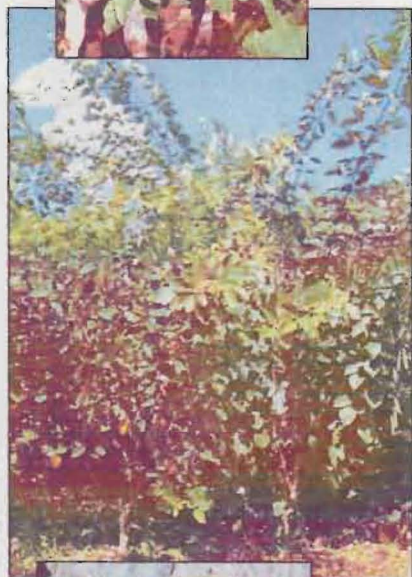


Diversity in the tropical multipurpose shrub legumes

Cratylia argentea (Desv.) O. Kuntze and

Flemingia macrophylla (Willd.) Merrill

Meike S. Andersson



Chapter 9

Summary

Cratylia argentea (Desv.) O. Kuntze and *Flemingia macrophylla* (Willd.) Merrill are promising tropical multipurpose shrub legumes. Both are drought-tolerant, well adapted to low-fertility, acid soils, and especially suited for low-input smallholder production systems in the sub-humid and humid tropics. They can be used in multiple ways, for example as dry season forage supplementation, live soil cover or mulch, erosion barrier hedges, and shade-providing shrubs in young coffee and cocoa plantations. Fairly comprehensive germplasm collections have been assembled from the wild-legume flora in Brazil (*C. argentea*) and Southeast Asia (*F. macrophylla*), but research and development are so far based on only a few accessions and knowledge about the extent of genetic diversity within these collections is very limited. In addition, the potential utilization of *F. macrophylla* is so far limited by poor forage quality and acceptability of the few evaluated accessions.

The objective of the present study, conducted in a research cooperation with the International Centre for Tropical Agriculture (CIAT), Cali, Colombia, was to assess the diversity in the germplasm collections of *C. argentea* (38 accessions) and *F. macrophylla* (69 accessions) in terms of morphological and phenological traits, agronomic and forage quality traits, and molecular markers, and to identify superior genotypes. Based on these different characterization approaches, the objective was furthermore to establish core collections for *F. macrophylla*, and to compare and validate the different strategies, giving particular consideration to their practical implications (time and cost efficiency) for the application to small collections of perennial wild tropical legumes.

Cratylia argentea

In the case of *C. argentea*, high diversity in terms of phenological and agronomic as well as forage quality traits (flowering, seed yield, regrowth capacity, dry matter (DM) production, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and crude protein (CP) content) was detected in the collection, with scope for plant improvement in terms of higher dry season DM production. The accessions CIAT 18674 and CIAT 22406 were identified as promising for further evaluation since they were similar to the commercial cultivar "Veraniega" in terms of forage quality, and superior in terms of DM production, particularly in the dry season.

Molecular marker analysis with random amplified polymorphic DNA (RAPD) showed that the genetic diversity in the *C. argentea* collection was relatively low and fairly homogeneously distributed. The accessions CIAT 22373, CIAT 22378, CIAT 22380, CIAT 22381, and CIAT 22411 were identified as possible duplicates, and bulking them into a

single accession is suggested since they were also very similar morphologically and agronomically.

Molecular marker evidence suggested that outcrossing has occurred and is still occurring among *C. argentea* accessions and precautions should be taken by genebanks to avoid cross-pollination during seed multiplication in the field until more information about the reproduction system and outcrossing rates of *C. argentea* is available. Multiplication protocols should be re-considered to maintain the genetic integrity of accessions. Furthermore, the genetic diversity of accessions repeatedly multiplied in the genebank should be compared with that of the respective "original" accessions to determine whether outcrossing has occurred during or before *ex situ* storage. Based on this information, it should be decided whether the maintenance of individual accessions is desirable, or whether they should be pooled.

Flemingia macrophylla

For *F. macrophylla*, high diversity in terms of morphological and agronomic as well as forage quality traits (plant height, inflorescence and seed characteristics, regrowth capacity, DM production, IVDMD and tannin content) was detected among the 69 accessions. The identification of four morphotypes in the collection probably has taxonomic implications. Scope for plant improvement was identified with respect to forage quality – one of the species' main limitations. The accessions CIAT 18437, CIAT 21083 and CIAT 21090 had similar DM production and higher digestibility than the control accession, and were virtually free of extractable condensed tannins. Problems with low palatability and low seed production of these promising accessions need to be further studied.

Overall genetic diversity in the *F. macrophylla* collection was higher than in *C. argentea*, and its distribution pattern corresponded closely to the four morphotypes revealed by conventional characterization. Various duplicate accessions were identified, and evidence was provided that the non-Asian *F. macrophylla* accessions are not native to their collection site regions, but rather introduced from Southeast Asia.

The comparison of different strategies to create core collections using *F. macrophylla* as example, showed that core collections based on molecular markers best captured the diversity in the entire collection, followed by those based on morphological data and random sampling. Using the latter strategy, 75% of the ranges of traits were retained, making random sampling a viable and resource-efficient option for creating core collections in the absence of other data or when time and funds are restricted. Decisions should be taken on a case-by-case basis to determine whether priority is given to higher core quality (= higher representativeness) or to

greater resource efficiency. Similar studies are needed to test the applicability of these results to other wild legume species.

Overall, the results have direct applications for plant improvement of these promising multipurpose legumes. The superior genotypes selected in this study will be used in work with farmers in CIAT-research sites in Central America and distributed to partners. It must be recognized, however, that the diversity assessed is influenced by the climatic and edaphic conditions at the site where the studies were conducted. Therefore, multilocational trials should be considered with a selected subset (including the promising accessions) of *C. argentea* and *F. macrophylla* i) to assess the extent of genotype x environment interaction, and ii) to identify genotypes with consistently high performance in a range of distinct environments. Furthermore, research on the reproduction system of both species is urgently required to determine the potential extent and impact of outcrossing.

Beyond the immediate application of these species for farmer utilization, the results of the use and comparison of different approaches to assess diversity and to establish core collections can help to improve germplasm management and characterization of wild tropical legume species in general. Random sampling has been identified as a valuable and resource-efficient strategy for the creation of core collections when no additional information about accessions is available, and in the absence of adequate funds. The validation of the findings of this study with a broader range of perennial tropical wild legumes is necessary to assess their applicability to other species.

Chapter 10

Zusammenfassung

Die tropischen Mehrzweck-Buschleguminosen *Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze und *Flemingia macrophylla* (Willd.) Merrill werden wegen ihrer Trockentoleranz und Anpassung an nährstoffarme, saure Böden als vielversprechend angesehen. Deren Anbau ist besonders für Kleinbauern geeignet, und sie können in vielfältiger Weise eingesetzt werden, z.B. zur Futterergänzung während ausgedehnter Trockenzeiten, als Bodendecker, Mulch und Lebendzäune, zum Erosionsschutz sowie als Schattenbäume. Umfassende Samenkollektionen sind verfügbar, mit Akzessionen von Wildpopulationen aus Brasilien (*C. argentea*) und Südostasien (*F. macrophylla*). Die Erforschung und Verbesserung beider Arten beschränkte sich bislang lediglich auf wenige Akzessionen, und das Ausmaß der genetischen Diversität innerhalb der Sammlungen ist daher praktisch unbekannt. Zudem ist das Potenzial der bisher bekannten Akzessionen von *F. macrophylla* durch einen relativ niedrigen Futterwert limitiert.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war im Rahmen einer Forschungskooperation mit dem Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Kolumbien, die verfügbare genetische Diversität von *C. argentea* (38 Akzessionen) und *F. macrophylla* (69 Akzessionen) anhand morphologischer und phänologischer Merkmale, agronomischer und Futterwert-Eigenschaften, sowie anhand molekularer Marker zu erfassen und zu beschreiben, und vielversprechende Akzessionen zu identifizieren. Weiterhin sollten beispielhaft anhand von *F. macrophylla* verschiedene Strategien zur Erstellung von *core collections* – basierend auf den o.g. Ansätzen zur Erfassung der Diversität – verglichen und validiert werden, und deren praktische Bedeutung (Kosten, Zeitaufwand) für die Erstellung von *core collections* mehrjähriger tropischer Wildleguminosen im allgemeinen untersucht werden.

Cratylia argentea

In der *C. argentea* Kollektion wurde eine grosse Diversität ermittelt (Tage bis Blühbeginn, Samenproduktion, Wiederaustrieb, Trockenmasseproduktion, *in vitro* Verdaulichkeit der Trockenmasse (IVDMD), Rohprotein-Gehalt), sowie Potenzial zur Sortenverbesserung in Bezug auf höhere Trockenmasseproduktion, besonders in der Trockenzeit. Die Akzessionen CIAT 18674 und CIAT 22406, die eine ähnlich hohe Futterqualität wie die Sorte „Veraniega“ aufwiesen, wurden wegen ihrer höheren Trockenmasseproduktion für weitere Evaluierungen ausgewählt.

Die molekulare Analyse mit „random amplified polymorphic DNA“ (RAPD)-Markern zeigte, dass die genetische Diversität in der *C. argentea* Kollektion relativ gering war. Die

Akzessionen CIAT 22373, CIAT 22378, CIAT 22380, CIAT 22381 und CIAT 22411 wurden als mögliche genetische Duplikate identifiziert. Es wird daher vorgeschlagen, sie zu einer einzigen Akzession zusammen zu fassen, da sie sich auch in Bezug auf morphologische und agronomische Merkmale sehr ähnlich waren.

Weiterhin lassen die Ergebnisse der molekularen Marker Analyse auf das Vorkommen von Auskreuzungen schließen. Den Genbanken wird deshalb empfohlen, die Vorgehensweise bei der Vermehrung von *C. argentea* zu überprüfen und gegebenenfalls Maßnahmen zu ergreifen, um die Kreuzbestäubung zwischen Akzessionen zu verhindern. Außerdem sollte die genetische Diversität der durch die Genbank vermehrten Akzessionen mit der Diversität der entsprechenden Originalakzessionen verglichen werden, um zu ermitteln, ob Auskreuzungen bereits in den natürlichen Populationen der Wildflora oder erst in der Genbank stattgefunden haben. Anhand dieser Information sollte dann entschieden werden, ob sämtliche Akzessionen individuell erhalten werden sollten, oder ob einige zusammengefasst werden können.

Flemingia macrophylla

In der *F. macrophylla* Kollektion wurde eine große Diversität für mehrere Eigenschaften (Pflanzenhöhe, Blüten- und Fruchtmerkmale, Wiederaustrieb, Trockenmasseproduktion und IVDMD) ermittelt. Eine Beschreibung von vier unterschiedlichen Morphotypen hat wahrscheinlich taxonomische Bedeutung. Sortenverbesserung im Hinblick auf höhere Futterwerte – einem der das Potenzial der Art limitierenden Faktoren – scheint aussichtsreich zu sein. Die Akzessionen CIAT 18437, CIAT 21083 und CIAT 21090 wiesen eine ähnliche Trockenmasseproduktion wie die als Kontrolle dienende Akzession auf, aber höhere IVDMD sowie praktisch keine Tannin-Gehalte. Schmackhaftigkeitsprobleme und die geringe Samenproduktion dieser Akzessionen erfordern weitere Aufmerksamkeit.

Die genetische Diversität in der *F. macrophylla* Kollektion war größer als die in *C. argentea*, und ihre Struktur entsprach weitestgehend der Diversität von morphologischen Merkmalen. Es wurden mehrere genetische Duplikate identifiziert. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die nicht-asiatischen *F. macrophylla* Akzessionen nicht nativ an ihren Sammelorten vorkommen, sondern wahrscheinlich von aus Südostasien eingeführten Akzessionen abstammen.

Der Vergleich der verschiedenen *core collection*-Strategien zeigt, dass die Erstellung von *core collections* anhand molekularer Marker die Diversität der Gesamtkollektion am besten widerspiegelte, gefolgt von der Strategie basierend auf morphologischen Merkmalen und anhand einer zufälligen Auswahl der Akzessionen. Letztere erfasste 75% der Variationsbreite wichtiger Merkmale und stellt daher eine zuverlässige und ökonomische Alternative zur *core collection* Erstellung dar, sofern keine anderen Informationen über die Akzessionen

vorhanden sind, oder wenn finanzielle Ressourcen und Zeit limitierende Faktoren darstellen. Die Entscheidung für eine bestimmte Strategie sollte von Fall zu Fall getroffen werden, in Abhängigkeit davon, ob höherer *core*-Qualität (d.h. höhere Repräsentativität) oder höherer Ressourcen-Effizienz der Vorzug gegeben wird. Ferner sollte die Anwendbarkeit der Ergebnisse auf andere Arten überprüft werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden insofern direkt angewandt, indem die als besonders geeignet identifizierten Akzessionen in on-farm Versuchen des CIAT und seiner Partner in Mittelamerika weiter getestet werden. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Diversität von den klimatischen und edaphischen Bedingungen am Evaluierungsstandort beeinflusst ist. Die Durchführung multi-lokationaler Versuche mit ausgewählten *subsets* (einschließlich der vielversprechendsten Akzessionen) von *C. argentea* and *F. macrophylla* ist deshalb erforderlich, um i) das Ausmaß der Genotyp x Umwelt Interaktion zu erfassen, sowie ii) Genotypen mit durchgängig guten Eigenschaften unter verschiedenen Umweltbedingungen zu identifizieren. Weiterhin wird die Notwendigkeit der Bestimmung der Reproduktionsstrategie beider Arten hervorgehoben, um das Ausmaß der Auskreuzungen zu ermitteln.

Abgesehen von der unmittelbaren Anwendbarkeit dieser beiden Mehrzweck-Arten durch Kleinbauern können die Ergebnisse der Vergleiche der unterschiedlichen Ansätze zur Ermittlung der Diversität und zur Erstellung von *core collections* dazu beitragen, das Management und die Evaluierung von tropischen Wildleguminosen allgemein zu verbessern. Die Zufalls-Strategie wurde als zuverlässige und Ressourcen sparende Alternative zur *core collection* Erstellung identifiziert, wenn fehlende Informationen oder knappe Ressourcen limitierende Faktoren sind. Die Ergebnisse sollten anhand anderer tropischer Wildleguminosen auf ihre Übertragbarkeit auf weitere Arten überprüft werden.