CARACTERIZACION DE DOS GRAMINEAS FORRAJERAS DE *Brachiaria* (*B. decumbens* y *B. ruziziensis*) Y SUS RECOMBINANTES GENETICOS POR SU ADAPTACION A SUELOS CON BAJO FOSFORO DISPONIBLE Y ALTA SATURACION DE ALUMINIO

SERGIO LUIS MEJIA KERGUELEN
Código # 09004503

Trabajo de grado presentado para optar el título de
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
AREA: MEJORAMIENTO GENETICO VEGETAL

DIRIGIDO POR

Dr. Idupulapati Rao, B.Sc., M.Sc., Ph.D
Nutrición de Plantas
CIAT

Dr. Hernando Ramírez, Biólogo, M.Sc., Ph.D
Universidad Nacional de Colombia
Sede Palmira

ESCUELA DE POSGRADOS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
2007

CARACTERIZACION DE DOS GRAMINEAS FORRAJERAS DE *Brachiaria* (*B. decumbens* y *B. ruziziensis*) Y SUS RECOMBINANTES GENETICOS POR SU ADAPTACION A SUELOS CON BAJO FOSFORO DISPONIBLE Y ALTA SATURACION DE ALUMINIO

CHARACTERIZATION OF TWO OF GRASS FORAGES *Brachiaria* (*B. decumbens* and *B. ruziziensis*) AND ITS GENETIC RECOMBINANTES FOR ADAPTATION TO ITS SOIL WITH LOW AND HIGH PHOSPHORUS AVAILABLE SATURACION ALUMINIUM

ESCUELA DE POSGRADOS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
2007

CARACTERIZACION DE DOS GRAMINEAS FORRAJERAS DE *Brachiaria* (*B. decumbens* y *B. ruziziensis*) Y SUS RECOMBINANTES GENETICOS POR SU ADAPTACION A SUELOS CON BAJO FOSFORO DISPONIBLE Y ALTA SATURACION DE ALUMINIO

La tesis fue aprobada por:

Idupulapati Rao, Ph.D
Director

Hernando Ramírez, Ph.D
Director

Carlos Germán Muñoz, Ph.D
Jurado

Arnulfo Gómez C. Ph.D
Jurado

Alvaro Rincón, Ph.D
Jurado

DEDICATORIA

A Dios

A mis hijas Cata y Caro

A mi madre y hermanos

A la memoria de mi padre

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) por el apoyo en la realización de este trabajo.

Al Swiss Centre for International Agriculture (ZIL) y al Swiss Federal Institute of Techology (ETH) por su apoyo técnico y financiero.

Al Dr. Idupulapati Rao por sus orientaciones y compartir sus conocimientos.

Al Dr. Hernando Ramírez por sus orientaciones y aportes.

Al Dr. Carlos Germán Muñoz por su gran apoyo y comprensión.

Al Ingeniero Valerio Hoyos por su gran ayuda en análisis y sistematización de la información.

A José Polanía, Joisse Rincón, Jaumer Ricaurte y Ramiro García por su apoyo y compañerismo.

A Jarden Molina, Martín Otero y Alberto López por su apoyo y compañerismo.

A Edgar Cuarán y Marta Nupan por su apoyo y compañerismo.

A todos los compañeros del laboratorio de sequía y fitonutrición por su apoyo y compañerismo.

Contenido

		Pág.
1.	Abstract	xviii
2.	Resumen general	xix
3.	Introducción	1
4.	Marco Teórico	4
4.1.	El Género *Brachiaria*	4
4.1.1.	*Brachiaria decumbens*	4
4.1.2.	*Brachiaria ruziziensis*	5
4.2.	Suelos Ácidos	5
4.2.1.	Mecanismos de adaptación de las plantas a toxicidad por aluminio	9
4.3.	El fósforo	11
4.3.1.	Historia	11
4.3.2.	Papel del fósforo en la planta y efectos de la deficiencia	11
4.3.3.	Suelos con bajo fósforo	14
4.3.4.	Características de los suelos tropicales deficientes en P	14
4.3.5.	Mecanismos que mejoran la absorción de P	15
4.3.5.1.	Múltiples transportadores del Pi	16
4.3.5.2.	Compartimentación de P	17
4.3.5.3.	Regulación de la absorción del Pi	17
4.3.5.4.	Translocación del P en la planta	18
4.3.5.5.	Micorrizas en la absorción del P	19
4.3.6.	Características morfológicas de la raíz	20
4.3.6.1.	Mejoramiento genético para la adaptación a bajo P	21
4.3.6.2.	Regulación de las respuestas genéticas tempranas a la deficiencia de P	23

5. PARTE I. Evaluaciones en soluciones nutritivas. 24

5.1. Localización 24

5.2. Material experimental 24

5.3. ENSAYO 1. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en solución nutritiva con alto y bajo P sin presencia de Al. 24

5.3.1. Resumen 24

5.3.2. Materiales y Métodos 25

5.3.2.1. Condiciones de crecimiento 25

5.3.2.2. Medidas y análisis 26

5.3.3. Resultados y discusiones 27

5.3.3.1. Producción de biomasa aérea 27

5.3.3.2. Área foliar 28

5.3.3.3. Producción de biomasa de raíz 30

5.3.3.4. Longitud de raíz 30

5.3.3.5. Longitud específica de raíz 32

5.3.3.6. Diámetro de raíz 34

5.3.4. Conclusiones 34

5.4. ENSAYO 2. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en solución nutritiva con alto y bajo P en presencia de Al. 35

5.4.1. Resumen 35

5.4.2. Materiales y Métodos 36

5.4.2.1. Condiciones de crecimiento 36

5.4.2.2. Medidas y análisis 36

5.4.3. Resultados y Discusiones 36

5.4.3.1. Área foliar y Peso seco de biomasa aérea 36

5.4.3.2. Producción de biomasa de raíz 38

5.4.3.3. Diámetro de raíz 38

5.4.3.4. Longitud de raíz 39

5.4.3.5. Longitud específica de raíz 40

5.4.3.6. Volumen de raíz 41

5.4.3.7. Puntas de raíz 42

5.4.4. Conclusiones 44

5.5. ENSAYO 3. Evaluación de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* y sus recombinantes genéticos en solución nutritiva con y sin presencia de Al. 44

5.5.1. Resumen 44

5.5.2. Materiales y Métodos 46

5.5.2.1. Condiciones de crecimiento 46

5.5.2.2. Medidas y análisis 46

5.5.3. Resultados y Discusiones 46

5.5.3.1. Longitud, diámetro y volumen de raíz 46

5.5.1. Conclusiones 51

6. PARTE II. Evaluaciones en suelo ácido (Matazul, Meta). 52

6.1. Localización 52

6.2. Material experimental 53

6.3. ENSAYO 1. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en suelo ácido (Matazul, Meta) con diferentes niveles de P. 53

6.3.1. Resumen 53

6.3.2. Materiales y Métodos 53

6.3.2.1. Condiciones de crecimiento 54

6.3.2.2. Medidas y análisis 54

6.3.3. Resultados y Discusión 55

6.3.3.1. Producción de biomasa aérea 55

6.3.3.2. Área foliar 56

6.3.3.3. Producción de biomasa muerta 58

6.3.3.4. Producción de biomasa de raíz 58

6.3.3.5. Absorción de fósforo en las partes de la planta 59

6.3.3.6. Eficiencia en el uso de P 60

6.3.3.7. Fraccionamiento de la biomasa 62

6.3.4. Conclusiones 62

6.4. ENSAYO 2. Evaluación de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* y sus recombinantes genéticos (193 individuos) en suelo ácido (Matazul, Meta) con bajo P. 63

6.4.1. Resumen 63

6.4.2. Materiales y Métodos 63

6.4.2.1. Condiciones de crecimiento 63

6.4.2.2. Medidas y análisis 64

6.4.3. Resultados y discusiones 65

6.4.3.1. Producción de biomasa aérea 65

6.4.4. Conclusiones 70

6.5. ENSAYO 3. Evaluación de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* y 8 recombinantes genéticos contrastantes por su adaptación a bajo P disponible en el suelo. 71

6.5.1. Resumen 71

6.5.2. Materiales y Métodos 71

6.5.2.1. Condiciones de crecimiento 71

6.5.2.2. Medidas y análisis 72

6.5.3. Resultados y discusiones 73

6.5.3.1. Producción de biomasa aérea 73

6.5.3.2. Área foliar 80

6.5.3.3. Producción de biomasa de raíz 81
6.5.3.4. Fraccionamiento de la biomasa 82
6.5.3.5. Longitud de raíz 82
6.5.3.6. Longitud específica de la raíz 84
6.5.3.7. Diámetro de raíz 85
6.5.3.8. Volumen de raíz 86
6.5.3.9. Absorción de fósforo en las partes de la planta 88
6.5.3.10. Eficiencia en el uso de fósforo 89
6.5.3.11. Eficiencia en la absorción de fósforo 90
6.5.4. Conclusiones 91
7. Conclusiones generales 93
8. Recomendaciones 95
9. Bibliografía 96
10. Anexos 110

Lista de Tablas

Tabla 1. Principales limitaciones edáficas de América Tropical (23°N a 23°S de latitud).

Tabla 2. Concentración de los nutrientes en la solución hidropónica nutritiva, utilizada en la fase de enraizamiento (9 días).

Tabla 3. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Tabla 4. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Tabla 5. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y volumen de raíz de *Bd*, *Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin Al durante 3 semanas.

Tabla 6. Coeficientes de correlación simples entre biomasa aérea y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

Tabla 7. Análisis de suelo de Matazul, Meta a la siembra y cosecha. CIAT, Palmira, 2006.

Tabla 8. Coeficientes de correlación simples entre biomasa aérea y otras variables de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo P durante 6 semanas.

Tabla 9. Análisis de suelo de Matazul, Meta después de aplicados los nutrientes al momento de la siembra y cosecha.

Tabla 10. Coeficientes de determinación (R^2) y correlación simples (r) entre biomasa aérea y otras variables de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Lista de Figuras

Figura 1. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Figura 2. Plantas de *Bd* y *Br* evaluadas en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Figura 3. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 4 semanas.

Figura 4. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 4 semanas.

Figura 5. Raíces de plantas de *Bd* y *Br* evaluadas en soluciones nutritivas con bajo y alto P en presencia de Al durante 4 semanas.

Figura 6. Longitud de raíz y diámetro de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas.

Figura 7. Longitud de raíz y volumen de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas.

Figura 8. Desarrollo radicular de *Bd*, *Br* y 2 progenies en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas.

Figura 9. Longitud de raíz con y sin presencia de Al en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas durante 3 semanas.

Figura 10. Plantas de *Br* y *Bd* evaluadas en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

Figura 11. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

Figura 12. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

Figura 13. Evaluación de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P.

Figura 14. Peso seco de biomasa aérea y peso seco de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

Figura 15. Peso seco de biomasa aérea y absorción total de P en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

Figura 16. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en el uso P de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

Figura 17. Peso seco de biomasa total y absorción total de P en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

Figura 18. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 19. Efecto de bajo P en *Bd*, *Br* y 8 progenies F1 en suelo de Matazúl, Meta a la semana 6 después de siembra.

Figura 20. Peso seco de biomasa aérea y longitud de raíz de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 21. Peso seco de biomasa aérea en bajo y alto P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul durante 6 semanas.

Figura 22. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en el uso de P en *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 23. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en la absorción de P en *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 24. Longitud de raíz en bajo y alto P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul durante 6 semanas.

Figura 25. Longitud de raíz y absorción total de P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 26. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 27. Efecto de bajo y alto P en 2 genotipos contrastantes por su adaptación a bajo P a la semana 6 después de siembra.

Figura 28. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Figura 29. Eficiencia en el uso de P y eficiencia en la absorción de P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Lista de anexos

Anexo 1. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas durante 3 semanas con bajo y alto P sin presencia de Al.

Anexo 2. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas durante 3 semanas con bajo y alto P en presencia de Al.

Anexo 3. Evaluación de *Bd*, *Br* y población conformada por sus recombinantes genéticos en solución nutritiva con y sin Al.

Anexo 4. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo ácido procedente de Matazul (Meta) con diferentes niveles de P durante 80 días.

Anexo 5. Evaluación de *Bd*, *Br* y población conformada por sus recombinantes genéticos en suelo de Matazul (Meta) con bajo P.

Anexo 6. Evaluación de *Bd*, *Br* y 8 recombinantes genéticos contrastantes por su adaptación a bajo P

Anexo 7. Curva de retención de humedad para el suelo de Matazul, Meta.

Anexo 8. Análisis de suelo de Santander de Quilichao (Cauca), utilizado para el aumento del material vegetativo de los genotipos evaluados.

Anexo 9. Niveles de fertilización empleados para el suelo Matazul, Meta.

1. Abstract

To reduce P fertilization, more efficient genotypes in the uptake and use of P must be developed, and their morphological and physiological plant attributes that confer better adaptation to low P in the presence of Al must be determined. In the present work 2 *Brachiaria* species and their genetic recombinants were evaluated under nutritive solutions and soil from Matazul, Meta. The results indicated that the parents and progenies presented positive responses when P supply was increased. Variability and transgresive segregation were found in the population, what supposes that neither of the parents have all the favorable or disfavorable genes accumulated for adaptation to low P in the presence of Al, that could be acting as genes with additive and multiplicative effects in nutritive solutions, root traits such as, greater root length, greater specific root length, lesser diameter, greater volume and greater number of tips are those that have the greatest importance in low-P adaptation, the shoot attributes present little relevance. In soil both attributes influence low-P adaptation in presence of Al, the more adapted genotypes present greater shoot biomass, explained by greater leaf area, greater P uptake in the stem and greater root volume. The morphological root traits, mainly length, dry weight and P content, allow the plant better adaptation to low P. the P use efficiency seem to be the mechanism that some of the evaluated genotypes use to adapt to low P condition in the presence of Al.

2. Resumen general

Para reducir la fertilización con P se deben desarrollar genotipos más eficientes en adquirir y utilizar el P, y determinar los atributos morfológicos y fisiológicos de la planta que le confieren mejor adaptación a bajo P en presencia de Al. En el presente trabajo se evaluaron en invernadero con soluciones nutritivas y suelo de Matazul, Meta, 2 especies de *Brachiaria* y sus recombinantes genéticos. Los resultados indicaron que los parentales y progenies presentaron respuestas positivas al incrementarse el suministro de P. Se presentó variabilidad y segregación transgresiva en la población, lo que supone que ninguno de los padres tienen acumulados todos los genes favorables ni desfavorables para adaptación a bajo P en presencia de Al, que pueden estar actuando genes con efectos aditivos y multiplicativos. En soluciones nutritivas atributos radicales como, mayor longitud de raíz, mayor longitud específica de raíz, menor diámetro, mayor volumen y mayor número de puntas de raíz son los que tienen mayor importancia en la adaptación a bajo P, los atributos aéreos presentan poca relevancia. En suelo ambos atributos influyen en la adaptación a bajo P en presencia de Al, los genotipos mejor adaptados presentan mayor biomasa aérea, explicada por mayor área foliar, mayor absorción de P en el tallo y mayor volumen de raíz. Las características morfológicas de las raíces, principalmente longitud, peso seco y contenido de P, le permiten a la planta mejor adaptación a bajo P. La eficiencia en el uso del P parece ser el mecanismo que utilizan algunos de los genotipos evaluados para adaptarse a condiciones de bajo P en presencia de Al.

3. Introducción

La importancia económica de los pastos del género *Brachiaria* es bien conocida. El potencial forrajero de estas gramíneas fue reconocido por primera vez hace cerca de 40 años, sobre todo en algunos nichos muy específicos de Australia tropical. No obstante, solo en los últimos 20 a 25 años se percibió el gran impacto que puede tener este género, cuando se sembró en América tropical, una gran extensión de tierra con un puñado de cultivares *Brachiaria* derivados directamente de germoplasma natural (Miles *et al*., 1998; 2004).

De los pastos tropicales, las especies de *Brachiaria* son las más expandidas en todo el mundo. Por ejemplo en Brasil se calcula que hay alrededor de 70 millones de hectáreas plantadas, estas han incrementado la productividad en un factor de 5-10 con respecto a la vegetación de sabana nativa, esto representa una significativa contribución a los ingresos de los ganaderos, sin embargo, en pocos años de establecidas estas pasturas pueden presentar degradación debido a problemas de acidez y deficiencias de N y P (Rao *et al*., 1998a,b; 1999).

Las principales limitaciones de los suelos ácidos son la toxicidad causada por el Al o el Mn (o ambos) y las deficiencias de nutrimentos esenciales como, N, P, Ca y Mg; aunque se han identificado ecotipos de *Brachiaria* que se adaptan bien a estos suelos, poco se sabe acerca de sus mecanismos de adaptación (Rao *et al.*, 1993; 1998). Estudios sobre mecanismos de la resistencia al Al en *Brachiaria* indican que *B. decumbens* es altamente resistente al Al (Wenzl *et al.*, 2001). El alto nivel de resistencia al Al en *B. decumbens* no está asociada con mecanismos conocidos de detoxificación del Al en puntas de raíces. Por lo tanto, mecanismos de resistencia altamente efectivos basados en diferentes estrategias fisiológicas parecen operar en *B. decumbens* (Miles *et al*., 2004).

El fósforo es el nutrimento que mas limita el crecimiento y la productividad de las pasturas de *Brachiaria* en los suelos ácidos (Sánchez y Salinas, 1981). Hasta los

suelos que tienen un alto contenido total de P pueden tener una capacidad de suministro de P baja, puesto que hay reacciones químicas que fijan el P-fosfato en formas que no están fácilmente disponibles para las plantas. La cantidad de P que debe aplicarse para corregir una deficiencia varía según la capacidad de absorción del P que tiene el suelo y la habilidad de la planta para absorber y utilizar el P eficientemente para su desarrollo (Rao *et al.*, 1998a).

El fósforo como fosfato es un componente integral de un número bastante importante de compuestos presentes en las células, como son los azucares fosfatados usados en la respiración y en la fotosíntesis y fosfolípidos que hacen parte de la membrana celular (Rao, 1996; Jain *et al.*, 2007). También es un componente de los nucleótidos usados en el metabolismo energético de la planta y en las moléculas de ADN y ARN. Los requerimientos de P para un crecimiento óptimo en las plantas están en el rango de 3 a 5 mg por gramo de materia seca durante la etapa vegetativa de crecimiento. La deficiencia de P resulta en la reducción del crecimiento de la planta, en un retardo de la madurez y por consecuente en una reducción en el rendimiento (A. Low-Gaume, 2001), por esta razón, es necesario aplicar fertilizantes inorgánicos de P a las cosechas. Sin embargo, la naturaleza no renovable de estos fertilizantes significa que las fuentes baratas de P, tales como rocas fosfóricas serán agotadas en los próximos 60 – 90 años (Runge-Metzger, 1995), además, el exceso de P agregado a las cosechas puede contaminar los arroyos locales. Por lo tanto, la fertilización con P debe ser reducida, esto se puede lograr desarrollando genotipos que puedan adquirir y utilizar mas eficientemente el P, o desarrollando métodos mas exactos para supervisar el estado nutricional de las cosechas (Hammond *et al.*, 2004).

La eficiencia en la absorción de P, se refiere a la habilidad que tienen las plantas en tomar gran cantidad de P por unidad de longitud de raíz (Rao, 2001), o la habilidad que tienen los genotipos tolerantes de tomar P cuando se han sembrado en condiciones de bajo P (Schaffert *et al.*, 2001; Alves *et al.*, 2002).

La eficiencia en la absorción se atribuye a adaptaciones morfológicas, fisiológicas y bioquímica de las raíces (Rao *et al*., 1999; Lynch y Brown, 2001; Abel *et al*, 2002). Morfológicamente van desde cambios en la estructura de la raíz, hasta modificaciones en la cantidad, densidad y longitud de las raíces laterales, raíces adventicias y pelos radicales (Bates y Lynch, 2000). Además las raíces responden bioquímicamente con la expresión y secreción de enzimas como fosfatasas ácidas y ARNsas (Trull y Deikman, 1998), con la síntesis y exudación de ácidos orgánicos (Jones, 1998); y con un aumento en la síntesis de transportadores de Pi (Raghothama, 2000; Jain *et al*., 2007).

Se puede mejorar la absorción de P en las especies de *Brachiaria* mediante alguno de los siguientes atributos: Sistema radical que proporcione mayor contacto con el P del suelo, mayor absorción por unidad de longitud radical gracias a mecanismos de absorción mejorados, capacidad de usar formas orgánicas o inorgánicas insolubles de P, las cuales generalmente no están disponibles para las plantas o lo están en poca cantidad y la asociación de micorrizas vesículo-arbasculares (MVA) puede afectar a cada uno de estos atributos en forma significativa (Rao *et al.*, 1998).

El objetivo de este estudio fue identificar las características morfológicas y fisiológicas de la planta, que pueden estar involucradas en la adaptación a bajo fósforo disponible en el suelo en presencia de aluminio, en 2 genotipos de *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens,* considerado mejor adaptado y *Brachiaria ruziziensis*, menos adaptado) y una población conformada por recombinantes genéticos del cruzamiento entre estas 2 especies.

4. Marco Teórico

4.1. El Género *Brachiaria*

Brachiaria es un género amplio que contiene cerca de 100 especies, a pesar de estar distribuidos en todo el trópico, se encuentran principalmente en África. Los hábitats en que crecen estas especies son muy variados, se les encuentra en pantanos, bosques de sombra ligera y en áreas semidesérticas, aunque el ambiente típico de la mayoría de ellas son las sabanas tropicales. Muchas especies se encuentran también como malezas en los cultivos, a lo largo de los caminos y en sitios intervenidos. El interés agronómico despertado por este género se centra en varias especies que se emplean para desarrollar pasturas tropicales; entre ellas sobresale *B. decumbens*, cuyo desempeño ha superado el de otras gramíneas en las pasturas tropicales (Renvoize, Clayton y Kabuye, 1998).

Brachiaria es una gramínea de macollas, caracterizada por sus espigas oblongas o elípticas gruesas, de 4 a 6 cm de largo, alineadas según la especie en filas sencillas o dobles. Las hojas miden de 20 – 40 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho, y presenta bordes duros y ásperos (Miles *et al.,* 1998).

Los cultivares de *Brachiaria* son gramíneas forrajeras ampliamente utilizadas para la producción ganadera en regiones de suelos ácidos con deficiencia de fósforo en América Latina, particularmente en los ecosistemas de sabanas. Las especies que se usaron para dar inicio al fitomejoramiento en este género, fueron *B. decumbens y B. ruziziensis* (Miles, Maass y do Valle, 1998).

4.1.1. Brachiaria decumbens

El cultivar de *B. decumbens* de uso más conocido y amplio es el Basilisk, fue derivado de semilla (CPI 1694) introducida en Australia proveniente del Departamento de Agricultura de Uganda, en 1930. En Australia, en 1966 se

aprobó la liberación comercial de este cultivar, el cual fue registrado en 1973 (Stur *et al.*, 1998); la amplia adopción de esta especie se atribuye a su alta productividad bajo uso intensivo y su excelente adaptación a suelos ácidos áridos (pH<5,5), además responde muy bien a la fertilización, es persistente y se mantiene verde en condiciones de sequía, y proviene de una accesión de germoplasma resistente a la toxicidad por Al. Es una gramínea palatable de buena calidad nutricional y los animales que la consumen presentan buen desempeño. Su reproducción apomíctica ofrece diversas ventajas debido a la fijación del vigor híbrido en sus semillas, asegurando la preservación de su constitución genética original (Keller *et al.,*1998; Rao *et al*., 1996).

4.1.2. Brachiaria ruziziensis

Es nativa del Valle Ruzi de Zaire y Burundi y se ha difundido ampliamente en los países tropicales; es originaria de Rwanda, y se multiplicó en la Estación de Investigación Paqueteale en Kenia. El pasto Ruzi proporciona forraje palatable de alto valor nutritivo, produce abundante semilla, necesita suelos fértiles, de buen drenaje; es altamente susceptible a suelos con alto contenido de Al, es susceptible también al salivazo (Ae*neolamia sp*) plaga de gran importancia y es menos productivo que *B. decumbens*. Produce semilla sexual (diploide 2n=2x). Fue modificado artificialmente en Brasil en la Empresa Brasielira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) utilizando colchicina para obtener una especie tetraploide (2n=4x). El tetraploide puede cruzarse con las especies apomícticas de *B. decumbens* y *B. brizantha* para obtener híbridos que combinen la persistencia, la productividad, y adaptación a suelos de baja fertilidad (Keller *et al.,*1998).

4.2. Suelos Ácidos

Se estima que el 40% de los suelos arables del mundo son acídicos y por lo tanto presentan riesgos por toxicidad con Al. Aun mas revelador es el hecho de que muchas de estas áreas están ubicadas en países en desarrollo en Suramérica,

África central y el sureste de Asia, donde la producción de alimentos puede ser crítica (Vitorello *et al.*, 2005).

El trópico americano presenta 2 ecosistemas predominantes: el de sabanas, que cubre alrededor de 360 millones de hectáreas, y el de bosques, con una extensión aproximada de 620 millones de hectáreas. En ambos ecosistemas predominan suelos, que en su mayoría (800 millones de ha). Son clasificados como oxisoles y ultisoles, de acuerdo con el sistema americano de taxonomía de suelos (Salinas y Castilla, 1990). En Brasil solamente las sabanas ácidas con baja capacidad de intercambio catiónico y alta saturación de aluminio tóxico cubren cerca de de 205 millones de hectáreas (Marschner, 1991).

Las principales limitantes relacionadas con los suelos de América tropical se presentan en la tabla 1. Las limitaciones mas ampliamente difundidas en las regiones de oxisoles y ultisoles son mas de naturaleza química que física; las mas importantes son las deficiencias de fósforo y nitrógeno; además, las de potasio, azufre, calcio, magnesio y zinc. Existen adicionalmente toxicidades por aluminio o manganeso (o ambos) y una alta fijación de fósforo. Las limitaciones físicas del suelo mas importantes son la baja capacidad de retención de agua disponible de muchos oxisoles, y la susceptibilidad a la erosión y compactación (en la capa superficial del suelo) de muchos ultisoles de textura arenosa (Salinas y Castilla, 1990).

Tabla 1. Principales limitaciones edáficas de América Tropical (23°N a 23°S de latitud).

Limitación edáfica	Región de suelos ácidos infertiles[a] Area (millones de ha)	Area total (%)
Deficiencia de:		
N	969	93
P	1002	96
K	799	77
Ca, Mg	740	70
S	742	70
Zn	645	62
Cu	310	30
Otras:		
Toxicidad por Al	756	72
Alta fijación de P	672	64

a. El área de esta región de suelos ácidos es aproximadamente 1043 x 10^6 ha.

Fuente: Sánchez y Salinas, 1983.

La acidificación del suelo es un proceso natural el cual empieza cuando las superficies de las rocas son primero colonizadas por algas y líquenes. Los ácidos, ampliamente derivados de los ciclos de carbono y nitrógeno, están involucrados en la disolución del suelo y los minerales rocosos durante el proceso del desarrollo del suelo. En ecosistemas naturales los suelos usualmente llegan a ser gradualmente más ácidos con el tiempo. Los suelos más viejos y climatizados son generalmente más ácidos que los suelos jóvenes. En general, la sobreposición de la producción agrícola resulta en tasas más rápidas de acidificación del suelo (Helyar *et al.*, 1989).

La toxicidad por aluminio es la forma mas distribuida de toxicidad por metales a plantas y su ocurrencia esta comparada solo por la salinidad. A causa de su solubilidad dependiente del pH, la toxicidad por aluminio ocurre solo a valores de pH menores a 5.5 y es más severa en suelos con baja saturación de bases, pobres en Ca y Mg (Vitorello *et al.*, 2005).

El alto contenido de aluminio en las plantas produce síntomas complejos (reducción en la adquisición de nutrientes e incremento a la susceptibilidad a sequía); en el subsuelo puede reducir el desarrollo de las raíces y disminuir el uso de nutrientes. Cuando es absorbido por las raíces, penetra entre el ápice de la raíz y la capa de raíces, por ser un catión polivalente se une fuertemente a las cargas negativas de la pared celular de las raíces transportándose lentamente a través de la membrana plasmática (Delhaize *et al*., 1993), la mayor porción de Al absorbido se localiza en el apoplasto en un rango de 30-90% del total, acumulándose en el núcleo por diferencial de cargas (negativa en el núcleo por los grupos fosfato), moviéndose entre y a través del núcleo, en condiciones de pH ácido, y el citoplasma de las células adyacentes a esta zona; una parte pasa a través de la epidermis y el córtex y cantidades considerables se retienen en las células corticales (Rout *et al*., 2001).

El síntoma mas prominente de la toxicidad por aluminio es la inhibición del crecimiento radicular, el cual puede ser detectado usualmente en 30 minutos a 2 horas, inclusive a concentraciones micromolares de Al. Las raíces afectadas por aluminio se vuelven gruesas y frecuentemente adquieren una coloración oscura, la ramificación y los pelos radicales son reducidos. En el ápice radicular, quiebres son fácilmente observados en la epidermis, expansión radial desigual del cortex causa engrosamiento de las raíces y estrés mecánico en la epidermis. Las células que han sido reportadas de ser afectadas por el Al son el ápice, meristema, células elongantes, los pelos radicales y los inicios de la ramificación. Las puntas de las raíces son la región más sensible. En un examen mas detallado, la región distal de la zona de transición (ZTD) ha mostrado ser la región apical radicular mas sensible al Al. La inhibición del crecimiento radicular es el principal resultado de elongación celular inhibida, mientras que una división celular reducida puede obviamente afectar el crecimiento en etapas posteriores (Vitorello *et al.*, 2005).

Aunque los síntomas de la toxicidad por Al son también manifestados en la parte aérea, estos son una consecuencia de lesiones al sistema radicular. Las

respuestas mas comunes en la parte aérea son modificaciones celulares y ultraestructurales en las hojas, reducción en la apertura estomática, actividad fotosintética reducida, clorosis y necrosis foliar. Exposición al Al a largo plazo y la inhibición del crecimiento radicular generalmente llevan a deficiencias nutricionales, principalmente de P, K, Ca y Mg. La consecuencia final es biomasa reducida. Con la excepción de las plantas acumuladoras de Al (ej, plantas de Té o Hidrángeas), poco aluminio es transportado hacia la parte aérea (Vitorello *et al.*, 2005).

Para algunas plantas los efectos de la toxicidad por aluminio se asemejan aquellos por deficiencia de fósforo. Los síntomas son depresión, hojas pequeñas verde oscuro, y madurez tardía con un color violeta de las hojas y tallos. Comúnmente hay amarillamiento y muerte de las puntas de las hojas. En otras plantas hay una deficiencia inducida de calcio que resulta en enrollamiento de hojas jóvenes, y un colapso de puntos de crecimiento o pecíolos. Las raíces son lesionadas y son frágiles y deprimidas con una forma espatulaza. Las puntas de las raíces se engrosan y se tornan de color café y hay muchas raíces laterales deprimidas sin ramificación fina. Tales raíces son predispuestas a infección fungosa y los procesos de absorción son ineficientes (Hale, 1987).

4.2.1. Mecanismos de adaptación de las plantas a toxicidad por aluminio

Los mecanismos de respuesta a estrés por Al difieren dependiendo del tipo de suelo y horizonte, material parental, estructura del suelo, pH, genotipo y especie de planta; estos factores influyen en las plantas a nivel celular y estructural (Marschner, 1991; Matsumoto, 2000).

Algunas estrategias por el cual las plantas pueden tolerar el Al son: a. habilidad para excluir la entrada del Al en el ápice de la raíz y los pelos radicales (mecanismos del apoplasto), b. desarrollo de mecanismos que dirige la planta

para tolerar concentraciones tóxicas de Al entre la célula (mecanismos del simplasto) y c. acumulación de Al en el tallo. Los mecanismos de resistencia por exclusión de la entrada del Al en el ápice de la raíz resultan de la liberación de ligandos (Ej. citrato y oxalato), que son liberados en la rizósfera, quelatando el Al y previniendo su entrada a la raíz (De la Fuente y Herrera, 1999; Matsumoto, 2000).

La tolerancia al aluminio puede operar por la prevención o reducción de la extracción de aluminio por las plantas o por la detoxificación de Al una vez entra en el tejido vegetal. La exclusión del Al de la planta puede operar en varias formas. Primero, el pH en la zona radicular se puede incrementar y esto disminuye la solubilidad y toxicidad de Al. Este proceso involucra que la planta acumule mas aniones que cationes y excrete iones hidroxilo o bases Bronsted-Lowry. Segundo, se sugiere que la baja capacidad de intercambio catiónico en las raíces esta asociada con la tolerancia al Al. Por consiguiente se espera una disminución en la tasa de difusión del Al trivalente y una reducción en la severidad de los efectos del Al en la expansión de las paredes celulares, ya que habrían menores radicales carboxilo libres en las paredes celulares con los cuales el Al podría unirse. Tercero, se sugiere alguna resistencia por el plasmalema al daño por aluminio. Esto entonces restringiría la difusión de Al hacia el citoplasma. Cuarto, el cambio morfológico bajo estrés de aluminio ha sido sugerido como un mecanismo para tolerancia. Estos autores sugieren la producción de un mucílago para proteger la raíz del daño por Al (Scott *et al.*, 1989), la formación del complejo fosfato inorgánico–Al en la rizósfera (Taylor, 1991; Basu *et al.,* 2001) y existencia de exudados orgánicos (Ej.: citrato, malato, oxalato) que pueden quelatar el Al (Marschner, 1991; De la Fuente y Herrera, 1999; Ma, 2000); Estas características de secreción de exudados son consistentes con los patrones observados en otros genotipos resistentes a Al, por ejemplo, en trigo (malato), maíz y soya (citrato), y avena (citrato y malato) (Pellet *et al*., 1996; Yang *et al*., 2001, Gaume *et al*., 2001); sin embargo, los estudios realizados en *B. decumbens* sugieren que los

mecanismos de detoxificación de Al por ácidos orgánicos juegan un papel secundario (Wenzl *et al*., 2001; 2002).

4.3. El fósforo

4.3.1. Historia

El fósforo fue descubierto en 1669 por el alquimista Hennig Brand de Hamburgo. Buscando la piedra filosofal, Brand destiló una mezcla de arena y orina evaporada, y obtuvo un cuerpo que tenía la propiedad de fosforecer en la oscuridad. Se le llamó fósforo de Brand, para distinguirlo de otros materiales luminosos denominados también fósforo. Durante un siglo se obtuvo esta sustancia exclusivamente de la orina, hasta que en 177I Scheele la produjo de huesos calcinados. Más tarde, la palabra fósforo se reservó para designar esta substancia, cuando Lavoisier demostró que era un elemento e investigó algunos de los productos formados al quemarlo en el aire. Boyle, por su parte parece que también descubrió el fósforo y comunicó el hallazgo a un industrial alemán ,G. Hatkwits, el cual industrializó su obtención en Londres (http://apuntes.com/el-fosforo.html).

4.3.2. Papel del fósforo en la planta y efectos de la deficiencia

El fósforo es un componente esencial de los vegetales, se encuentra, en parte, en estado mineral, pero principalmente formando complejos orgánicos fosforados con lípidos, prótidos y glúcidos, como la lecitina, las nucleoproteínas (componentes del núcleo celular) y la fitina (órganos de reproducción). El P es requerido principalmente por tejidos jóvenes que presentan una alta velocidad de división, en donde participa en una gran cantidad de reacciones relacionadas con el crecimiento celular, desarrollo, fotosíntesis y en la utilización de los carbohidratos. (Clarkson y Hanson, 1980; Rao, 1996). El P es un constituyente del Adenosin-Difosfato (ADP) y del Adenosin-Trifosfato (ATP), que son dos de las más importantes moléculas que intervienen en los procesos energéticos de las células.

El fósforo es considerado uno de los elementos mayores para el óptimo desarrollo y producción de las plantas, debe ser suministrado en forma de fertilizantes fosforados en suelos que presentan deficiencias de este elemento. Los suelos que presentan deficiencias de P, limitan la producción de los cultivos, ya que el P es un nutriente esencial para la planta, el cual esta involucrado en un amplio rango de procesos que van desde permitir la división celular hasta el desarrollo de un buen sistema de raíces. La deficiencia de P tiene un efecto directo en la expresión de algunos genes involucrados con la tolerancia a bajo P, entre estos están los genes que codifican para enzimas como las fosfatasas y RNAsas, (Schaffert *et al.*, 1999).

En los cultivos en general, los requerimientos de P para un óptimo desarrollo de la planta están en el rango de 0.3 – 0.5% de materia seca durante el estado de crecimiento vegetativo. Los contenidos en exceso, por encima de 1% en la materia seca pueden ser tóxicos para la mayoría de los cultivos, sin embargo muchos cultivos de tipo hortalizas son tolerantes a excesos de P. La eficiencia productiva parcial de P para grano o semillas es más alta en estados tempranos de crecimiento que en estados tardíos, porque el P es necesario para el llenado. Si la planta absorbe suficiente P en estados tempranos de crecimiento, este puede ser distribuido a otros órganos de crecimiento. (Bell *et al.*, 1990).

El mayor efecto causado por la deficiencia de P es la reducción en la expansión de la hoja y el área de la superficie foliar, así como el número total de hojas. La reducción en la expansión de la hoja con bajo P esta fuertemente relacionado con la extensión de las células epidermales de la hoja, y a un decrecimiento de la conductividad hidráulica en la raíz. El bajo P, también afecta el crecimiento y por lo tanto, reduce el área fotosintética y la utilización de los carbohidratos. También se retarda la formación de cloroplastos y clorofila. A bajas cantidades de P se incrementa la solubilidad de las proteínas y el contenido de clorofila por unidad de área, dando como resultado hojas pequeñas y de un color verde oscuro. Por lo tanto el no suministro de cantidades adecuadas de fósforo inorgánico (P_i) resulta

en una disminución de la velocidad de la fotosíntesis y finalmente influye en el desarrollo de la maquinaria fotosintética y del metabolismo (Rao, 1996; Marschner, 1995).

A corto plazo, la deficiencia de P afecta la fotofosforilación lo que ocasiona un desbalance y un incremento en la energía a nivel de la membrana del tilacoide, disminuyendo el flujo de electrones afectando la fotosíntesis. En contraste, una deficiencia de P a largo plazo, disminuye la velocidad de la fotosíntesis debido a una limitación de la capacidad de regeneración de la ribulosa 1.5 bifosfato afectando la fase oscura de la fotosíntesis. A este nivel los daños causados por la deficiencia de P son irreversibles (Rao y Terry, 1995).

Generalmente los síntomas ocasionados por las deficiencias de P no son fácilmente reconocibles, debido a que en muchos casos las plantas no muestran síntomas visibles y en otros casos los síntomas tienden a ser confundidos con los síntomas causados por la deficiencia de otros elementos. Entre lo efectos mas comunes por la deficiencia a P en las plantas están el achaparramiento de la planta, la disminución de la división o bifurcación de las ramas, la presencia de hojas mas cortas y erectas y floraciones tardías, las hojas viejas pueden tornarse de un color verde oscuro o tonalidad púrpura rojizo en el caso de deficiencias extremas (Barry y Miller, 1989).

Además de los efectos mencionados por el bajo contenido de P en el suelo, muchas especies vegetales forman proteoides (raíces en racimo, que les permite captar mas eficiente el poco fósforo disponible en el suelo) de raíz que son importantes en la formación de las raíces laterales, también puede limitar la formación de estructuras reproductivas, senescencia prematura de las hojas, un retraso bien marcado de la floración, y una disminución en el número de flores y una restricción bien marcada en la formación de la semilla, lo cual es una de las causas de la disminución del rendimiento en muchas de las especies vegetales. (Rossiter, 1978; Barry y Miller, 1989; Rao, 2001).

4.3.3. Suelos con bajo fósforo

Los suelos pobres están localizados en latitudes tropicales, el 43% de los suelos tropicales, 2050 millones de ha presentan suelos ácidos bajos en P, mientras que las zonas más productivas se encuentran en ciertas áreas de la zona templada. La infertilidad de muchos de los suelos tropicales es una consecuencia de su formación geológica, ya que provienen de materiales parentales con bajos elementos minerales, acompañados por lo general de procesos muy activos de interperización bajo condiciones húmedas de las regiones tropicales. Bajo estas condiciones se aceleran los procesos químicos y biológicos, que acompañados de altas precipitaciones dan como resultado una perdida de los nutrientes por un lavado continuo, ocasionando en la mayoría de los casos la formación de suelos de tipo ácido en donde predominan minerales de tipo caolonítico, óxidos e hidruros ácidos de hierro y aluminio. (Rao *et al.*, 1999)

Las principales causas de la pérdida de rendimiento son atribuidas, directa o indirectamente a factores bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos se incluyen insectos, enfermedades y malezas, los cuales son directamente responsables de la pérdida del rendimiento, estimado en un 20% bajo condiciones de controles a nivel de productor. Entre los factores abióticos, se tienen limitantes de tipo climático y edáfico, los cuales son causantes de una gran parte de las perdidas del rendimiento. Entre los factores edáficos se tiene la baja disponibilidad del fósforo el cual es el mayor limitante de la producción en los trópicos. (Rao *et al.*, 1999).

4.3.4. Características de los suelos tropicales deficientes en P

Los suelos de los ordenes Oxisoles y Ultisoles, están caracterizados por su bajo contenido de minerales intercambiables y un alto contenido de arcillas de baja actividad y óxidos de hierro (Fe) y aluminio (Al), con estos minerales empiezan a

aparecer los productos que se intercambian con el P, como el fosfato de calcio, el cual al ser hidrolizado tiene la capacidad de moverse a través de la solución del suelo, donde es absorbido, precipitado y orgánicamente inmovilizado. Los resultados de los procesos de interperización también ocasionan la pérdida de bases catiónicas, en la desilización de las arcillas y en la generación de hidruros ácidos de Fe y Al los cuales son los causantes que el P en forma de fosfato sea inmovilizado o precipitado. Estos suelos también presentan una alta capacidad de fijación de P, en donde se considera que para la obtención de 0.1 mg P/L de la solución del suelo en equilibrio se necesitan entre 110 a 450 mg P/Kg de suelo. (Rao *et al.*, 1999; Le Mare, 1982). En condiciones de sabana nativa en Latinoamérica, la concentración de P es menor a 7 ppm (Bray II), lo cual hace necesario la aplicación de P en forma de fertilizante (Rao, 2001).

4.3.5. Mecanismos que mejoran la absorción de P

La eficiencia en la absorción de P, se refiere a la habilidad que tienen las plantas en tomar gran cantidad de P por unidad de longitud de raíz (Rao, 2001), o la habilidad que tienen los genotipos tolerantes de tomar P cuando se han sembrado en condiciones de bajo P. (Schaffert *et al.*, 2001; Alves *et al.*, 2002).

Las plantas toman el P por mecanismos que dependen de características tanto morfológicas como fisiológicas de la raíz. La relativa inmovilidad del fósforo en la solución del suelo, hace que la toma dependa directamente de la exploración que hace la raíz en el suelo en el tiempo y en el espacio (Marschner, 1991). Los cultivos que genéticamente están adaptados a suelos tropicales con bajo P se caracterizan por tener un bajo requerimiento de P y ser eficientes en la absorción y uso del elemento para ser usado en su crecimiento y actividades vitales, aun cuando los suelos presenten deficiencias de P (Randall, 1995).

4.3.5.1.Múltiples transportadores del Pi

La absorción del P presenta un problema para las plantas, ya que la concentración de este mineral en la solución del suelo es baja, pero los requisitos de la planta son altos. La forma de P más fácilmente tomada por las plantas es el Pi, pero su concentración en la solución del suelo raramente excede los 10 µM (Bieleski, 1973). Por lo tanto, las plantas han especializado transportadores en la interface raíz/suelo para la extracción del Pi de las soluciones de concentraciones micromolares, así como otros mecanismos para transportar el Pi a través de las membranas entre los compartimientos intracelulares, donde las concentraciones del Pi pueden ser 1000 veces mayores que en la solución externa. Debe también tener los sistemas de flujo que desempeñan un papel en la redistribución de este recurso precioso en el suelo, cuando el P no está disponible o no es adecuado (Schachtman *et al.,* 1998).

La cuestión de si hay varios transportadores del Pi con diversas características funcionales en membranas de la célula de la planta, o solamente un transportador con esa característica, puede variar con el estado interno del Pi o la concentración externa, esto se ha estudiado usando el análisis cinético de la absorción. En este tipo de análisis la afinidad de un transportador para un mineral particular, es estimado midiendo el índice de la absorción en diversas concentraciones externas de un ión. Resultados de varios estudios cinéticos se han interpretado para apoyar la existencia de solamente un sistema de absorción en raíces de la cebada (Drew y Saker, 1984) o hasta siete en raíces de maíz (Nandi *et al.,* 1987). La interpretación más común de estos estudios cinéticos son que existen dos sistemas de absorción del Pi, uno con una alta afinidad y actividad que se aumenta o reprime por deficiencia de Pi, y uno con más baja afinidad y actividad, que es constitutivo. Avances recientes en biología molecular sobre los transportadores del Pi de la membrana plasmática y del tonoplasto confirman que la planta tiene transportadores múltiples para el Pi. (Schachtman *et al.,* 1998).

La regulación de los transportadores del Pi en la planta, en respuesta a deficiencia de P se piensa que puede ocurrir a nivel de la trascripción (Smith *et al.*, 2003). Sin embargo, la sobre-expresión de los transportadores del Pi no aumenta siempre la absorción de P (Rae *et al.*, 2004). Los transportadores de alta afinidad de Pi se expresan sobre todo en los pelos de la raíz, que favorecen la adquisición de P (Mudge *et al.*, 2002; Schünmann e*t a*l., 2004).

4.3.5.2. Compartimentación de P

El mantenimiento de las concentraciones citoplásmicas estables del Pi es esencial para muchas reacciones enzimáticas. Esta homeostasis es alcanzada por una combinación del transporte de la membrana y el intercambio entre los varios grupos intracelulares del P. Estos grupos se pueden clasificar de diversas maneras. Primero, según su localización en compartimientos físicos tales como el citoplasma, la vacuola, el apoplasto, y el núcleo. El pH de estos compartimientos determinará la forma del Pi. En segundo lugar, por la forma química del P, tal como Pi, P-esteres, P-lípidos, y ácidos nucleicos. La proporción del P total en cada forma química (excepto P en la DNA) cambia con el tipo y la edad del tejido y en respuesta a la nutrición con P. Tercero, según la función fisiológica, como metabólica, almacenada y formas que completan un ciclo (Schachman *et al.,* 1998).

4.3.5.3. Regulación de la absorción del Pi

El Pi citoplásmico se mantiene en concentraciones constantes (5-10 µM), más o menos independientemente de concentraciones externas del Pi, excepto bajo deficiencia severa de P (Lee *et al.*, 1990; Lee y Ratcliffe, 1993; Mimura, 1995). En cambio, las concentraciones vacuolares del Pi varían extensamente; bajo condiciones de bajo P, el Pi vacuolar puede ser casi imperceptible. Cuando la fuente de Pi es limitada, en general las plantas producen más raíces, aumentan el índice de absorción en las raíces del suelo, retranslocan Pi de hojas más viejas, y

agotan los almacenes vacuolares de Pi. Además, las micorrizas pueden colonizar mas las raíces. Inversamente, cuando las plantas tienen una fuente adecuada de Pi y la están absorbiendo en tasas superiores a las adecuadas, un número de procesos actúan para prevenir la acumulación de las concentraciones tóxicas del Pi. Estos procesos incluyen conversión de Pi en compuestos orgánicos de almacenaje, reducción en la tasa de absorción del Pi del exterior (Lee *et al.*, 1990), y pérdida del Pi por flujo, que puede estar entre 8 y el 70% de la afluencia (Bieleski y Ferguson, 1983). Estos procesos pueden ser las estrategias para el mantenimiento de la homeostasis intracelular del Pi.

4.3.5.4. Translocación del P en la planta

Diferentes estudios proporcionan un cuadro de patrones del movimiento del Pi en las plantas (Mimura *et al*., 1996; Jeschke *et al*., 1997). En plantas con suficiente P la mayor parte del Pi absorbido por las raíces se transporta por el xilema a las hojas más jóvenes. Las concentraciones del Pi en el xilema de plantas con deficiencia de P varían de 1 µM a 7 µM, pero en plantas que han crecido en soluciones nutritivas, el xilema puede contener hasta 125 µM de Pi (Mimura *et al*., 1996). Hay también retranslocación significativa del Pi en el floema de hojas más viejas a los tejidos nuevos de la parte aérea y desde estos tejidos nuevos hasta las raíces. En plantas con deficiencia de Pi el suministro restringido de Pi a los tejidos aéreos desde las raíces vía xilema, se suple por movilización creciente de P almacenado en las hojas más viejas y retranslocado a las hojas más jóvenes y a las raíces en crecimiento. Este proceso implica el agotamiento de los almacenes del Pi y la interrupción de P orgánico en las hojas más viejas. Una característica curiosa de plantas con deficiencia de P, es que aproximadamente una mitad del Pi desplazado desde la parte aérea hacia las raíces por el floema, es después transferido al xilema y reciclado de nuevo a los tejidos aéreos (Jeschke *et al*., 1997). En el xilema el P se transporta solamente como Pi, mientras en el floema es significativo el transporte de P orgánico.

4.3.5.5. Micorrizas en la absorción del P

En más del 90% de las plantas, sus raíces forman asociaciones simbióticas con micorrizas, desempeñando un papel importante en la adquisición de P para la planta (Bolan, 1991; Smith y Read, 1997). Las micorrizas se puede dividir en dos categorías: ectomicorrizas y endomicorrizas, Las endomicorrizas vesiculares son las más extensas del reino vegetal (Smith y Read, 1997). La simbiosis micorrizal se fundamenta en el intercambio mutualístico del C de la planta a cambio de P y otros alimentos minerales del hongo. El flujo de P en raíces colonizadas por micorrizas puede ser 3 a 5 veces mayor que en las raíces no micorrizadas.

Los pocos estudios publicados de la cinética de la absorción del Pi indican que las raíces micorrizadas y sus hifas aisladas tienen sistemas de absorción de P con características similares a aquellas encontradas en las raíces no micorrizadas y otros hongos (Thomson *et al*., 1990; Smith y Read, 1997).

Una red extensa de hifas se extiende desde la raíz, permitiendo a la planta explorar un mayor volumen de suelo, superando limitaciones impuestas por la lenta o casi nula difusión del Pi en el suelo. Las micorrizas pueden también ser capaces de buscar Pi de la solución del suelo con más eficacia que otros hongos del suelo, porque el C (que puede limitarse en el suelo) se proporciona al hongo por medio de la planta. La asociación planta/micorriza puede por lo tanto, permitir a la planta competir con más eficacia con los microorganismos del suelo por la cantidad limitada del Pi disponible en el suelo. Las micorrizas pueden también adquirir P orgánico de fuentes que no están disponibles directamente para la planta. Poco se sabe sobre el transporte de los compuestos del P dentro de la micorriza o del mecanismo de flujo del P en el hongo. El Pi y P orgánico pueden ser llevado dentro del hongo por el flujo citoplásmico o por el flujo en masa, a la raíz de la planta desde hifas externas ubicadas en el suelo. La visión actual es que el Pi es la forma principal con mayor flujo usada por el hongo a través de las membranas interfaciales (Jayachandran *et al*., 1992).

4.3.6. Características morfológicas de la raíz

Los cultivos anuales generalmente tienen una raíz cuyo volumen es menor al 1% del volumen del suelo que ella ocupa, por lo tanto el contacto de las raíces con el P disponible en la solución del suelo es menor al 1%, que por lo general es una cantidad muy pequeña comparada con la cantidad de P que el cultivo necesita. Por este motivo, características asociadas con la raíz, como lo son la longitud, diámetro, número, longitud y duración de los pelos radicales, son importantes para determinar la capacidad de absorción de P en suelos que son deficientes en este elemento (Rao *et al.*, 1999; Alves *et al.*, 2002)

La densidad de la raíz y la distribución de esta en el perfil del suelo, juega un papel importante en la eficiencia de absorción de P. Esta eficiencia está influenciada por parámetros, como el genotipo de la especie, propiedades químicas y físicas del suelo y los sistemas de labranza. Por lo general las diferencias entre cultivares tolerantes y susceptibles a bajo contenido de P están siendo explicadas por el crecimiento y distribución de las raíces en el suelo (Alves *et al.*, 2002).

Las plantas responden a la deficiencia de P aumentando la formación y alargamiento de raíces laterales, y disminuyendo el alargamiento primario de la raíz. Los cambios en la morfología y crecimiento de la raíz son proporcionales a las concentraciones de reguladores de crecimiento, particularmente auxina, etileno y citokininas. La producción de etileno es estimulada en raíces de plantas con deficiencias de P, puede ser responsable de la formación de los pelos de la raíz. Los niveles de citokininas disminuyen en plantas con deficiencias de P. Se han identificado genes que influyen en la expresión de auxinas, AIR1,3,9,12, HRGP y LRP1 que controlan el desarrollo lateral de la raíz (Hammond *et al.*, 2004).

El diámetro de las raíces, es uno de los atributos que juega un papel importante en la absorción de P en suelos con deficiencias en este elemento. El diámetro de la

raíz define el volumen máximo de suelo que puede ser explotado para la producción de fotosintatos. El diámetro de la raíz puede variar entre especies y con la edad de la planta (Alves *et al.*, 2002). Normalmente las plantas que presentan tolerancia a bajo P, tienen diámetros de raíces menores que las susceptibles.

La formación de pelos radicales es otra estrategia de las plantas para incrementar la eficiencia en la toma de P, debido a que la conformación que estos tienen en el suelo ayudan a incrementar el área de absorción de la planta en volúmenes relativamente pequeños de suelo. Esta característica ayuda a incrementar de manera eficiente la absorción de P en suelos que presentan un déficit de P, y puede ser un parámetro para ser usado en los procesos de selección por parte de los mejoradores (Alves *et al.*, 2002).

En general, las gramíneas presentan un buen desarrollo y comportamiento del sistema radicular, con raíces finas y pelos radiculares largos. Una menor eficiencia en la captura de P del suelo por parte de las gramíneas puede ser explicada por diferencias en la morfología del sistema radicular, por la absorción de P por unidad de raíz y por la concentración de P en la interfase raíz/suelo (Alves *et al.*, 2002).

4.3.6.1. Mejoramiento genético para la adaptación a bajo P

Entre las estrategias de mayor importancia para reducir el uso de fertilizantes con fuentes de P, se tiene el desarrollo de genotipos mas eficientes en la absorción y utilización del P (Hammond *et al.*, 2004). Para hacer la manipulación genética de genotipos que presenten diferencias en el comportamiento a bajo P, es necesario conocer la genética para esta característica. Se puede hacer uso de técnicas clásicas de mejoramiento o recurrir a técnicas de biología celular o molecular para lograr transferir los genes que le permitan a la planta adaptarse a ambientes con bajo P (Clark y Duncan, 1991; Sussman y Gabelman, 1989).

Las plantas han desarrollado muchas estrategias fisiológicas para enfrentar las deficiencias de P. La manipulación de la expresión de los genes que permiten el crecimiento en ambientes con bajo P, puede mejorar la utilización y eficiencia de las plantas y reducir los requerimientos de P en los cultivos (Hammond *et al.*, 2004). Esto ha estimulado la investigación para identificar genes y cascadas de señales implicadas en la respuesta de las plantas a la deficiencia de P. Varios estudios han identificado genes que responden a la deficiencia de P y mas recientemente se ha utilizado la técnica molecular de microarreglos para determinar la expresión de muchos genes en forma simultánea. Los genes identificados que responden a las deficiencias de P se pueden agrupar en: genes que se expresan temprano, a menudo no son específicos a la deficiencia de P; y genes que se expresan tarde, los cuales afectan la morfología, fisiología y metabolismo en deficiencia prolongada, son los que promueven el uso eficiente del P dentro de la planta (Vance *et al.,* 2003).

Aunque varios genes o grupos de genes se han identificado que responden constantemente a la deficiencia de P en varias especies de plantas, el tiempo exacto en el cambio de expresión de estos genes durante la deficiencia de P sigue siendo confuso. Por lo tanto construir un camino exacto de la respuesta de los genes implicados en las plantas a la deficiencia de P es especulativo (Hammond *et al.*, 2004).

4.3.6.2. Regulación de las respuestas genéticas tempranas a la deficiencia de P

El análisis de los promotores de los genes del regulón Pho (grupo de operones controlados por la misma proteína reguladora, represora o activadora) en levadura reveló dos elementos cis-reguladores, GCACGTGGG y GCACGTTTT, para el control de la expresión del gene en respuesta a la deficiencia de P (Oshima *et al,* 1996). Un elemento cis-regulador, similar al sitio de unión de la levadura Pho4 (CACGT (G/T)), fue identificado posteriormente en dos genes que responden a la deficiencia de P en la planta, TPSI1 del tomate y Mt4 de *Medicago truncatula*. Estos genes representan un tipo novedoso de genes implicados en la respuestas de regulación de la planta a la deficiencia de P (Liu *et al.*, 1997; Burleigh y Harrison, 1999), además, se han identificado genes ortólogos en arabidopsis (At4 y AtIPS1) y en arroz (OsPI1). Estos genes codifican brevemente los marcos abiertos de lectura no-conservados, que responden rápidamente y específicamente a la deficiencia de P, y es probable que funcionen como riboreguladores que controlan la función de otras moléculas tales como RNA, DNA o proteínas (Martín *et al.*, 2000; Wasaki *et al.*, 2003).

5. PARTE I. Evaluaciones en soluciones nutritivas.

5.1. Localización

Todos los ensayos para la investigación se realizaron en invernaderos de las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) ubicado en Palmira, Valle del Cauca, Colombia en latitud 3º 30' N, longitud 76º 21' O y 965 m de elevación. La temperatura en el invernadero fluctuó entre 20º a 38ºC en sincronía con el fotoperíodo, y humedad relativa con un rango entre 40 y 90%. La máxima densidad de flujo de fotones fotosinteticamente activos durante el día fue de 1100 μmol m^{-2} s^{-1}**.**

5.2. Material experimental

Se utilizaron dos gramíneas forrajeras tropicales del género *Brachiaria,* contrastantes por su adaptación a suelos con bajo fósforo disponible *Brachiaria decumbens (Bd),* considerada mejor adaptada y *Brachiaria ruziziensis (Br)* considerada menos adaptada y sus recombinantes genéticos.

5.3. ENSAYO 1. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en solución nutritiva con alto y bajo P sin presencia de Al.

5.3.1. Resumen

Se evaluaron en invernadero en soluciones nutritivas 2 especies de *Brachiaria, Bd* y *Br* con bajo y alto P (0 μM y 5 μM) sin presencia de Al, durante 3 semanas. La siembra se realizó con estolones, estos se enraizaron por 9 días con todos los nutrientes. El objeto fue determinar las características morfológicas que permiten a los genotipos mejor adaptación en condiciones de bajo P. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 10 repeticiones. Los resultados indicaron que hay respuesta en la biomasa total de las 2 especies al aumentar el suministro de P en

la solución nutritiva. No se presentaron diferencias significativas entre genotipos en la mayoría de las variables evaluadas, sin embargo, *Bd* presentó un sistema radicular mas fino que *Br,* manifestado en mayor longitud específica de raíz y menor diámetro, característica que le permite explorar mayor volumen de suelo y tener mejor adaptación a bajo P a través del tiempo.

5.3.2. Materiales y Métodos

5.3.2.1. Condiciones de crecimiento

Se sembraron estolones de *Bd* y *Br* en potes con capacidad de 3.5 kg de suelo procedente de Santander de Quilichao, Cauca (Anexo 7) en una relación de 3 partes de suelo por una de arena, esto con el fin de permitir un mejor desarrollo de raíces, lo cual se traduce en mayor producción de estolones por planta. Al momento de sembrar los ensayos se escogieron estolones jóvenes con uno o dos nudos, a los cuales se les cortaron las raíces y se podó la parte aérea para llevarlos a invernadero y mantenerlos durante 9 días en una solución nutritiva completa en elementos (Wenzl *et al.*, 2006) para la fase de enraizamiento (Tabla 2). Se seleccionaron parejas de estolones (similares en tamaño, número y longitud de raíces) para ser sometidos a los tratamientos de 0μM y 5μM de fósforo, los demás nutrientes se adicionaron en las concentraciones utilizadas en la fase de enraizamiento. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 4 – 10 repeticiones.

Tabla 2. Concentración de los nutrientes en la solución hidropónica nutritiva, utilizada en la fase de enraizamiento (9 días).

Nutriente	Concentración
NH_4NO_3	500 μM
KNO_3	300 μM
$Ca(NO_3)_2$	200 μM
NaH_2PO	5 μM
$MgCl_2$	90 μM
$MgSO_4$	60 μM
$FeCl_3$	5 μM
Na_2EDTA	5 μM
H_3BO_3	6 μM
$MnSO_4$	1 μM
$ZnSO_4$	1 μM
$CuSO_4$	0.2 μM
Na_2MoO_4	1 μM
Na_2SiO_3	5 μM
NaCl	55 μM
*HCl	1N

*Concentración de HCl requerida para ajustar el pH a 4.2

La solución con nutrientes se cambió con intervalos de un día, ajustando diariamente el pH a 4,2 con HCl 1 N. El pH de 4.2, utilizado en la solución nutritiva y en los tratamientos es bajo, para utilizar un valor de pH ácido que se presenta en condiciones de campo.

5.3.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó a las 3 semanas después de someter las plántulas a los tratamientos, separando hojas, tallos y raíces, estas últimas se cortaron, lavaron y refrigeraron para luego ser escaneadas y analizadas con el programa WinRhizo v. 3.1 (“Root- image-analysis software”) para Windows, el cual permite calcular la longitud total de la raíz (sumatoria de la raíz principal y laterales), el diámetro y volumen de raíz. A las hojas se les midió el área foliar, utilizando el equipo LI-3100, LI-COR, Inc., Lincoln, NE y junto con las raíces y tallos se secaron durante 48 horas a 60 grados centígrados para determinar el peso seco de cada parte de la planta.

Se realizó análisis de varianza, DMS (diferencia mínima significativa) para cada variable, correlaciones simples de Pearson entre longitud de raíz y diámetro de raíz con las variables, área foliar, peso seco de hojas, peso seco de tallo, peso seco de biomasa aérea, peso seco de raíz, peso seco total y longitud específica de raíz. Los análisis se realizaron utilizando el paquete SAS (Sistema de Análisis estadístico, SAS/STAT, 2002-2003).

Se realizaron 3 ciclos de evaluación, cada ciclo corresponde desde la siembra de estolones en suelo, enraizamiento de estolones seleccionados, montaje de plántulas en tratamientos y cosecha.

5.3.3. Resultados y discusiones

5.3.3.1. Producción de biomasa aérea

No hubo diferencias significativas entre las dos especies de *Brahiaria* en los 2 niveles de P (Figura 1b; Anexo 1) *Br,* a pesar de tener menos adaptación a bajo P que *Bd,* presentó un crecimiento inicial muy vigoroso que le permitió tener buen desarrollo durante periodos cortos de evaluación, esto influenciado por el adecuado suministro de los otros elementos en la solución nutritiva y por mayor acumulación de P en el estolón de siembra. Las 2 especies respondieron a la aplicación de fósforo en adecuado suministro aumentando su biomasa aérea (Figura 1b), A. Low-Gaume (datos sin publicar) y Lasso, (1998) trabajando con plántulas procedentes de semillas sexuales en soluciones nutritivas con bajo P, encontraron mayor producción de biomasa total en *Br* con respecto a *Bd*.

Se han identificado genes que responden a la deficiencia de P, y recientemente con el uso de la técnica de microarreglos se ha determinado la expresión de muchos genes en forma simultánea. Los genes identificados se pueden agrupar en: genes que se expresan temprano, a menudo no son específicos a la deficiencia de P, y genes que se expresan tarde los cuales afectan la morfología,

fisiología y metabolismo en deficiencia prolongada (Vance *et al*., 2003), que parece ser los que actúan en *Bd*.

5.3.3.2. Área foliar

El área foliar presentó un incremento en sus valores al aumentar la disponibilidad de fósforo en la solución nutritiva, comportamiento consecuente con el aumento de la producción del peso seco de biomasa aérea (Figura 1a; Anexo 1), coincidiendo con lo reportado por Lasso, (1998) donde el área foliar incrementa en la medida en que se aumenta el suministro de P en estas 2 especies. En los dos niveles de P no se presentaron diferencias significativas entre las 2 especies, sin embargo *Br* tuvo la tendencia a presentar mayor área foliar que *Bd* (Figura 1a) lo cual, como en el caso de la producción de biomasa aérea, estuvo influenciado por el adecuado balance de los otros nutrientes presentes en la solución y por la mayor de P en el estolón de siembra.

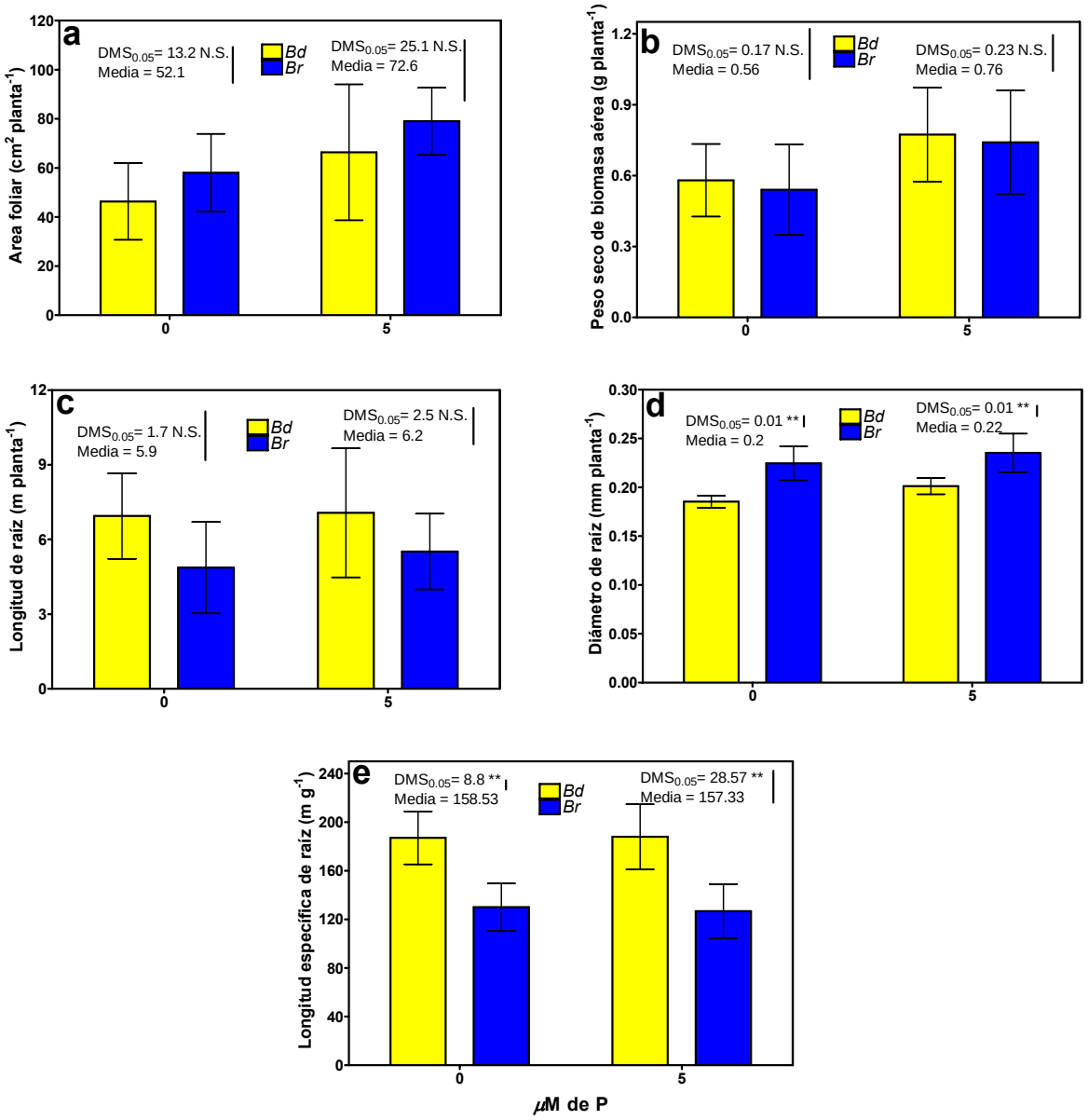


Figura 1. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas a)área foliar, b)peso seco de biomasa aérea, c)longitud de raíz, d)diámetro de raíz y e)longitud específica de raíz.

A niveles subóptimos de N y P se asigna relativamente más materia seca a las raíces que a la parte aérea. Estos cambios en los patrones de crecimiento son una consecuencia de traslocación y particionamiento entre rutas y órganos de la planta, en el caso de restricción en N y P, el crecimiento foliar es limitado lo cual lleva a

una disponibilidad aumentada de fotoasimilados para crecimiento de raíces (Rao y Terry, 2000).

5.3.3.3. Producción de biomasa de raíz

No hubo diferencias significativas entre las 2 especies en los 2 niveles de P (Anexo 1), sin embargo, en 0 *µ*M de P *Br* tiende a presentar mayor peso seco de raíz que *Bd*, coincidiendo con lo encontrado por A. Low-Gaume (datos sin publicar) en soluciones nutritivas con bajo P, lo anterior sugiere que *Br* presenta mecanismos que le permiten un buen desarrollo radicular en periodos cortos de evaluación, como se ha venido indicando en las anteriores variables. Ambas especies responden aumentando el peso seco de raíz cuando se incrementa el suministro de P.

Se ha demostrado convincentemente la importancia del tamaño del sistema radicular en la adquisición de P cuando se han evaluado isolíneas de maíz diferentes en un gen “sin raíces”, el cual es una mutación monofactorial heredada que causa reducciones drásticas en el crecimiento de las raíces de la corona. Bajo condiciones limitadas de P, la producción de materia seca radicular total de la línea “normal” excedió significativamente a la línea “sin raíces”, y la adquisición de P estuvo fuertemente correlacionada con el peso seco de raíces para ambas isolíneas. Sin embargo, la ventaja de la línea “normal” desapareció con el incremento del suministro de P (Rao *et al*., 1999).

5.3.3.4. Longitud de raíz

No se presentaron diferencias significativas entre las dos especies de *Brachiaria* en los 2 niveles de fósforo (Figura 1c; Anexo 1) en los 2 niveles de P (0 y 5 *µ*M) *Bd* tubo la tendencia a presentar mayor longitud de raíz que *Br,* coincidiendo con lo reportado por Lasso, (1998) donde *Bd* presentó mayor longitud de raíz que *Br* en 5 niveles de P (0, 2, 4, 6 y 25 *µ*M). La longitud de raíz es de los parámetros de mayor

importancia en la adaptación a bajo P, ya que le permite a la planta explorar mayor volumen de suelo y tener mas posibilidades de encontrar P. En ambas especies se presentó mayor longitud de raíz cuando se suministró adecuado contenido de P en la solución, verificándose la repuesta de este género a la fertilización con P (Figura 2).

La longitud de raíz tuvo correlaciones significativas con peso seco de raíz, peso seco total, peso seco de biomasa aérea, peso seco de tallo y relación biomasa aérea/raíz en los 2 niveles de P (Tabla 3), indicando que tanto la parte aérea como la radical tienen influencia en el desarrollo de la raíz.

En comparación con los cultivos anuales, las especies forrajeras perennes, particularmente las pasturas, desarrollan sistemas radiculares más vigorosos como una característica adaptativa a la baja disponibilidad de P en suelos tropicales. Las diferencias en el crecimiento y distribución de raíces explican la variabilidad entre cultivares en la adquisición de P, o las ventajas competitivas de las pasturas sobre los demás cultivos en baja disponibilidad de P (Rao *et al*., 1999).

Tabla 3. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Variables	**Longitud de raíz m planta^{-1}**				**Diámetro de raíz mm planta^{-1}**			
Tratamientos (μM de P)	**0μM**		**5μM**		**0μM**		**5μM**	
Peso seco de raíz	0.78	**	0.73	**			0.53	*
Peso seco total	0.61	**	0.64	**				
Peso seco de biomasa aérea	0.58	**	0.61	**				
Peso seco de tallo	0.54	*	0.50	*				
Longitud específica de raíz	0.50	*			-0.83	**	0.85	**
Relación biomasa aérea/raíz	-0.49	*	-0.57	**				
Area foliar			0.63	**				
Peso seco de hojas							0.75	**

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente

5.3.3.5. Longitud específica de raíz

Se presentaron diferencias significativas en los 2 niveles de P entre las dos especies, *Bd* presentó mayor longitud específica de raíz en los 2 tratamientos de P (Figura 1e; Anexo 1). Lasso, (1998) también encontró mayor longitud específica de raíz en *Bd* con respecto a *Br* en diferentes niveles de P. La longitud específica de raíz indica la finura que presenta el sistema radicular, atributo de suma importancia en la adaptación abajo P, en general los genotipos mejor adaptados a bajo P presentan un sistema radicular bastante fino con respecto a los menos adaptados (Figura 2).

La finura del sistema radicular es un importante atributo que determina la adquisición de P en suelos bajos en P. Esto es a causa de que el diámetro radicular define el volumen máximo de suelo el cual puede ser explotado con una cantidad determinada de fotosintato. Si una proporción fija de fotoasimilados es usada para el crecimiento radicular, una mayor cantidad de longitud radicular puede ser lograda por la reducción del diámetro radicular, esto es, cuando la longitud especifica de raíz aumenta (Rao *et al*., 1999).

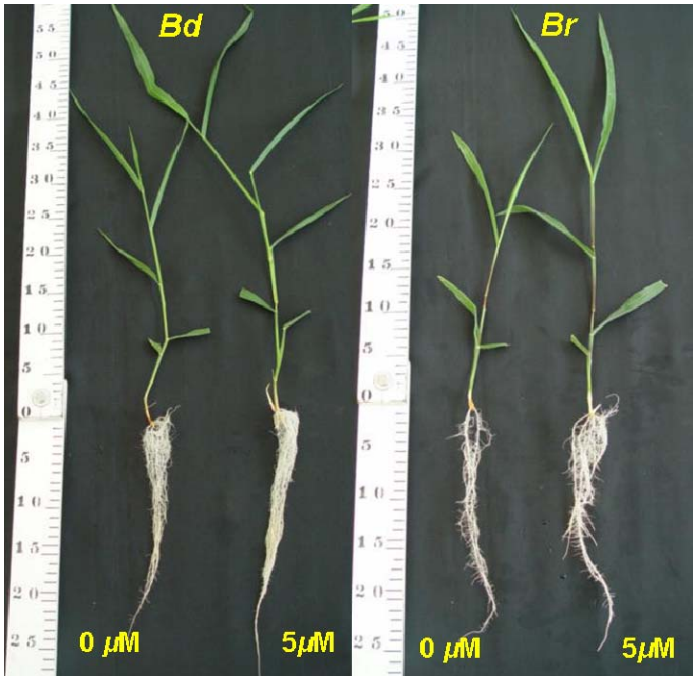


Figura 2. Plantas de *Bd* y *Br* evaluadas en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Entre los caracteres morfológicos que son atribuibles en la elucidación de los eventos moleculares asociados con los mecanismos de respuesta a la deficiencia de P, la arquitectura del sistema radicular (ASR) ha cobrado importancia a causa de su potencial para incrementar la exploración espacial de el suelo superficial donde el fósforo relativamente inmóvil se hace mas disponible. Investigaciones detalladas en la modulación de la ASR mediada por la deficiencia de P en *Arabidopsis* ha estado principalmente enfocada a tres caracteres radiculares principales, longitud radicular primaria, formación de pelos radiculares y la inducción de raíces laterales (Jain *et al*., 2007).

5.3.3.6. Diámetro de raíz

Br presentó mayor diámetro de raíz que *Bd* en los 2 niveles de P, siendo altamente significativas las diferencias (Figura 1d), lo anterior concuerda con lo obtenido por A. Louw-Gaume (datos sin publicar) y Lasso, (1998) donde en soluciones nutritivas sin Al, *Br* presentó mayor diámetro que *Bd.* El diámetro de la raíz es otro de los atributos de mayor importancia en la adaptación a bajo P, los genotipos con menor diámetro presentan mejor adaptación (Figura 2). Los 2 genotipos incrementaron el diámetro al aumentar el nivel de P (Anexo 1).

El diámetro de raíz en bajo P presentó alta correlación negativa significativa con longitud específica de raíz, lo que indica que el genotipo con mayor diámetro presenta raíces menos finas, resultados similares fueron obtenidos por Hill, (2006).

La formación de pelos radiculares es uno de los métodos más eficientes para incrementar la adquisición de P. Se ha encontrado que el flujo de P por unidad de longitud radicular mejora ampliamente con la presencia de pelos radiculares. Esto puede estar explicado por el aumento del área radicular superficial y porque los pelos radiculares penetran el suelo perpendicularmente al eje radicular, dando acceso a un mayor volumen de suelo por unidad de longitud radicular. Consecuentemente, los perfiles de agotamiento de P difieren en su extensión radial dependiendo de la longitud de los pelos radiculares (Rao *et al*., 1999).

5.3.4. Conclusiones

- Las 2 especies de *Brachiaria* respondieron adecuadamente al aumentar el suministro de P en la solución, presentando mayor biomasa al aumentar P.
- No se presentaron diferencias en la mayoría de la variables evaluadas en las 2 especies de *Brachiaria*. *Br* tuvo desarrollo similar al de *Bd* en todos los niveles de P, indicando que en el periodo de evaluación *Br* es poco afectada

por el bajo suministro de P, a pesar de ser considerada menos adaptada que *Bd*.

- *Bd* presentó un sistema radicular mas fino que *Br,* manifestado en mayor longitud específica de raíz y menor diámetro, característica que le permite explorar mayor volumen de suelo y tener mejor adaptación a bajo P a través del tiempo.
- Los parámetros evaluados no permitieron clasificar las 2 especies de *Brachiaria* como menor y mejor adaptadas a bajo P, ya que el comportamiento de ambas fue similar.

5.4. ENSAYO 2. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en solución nutritiva con alto y bajo P en presencia de Al.

5.4.1. Resumen

Se evaluaron dos especies de *Brachiaria*, *Bd* y *Br* en invernadero utilizando soluciones nutritivas con bajo y alto P (0 μM y 5 μM) en presencia de Al (200 μM de $AlCl_3$) + 200 μM de $CaCl_2$ sin aplicación de los demás nutrientes, durante 4 semanas. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 3-6 repeticiones. El objetivo de este ensayo fue determinar las características morfológicas que confieren adaptación a las plantas en condiciones de bajo P en presencia de Al. Los resultados mostraron respuesta de las 2 especies al incrementar el suministro de P en la solución. Atributos radicales como mayor longitud de raíz, mayor longitud específica de raíz (raíces mas finas), menor diámetro y mayor número de puntas de raíz permitieron que *Bd* tenga mejor adaptación a bajo P en presencia de Al. La parte aérea de la planta no es un buen indicador para seleccionar genotipos mejor adaptados a bajo P con alta saturación de Al.

5.4.2. Materiales y Métodos

5.4.2.1. Condiciones de crecimiento

La metodología de producción de estolones, escogencia, enraizamiento y selección de parejas de los mismos, fue similar a la de los ensayos anteriores, con la diferencia que en la etapa de enraizamiento la solución nutritiva no contenía fósforo. Los tratamientos utilizados siempre llevaron un nivel bajo y alto de P (0 μM y 5μM) + 200 μM de aluminio ($AlCl_3$) + 200 μM de $CaCl_2$, no se hizo aplicación de los demás nutrientes, la solución con nutrientes se cambió día de por medio, ajustando diariamente el pH a 4,2 con HCl 1 N. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 3-6 repeticiones.

5.4.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó durante 4 semanas, las variables valuadas y el análisis de datos se hicieron igual a lo indicado para los ensayos anteriores. Se realizaron 3 ciclos de selección.

5.4.3. Resultados y Discusiones

5.4.3.1. Área foliar y Peso seco de biomasa aérea

En las 2 variables, con bajo y alto P no se presentaron diferencias significativas entre las dos especies en ninguna de las 4 semanas de evaluación. Ambas especies presentaron incrementos al aumentar el nivel de fósforo (Figura 3a,b y Anexo 2). Aunque los síntomas de la toxicidad por Al son también manifestados en la parte aérea, estos son usualmente conocidos como una consecuencia de lesiones al sistema radicular. Las respuestas más comunes en la parte aérea son modificaciones celulares y ultraestructurales en las hojas, reducción en la apertura

estomática, actividad fotosintética reducida, clorosis y necrosis foliar. La consecuencia final es biomasa reducida (Vitorello *et al.*, 2005).

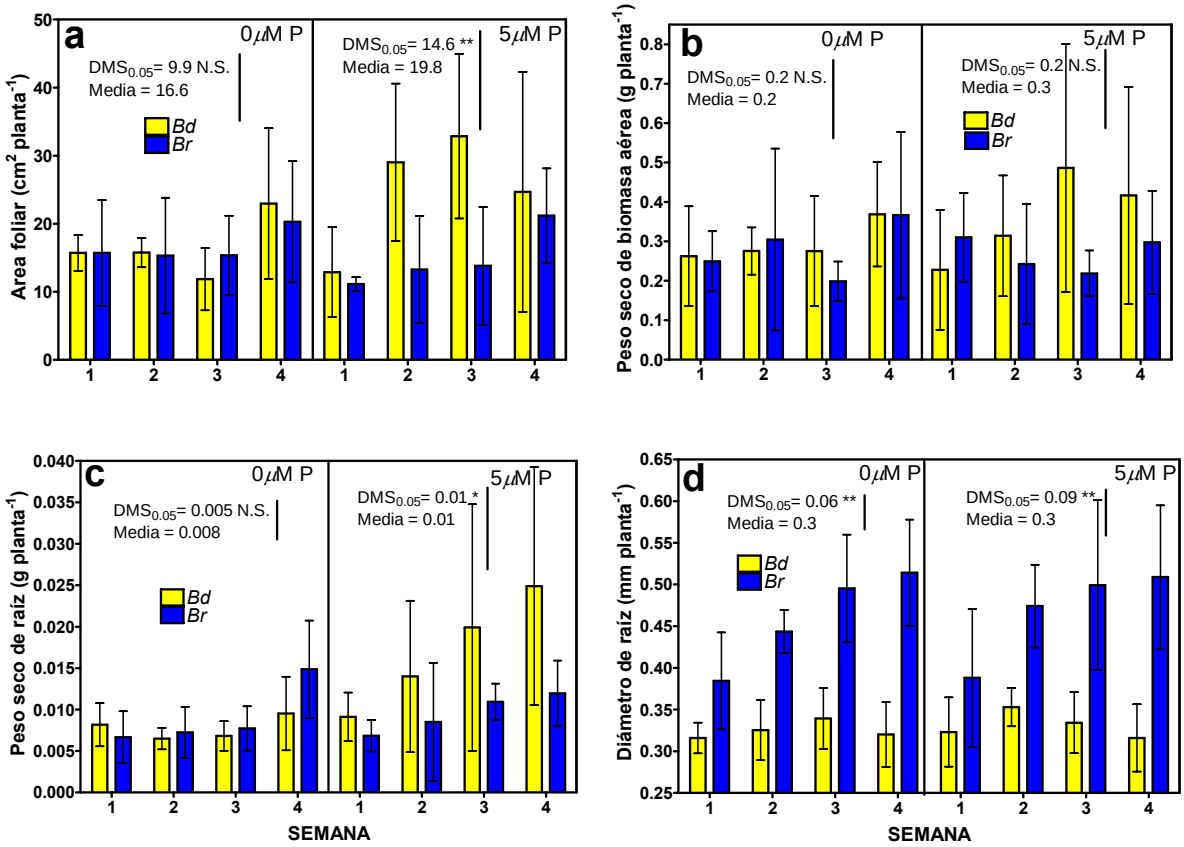


Figura 3. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 4 semanas a)área foliar, b)peso seco de biomasa aérea, c)peso seco de raíz, y d)diámetro de raíz.

La habilidad de los cultivos de removilizar el P de órganos vegetativos a reproductivos, y las plantas forrajeras de puntos senescentes a puntos de crecimiento puede formar un importante mecanismo que permite a las plantas mejorar el uso del P adquirido. Cualquier factor que afecte el crecimiento vegetal (y por lo tanto la demanda de P) alterará la eficiencia en el uso de fósforo. Por ejemplo, el grado de removilización del P de las hojas aumenta cuando hay receptáculos de P tales como órganos reproductivos presentes; esto resulta en concentración de P foliar reducida (mayor eficiencia en el uso de P) (Rao *et al.*, 1999).

5.4.3.2. Producción de biomasa de raíz

El peso seco de raíz se incrementó a medida que transcurrieron las semanas de evaluación y el nivel de P en la solución (Figura 3c; Anexo 2). No se presentaron diferencias significativas en ninguna de las semanas de evaluación entre las dos especies de *Brachiaria* en bajo P, pero se observó la tendencia de *Bd* a presentar mayor peso seco de raíz que *Br*. Buitrago, (2003) encontró que *Bd* tuvo mayor peso seco de raíz que *Br* en soluciones nutritivas sin P con presencia de Al, durante 3 semanas de evaluación. El peso seco de la raíz está relacionado con longitud y volumen de raíz, lo cual determina en gran medida el grado de adaptación de un genotipo a condiciones de bajo P. Es de esperar que genotipos con mayor peso seco de raíz (determinado por mayor longitud de raíz) presenten mejor adaptación.

En estudios donde se evaluó la adaptación de la soya en soluciones nutritivas con bajo y alto P en presencia y ausencia de Al, se observó que la adición de fósforo al medio hidropónico aumentó significativamente la tolerancia al Al de cuatro genotipos como lo indicó el crecimiento de raíz; y la inhibición por Al fue significativamente disipada en el mayor nivel de P (320 μM P), demostrando por lo tanto una interacción significativa entre Al y P (Hong *et al*., 2006).

5.4.3.3. Diámetro de raíz

Entre especies se presentaron diferencias altamente significativas en los 2 niveles de P, estas diferencias se hacen evidentes a partir de la segunda semana de evaluación. *Br* presenta mayor diámetro que *Bd* en los dos tratamientos (Figura 3d; 5a,b,c), coincidiendo con lo reportado por Buitrago, (2003).

En bajo P, el diámetro de raíz presentó altas correlaciones negativas significativas con longitud de raíz y longitud específica de raíz, indicando que los genotipos con mayor diámetro presentan menor longitud de raíz y menos finura de raíz, lo que

hace que presenten menor adaptación a bajo P. Con el volumen de raíz se presentaron correlaciones positivas y significativas (Tabla 3).

El mayor diámetro presentado en *Br,* a pesar de ser una característica intrínseca de la especie, puede ser explicado porque el Al se ha unido a residuos de pectinas o proteínas de la pared celular disminuyendo la extensibilidad o conductividad hidráulica, que se refleja en síntomas fisiológicos y morfológicos como engrosamiento de raíces (principalmente puntas) y disminución de la elongación, característico en materiales susceptibles (Bennet y Breen, 1991).

5.4.3.4. Longitud de raíz

Bd presentó mayor longitud en los 2 tratamientos de P, presentando valores altamente significativos (Figura 4a; 5a,b,c). Cuando se aumentó el nivel de P en la solución *Bd* respondió aumentando de 0.67 a 1.17m la longitud de raíz, en el caso de *Br* no se presentó casi respuesta al pasar de 0.41 a 0.47m de longitud (Figura 4a; Anexo 2). Lasso, (1998) encontró mayor longitud de raíz en *Bd* con respecto a *Br* en soluciones nutritivas con presencia de Al. Lo anterior pudo estar influenciado por la poca y buena adaptación que presenta *Br* y *Bd*, respectivamente, a toxicidad por Al (Wenzl, 2000). Los cambios morfológicos observados en la especie susceptible fueron causados posiblemente por modificaciones estructurales de la pared celular, ya que el Al puede causar depolimerización de los microtúbulos y microfilamentos, además de la capacidad de acumularse en la endodermis de genotipos susceptibles (Blancaflor *et al*., 1998).

La longitud de raíz en bajo P presentó altas correlaciones positivas significativas con peso seco de raíz y puntas de raíz, indicando que estas variables influyen para que se presente mayor longitud, con el diámetro de raíz se presentaron correlaciones negativas, o sea, que a mayor diámetro menor longitud (Tabla 4).

Tabla 4. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 3 semanas.

Variables	Longitud de raíz m planta^{-1}				Diámetro de raíz mm planta^{-1}			
Tratamientos (μM de P)	**0μM**		**5μM**		**0μM**		**5μM**	
Area foliar			0.57	**				
Peso seco de biomasa aérea			0.47	**				
Peso seco de raíz	0.41	*	0.62	**				
Longitud de raíz					-0.52	**	-0.44	*
Longitud específica de raíz					-0.67	**		
Diámetro de raíz	-0.52	**	-0.44	*				
Volumen de raíz			0.82	**	0.59	**		
Puntas de raíz	0.69	**	0.95	**			-0.47	*

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente

5.4.3.5. Longitud específica de raíz

En bajo P se presentaron diferencias altamente significativas (Figura 4b; Anexo 2), *Bd* presentó mayores valores que *Br*, indicando que tiene un sistema radicular mas fino y largo que le permite mejor adaptación. Buitrago, (2003) encontró mayor longitud específica de raíz en *Bd* que en *Br* usando soluciones nutritivas con presencia de Al.

Las raíces finas y largas no solo permiten explorar mayor volumen de suelo, sino que también son más eficientes en la toma de nutrientes, porque tienen mayor superficie radical por unidad de peso, comparado con raíces gruesas.

El diámetro radicular varía entre especies y cultivares y cambia con la edad de las plantas. Existen grandes variaciones entre especies monocotiledóneas y dicotiledóneas. El mayor diámetro radicular de las dicotiledóneas en comparación con las monocotiledóneas puede ser a causa de una necesidad por una mayor superficie para la carga simplástica y una mayor necesidad por cationes básicos. La variación en el diámetro radicular entre especies cercanamente relacionadas ha sido mayor cuando el crecimiento está limitado por el suministro de P (Rao *et al*., 1999).

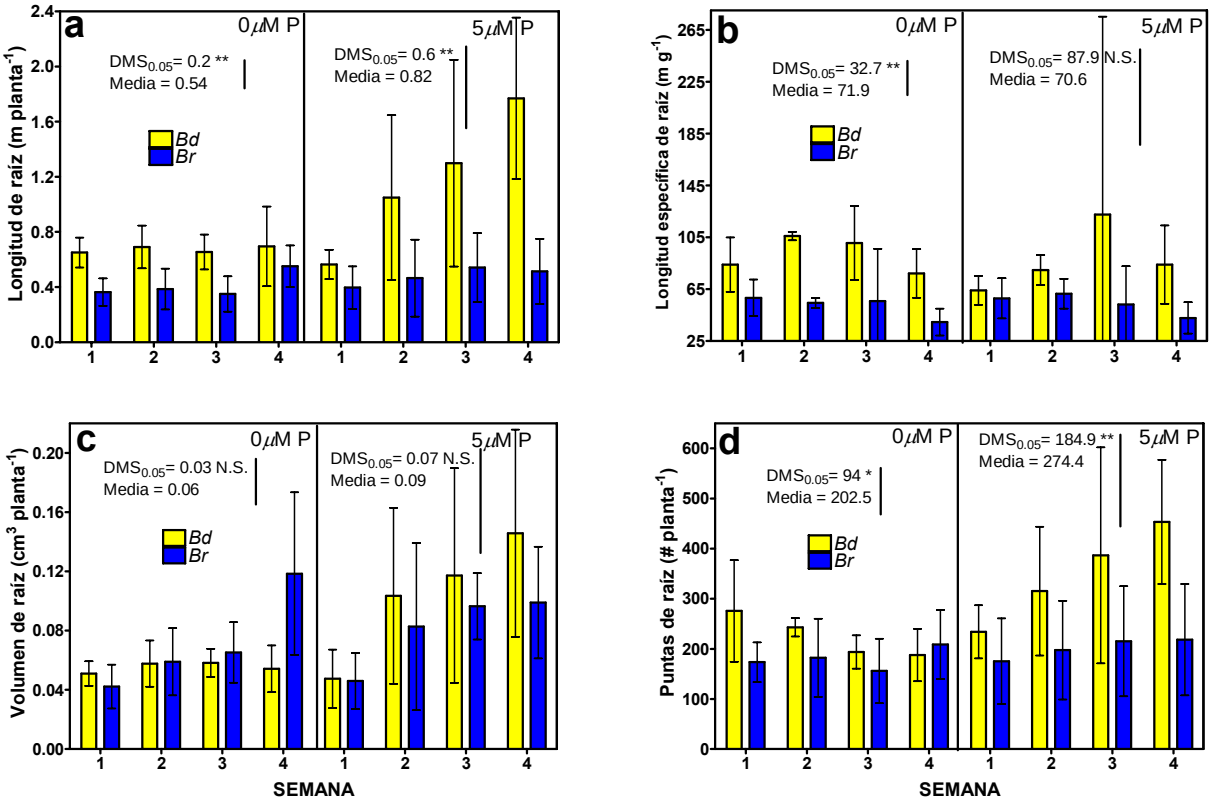


Figura 4. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas con bajo y alto P durante 4 semanas a)longitud de raíz, b)longitud específica de raíz, c)volumen de raíz y d)puntas de raíz.

5.4.3.6. Volumen de raíz

No se presentaron diferencias entre especies en los 2 niveles de P en ninguna de las 4 semanas de evaluación (Figura 4c; Anexo 2). Hubo aumento del volumen de raíz en los genotipos al aumentar el nivel de P. Aunque el volumen de la raíz es un atributo que determina la adaptación a bajo P, estas condiciones no representaron ventajas para ninguna de las 2 especies. En el caso de *Br,* que se considera con baja adaptación a suelos con bajo P y alta saturación de Al, pudo haber influido el corto periodo de evaluación y las altas concentraciones de P en los tejidos, comparados con los de *Bd.*

En deficiencia inducida de P hay reducción en el crecimiento radicular primario que ocasiona un cambio irreversible, de un crecimiento radicular indeterminado a uno determinado. La identificación del LPR1, un QTL presente en el cromosoma 1 de *Arabidopsis* sustenta la base genética de la modificación del crecimiento radicular inducido por bajo P. LPR1 no influencia las respuestas a la deficiencia de P, como incrementos en longitud de pelos radiculares, secreción de fosfatasas ácidas y acumulación de antocianinas, tampoco está involucrado en respuestas de crecimiento a deficiencias de otros nutrientes. Esto sugiere el papel específico del LPR1 en respuesta a bajo P que resulta en crecimiento radicular primario reducido. La elongación de la longitud radicular primaria, la formación de pelos radiculares y la elongación de raíces laterales están afectados por el estado local de P más que por el estado general de P de las plantas (Jain, 2007).

5.4.3.7. Puntas de raíz

Se presentaron diferencias significativas y altamente significativas entre las dos especies de Brachiaria en bajo y alto nivel de P (Figura 4d; Anexo 2), respectivamente. *Bd* presentó mayor contenido de puntas de raíz en los 2 niveles de P que respecto a *Br* (Figura 5a,b,c) coincidiendo con lo reportado por Buitrago, (2003). Las puntas de raíces representa la cantidad de puntos de absorción de nutrientes en la planta, por lo que genotipos con mayor cantidad de puntas radicales pueden presentar mejor adaptación en condiciones de bajo P.

La poca producción de raíces laterales, que influye directamente en el número de puntas en *Br* , es posible que sea debido al Al que atraviesa la pared celular y puede acumularse en el protoplasma y el tonoplasto de la vacuola, ocasionando una disminución en la presión osmótica responsable de la presión de turgencia, esencial para el crecimiento y elongación celular (Taylor *et al*., 2000). También se interrumpe la reserva de componentes orgánicos y solutos inorgánicos en la vacuola que disminuyen la formación de raíces laterales. La mayor concentración de Al en la endodermis de plantas susceptibles, interfiere en el desarrollo de las

células del periciclo responsables del crecimiento de raíces laterales (Osawa y Matsumoto, 2001).

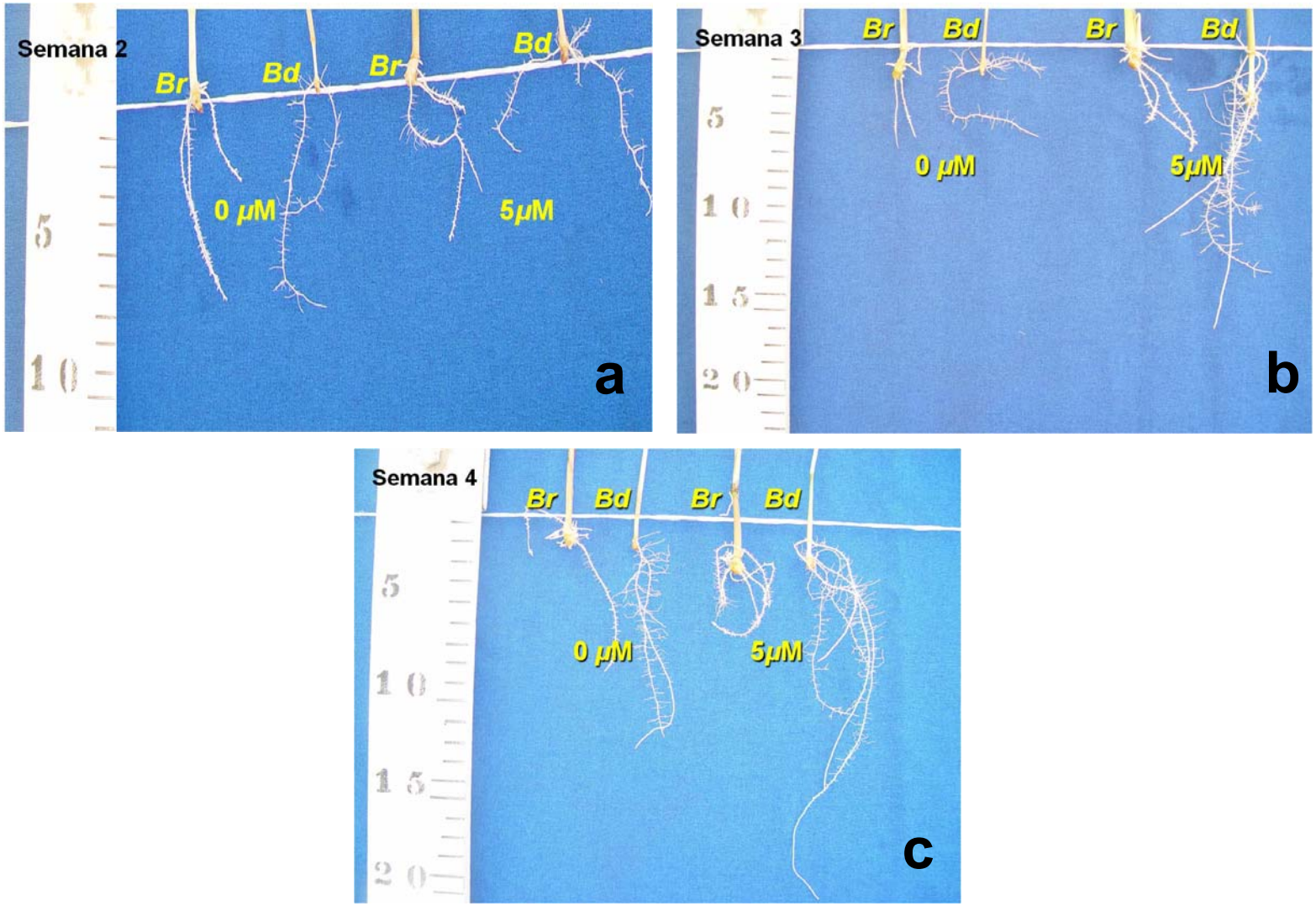


Figura 5. Raíces de plantas de *Bd* y *Br* evaluadas en soluciones nutritivas con bajo y alto P en presencia de Al durante 4 semanas. a)raíces de *Bd* y *Br* a la semana 2, b) raíces de *Bd* y *Br* a la semana 3 y c) raíces de *Bd* y *Br* a la semana 4.

5.4.4. Conclusiones

- Hubo respuesta positiva en el desarrollo y crecimiento de las 2 especies de *Brachiaria* al aumentar el suministro de P en la solución en presencia de Al.
- *Bd* presentó mayor longitud de raíz, mayor longitud específica (raíces mas finas), menor diámetro de raíz y mayor cantidad de puntas, atributos que le confieren mejor adaptación en condiciones de bajo P con alta concentración de Al.
- Los atributos radicales son mucho mas afectados en *Br* cuando en la solución se encuentra alta concentración de Al, indicando la mayor susceptibilidad de esta especie comparada con *Bd.*
- Los atributos radicales son buenos parámetros para identificar adaptación en genotipos a bajo P en presencia de Al. La parte aérea no es un buen indicador de selección.

5.5. ENSAYO 3. Evaluación de *Brachiaria decumbens, Brachiaria ruziziensis* y sus recombinantes genéticos en solución nutritiva con y sin presencia de Al.

5.5.1. Resumen

Se evaluaron durante 3 semanas *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos en invernadero en soluciones nutritivas con presencia de Al (200 μM de $AlCl_3$) y sin Al + 200 μM de $CaCl_2$, no se hizo aplicación de los demás nutrientes. Se utilizó un diseño completamente al azar con 2-6 repeticiones con 6 ciclos de evaluación. El objeto fue determinar características morfológicas radicales que confieren mejor adaptación a las plantas en presencia de alta saturación de Al. Los resultados indicaron que los genotipos mejor adaptados presentaron mayor longitud de raíz, mayor volumen de raíz y menor diámetro de raíz. Se presentó alta variabilidad y segregación transgresiva en la población que es de gran ayuda en programas de

mejoramiento para adaptación de cultivares a alta saturación de Al. Se corroboró la buena adaptación de *Bd* en condiciones de altas concentraciones de Al y el pobre comportamiento de *Br.* Se encontraron progenies con buena estabilidad agronómica, al presentar buen comportamiento con y sin presencia de Al que se perfilan a ser utilizadas en programas de mejoramiento.

5.5.2. Materiales y Métodos

5.5.2.1. Condiciones de crecimiento

La metodología de producción de estolones, escogencia, enraizamiento y selección de parejas de los mismos, fue similar a la de los ensayos anteriores, en la etapa de enraizamiento la solución nutritiva llevaba todos los nutrientes (Tabla 2), los 2 tratamientos utilizados fueron 200 μM de aluminio ($AlCl_3$) + 200 μM de $CaCl_2$ y el otro sin presencia de Al, la solución con nutrientes se cambió día de por medio, ajustando diariamente el pH a 4,2 con HCl 1 N. Se utilizó un diseño completamente al azar con 2-6 repeticiones.

5.5.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó a las 3 semanas después de someterse los genotipos a los tratamientos, las medidas y análisis se hicieron igual a lo indicado para los ensayos anteriores. Se realizaron 6 ciclos de evaluación.

5.5.3. Resultados y Discusiones

5.5.3.1. Longitud, diámetro y volumen de raíz

Se presentaron diferencias altamente significativas entre genotipos (Figura 6 y Anexo 3) en las 3 variables, hubo progenies con longitud, diámetro y volumen de raíz superior e inferior a los padres mejor y menor adaptados (Figura 8a,b,c,d y anexo 3)), indicando alta variabilidad y presencia de segregación transgresiva en la población, coincidiendo con lo encontrado por Buitrago, 2003 y Arango, 2004 evaluando una población derivada del mismo cruzamiento en soluciones nutritivas.

La longitud de raíz es altamente afectada por la alta concentración de Al en la solución, obteniéndose un promedio de 5.7m planta^{-1} sin Al y de 2.7m planta^{-1} en presencia de Al (Figuras 8, 9 y anexo 3), o sea, una reducción del 54.3%. El diámetro se incrementó al pasar de 0.30 sin Al a 0.39 mm planta^{-1} con Al (Figura 6, 8 y anexo 3). La inhibición del crecimiento radicular es el síntoma más prominente de la toxicidad por aluminio, puede ser detectado usualmente de 30 minutos a 2 horas, inclusive en concentraciones micromolares de Al. Las raíces afectadas por aluminio se vuelven gruesas y frecuentemente adquieren una coloración oscura, la ramificación y los pelos radicales son reducidos (Vitorello *et al.*, 2005).

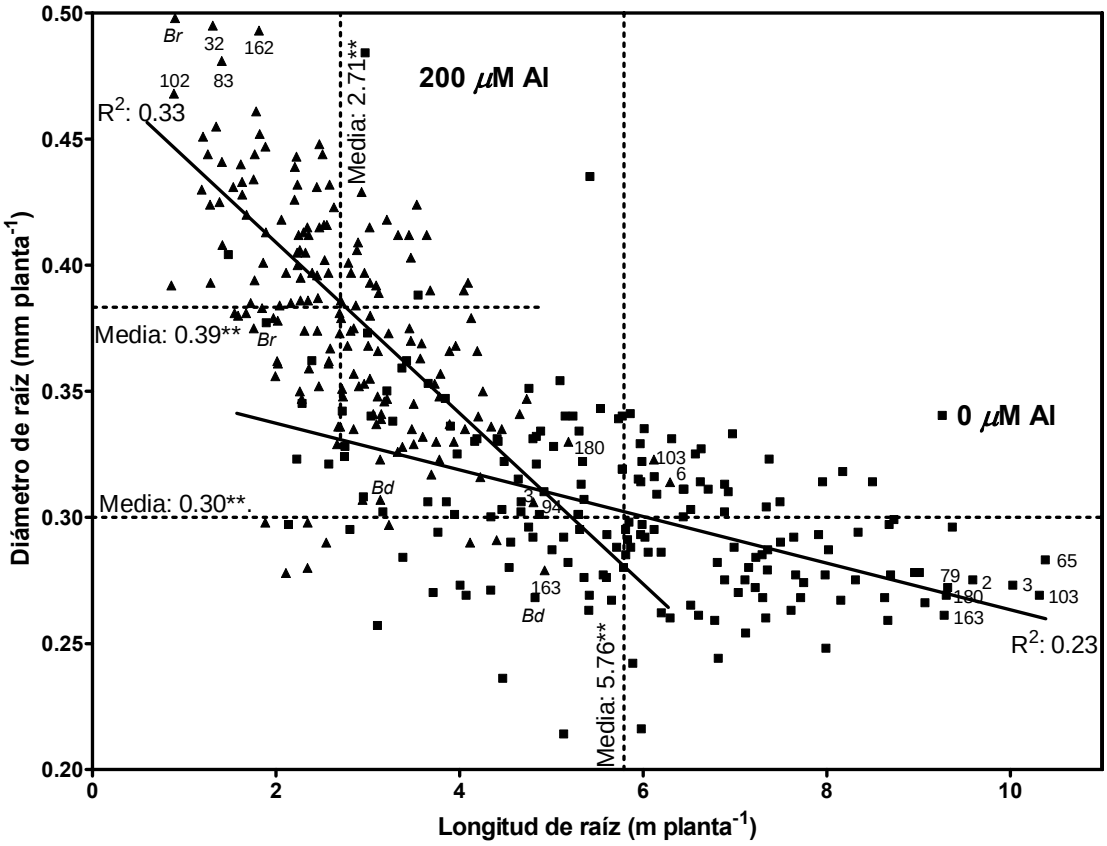


Figura 6. Longitud de raíz y diámetro de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas.

Combinando la longitud de raíz y el diámetro con y sin presencia de Al, observamos (Figura 6) que los genotipos H-103, H-180, H-3 y H-163 que presentaron mayor longitud de raíz tienden a presentar menores diámetros, esto se corrobora en la correlación negativa que presentan estas dos variables con y sin Al (Tabla 5) resultados similares fueron reportados por Buitrago, 2003; Arango, 2004 y Wenzl, 2006 en progenies del mismo cruzamiento. Lo anterior nos indica que los genotipos con mejor adaptación presentan un mayor sistema radicular y raíces más finas que le permiten explorar mayor volumen de suelo. Progenies como el H-6 tienen comportamiento sobresaliente en condiciones de estrés por Al, pero no responden bien, comparado con los otros genotipos al mejorar las condiciones, en el caso del H-2 y H-65 ocurre lo contrario, tienen buen desempeño sin estrés por Al y no responden bien en condiciones de estrés. Este tipo de cultivares a pesar que presentan poca homeostasis pueden ser utilizados en condiciones agroecológicas o nichos muy específicos.

Tabla 5. Coeficientes de correlación simples entre longitud de raíz, diámetro de raíz y volumen de raíz de *Bd*, *Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin Al durante 3 semanas.

Variables	**Longitud de raíz m planta^{-1}**			
Tratamientos (μM de Al)	**OμM**		**200μM**	
Diámetro de raíz	- 0.44	**	- 0.48	**
Volumen de raíz	0.71	**	0.72	**

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente

La longitud de raíz presentó alta correlación positiva con volumen de raíz con y sin Al (Tabla 5), al combinar estas 2 variables observamos la tendencia en la línea de regresión en los 2 tratamientos, indicando que el volumen de raíz se incrementa con mayor longitud de raíz. Genotipos como el H-103 y H-163 presentaron buen comportamiento en los 2 niveles de Al, siendo los más importantes en programas de mejoramiento (Figura 7).

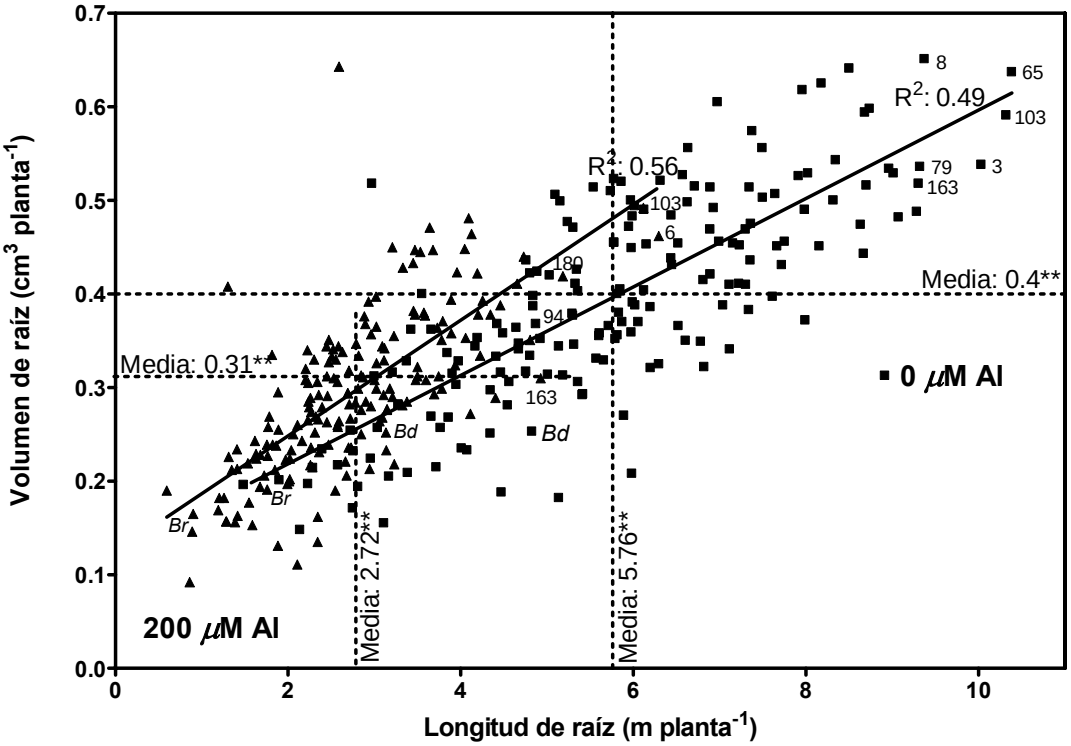


Figura 7. Longitud de raíz y volumen de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas.

En la figura 8a,b,c,d se observa el desarrollo radicular y finura de raíces de los 2 parentales y 2 de las progenies de comportamiento contrastante por su adaptación a alta saturación de Al. Vemos el genotipo H-163 con mayor desarrollo radicular que *Bd* el progenitor mejor adaptado y el H-133 con desarrollo radicular menor que *Br* el progenitor menos adaptado en presencia de Al, esto nos indica la gran variabilidad existente en este cruzamiento y la presencia de segregación transgresiva en la población, como ya se había indicado y reportada por Wenzl, 2006.

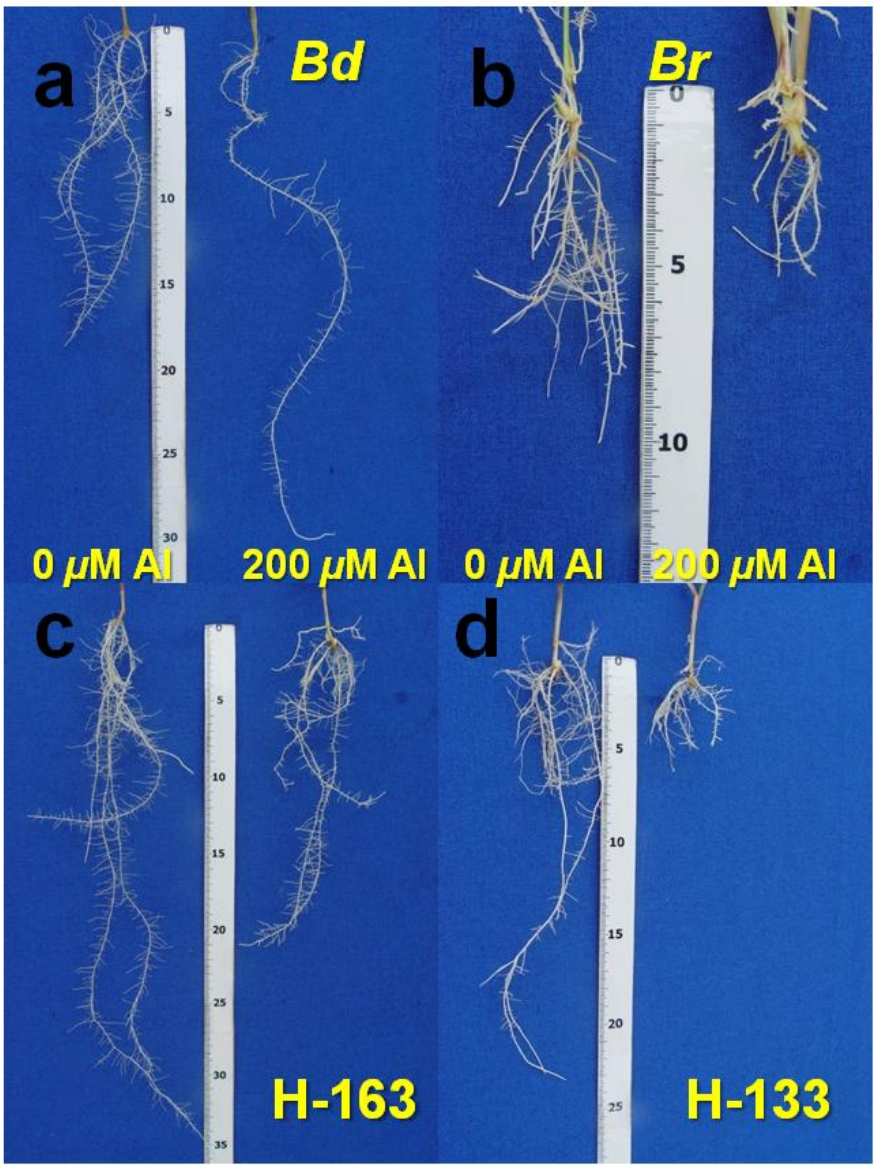


Figura 8. Desarrollo radicular de *Bd*, *Br* y 2 progenies en soluciones nutritivas con y sin presencia de Al durante 3 semanas. a) raíces de *Bd*, parental mejor adaptado con y sin Al b) raíces de *Br*, parental menos adaptado con y sin Al c) raíces de H-163, progenie de las mejor adaptadas con y sin Al d) raíces de H-133, progenie de las menos adaptadas con y sin Al.

En programas de mejoramiento para adaptación de genotipos a alta saturación de Al, interesan cultivares que tengan comportamiento económicamente viable en presencia de Al, pero al disminuir la saturación de Al sean capaces de incrementar su producción, o sea, que tengan buena estabilidad agronómica. En este caso podemos observar en la figura 9 genotipos como H-2, H-103, H-163, H-65, H-180,

H-3 y H-86 con mayor longitud de raíz en presencia de Al y mucho mejor sin Al. En el caso de los parentales en presencia de Al se observó un desarrollo radicular intermedio en el caso de *Bd* y pobre en *Br* comparados con sus progenies, corroborándose la mejor y menor adaptación de los 2 respectivamente, coincidiendo con lo encontrado por Buitrago, 2003; Arango, 2004 y Wenzl, 2006.

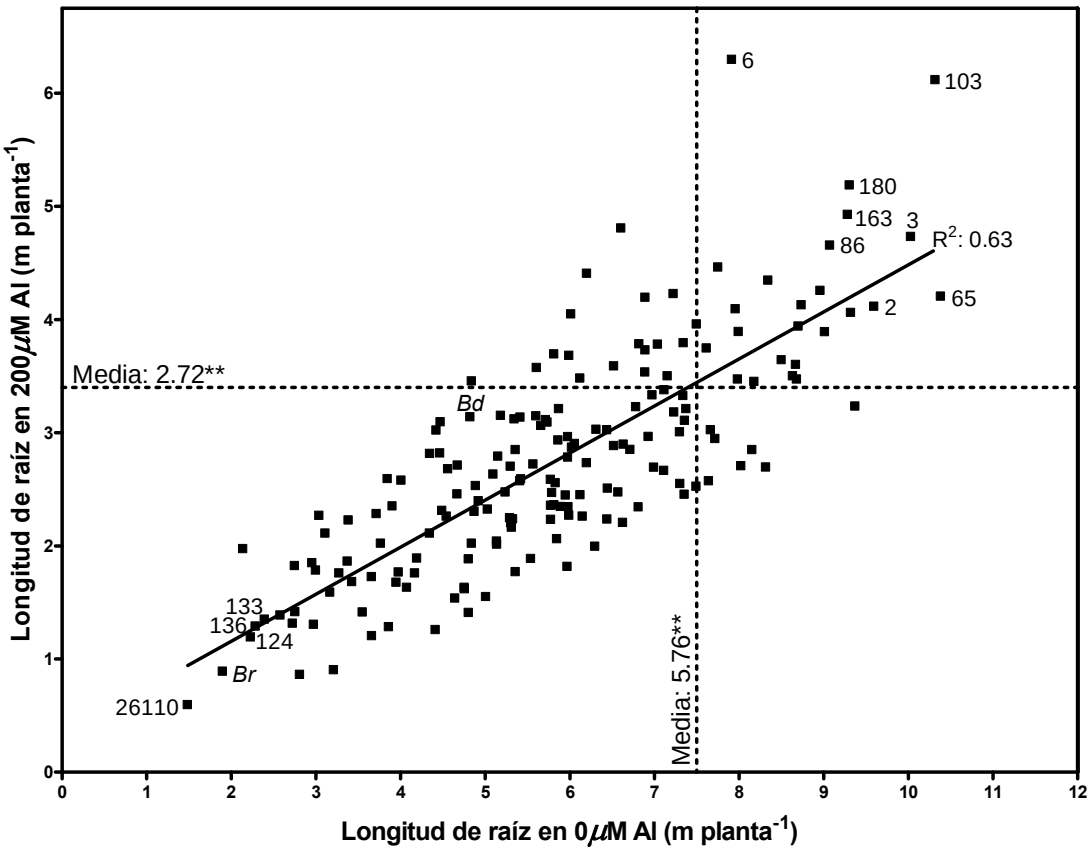


Figura 9. Longitud de raíz con y sin presencia de Al en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en soluciones nutritivas durante 3 semanas.

5.5.1. Conclusiones

- Existe suficiente variabilidad en la población que puede ser utilizada en programas de mejoramiento para adaptación a alta saturación de Al.

- Se presentaron progenies con mayor y menor longitud de raíz que los parentales, indicando la existencia de segregación transgresiva en la población, que permite encontrar genotipos mejor adaptados a condiciones de alta saturación de Al.
- Se pudo corroborar la buena adaptación que presenta *Bd* a alta saturación de Al, y la poca adaptación de *Br*.
- Características radicales como mayor longitud, menor diámetro y mayor volumen, le confieren a las plantas mejor adaptación en condiciones de alta saturación de Al.
- Se presentaron genotipos con buen comportamiento con y sin presencia de Al que se perfilan a ser utilizados en programas de mejoramiento por su buena estabilidad agronómica.
- Se presentaron genotipos con excelente desempeño en condiciones de estrés o sin estrés por Al, que pueden ser utilizados para zonas agroecológicas o nichos muy específicos.
- La metodología de evaluación en soluciones hidropónicas para determinar adaptación en condiciones de alta saturación de Al, funciona al permitir identificar genotipos mejor y menos adaptados.

6. PARTE II. Evaluaciones en suelo ácido (Matazul, Meta).

6.1. Localización

Los ensayos se realizaron en invernaderos de las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) ubicado en Palmira, Valle del Cauca, Colombia en latitud 3º 30’ N, longitud 76º 21’ O y 965 m de elevación. La temperatura en el invernadero fluctuó entre 20º a 42ºC en sincronía con el fotoperíodo, y humedad relativa con un rango entre 30 y 90%. La máxima densidad de flujo de fotones fotosinteticamente activos durante el día fue de 1000 μmol m^2 s^{-1}**.**

6.2. Material experimental

Se utilizaron dos gramíneas forrajeras tropicales del género *Brachiaria,* contrastantes por su adaptación a suelos con bajo fósforo disponible, *Brachiaria decumbens (Bd),* considerada mejor adaptada y *Brachiaria ruziziensis (Br)* considerada menos adaptada, y una población conformada por los recombinantes genéticos producto del cruce de estas dos especies.

Las siembras se realizaron en suelo Oxisol de sabana nativa procedente de Matazul, Meta, Colombia (latitud 4° 9' N, longitud 72° 38' O, 160 m de elevación y 2649 mm anuales de precipitación), colectado de 0-20cm de profundidad.

6.3. ENSAYO 1. Evaluación de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria ruziziensis* en suelo ácido (Matazul, Meta) con diferentes niveles de P.

6.3.1. Resumen

Se evaluaron durante 80 días en invernadero las especies *Bd* y *Br,* utilizando potes plásticos con suelo ácido procedente de Matazul, Meta con 5 niveles de P (0, 10, 15, 20 y 50 kg ha $^{-1}$) los demás nutrientes se aplicaron en niveles óptimos (Anexo 9). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones. El objetivo de este ensayo fue determinar los niveles de P que permitieran encontrar diferencias entre ambos parentales. Los resultados presentaron incrementos en la producción de biomasa aérea en las 2 especies en la medida que se aumentó la disponibilidad de P. *Bd* tuvo mejor desempeño que *Br* en todos los niveles de P. La mayor absorción de P en raíces y mejor eficiencia en el uso del P, parecen ser mecanismos de adaptación que operan en *Bd* en condiciones de bajo P.

6.3.2. Materiales y Métodos

6.3.2.1. Condiciones de crecimiento

Se utilizaron 5 niveles de fósforo 0(OP), 10(1OP), 15(15P), 20(2OP) y 50(50P) kg ha $^{-1}$; los demás nutrientes se aplicaron en niveles altos (80N, 100K, 66Ca, 29Mg, 20S y micronutrientes). El suelo fue mezclado homogéneamente con los fertilizantes, luego transferido a potes plásticos con capacidad de 3.0 kg de suelo en los cuales se sembró un estolón por genotipo, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 3 repeticiones. Los potes fueron regados regularmente con agua deionizada para mantenerlos cerca del 100% de capacidad de campo (Anexo 7) determinado de forma gravimétrica.

6.3.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó a los 80 días, las variables evaluadas y el análisis de los datos se realizaron de la misma forma como se hizo en los ensayos con soluciones nutritivas; en las raíces solo se determinó el peso seco.

El porcentaje de concentración de P en cada parte de la planta fue determinado por el método descrito por Salinas y García, (1985). La absorción de fósforo fue calculada mediante el producto de la producción de materia seca por el porcentaje de concentración de P en cada parte de la planta. La eficiencia de uso de P fue estimada como gramos de biomasa aérea producida por gramo total de P absorbido por la planta; y la eficiencia en la absorción de P fue estimada como gr de P totales absorbidos por la planta por longitud de raíz..

Se realizó análisis de varianza, DMS (diferencia mínima significativa) para cada variable. Se establecieron correlaciones simples de Pearson entre la biomasa aérea, con las variables independientes, área foliar, área foliar específica, peso seco de hojas, peso seco de tallo, peso seco de raíz, absorción de fósforo en hojas, tallos, raíces, biomasa aérea, biomasa total, eficiencia de uso de P y

eficiencia de absorción de P. Los análisis se realizaron utilizando el paquete SAS (Sistema de Análisis estadístico, SAS/STAT, 2002-2003).

6.3.3. Resultados y Discusión

6.3.3.1. Producción de biomasa aérea

Entre genotipos y entre tratamientos se presentaron diferencias altamente significativas, *Bd* presentó mayores valores que *Br* en todos los niveles de P (Anexo 4) lo que indica que *Bd* presenta una mejor adaptación. Las 2 especies incrementaron la producción de biomasa seca aérea en la medida que aumentaba el nivel de P, presentándose una estabilización en *Br* a partir del nivel 15P (Figuras 10 y 11b). Esta respuesta al P en estas especies ha sido corroborada por varios autores (Rao *et al.*, 2001; Lasso, 1998) y otros ensayos presentados en este documento.

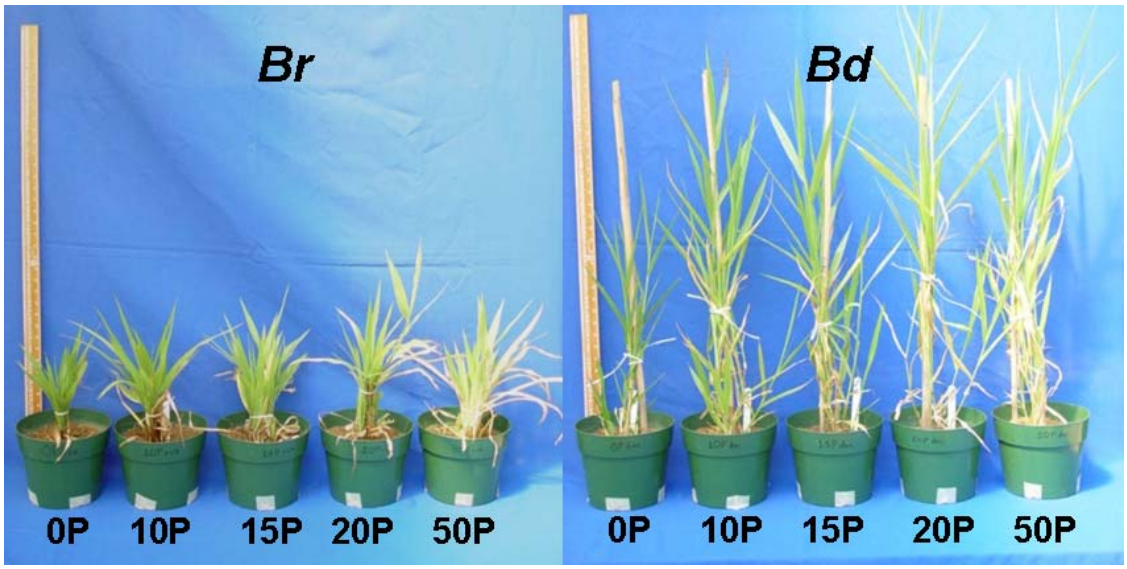


Figura 10. Plantas de *Br* y *Bd* evaluadas en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

En todos los niveles de P se presentaron correlaciones significativas positivas con área foliar, y negativas con concentración de P en el tallo en niveles bajos (0P y

10P) y altos (50P) de P. Es importante anotar que hubo correlación negativa en 10P con peso seco de biomasa muerta (Tabla 6), esto indica que los genotipos que retienen mayor número de hojas verdes en condiciones de bajo P presentan mejor adaptación, ya que uno de los síntomas en bajo contenido de P es la senescencia prematura de las hojas.

Tabla 6. Coeficientes de correlación simples entre biomasa aérea y otras variables de *Bd* y *Br* evaluados en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días.

Variables	**Biomasa aérea (g planta^{-1})**									
Tratamientos (kg ha^{-1} de P)	**0P**		**10P**		**15P**		**20P**		**50P**	
Area foliar	0.95	**	0.96	**	0.98	**	0.98	**	0.88	*
Area foliar específica					0.82	*	0.86	*		
Peso seco de raíz			0.90	*					0.93	**
Peso seco de biomasa muerta			-0.82	*						
Concentración de P en hojas (%)			-0.91	*					0.98	**
Concentración de P en tallo (%)	-0.09	*	-0.87	*					-0.90	*

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente.

Se ha demostrado que en el tejido foliar, gran parte del Al reacciona con el oxalato en una relación 1:3 Al:oxalato. También se ha encontrado que el Al en el flujo del xilema entra en complejo con el citrato, no el oxalato. Por lo tanto, parece que el Al contrae un intercambio de ligandos desde oxalato hacia citrato cuando es transportado al xilema, y se intercambia de nuevo a oxalato cuando es trasportado hacia las hojas. Otros estudios indicaron que protoplastos y vacuolas aislados de hojas de trigo, que habían acumulado Al, más del 80% del Al foliar estaba en los protoplastos de la hoja como un complejo 1:3 Al:oxalato, y que la mayoría de este complejo estaba secuestrado en la vacuola (Kochian *et al*., 2004).

6.3.3.2. Área foliar

La figura 11a muestra el incremento del área foliar en la medida que incrementa el nivel de P, pero ambas especies tienden a estabilizar el área foliar a partir de 15P. Es claro el efecto causado por los bajos niveles de P, la planta reduce la expansión de la hoja y el área de la superficie foliar (Rao, 1996; Marschner, 1995).

Bd presentó mayores valores de área foliar que *Br* en todos los niveles de P, indicando una mejor adaptación. Lasso, (1998); y algunos ensayos mostrados en este documento se encontró mayor área foliar en *Bd* que en respecto a *Br,* lo anterior, muestra una mejor tolerancia de *Bd* a altas concentraciones de Al y una mayor susceptibilidad de *Br*.

Cuando el suministro de P limita el crecimiento vegetal, las plantas superiores producen cambios en un número de atributos aéreos y radiculares como: una marcada reducción en la producción de área foliar, un incremento en la relación raíz parte aérea, cambios en la morfología del sistema radicular, y un incremento en la proporción del P total particionado a las raíces. Muchos estudios indican que la especies eficientes en el uso de P tienen alta habilidad para restraslocar el P de tejidos inactivos a activos (Rao *et al*., 1999).

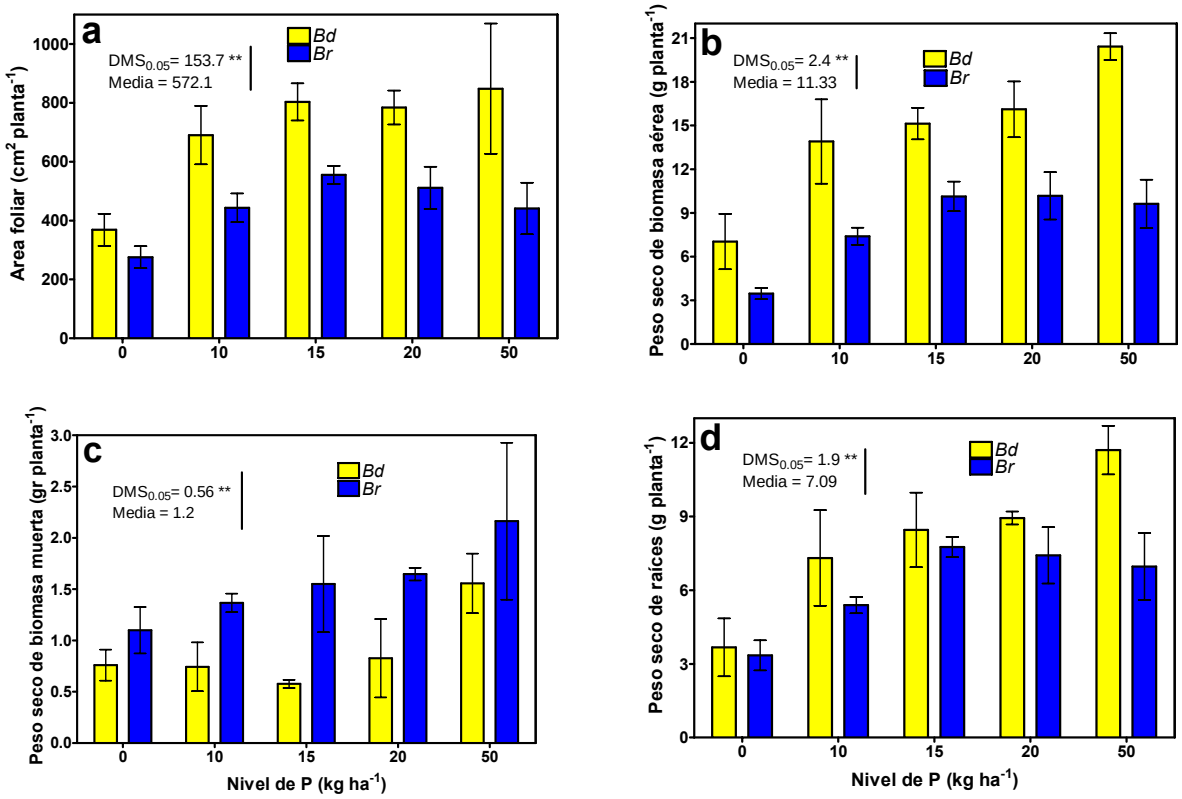


Figura 11. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días a)área foliar, b)peso seco de biomasa aérea, c)peso seco de biomasa muerta y d) peso seco de raíces.

6.3.3.3. Producción de biomasa muerta

Br presentó los mayores valores de peso de biomasa muerta en todos los niveles de P (Figura 11c; Anexo 4), La producción de biomasa muerta es una característica que se incrementa cuando hay deficiencia de P; el hecho de presentarse también en niveles altos de P, puede ser debido a la maduración y envejecimiento normal de la planta y a la presencia de altas concentraciones de Al en el suelo.

Las partes senescentes de las plantas juegan un papel importante para suplir las deficiencias de P, las plantas realizan una eficiente traslocación del P desde esas estructuras hasta las nuevas, por lo que los síntomas de deficiencia se manifiestan principalmente en la partes mas maduras de las plantas (Azcon-Bieto y Talón, 2000).

6.3.3.4. Producción de biomasa de raíz

En general, las dos especies de *Brachiaria* evaluadas con diferentes niveles de P presentaron diferencias altamente significativas. Entre genotipos solo se presentaron diferencias en el nivel de 50P, donde *Bd* presentó el mayor valor de peso seco de raíces (Figura 11d; Anexo 4). A pesar de que varios reportes muestran diferencias y una mayor producción de biomasa de raíz en *Bd* que en *Br* en ensayos con soluciones nutritivas en presencia de Al (Lasso, 1998; Buitrago, 2003), en los ensayos realizados con suelo ácido de Matazul presentados en este documento no se encontró diferencias. Lo anterior puede ser explicado por el hecho que en los ensayos con soluciones nutritivas solo se utilizan concentraciones de $AlCl_3$, $CaCl_2$ y P sin los demás nutrientes, mientras en los ensayos con suelo si se aplican en niveles altos.

A bajos niveles de P disponible, la longitud radicular total, peso radicular y extensividad (masa y área superficial) de todas las raíces y pelos radiculares son

características importantes en la adaptación genética de las plantas a bajo suministro de P, sin embargo, estas características no son importantes cuando las plantas son cultivadas con niveles adecuados de P o con asociación con micorrizas a bajo P (Rao *et al*., 1999).

6.3.3.5. Absorción de fósforo en las partes de la planta

Los valores de absorción de P en la parte aérea, radical y biomasa muerta presentaron diferencias significativas entre las dos especies de *Brachiaria* y entre niveles de P (Figuras 12a,b,c; Anexo 4). Cuando se comparan las dos especies en cada nivel de P casi no se presentaron diferencias; esto pudo ser debido al hecho que *Br* presenta mayor concentración de P en los tejidos y *Bd* mayor producción de biomasa total (Anexo 4).

Hay una tendencia en ambas especies de absorber cantidades similares de P en la biomasa aérea. En raíces, *Bd* tiende a presentar mayores valores, propiedad que le confiere mejor adaptación a bajo P a través del tiempo. En biomasa muerta *Br,* tiende a presentar mayores valores, indicando mayor senescencia y por lo tanto menor adaptación a bajo suministro de P.

Utilizando fósforo marcado (P^{32}) con un sistema de medición autoradiográfico altamente sensible a la radiación beta se ha visualizado y medido la retraslocación del P en la planta. Cuando hay deficiencia de P, la concentración citoplasmática de la primera hoja permanece constante hasta 16 días después de siembra, mientras que el P vacuolar ya ha sido completamente agotado después de 8 a 10 días. El agotamiento del P vacuolar en la primera hoja coincide con la aparición de la segunda hoja. Se sugiere que varios sistemas de transporte de la membrana plasmática y el tonoplasto juegan importantes papeles en la homeóstasis y traslocación del P (Rao. *et al*, 1999) .

6.3.3.6. Eficiencia en el uso de P

Bd presentó mayor eficiencia en el uso de P que *Br* en todos los niveles de P (Figura 12d; Anexo 4), coincidiendo con lo reportado por otros autores (Rao *et al.*, 1995; Correa, 1993) donde *Bd* presentó mayores valores de eficiencia en el uso de P que otras especies de *Brachiaria*. La eficiencia en el uso del P parece ser uno de los mecanismos de adaptación que utiliza *Bd* en bajo P. Lynch *et al*., (1995) trabajando con genotipos de fríjol (*Phaseolus vulgaris L.*) encontraron que la eficiencia en la absorción de P tenía mayor importancia que la eficiencia en la utilización en el proceso de adaptación a bajo P, aunque estos 2 mecanismos pueden trabajar asociados.

Un número de especies de forrajes y cultivos tropicales pueden crecer normalmente con bajas concentraciones de P, debido a un uso eficiente del P dentro de las fracciones bioquímicas principales. Muchos estudios han indicado que las diferencias en el uso de las fracciones del P (P soluble, P lípido y P residual) puede ser la base para la identificación de plantas tolerantes a ambientes bajos en P. Es posible que especies que tienen un contenido de P relativamente pequeño tienen la capacidad de mantener altas actividades metabólicas con bajo suministro externo de P, y por lo tanto son adaptables a suelos bajos en P (Rao. *et al*, 1999).

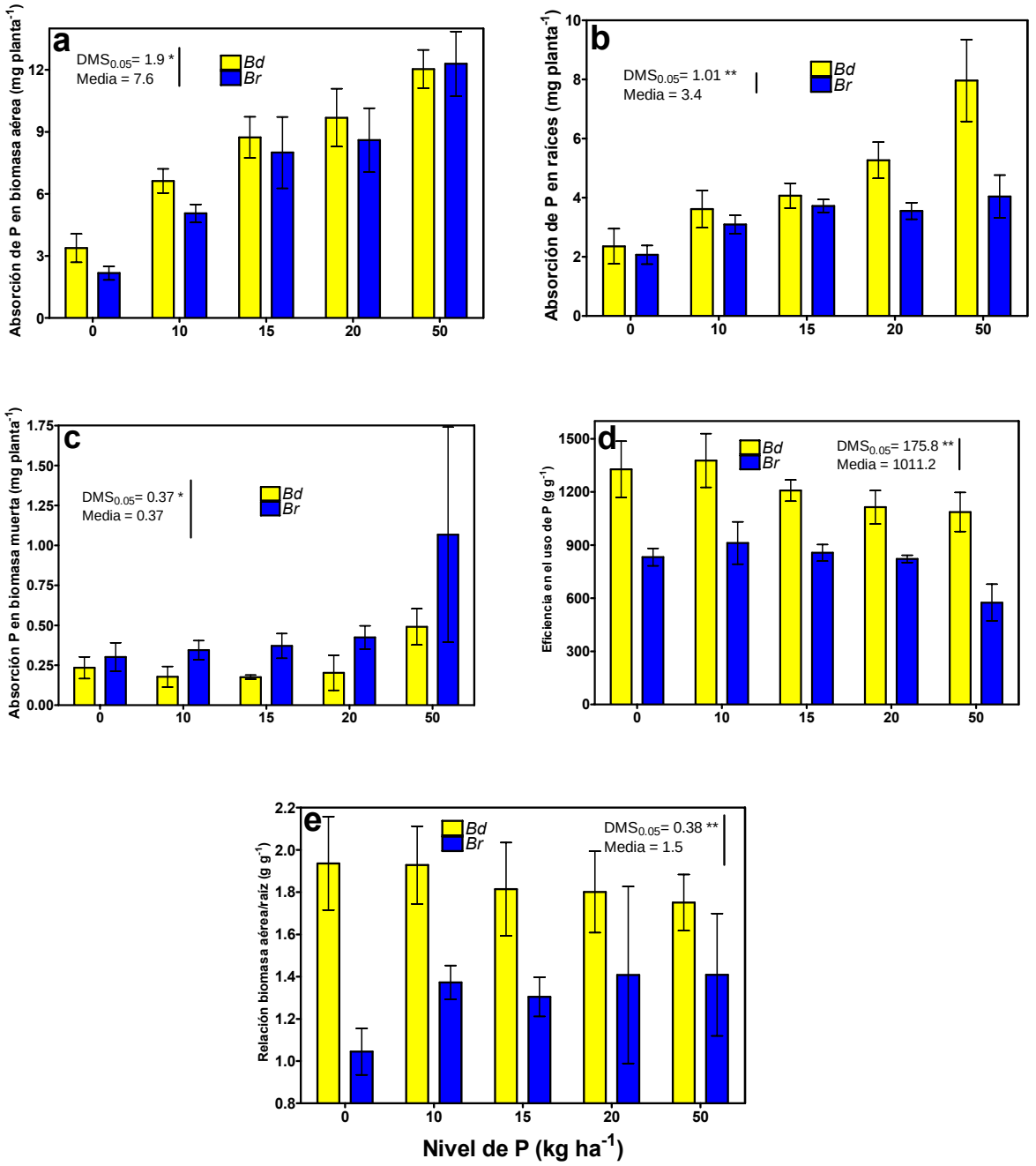


Figura 12. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo de Matazul con diferentes niveles de P durante 80 días a)absorción de P en biomasa aérea, b)absorción de P en raíces, c)absorción de P en biomasa muerta, d)eficiencia en el uso de P y e)eficiencia en la absorción de P.

6.3.3.7. Fraccionamiento de la biomasa

Solo en el nivel de 0P se presentaron diferencias significativas entre las 2 especies de *Brachiaria*, presentando *Bd* mayor valor que *Br.* La relación biomasa aérea/raíz es mayor en los niveles bajos de P. En condiciones de bajo P el desarrollo radicular es menos afectado que el crecimiento del follaje, la energía asimilada es utilizada en mayor proporción en el crecimiento de las raíces (Rao, 1996; Rao *et al.*, 1998; Yun y Keappler, 2001).

6.3.4. Conclusiones

- Las 2 especies de *Brachiaria* incrementaron la producción de biomasa aérea en la medida que aumentó el nivel de P.
- *Bd* presentó mejor respuesta en las variables evaluadas que *Br* en todos los niveles de P, indicando una mejor adaptación de *Bd* a bajos niveles de P en suelos ácidos.
- Las 2 especies presentaron diferencias en la biomasa aérea y no en la biomasa de raíz.
- La mayor absorción de P en raíces y mejor eficiencia en el uso del P, parecen ser mecanismos de adaptación que operan en *Bd* en condiciones de bajo P en suelos ácidos.

6.4. ENSAYO 2. Evaluación de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* y sus recombinantes genéticos (193 individuos) en suelo ácido (Matazul, Meta) con bajo P.

6.4.1. Resumen

Brachiaria decumbens (mejor adaptado), *Brachiaria ruziziensis* (menos adaptado) y una progenie de 193 individuos del cruzamiento entre ellos fueron evaluados en suelo ácido con bajo P (10 kg ha^{-1}) procedente de Matazul, Meta, con el objetivo de evaluar la variabilidad existente en la población por adaptación a bajo P. Los materiales se sembraron en invernadero con potes plásticos con capacidad de 3 kg de suelo. Los resultados mostraron que existe suficiente variabilidad en la población que puede ser explotada en programas de mejoramiento para adaptación a bajo fósforo disponible en el suelo. Existe segregación transgresiva, se encontraron individuos con mayor y menor biomasa aérea que el parental mejor y menor adaptado, respectivamente. Lo que supone que ninguno de los padres tiene acumulados todos los genes favorables ni todos los desfavorables para adaptación a bajo P. La eficiencia en el uso del P parece ser el mecanismo que utilizan algunas progenies para adaptarse a condiciones de bajo P.

6.4.2. Materiales y Métodos

6.4.2.1. Condiciones de crecimiento

Se utilizó un nivel de fósforo, 10 kg ha^{-1} (10P) considerado bajo pero no severo (Tabla 7), los demás nutrientes en niveles altos (Anexo 9). El suelo procedente de Matazul, Meta fue mezclado homogéneamente con los fertilizantes, luego transferido a potes plásticos con capacidad de 3.0 kg de suelo en los cuales se sembró un estolón por cada genotipo (Figura 13a), se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 3 repeticiones. Los potes fueron regados regularmente

con agua deionizada para mantenerlos cerca del 100% de capacidad de campo (Anexo 7) determinado de forma gravimétrica.

Tabla 7. Análisis de suelo de Matazul, Meta a la siembra y cosecha. CIAT, Palmira, 2006.

TIPO MUESTRA	pH	Sat. Al %	Al	Ca	Mg	K	P	B	Cu	Fe	Zn	Mn
			meq/100gr				ppm					
Siembra	5.06	57	1.07	0.57	0.06	0.19	4.97	0.57	0.37	70.65	0.69	0.73
Cosecha	5.31	58	1.23	0.75	0.06	0.07	3.23	0.48	0.68	74.21	1.68	1.58

6.4.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó a la semana 6 después de la siembra (Figura 13b). Las variables evaluadas y el análisis de los datos se hicieron igual que los ensayos anteriores, en raíces solo se midió peso seco; para determinar el grado de adaptación de los genotipos a bajo P, se hizo con base en la producción de biomasa seca aérea. Se uso un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones.

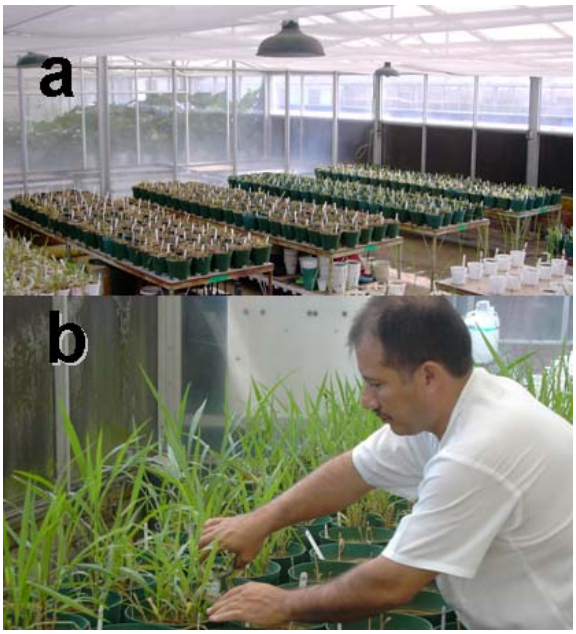


Figura 13. Evaluación de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P a) establecimiento del ensayo y b) cosecha a las 6 semanas.

6.4.3. Resultados y discusiones

En todas las variables evaluadas se encontraron diferencias altamente significativas entre los genotipos (Figuras 14, 15, 16 y 17; Anexo 5), indicando la existencia de suficiente variabilidad en esta población que puede ser explotada en programas de mejoramiento genético de *Brachiaria* para adaptación a suelos ácidos con bajo P disponible.

6.4.3.1. Producción de biomasa aérea

Se presentaron individuos con producciones superiores e inferiores a los 2 parentales (Anexo 5), indicando la existencia de segregación transgresiva en la población. Se asume que ninguno de los padres tienen acumulados todos los genes favorables ni todos los desfavorables para adaptación a bajo P, el fenómeno puede ser debido a complementariedad de genes.

La tabla 8 presenta las correlaciones positivas y significativas de biomasa aérea con área foliar, peso seco de raíz y concentración de P en hojas, tallos y raíces, indicando que tanto la parte aérea como la radicular influyen en la producción de biomasa aérea.

Tabla 8. Coeficientes de correlación simples entre biomasa aérea y otras variables de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo P durante 6 semanas.

Variables	Biomasa aérea	
Tratamiento (10 kg ha^{-1} de P)	**g planta^{-1}**	
Area foliar	0.51	**
Peso seco de raíz	0.52	**
Concentración de P en hojas (%)	0.79	**
Concentración de P en tallo (%)	0.79	**
Concentración de P en raíz (%)	0.79	**

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente

Graficando las variables peso seco de biomasa aérea y peso seco de raíz (Figura 14) se observa que los genotipos mas destacados son H-90, H-100, H-95, H-33 y H-50, ya que se encuentran ubicados en el cuadrante superior derecho. La tabla 7 indica que existe correlación positiva y significativa entre estas 2 variables, sin embargo, algunos genotipos como el H-7, H-40, H-46 y H-54 con altas producción de biomasa aérea y bajo peso seco de raíz; esto puede ser debido a las diferencias entre genotipos en los mecanismos de adaptación, en este caso la eficiencia en el uso del P. Los parentales presentaron bajos valores en estas 2 variables, por esta razón; se ubican en el cuadrante inferior izquierdo. Buitrago, (2003), evaluando una población de *Bd* por *Br* en soluciones nutritivas con presencia de Al encontró progenies con mayor peso seco de raíz que los parentales, corroborando la alta variabilidad existente en este cruzamiento.

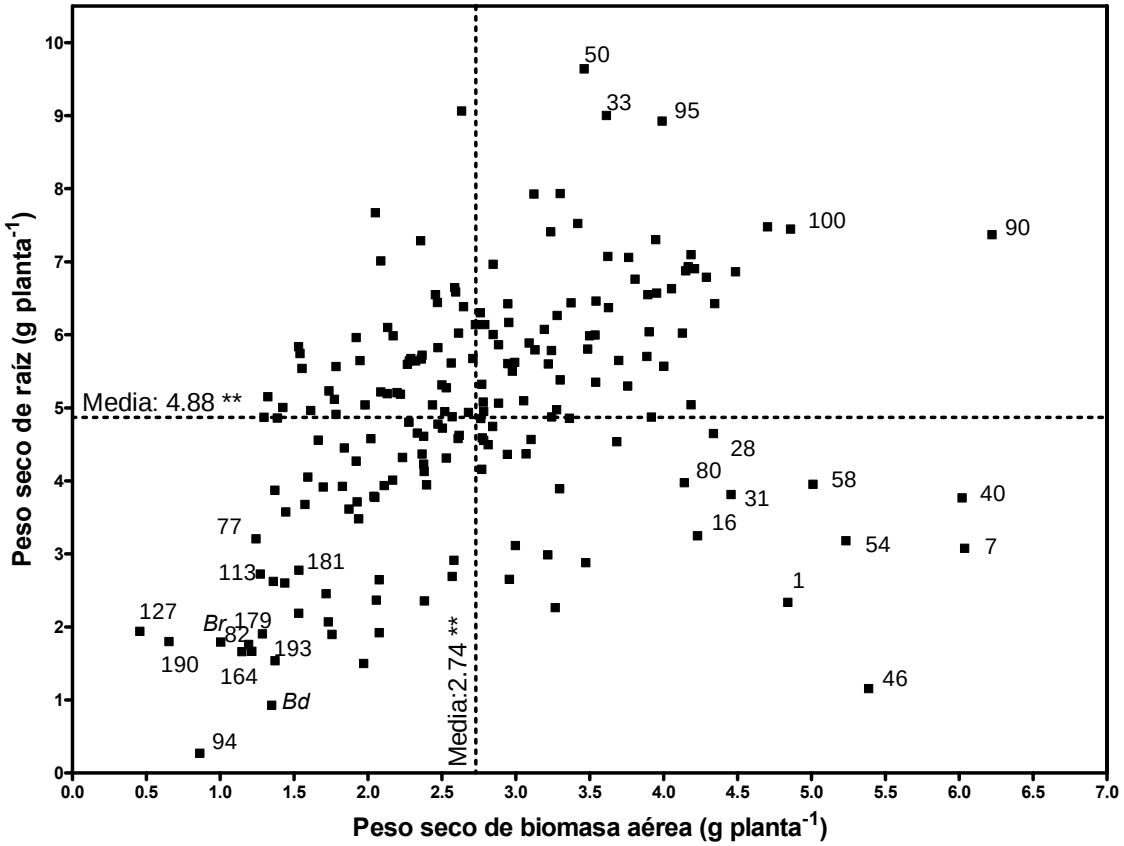


Figura 14. Peso seco de biomasa aérea y peso seco de raíz en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

En la figura 15 se observa la regresión entre peso seco de biomasa aérea y absorción total de P, es claro que los genotipos con mayor absorción de P presentan mayor peso seco de biomasa aérea, las diferencias entre ellos van a estar determinadas por la eficiencia en el uso que le den al P una vez entra en la planta. Las progenies H-7, H-40 y H-90 presentaron altos valores en las 2 variables, perfilándose como genotipos con buena adaptación en bajo P. Los parentales presentaron bajos valores en las 2 variables, pero superando a algunas progenies, indicando la presencia de segregación transgresiva en la población.

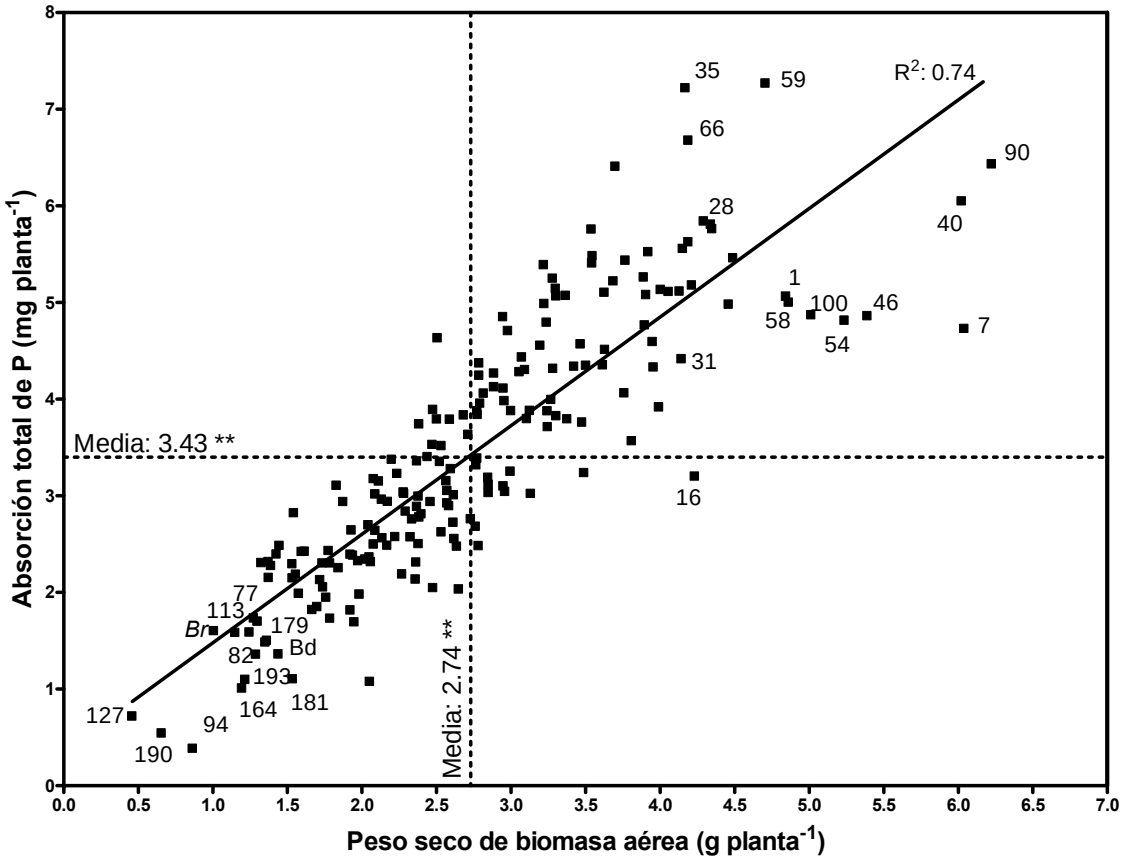


Figura 15. Peso seco de biomasa aérea y absorción total de P en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

Relacionando la absorción de P y el peso seco de la raíz, este último por si solo no es un buen indicador de la capacidad de absorción de P de una especie; este atributo está probablemente determinado por la interacción de factores como longitud y diámetro de raíces, volumen de suelo explorado y proliferación de pelos absorbentes (Muñoz y Beck, 1995).

Las progenies H-7, H-40, H54, H-58 y H-16 presentaron alto valores de peso seco de biomasa aérea y alta eficiencia en el uso de P (Figura 16), este último parece ser el mecanismo que utilizan algunas progenies de esta población para tener mejor adaptación a bajo P. *Bd* y *Br* presentaron baja eficiencia en el uso de P y baja biomasa aérea, aunque superiores a algunas progenies coincidiendo con lo

encontrado por Buitrago, (2003) que reportó progenies con mayor y menor peso seco de biomasa aérea que los parentales evaluando una población de *Br* por *Bd.*

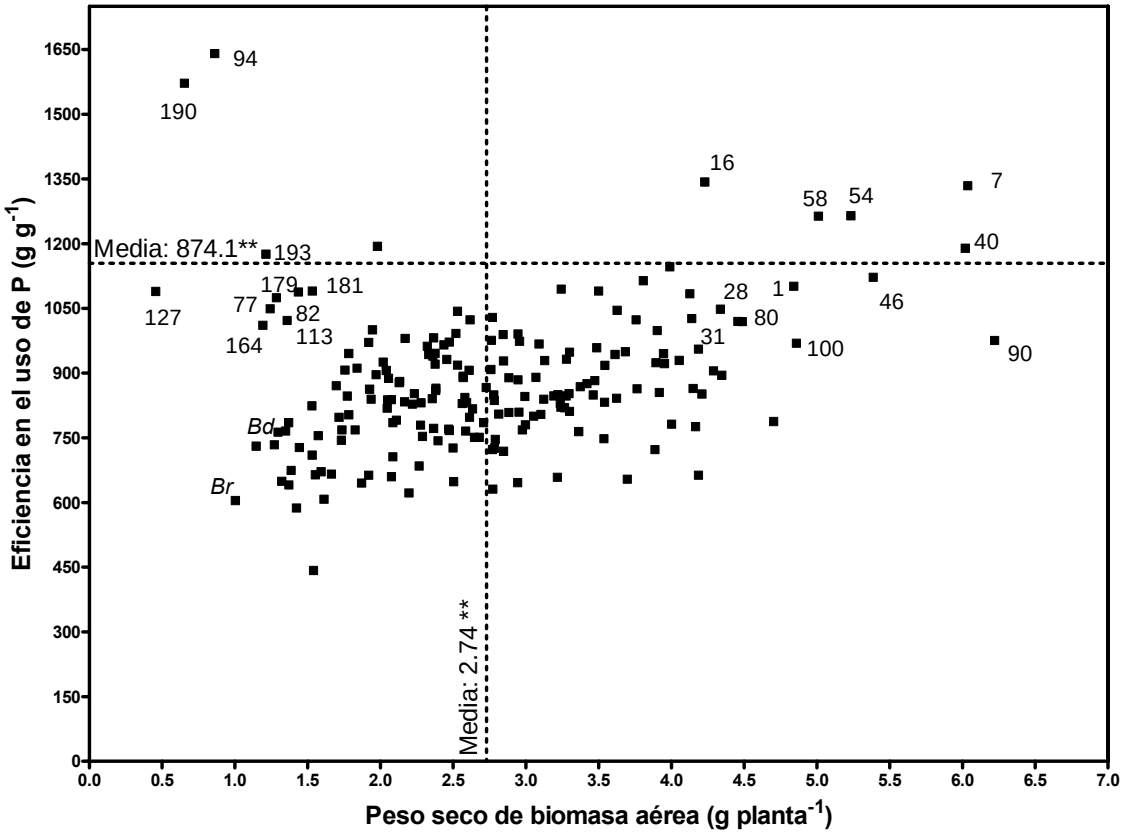


Figura 16. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en el uso P de *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

La relación entre absorción total de P y producción de biomasa seca total se observa en la correlación presentada en la figura 17, donde se muestra el comportamiento de las progenies y parentales creciendo en bajo P. La línea de regresión nos indica el efecto sobre la producción de biomasa total al aumentar la capacidad de los genotipos de absorber P del suelo. Muñoz y Beck, (1995) encontraron genotipos de fríjol mejor adaptados a bajo P, al aumentar la capacidad de absorción de P en bajo suministro.

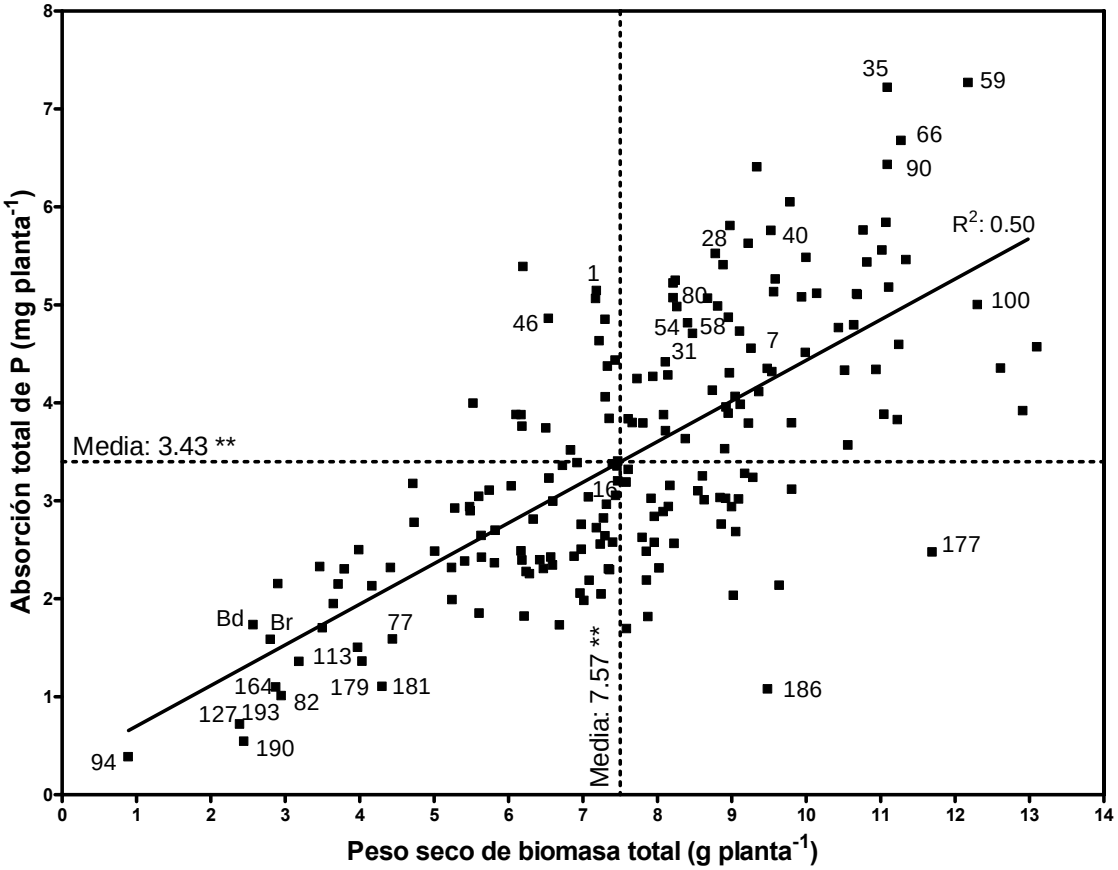


Figura 17. Peso seco de biomasa total y absorción total de P en *Bd, Br* y sus recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con 10 kg ha^{-1} de P durante 6 semanas.

6.4.4. Conclusiones

- Existe suficiente variabilidad en la población que puede ser utilizada en programas de mejoramiento para adaptación a bajo P.
- Se presentaron progenies con mayor y menor producción de biomasa seca total que los parentales, indicando la existencia de segregación transgresiva en la población, que permite encontrar genotipos mejor adaptados a condiciones de bajo P.
- Hay progenies que utilizan la eficiencia en el uso de P como mecanismo de adaptación a bajo P.
- Ninguno de los 2 parentales presentó valores de producción de biomasa seca aérea, que le permita ser considerado como bien adaptado a bajo P.

- No siempre genotipos con altos valores de biomasa seca aérea presentan alto peso seco de raíz, y los que lo presentan no siempre tienen la capacidad de absorber mayor cantidad de P.

6.5. ENSAYO 3. Evaluación de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* y 8 recombinantes genéticos contrastantes por su adaptación a bajo P disponible en el suelo.

6.5.1. Resumen

Se evaluaron en invernadero con suelo de Matazul, Meta en 2 niveles de fósforo (0 y 50 kg ha^{-1}) durante 6 semanas, 2 genotipos de *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens,* considerado mejor adaptado y *Brachiaria ruziziensis*, menos adaptado) y 8 progenies del cruzamiento entre ellos, (H-7, H-40, H-28 y H-58 mejor adaptados, H-190, H-94, H-82 y H-179 menos adaptados). Los resultados indicaron que los genotipos mejor adaptados a bajo P presentan mayor biomasa aérea, explicada por mayor área foliar, mayor concentración de P en el tallo y mayor volumen de raíz. Las características morfológicas de las raíces, principalmente longitud, peso seco y contenido de P, le permite a la planta mejor adaptación a bajo P disponible en el suelo. 6 semanas de evaluación es un tiempo corto, para que se presenten diferencias entre parentales, entre progenies es suficiente.

6.5.2. Materiales y Métodos

6.5.2.1. Condiciones de crecimiento

Se utilizaron 2 niveles de fósforo, bajo 0(0P) y alto 50(50P) kg ha^{-1} (Tabla 9), los demás nutrientes en dosis altas (Anexo 9), la cantidad y forma de aplicación de los fertilizantes y el riego se hizo igual a los ensayos anteriores. Para la siembra se utilizaron potes plásticos con capacidad de 2.6 kg de suelo en los cuales se

sembró un estolón por genotipo, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 3 repeticiones.

Tabla 9. Análisis de suelo de Matazul, Meta después de aplicados los nutrientes al momento de la siembra y cosecha.

TIPO MUESTRA	pH	Sat. Al %	Al	Ca	Mg	K	P	B	Cu	Fe	Zn	Mn
			meq/100g				ppm					
0P siembra	4.55	75.3	1.10	0.16	0.08	0.12	**2.7**	0.67	43.07	1.35	0.65	0.25
50P siembra	4.49	68.2	0.95	0.19	0.07	0.18	**18.2**	0.43	13.01	0.75	0.46	0.22
0P cosecha	4.92	70.3	1.15	0.25	0.09	0.14	**3.4**	1.10	41.15	1.32	0.59	0.42
50P cosecha	4.84	75.9	1.20	0.31	0.05	0.02	**14.1**	0.94	46.42	1.36	0.46	0.24

Sat. Al: Saturación de Aluminio

6.5.2.2. Medidas y análisis

La cosecha de las plantas se realizó a la semana 6 después de la siembra, las variables evaluadas y análisis de los datos se realizaron igual que a los ensayos anteriores. La eficiencia en la absorción de P fue estimada como gramos total de P absorbido por la planta por longitud de raíz.

Se realizó análisis de varianza, DMS (diferencia mínima significativa) para cada variable, análisis de regresión múltiple utilizando como variable dependiente la biomasa aérea de la planta y correlaciones simples de Pearson entre la biomasa aérea con las variables, área foliar, peso seco de hojas, peso seco de tallo, peso seco de raíz, longitud de raíz, diámetro de raíz, volumen de raíz, concentración de fósforo en hojas, tallos y raíces, eficiencia en el uso de P y eficiencia en la absorción de P. Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadístico, SAS/STAT, 2002-2003).

6.5.3. Resultados y discusiones

Se presentaron diferencias significativas en la mayoría de las variables evaluadas tanto en 0P como en 50P (Figuras 14, 16 y 18), sin embargo, entre los parentales se presentaron pocas diferencias, considerándose que 6 semanas es un tiempo demasiado corto para que *Bd* presente características morfológicas y fisiológicas que le confieren mejor adaptación que *Br* en 0P, esto se corrobora en el ensayo con varios niveles de P donde a los 82 días de evaluación en invernadero *Bd* presenta mayor biomasa total que *Br.* Comparando las progenies en 0P, la mayoría de las variables presentaron diferencias significativas entre ellos, con 50P se presentaron pocas diferencias (Anexo 6), lo anterior sugiere que con adecuado suministro de P hay incremento de la producción de biomasa total de todos los genotipos evaluados, coincidiendo con lo reportado por Rao *et al.,* (1998) y Correa, (1993) donde indican que las especies de *Brachiaria* responden a un suministro alto de P, respuesta que se expresa en un mayor crecimiento tanto del follaje como de las raíces. El genotipo H-94 que había sido clasificado entre los menos adaptados en evaluaciones anteriores, presentó altos valores en la mayoría de las variables evaluadas, similares a la de los genotipos mejor adaptados.

6.5.3.1. Producción de biomasa aérea

El análisis de regresión múltiple indica que el comportamiento biológico de la producción de biomasa aérea (variable dependiente) se ajusta a un modelo lineal, donde la variable que mas explica la variabilidad presentada en la producción de biomasa aérea en 0P es el área foliar, con un coeficiente de determinación de 0.82, contribuyen en menor proporción el volumen de raíz y la concentración de fósforo en el tallo, para un total del 89% de la variabilidad explicada por el modelo. Este comportamiento es esperado, ya que en condiciones de bajo P la planta cambia el fraccionamiento del carbono, la energía asimilada se utiliza para el crecimiento de la raíz y existe una disminución selectiva del crecimiento del follaje

(Rao, 1996; Rao *et al.*, 1998; Yun y Keappler, 2001). Como el crecimiento de las raíces es menos afectado que el follaje, las variaciones que se presenten en las raíces inducen variabilidad en la biomasa aérea. En 50P el peso seco de raíz es la que mas explica la variabilidad, con un coeficiente de determinación de 0.7, le siguen las variables concentración de P en tallo, diámetro de raíz y área foliar, explicando el modelo 91% de la variabilidad presentada (Tabla 10).

Tabla 10. Coeficientes de determinación (R^2) y correlación simples (r) entre biomasa aérea y otras variables de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Variables	**Biomasa aérea g planta^{-1}**					
Tratamientos (kg ha^{-1} de P)	**0P**			**50P**		
Coef. determinación y correlación	**R^2**	**r**		**R^2**	**R**	
Area foliar	0.82	0.91	**	0.03	0.83	**
Peso seco de raíz		0.88	**	0.70	0.84	**
Longitud de raíz		0.85	**		0.80	**
Diámetro de raíz		0.01		0.04	-0.21	
Volumen de raíz	0.05				0.76	**
Concentración de P en hojas (%)					0.46	**
Concentración de P en tallo (%)	0.02			0.14	-0.64	**
Concentración de P en raíz (%)					-0.50	**
R^2 Total	0.89			0.91		

*, ** significativo al nivel de probabilidad 0.05 y 0.01, respectivamente

Se presentaron altas correlaciones positivas de biomasa aérea con área foliar, peso seco de raíz y longitud de raíz en 0P. En 50P hubo correlación positiva con área foliar, peso seco de raíz, longitud de raíz, volumen de raíz y concentración de fósforo en hojas; y hubo correlación negativa con concentración de fósforo en tallos y raíces. Rao *et al.,* (1997), encontraron correlaciones similares entre biomasa aérea con absorción de P de la parte aérea, área foliar y biomasa radicular. El diámetro de raíz no presentó correlaciones significativas en ambos niveles de P (Tabla 10).

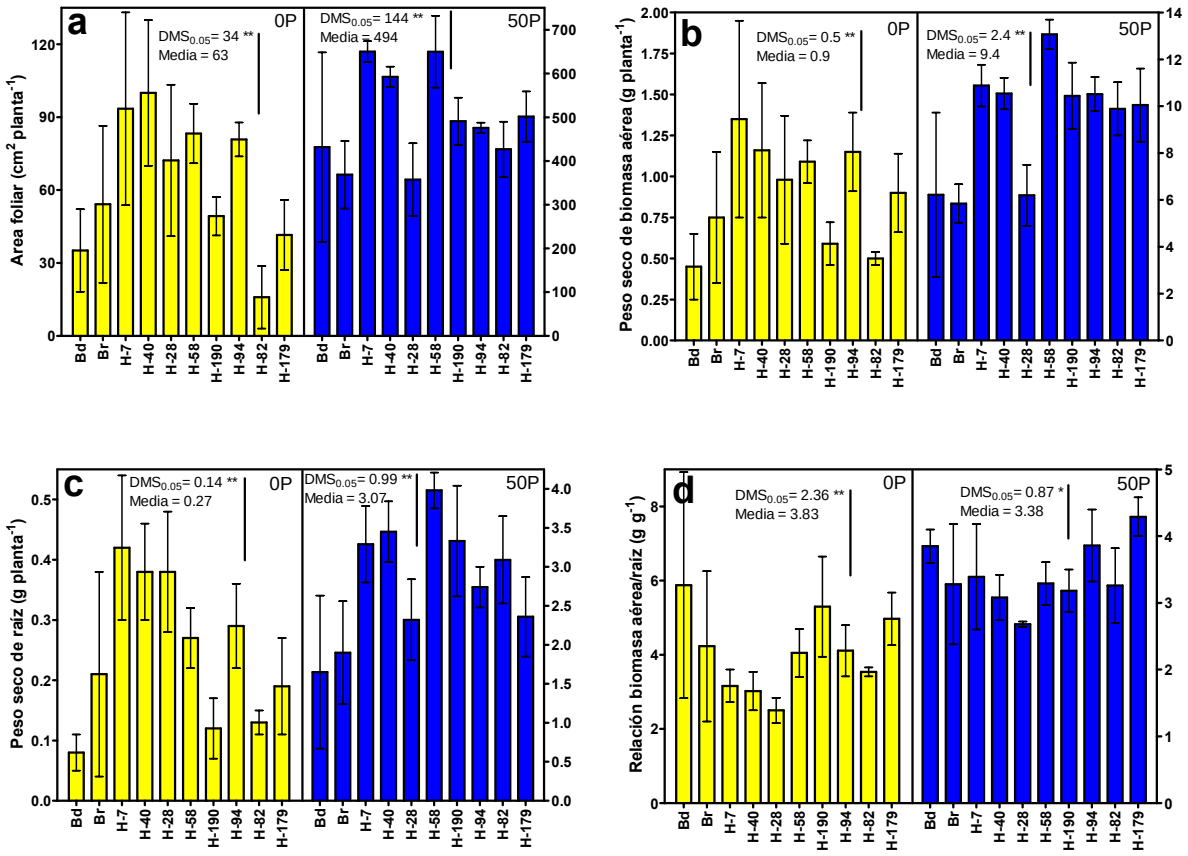


Figura 18. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas a)área foliar, b)peso seco de biomasa aérea, c)peso seco de raíz y d)relación biomasa aérea/raíz.

La producción de biomasa aérea es altamente afectada por el nivel de fertilización con P, siendo mucho mayor con aplicaciones de 50P (Figura 18b, Anexo 6), coincidiendo con lo reportado por Rao *et al.*, (2001) quienes indican que las especies de *Brachiaria* responden significativamente a la fertilización con P. En 0P las progenies mejor adaptadas presentaron mayores valores que las menos adaptadas (Figura 19a,b). El genotipo H-7 (mejor adaptado) presentó valores de 1.35 g planta^{-1} mientras que el H-82 menos adaptado tuvo 0.5 g planta^{-1} (Anexo 6). Las marcadas diferencias en los valores de biomasa aérea pueden ser explicadas por la morfología del sistema radicular (Figura 19c,d), adquisición de P por unidad

de raíz, actividad de la enzima fosfatasa ácida en hojas y raíces y concentración de Pi en hojas y raíces (Rao *et al.*, 1997).

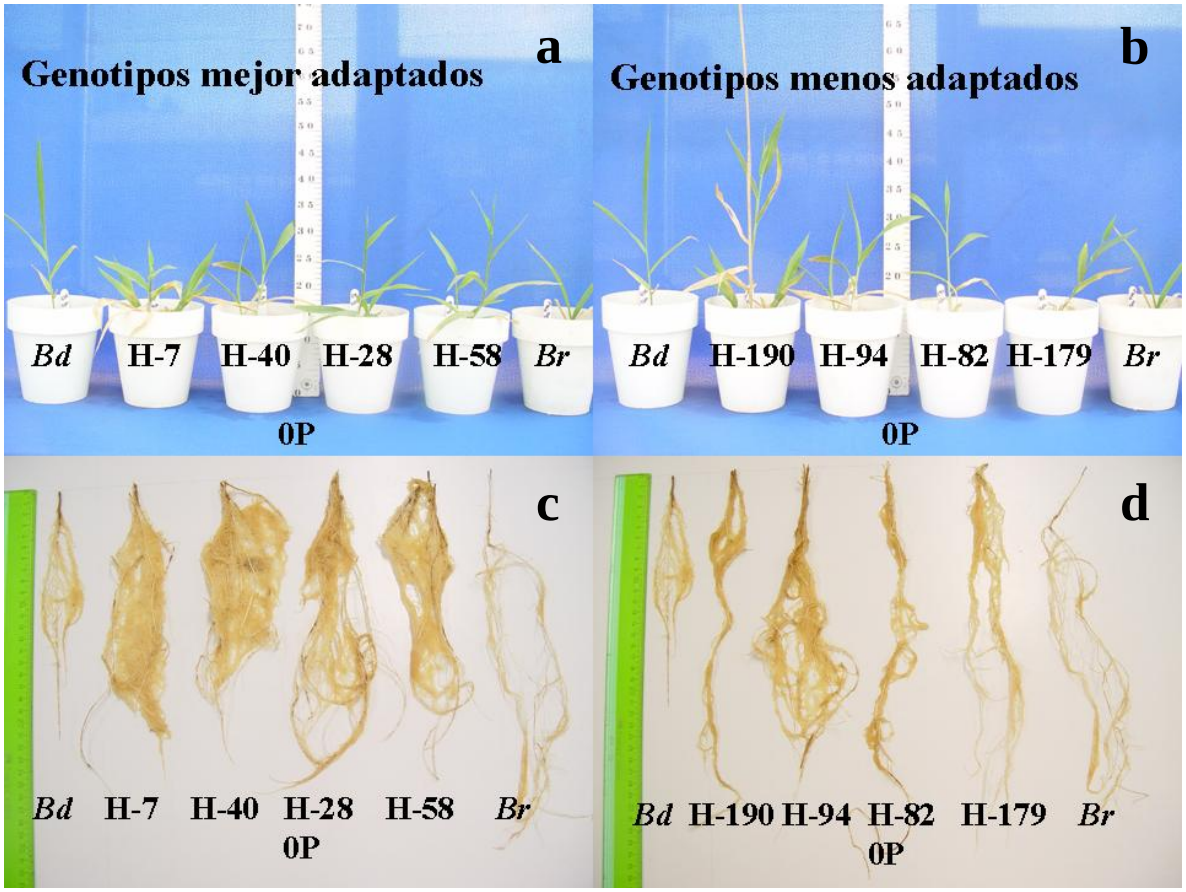


Figura 19. Efecto de bajo P en *Bd*, *Br* y 8 progenies F1 en suelo de Matazúl, Meta a la semana 6 después de siembra. a) parte aérea de las plantas de los genotipos mejor adaptados y los 2 parentales. b) parte aérea de las plantas de los genotipos menos adaptados y los 2 parentales c) raíces de las plantas de los genotipos mejor adaptados y los 2 parentales d) raíces de las plantas de los genotipos menos adaptados y los 2 parentales.

La relación entre peso seco de biomasa aérea y longitud de raíz en los 2 niveles de P se puede apreciar en la figura 20, hay respuesta positiva de los genotipos al aumentar los niveles de P. El análisis de regresión indica que el comportamiento se ajusta a un modelo lineal, donde los genotipos que presentaron mayor longitud de raíz tuvieron mayor peso seco de biomasa aérea en los 2 niveles de P, como se corrobora en las altas correlaciones significativas presentadas en la Tabla 10.

En programas de mejoramiento genético para obtener individuos con mejor adaptación a bajo P disponible se tiene interés en genotipos como H-7, H-40, H-58, H-190 y H-94 ya que presentan buen comportamiento en los 2 niveles de P.

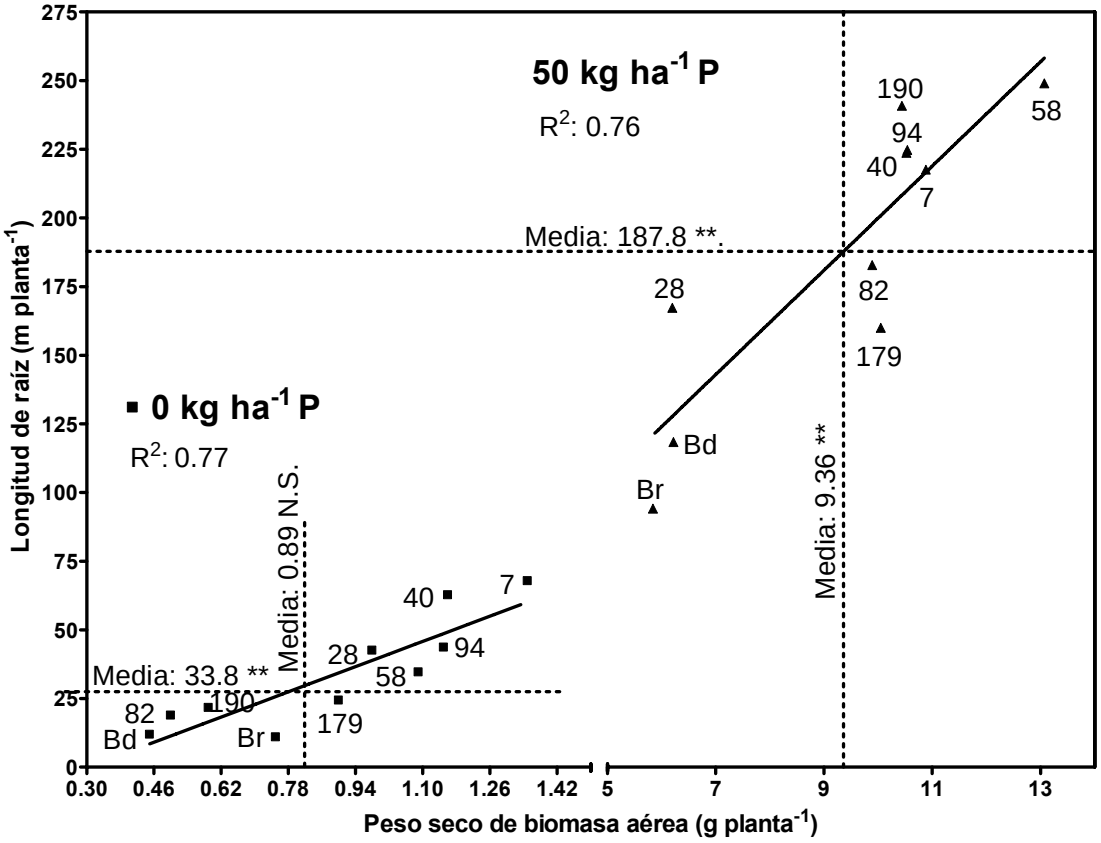


Figura 20. Peso seco de biomasa aérea y longitud de raíz de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Genotipos como el H-7, H-40, H-94 y H-58 ubicados en el cuadrante superior derecho presentan buena estabilidad agronómica, ya que se comportan relativamente bien en condiciones de estrés y responden positivamente al mejorar las condiciones ambientales, en este caso hubo aumento en la producción de biomasa aérea en mayor suministro de P. El genotipo H-28 a pesar de que presenta buen comportamiento en bajo P, al aumentar este no incrementa en forma considerable la biomasa aérea, es un material con poca homeostasis y muy limitado a condiciones agroecológicas específicas (Figura 21).

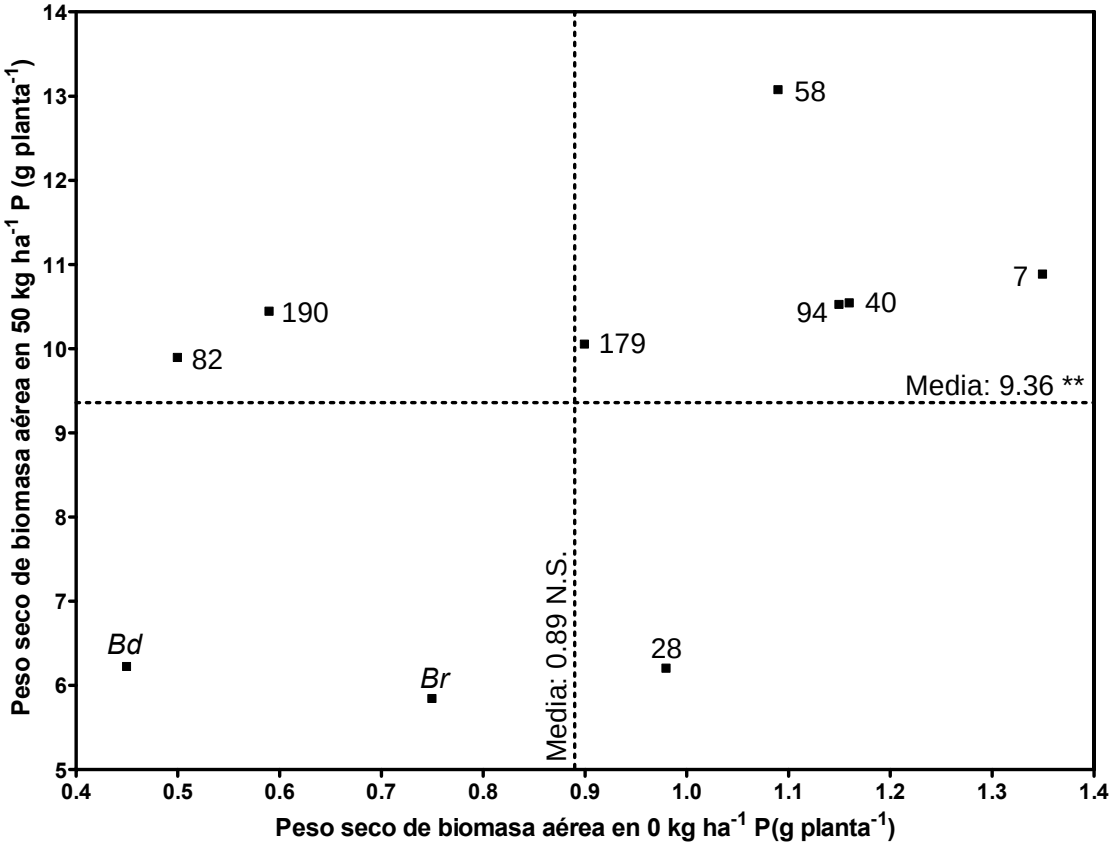


Figura 21. Peso seco de biomasa aérea en bajo y alto P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul durante 6 semanas.

En bajo P, los genotipos H-7 y H-40 presentaron alto peso seco de biomasa aérea y alta eficiencia en el uso de P, considerándose que utilizan esta como un mecanismo de adaptación. Los 2 parentales presentaron baja eficiencia y baja biomasa aérea. Los genotipos H-179, H-82 y H-190 a pesar de presentar alta eficiencia en el uso de P presentan intermedia a baja producción de biomasa aérea. Cuando se suministra alto P, casi todas las progenies aumentan su biomasa aérea y disminuyen la eficiencia en el uso con respecto a bajo P (Figura 22).

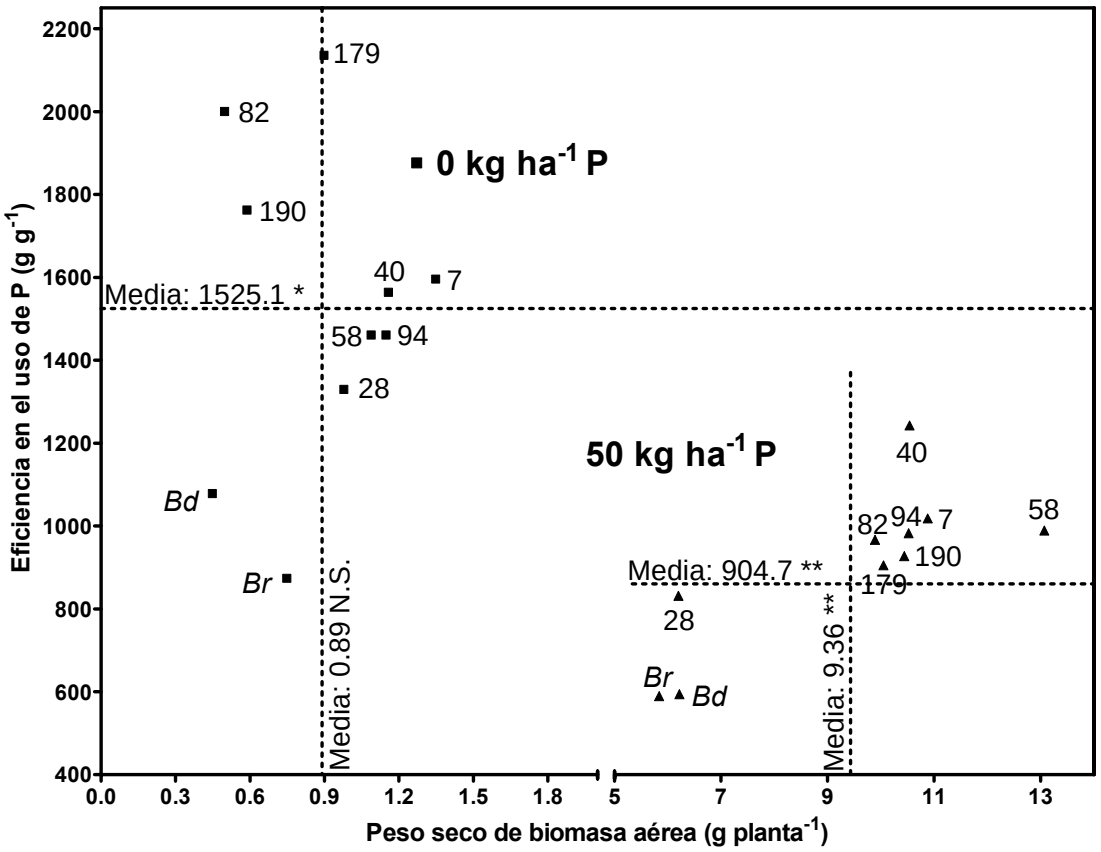


Figura 22. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en el uso de P en *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

Los parentales presentan altas eficiencias de absorción pero baja biomasa aérea en los 2 niveles de fósforo (Figura 23; Anexo 6). Las progenies presentan baja eficiencia en la absorción de P y alta producción de biomasa aérea, por lo tanto, la eficiencia en la absorción no se considera en este caso un mecanismo de adaptación a condiciones de bajo P en presencia de Al.

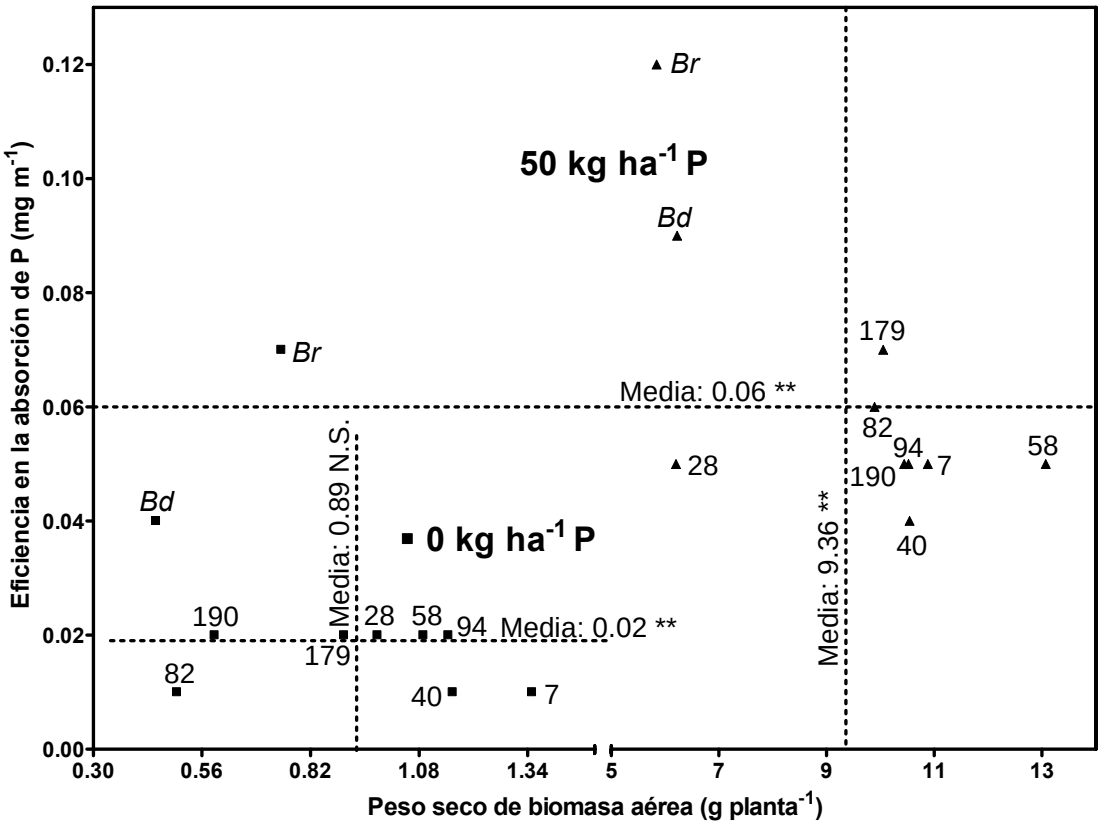


Figura 23. Peso seco de biomasa aérea y eficiencia en la absorción de P en *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

6.5.3.2. Área foliar

Hubo diferencias significativas entre los genotipos en los 2 niveles de fósforo, entre parentales no se presentaron diferencias. En 0P las progenies mejor adaptadas presentaron mayor área foliar que las menos adaptadas, en 50P no se presentan diferencias. Lo anterior concuerda con lo reportado por Rao *et al.,* (1996), quienes afirman que los efectos del bajo suministro de P en crecimiento y desarrollo de la parte aérea son una expansión reducida de la hoja y del área foliar. En 0P la progenies mejor adaptadas presentaron 87.2 cm^2 $planta^{-1}$ mientras que las menos adaptadas presentaron 46.9 cm^2 $planta^{-1}$. El genotipo H-40 uno de los mejores adaptados presentó un área foliar de 100cm^2 $planta^{-1}$ superando mas de 6 veces al genotipo H-82 (menos adaptado) el cual presentó un área foliar de

15.9cm^2 planta^{-1}. En 50P no se presentaron diferencias significativas entre las progenies mejor adaptadas y menos adaptadas, presentando un promedio de 562.4 y 437.7cm^2 planta^{-1}, respectivamente (Figuras 18a y 19a,b; Anexo 6). La expansión foliar está muy relacionada con la extensión de las células epidermales, y este proceso puede estar limitado en las plantas con bajo contenido de P (Rao *et al.*, 2001).

6.5.3.3. Producción de biomasa de raíz

Con 0P las progenies mejor adaptadas presentaron el doble de peso seco de raíz que las menos adaptadas con valores de 0.36 y 0.18 g planta^{-1}, respectivamente (Anexo 6). Watanabe *et al.*, (2006), usando soluciones nutritivas, evaluaron 2 gramíneas forrajeras entre ellas un híbrido de *Brachiaria,* y encontraron que la ausencia de fósforo en presencia de aluminio redujo en menor proporción el peso de raíces de este último comparado con el de *Andropogon gayanus*. Con 50P no se presentaron diferencias entre las progenies. Entre los parentales no se presentaron diferencias en los 2 niveles de P (Figura 14c).

Se ha observado que las plantas responden a la deficiencia de P aumentando la formación y alargamiento de raíces laterales, y disminuyendo el alargamiento primario de la raíz. Los cambios en la morfología y crecimiento de la raíz son proporcionales a las concentraciones de reguladores de crecimiento, particularmente auxina, etileno y citokininas. La producción de etileno es estimulada en raíces de plantas con deficiencias de P, puede ser el responsable de la formación de los pelos de la raíz. Los niveles de citokininas disminuyen en plantas con deficiencias de P. Se han identificado genes que afectan la expresión de las auxinas, AIR1,3,9,12, HRGP y LRP1 que controlan el desarrollo lateral de la raíz (Hammond *et al.*, 2004).

6.5.3.4. Fraccionamiento de la biomasa

Con OP, la relación entre producción de biomasa seca aérea y peso seco de la raíz es mayor que con 50P, con valores de 3.8 y 3.3 g g^{-1}, respectivamente (Figura 18d y Anexo 6). Este comportamiento es característico cuando hay deficiencia de Pi, donde se supone que la mayor parte de de la energía asimilada se utiliza para el crecimiento de la raíz y se presenta una disminución selectiva del crecimiento del follaje (Rao, 1996; Yun y Keappler, 2001). Al evaluar varios genotipos de *Brachiaria* se encontró que el crecimiento de las raíces estuvo menos afectado que el crecimiento del follaje cuando hubo baja fertilidad, lo cual indica un cambio en el fraccionamiento del carbono como atributo de adaptación (Rao *et al.*, 1998).

6.5.3.5. Longitud de raíz

Los parentales no presentaron diferencias significativas en los 2 niveles de fósforo. Con 0P las progenies mejor adaptadas presentaron casi el doble de longitud de raíz que las menos adaptadas, presentandose valores de 51.9 y 27.1 m $planta^{-1}$, respectivamente. Con 50P no se presentaron diferencias entre progenies (Figura 18a y Anexo 6). Rao *et al.*, (1996), encontraron longitudes de raíz en *B. dictyoneura* con valores de 2.52 y 17.21 km m^2 con 0 y 50P, respectivamente, indicando buen desempeño en bajo P y buena respuesta a la aplicación de P. La característica radicular mas prominente en gramíneas forrajeras es la alta longitud radicular que resulta de una gran área superficial radicular y una alta relación de superficie radicular con peso seco aéreo. Estos 2 parámetros mejoran ampliamente la adquisición de P por parte de las raíces y el suministro a la parte aérea, esto es debido a un sistema radicular finamente dividido y rapidamente desarrollado que provee mejor acceso a nutrientes menos móviles en el suelo como el P (Rao, 2001a,b).

Con alto P hay mayor longitud de raíz que con bajo P, en general hay respuesta de los genotipos a mejor disponibilidad de P. los genotipos H-7, H-40, H-94 y H-

58 presentan buen desarrollo radicular tanto en alto como en bajo P (cuadrante superior derecho, Figura 24).

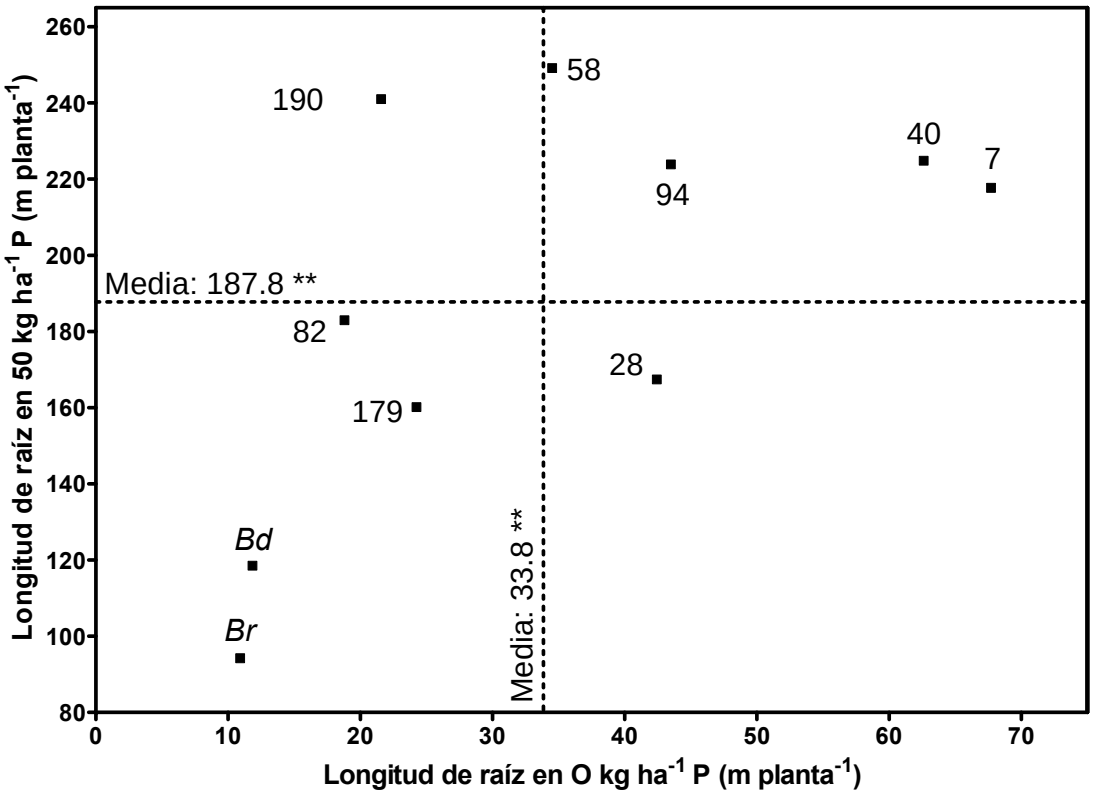


Figura 24. Longitud de raíz en bajo y alto P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul durante 6 semanas.

Los genotipos que presentaron mayor longitud de raíz tuvieron mayor absorción total de P (Figura 25; Anexo 6), presentándose correlaciones significativas (0.53**) entre las 2 variables (Tabla 10). H-7, H-58 y H-94 presentaron altos valores en los 2 niveles de P. En bajo P los genotipos de mayor producción de biomasa aérea presentaron altos valores de absorción total de P y longitud de raíz, corroborando la importancia de estas dos variables en la adaptación a bajo P. Con bajo P, *Br* tuvo el mayor valor de absorción total de P a pesar de presentar baja longitud de raíz, corroborando la importancia de la acumulación de P en el estolón de siembra en este material.

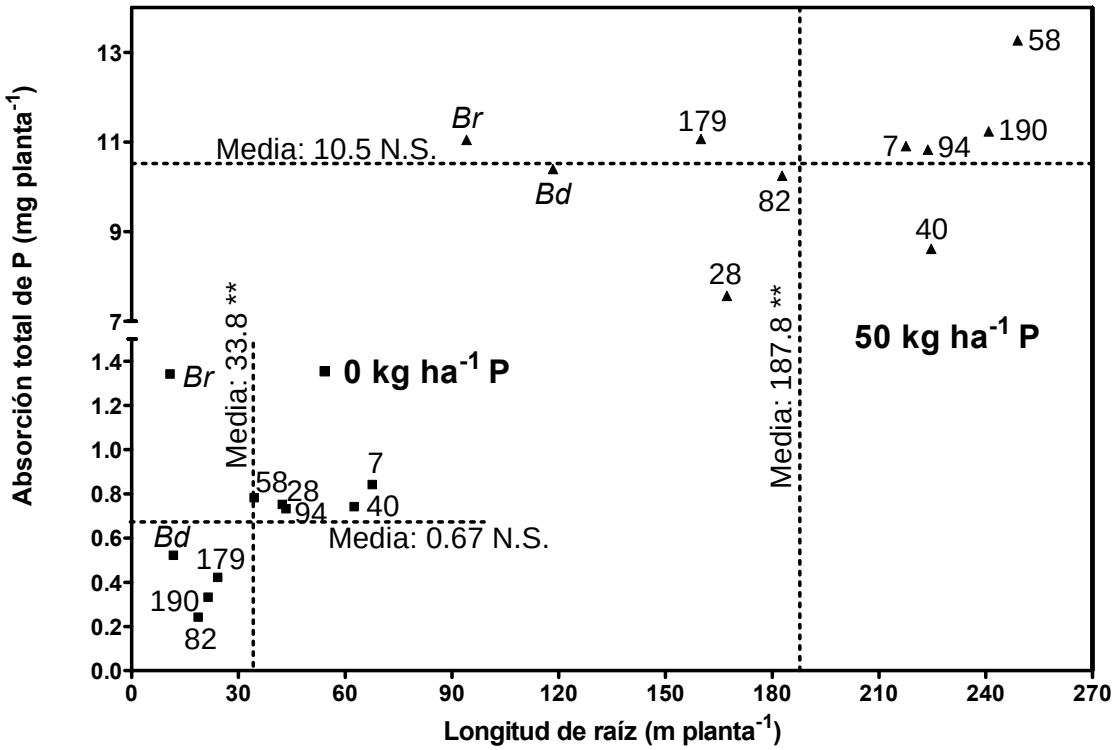


Figura 25. Longitud de raíz y absorción total de P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

6.5.3.6. Longitud específica de la raíz

Con 0P se presentaron diferencias altamente significativas entre los genotipos, *Bd* presentó mayor valor que *Br*, debido a que *Bd* presenta un sistema radicular mas fino; entre progenies no hay una clara tendencia, ya que tanto los menos como los mejor adaptados presentaron sistemas radiculares finos. En condiciones de bajo suministro de P los genotipos en general aumentan la finura de sus raíces, presentando mayor longitud específica al comparase con alto suministro de P (Figura 26b y Anexo 6), siendo este un mecanismo que se activa en la planta para explorar un mayor volumen de suelo. Con 50P no se presentaron diferencias significativas entre genotipos, corroborando la activación de este mecanismo solo en condiciones de bajo suministro de P.

6.5.3.7. Diámetro de raíz

Br presentó el mayor diámetro de raíz en los 2 niveles de fósforo, *Bd* presentó un diámetro similar a las progenies en los 2 niveles de fósforo (Anexo 6). Lo anterior concuerda con lo obtenido por Lasso, (1998) en soluciones nutritivas, donde *Br* presentó mayor diámetro que *Bd.* No se presentaron diferencias entre progenies mejor y menor adaptadas con 0 y 50P (Figura 26c). El diámetro de las raíces, es uno de los atributos que juega un papel importante en la absorción de P en suelos con deficiencias. El diámetro de la raíz define el volumen máximo de suelo que puede ser explotado para la producción de fotosintatos. El diámetro de la raíz puede variar entre especies y con la edad de la planta (Alves *et al.*, 2002). Normalmente las plantas que presentan tolerancia a bajo P, tienen diámetros de raíces menores que las susceptibles (Rao *et al.*, 1999).

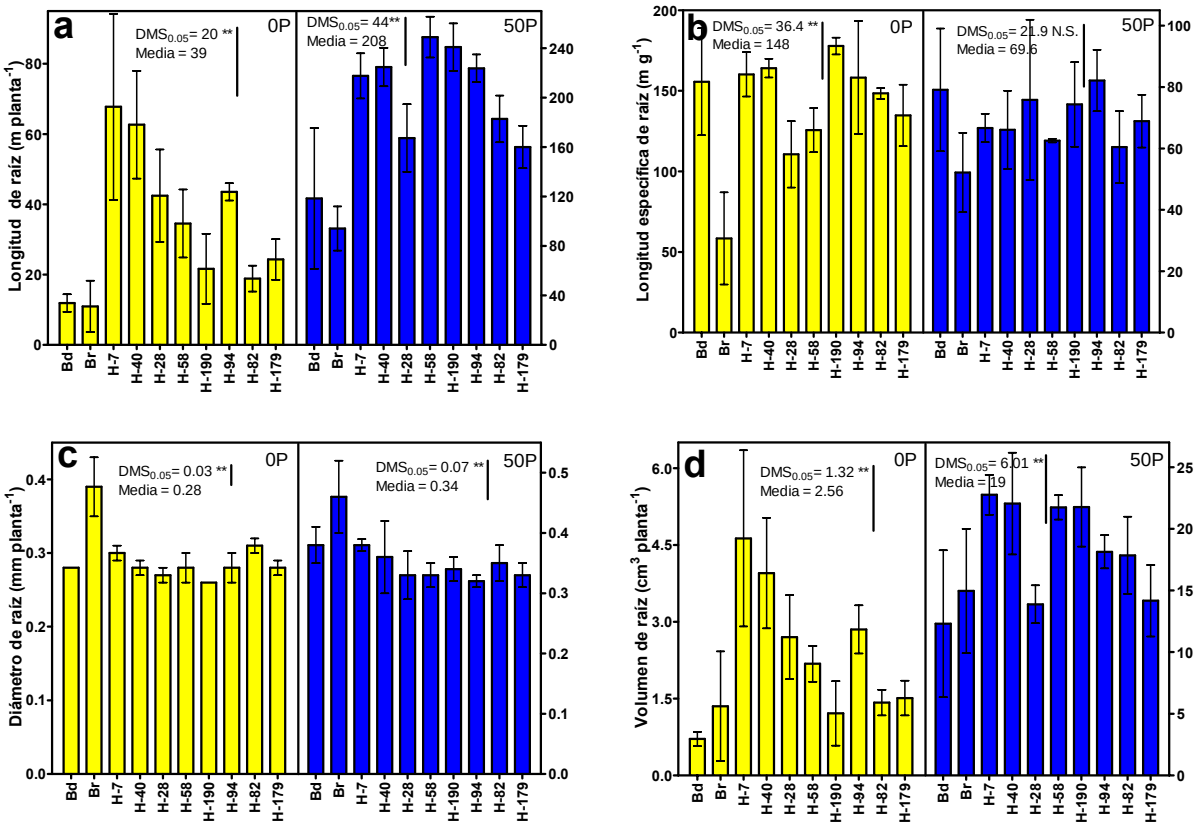


Figura 26. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas a)longitud de raíz, b)longitud específica de raíz, c)diámetro de raíz y d)volumen de raíz.

6.5.3.8. Volumen de raíz

Con 0P las progenies mejor adaptadas presentaron casi el doble de volumen de raíz que las menos adaptadas presentando valores de 3.36 y 1.75cm^3 planta^{-1}, respectivamente. Con 50P no se presentaron diferencias entre progenies. Entre parentales no se presentaron diferencias en los 2 niveles de P (Figura 24d y Anexo 6). La figura 27b,c muestran el volumen de raíz del genotipo H-7 mejor adaptado y del genotipo H-190 menos adaptado con 0P y 50P.

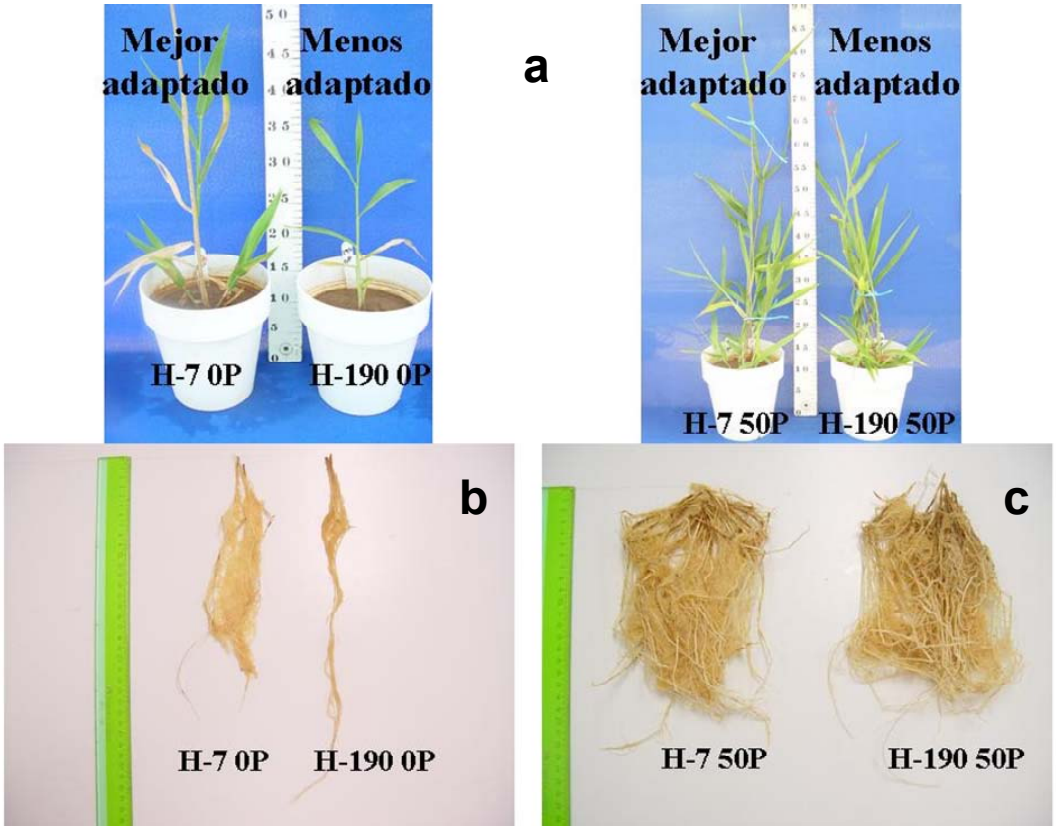


Figura 27. Efecto de bajo y alto P en 2 genotipos contrastantes por su adaptación a bajo P a la semana 6 después de siembra. a) parte aérea del genotipo H-7 mejor adaptado y del H-190 menos adaptado en alto y bajo P b) raíces del H-7 mejor adaptado y del H-190 menos adaptado en bajo P c) raíces del H-7 mejor adaptado y del H-190 menos adaptado en alto P.

La principal estrategia de las especies de *Brachiaria* para tomar P del fertilizante aplicado es emitir un sistema radical extenso, estableciendo al mismo tiempo una asociación con hongos de MVA, para explorar un mayor volumen de suelo (Rao *et al.*, 1998). Características asociadas con la raíz que determinan su volumen, como la longitud, diámetro, número, longitud y duración de los pelos radicales, son importantes para determinar la capacidad de absorción de P en suelos que son deficientes. (Rao *et al.*, 1999; Alves *et al.*, 2002)

6.5.3.9. Absorción de fósforo en las partes de la planta

No se presentaron diferencias significativas en la absorción de P en hojas y tallos en los 2 niveles de P. La absorción de P en raíz presentó diferencias significativas con OP, las progenies mejor adaptadas presentaron mas del doble que las menos adaptadas con valores de 0.14 y 0.06 mg planta^{-1}, respectivamente. Entre parentales se presentaron diferencias en absorción de P en hojas y raíces con 0P, *Br* presentó los niveles más altos de absorción (Figura 18a,b). Lo anterior coincide con lo reportado por A. Louw-Gaume (datos sin publicar) que utilizando soluciones nutritivas encontró que *Br* presenta mayor absorción de P que *Bd* debido a una mayor tasa de crecimiento en periodos cortos de evaluación.

Cuando la fuente de Pi es limitada, por lo general las plantas producen más raíces, aumentan el índice de absorción en las raíces del suelo, retranslocan Pi de hojas más viejas, y agotan los almacenes vacuolares de Pi. Además, las micorrizas pueden colonizar mas las raíces. Por el contrario, cuando las plantas tienen una fuente adecuada de Pi y lo están absorbiendo en tasas superiores a las adecuadas, un número de procesos actúan para prevenir la acumulación de las concentraciones tóxicas del Pi. Estos procesos incluyen conversión de Pi en compuestos orgánicos de almacenaje, reducción en la tasa de absorción del Pi del exterior (Lee *et al.*, 1990).

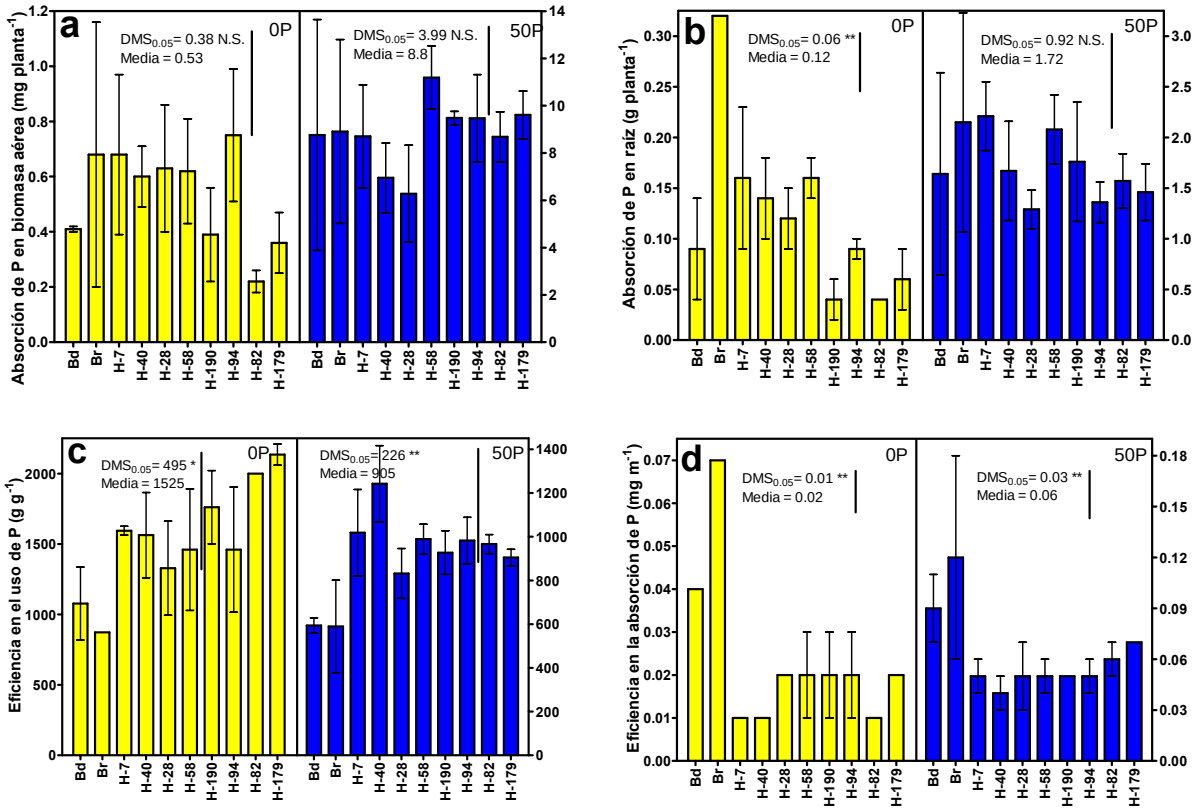


Figura 28. Evaluación de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas a)absorción de P en biomasa aérea, b) absorción de P en raíz, c)eficiencia en el uso de P y d)eficiencia en la absorción de P.

6.5.3.10. Eficiencia en el uso de fósforo

Hubo diferencias significativas entre los genotipos en los 2 niveles de P, con 0P se presentó una mayor eficiencia de uso que con 50P. Entre los parentales no se presentaron diferencias, sin embargo, *Bd* tiende a presentar una mayor eficiencia de uso de P que *Br* (Figura 28c y Anexo 6), Rao *et al.*, (1995), reportaron mayor eficiencia de uso de P en *Bd* comparado con otros cultivares de *Brachiaria*, Correa, (1993), encontró mayor eficiencia de uso de P en *Bd* que en *B. brizantha* y *P. maximun*. La mayor eficiencia de uso de P le permite a *Bd* ser más persistente a través del tiempo en suelos con bajo fósforo comparada con otras gramíneas forrajeras, caso contrario ocurre con *Br* que tuvo la menor eficiencia de uso con

bajo P, lo cual hace que sea poco persistente a través del tiempo en estas condiciones del suelo.

6.5.3.11. Eficiencia en la absorción de fósforo

En los 2 niveles de P, los genotipos presentaron diferencias altamente significativas, los dos parentales presentaron mayores valores que las progenies (Figura 28d y Anexo 6), posiblemente debido a que presentaron las menores longitudes de raíces.

La eficiencia en la absorción de P se atribuye a adaptaciones morfológicas, fisiológicas y bioquímica de las raíces (Rao *et al*., 1999; Lynch y Brown, 2001; Abel *et al*., 2002). Morfológicamente cambia la estructura de la raíz, o se modifica la cantidad, densidad y longitud de las raíces laterales, raíces adventicias y pelos radicales (Bates y Lynch, 2000). Además las raíces responden bioquímicamente con la expresión y secreción de enzimas como fosfatasas ácidas y ARNsas (Trull y Deikman, 1998), con la síntesis y exudación de ácidos orgánicos (Jones, 1998); y con un aumento en la síntesis de transportadores de Pi (Raghothama, 2000; Jain *et al*., 2007).

La combinación de eficiencia en el uso de P y eficiencia en la absorción de P en condiciones de bajo P (Figura 25) determina la adaptación del genotipo, expresada en este caso, como producción de peso seco de biomasa aérea. Los genotipos que presentaron mayor eficiencia en la absorción de P tuvieron menor eficiencia de uso de P, ajustándose a un modelo lineal en los 2 niveles de P. Los parentales presentan mayor eficiencia en la absorción de P que las progenies y estos mayor eficiencia en el uso de P. A pesar que hay cultivares que aparentemente combinan los 2 mecanismos para tener mejor adaptación en bajo P (Muñoz y Beck, 1995), en este caso la adaptación la presentan algunas progenies por medio de mejor eficiencia en el uso de P.

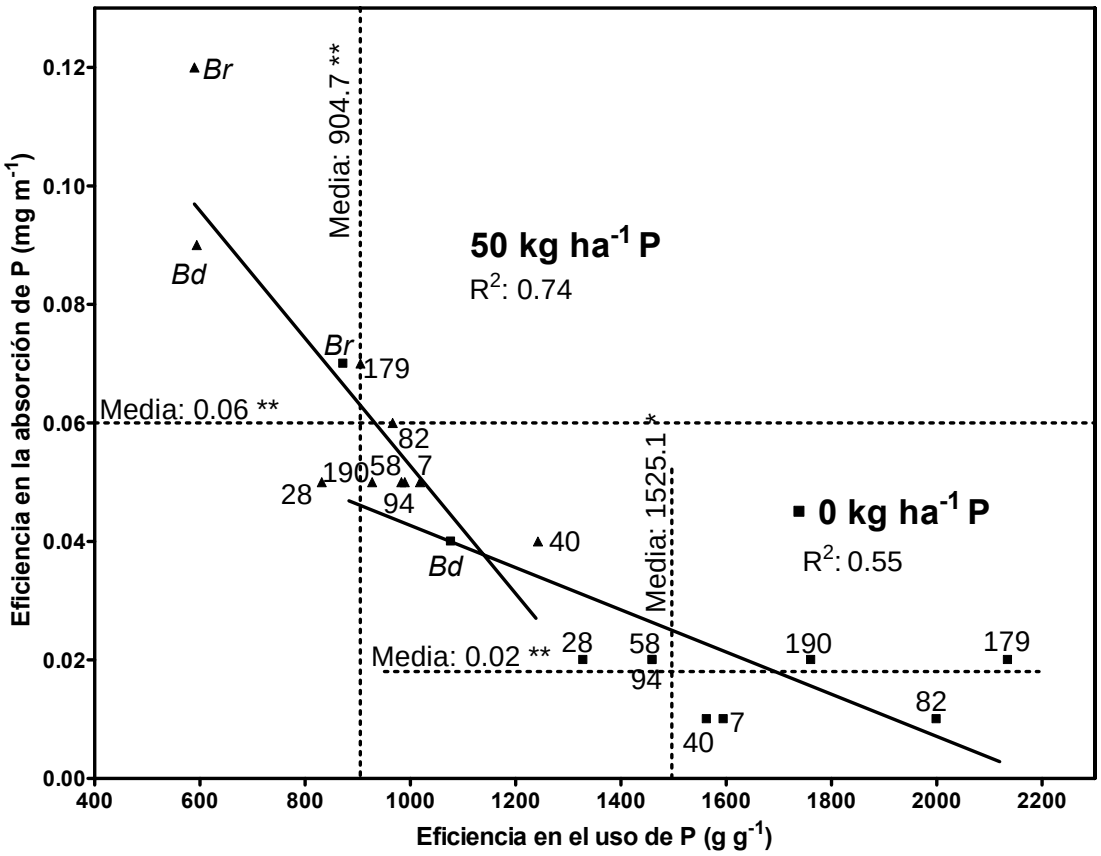


Figura 29. Eficiencia en el uso de P y eficiencia en la absorción de P de *Bd, Br* y 8 recombinantes genéticos evaluados en suelo de Matazul con bajo y alto P durante 6 semanas.

6.5.4. Conclusiones

- Los genotipos de *Brachiaria* mejor adaptados a bajo P presentan mayor biomasa aérea, explicada por mayor área foliar, mayor concentración de P en el tallo y mayor volumen de raíz.
- Las características morfológicas de las raíces, principalmente longitud, peso seco y contenido de P, le permite a la planta mejor adaptación en condiciones de bajo P disponible en el suelo.
- Las progenies utilizan la eficiencia en el uso de P como mecanismo de adaptación a bajo P.

- Las progenies presentan poca diferencia en diámetro de raíz, con tendencia todas hacia el padre mejor adaptado (*Bd*) a baja disponibilidad de P, o sea, todas presentan raíces finas, pero los menos adaptados en menor proporción que los mejor adaptados a bajo P.
- 6 semanas de evaluación es un tiempo corto, para que se presenten diferencias entre los parentales, pero entre progenies es suficiente.

7. Conclusiones generales

Los parentales y progenies de *Brachiaria* evaluados en soluciones nutritivas y suelo ácido, respondieron incrementando la producción de biomasa seca aérea y radical al aumentar la disponibilidad de fósforo, en los diferentes periodos de evaluación.

Br durante cortos periodos de evaluación presenta buen comportamiento en bajo P, influenciado posiblemente por la alta acumulación de P en el estolón de siembra. Se pudo corroborar la buena adaptación de *Bd* en alta saturación de Al y el pobre comportamiento de *Br* en estas condiciones.

La población derivada del cruzamiento entre *Bd* y *Br* evaluada en soluciones nutritivas y suelo ácido, presentó suficiente variabilidad y segregación transgresiva, al encontrarse progenies con valores de biomasa aérea y atributos radicales superiores e inferiores a los progenitores, sugiriendo que ninguno de los dos padres tienen acumulados todos los genes favorables y desfavorables para adaptación a baja disponibilidad de fósforo, que pueden estar actuando genes con efectos aditivos y multiplicativos.

En soluciones nutritivas sin Al, atributos radicales (mayor longitud específica de raíz – raíces más finas y menor diámetro) y con Al (mayor longitud de raíz, mayor longitud específica de raíz, menor diámetro, mayor volumen y mayor número de puntas de raíz) son los que tienen mayor importancia en la adaptación, siendo buenos parámetros para identificar adaptación de genotipos a bajo P en presencia de Al, los atributos aéreos presentaron poca relevancia, no siendo buenos indicadores de selección.

En suelo atributos aéreos y radicales influyen en la adaptación a bajo P, los genotipos mejor adaptados presentan mayor biomasa aérea, explicada por mayor

área foliar, mayor absorción de P en el tallo y mayor volumen de raíz. Las características morfológicas de las raíces, principalmente longitud, peso seco y contenido de P, le permiten a la planta mejor adaptación a bajo P. La eficiencia en el uso del P parece ser el mecanismo que utilizan algunos de los genotipos evaluados para adaptarse a condiciones de bajo P en presencia de Al.

La eficiencia en la absorción de P parece no operar como mecanismo de adaptación a bajo P en presencia de Al, ya que los genotipos con mayores valores presentaron pobre comportamiento en condiciones de estrés.

La metodología de evaluación en suelo ácido, como la de soluciones nutritivas permiten identificar cultivares con adaptación a bajo P en presencia de Al, y más que ser excluyentes una de la otra, se deben trabajar en forma complementaria ya que nos permiten incluir atributos aéreos y radicales en el proceso de selección.

Se identificaron progenies con buen comportamiento en bajo y alto P con y sin presencia de Al, indicando buena homeostasis y estabilidad agronómica que puede ser utilizada en programas de mejoramiento para adaptación a bajo P en presencia de Al.

8. Recomendaciones

Las técnicas de evaluación en invernadero con potes y soluciones nutritivas permiten identificar genotipos con adaptación a bajo P y/o alta saturación de Al, sería interesante que coincidieran en algunos o muchos de los genotipos seleccionados por cada técnica, para esto se debe implementar una metodología que permita una correlación entre las dos.

La metodología de evaluación en soluciones nutritivas para adaptación a alta saturación de Al, reportada por Wenzl, 2006 y utilizada en algunos de los ensayos, puede presentar algunos inconvenientes, ya que cuando se someten los genotipos a los tratamientos durante 3 semanas, no se incluyen los demás nutrientes (aunque se incluyen en la fase de erraizamiento), por lo tanto, la adaptación no es solo a alta saturación de Al, sino también a deficiencia de todos los nutrientes, excepto al Ca. Si en la evaluación se incluyen los demás nutrientes, la selección sería muy específica a alta saturación de Al que es lo que se busca.

A pesar que los ensayos a nivel de invernadero permiten identificar los mecanismos que operan en adaptación a algún tipo de estrés, se debe correlacionar este tipo de ensayos (hidropónico y potes con suelo) con ensayos en campo, que son las condiciones reales a las que estarán sometidos los cultivares en la eventualidad de ser liberados comercialmente. Reciente literatura reporta la poca correlación existente en este tipo de ensayos con los de campo en otras especies.

Las evaluaciones utilizando estolones para las siembras de los ensayos, puede presentar algunos inconvenientes por la variabilidad que estos presentan, desde el punto de vista de contenido de nutrientes y peso seco. Se debería implementar una técnica que permita la escogencia de estolones lo más uniforme posible.

9. Bibliografía

Abel, A., Ticconi, C., Delatore, C. 2002. Phosphate sensing in higher plants. Physiology Plantarum 115: 1-8.

Aharoni A., Vorst O. 2001. DNA Microarrays for functional plant genomics. Plant Molecular Biology 48:99-118

Alves, V.M.C, Parentoni, S.N., Vasconcellos, C.A., Pitta, G.V.E. 2002. Cinetica de absorcao de fósforo e crescimiento do sistema radicular de genotipos de milho contrastantes para eficiencia a fósforo. In: Rev. Brasilera de Milho e Sorgo. 1(1): 85-92

Azcon-Bieto, J.M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Primera edición, McGraw-Hill, Madrid, 514 p.

Barry, A.J. Miller, M.H. 1989. Phosphorus nutritional requeriments of maize seedling for maximun tield. In: Agronomy Journal, 81:95-99

Basu, U., Good, A.G., Taylor, G.J. 2001. Transgenic *Brassica napus* plants over expressing aluminum-induced mitochondrial manganese superoxide dismutase cDNA are resistant to aluminum. Plant, Cell and Environment 24:1269-1278.

Bates, T., Lynch, J. 2000. The efficiency of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaseae) root hairs in phosphorus acquisition. American. Journal of Botany. 87: 964-970.

Bell, R.W., Edwards, D.G. Asher, C.J. 1990. Growth and nodulation of tropical food legumes in dilute solution culture. In: Plant Soil 122:249-258

Bennet, R.J., Breen, C.M. 1991. The Aluminium signal: New dimensions to mechanisms of Aluminium tolerance. Plant and Soil 134:153-166.

Bianchi-Hall, C.M., Carter, T.E., Bailey, M.A., Mian, M.A.R., Rufty, T.W., Ashley, D.A., Boerma, H.R., Arellano, C., Hussey, R.S., Parrott, W.A. 2000. Aluminum tolerance associated with Quantitative Trait Loci derived from Soybean PI 416937 in hydroponics. Crop Science, 40:538-545.

Bieleski, R.L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Annual Review of Plant Physiology, 24: 225–252.

Bieleski, R.L., Ferguson, I.B. 1983. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. *In:* A Lauchli, RL Bieleski, eds, Encyclopedia of Plant Physiology, Vol 15a. Springer Verlag, Berlin, p.p. 422–449.

Blancaflor, E.B., Jones, D.L., Gilroy, S. 1998. Alterations in the cytoskeleton company aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. Plant Physiology 118:159-172.

Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant Soil 134: 189–207.

Buitrago, M.E., 2003. Evaluación de los componentes fisiológicos de la adaptación a suelos ácidos en una población de híbridos de *Brachiaria ruziziensis* x *Brachiaria decumbens*. Tesis Biólogo. Universidad del Valle, Santiago de Cali, 86 p.

Burleigh, S.H., Harrison, M.J. 1999. The down regulation of Mt4-like genes by phosphate fertilization occurs systematically and involves phosphate translocation to the shoots. Plant Physiology 119: 241–248.

Chaubery, C.N., Senadhira, D., Gregorio, G.B.. 1994. Genetics analysis of tolerance for phosphorus deficiency in rice (*Oriza sativa* L.) *In*: Theoret Appl

Clark, R.B. Duncan, R.R. 1991. Improvement of plant mineral nutrition through breeding. In: Field Crops Res. 27:219-240

Clarkson, D.T. Hanson, J.B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *In*: Annual Review of Plant Physiology, 31: 239-298

Da silva, A.E., Gabelman, W.H. Coors, J. 1992. Inheritance studies of low phosphorus tolerance in maize (*Zea mays* L.), grown in a sand-alumina culture médium. In: Plant and Soil. 146:189-197.

De la Fuente, M.J., Herrera, E.L. 1999. Advances in the understanding of aluminum toxicity and the development of aluminum-tolerant transgenic plants. *Advances in Agronomy.* Academic Presss. Edited by Donald L. Sparks. United States of America. Vol. 66. p.103-120.

Delhaize, E., Craig, S., Beat, C.D., Bennert, R.J., Jagadish, V.C., Randall, P.J. 1993. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. Plant Physiology 103:685-693.

Drew, M.C., Saker, L.R. 1984. Uptake and long distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentrations in barley: evidence of non-allosteric regulation. 60: 500–507.

Drummond, R.D., Guimaraes, F.J., Ninamango-Cardenas, F.E., Carneiro, N.P., Paiva, E., Menossi, M. 2001. Prospecting sugarcane genes involved in aluminum tolerance. *Genetics and Molecular Biology* 24(1-4): 221-230.

Ezaki, B., Katsuhara, M., Kawamura, M., Matsumoto, H. 2001. Different mechanisms of four Aluminum (Al)-resistant transgenes for Al toxicity in Arabidopsis. *Plant Physiol* 127:918-927.

Fawole, I., Gabelman, W.H., Gerloff, G.C., Hordheim, E.U. 1982. Heritability of efficiency in phosphorus utilization in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under phosphorus stress. In: Journal of the American Society of Horticultural Science 107: 94-97.

Gaume, A., Machler, F., De Leon, C., Narro, L., Frossard, E. 2001. Low P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root grown, and organic acids and acid phosphatase root exudation. In: Plant and Soil 228:253-264.

Gaume, A., Mächler, F., Frossard, E. 2001. Aluminum resistance in two cultivars of *Zea mays* L.: root exudation of organic acids and influence of phosphorus nutrition. Plant and Soil 234:73-81.

Gorsline, G.W., Thomas, W. Barker, D.E. 1964. Inheritance of P, K, Mg, Cu, B, Zn, Mn, Al, and Fe concentration by corn (*Zea mays* L.) leaves and grain. In: Crop Science. 4: 207-210.

Hale, M. 1987. The physiology of plants under stress. Department of plant pathology, physiology and weed science. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia. Wiley Intersicence. ISBN: 0-471-88997-0. 206 pp.

Hammond, J., Broadley, M., White, P. 2004. Genetic responses to phosphorus deficiency. In*:* Annals of Botany 94: 323-332.

Helyar, K.R. Soil Acidification, its measurement and the processes involved. En: Soil acidity and plant growth. Australian wool corporation. Sydney: Harcouth Brace Jovanovich Publishers, 1989. ISBN: 0-12-590655-2.

Hill, J.O., Simpson, R.J., Moore, A.D., Chapman, D.F. 2006. Morphology and response of roots of pastures species to phosphorous and nitrogen nutrition. Plant and soil 287:7-19.

Hong L., Huiyan W., Jon S., Xiurong W., Xiaolong Y., Kochian L. 2006. Phosphorus and aluminum interactions in soybean in relation to aluminum tolerance. Exudation of specific organic acids from different regions of the Intact root system. Plant Physiology 141:674-684.

http://apuntes.com/el-fosforo.html

Jain, A., Vasconcelos, M.J., Raghothama, K.G., Sahi, S.V. 2007. Molecular mechanisms of plant adaptation to phosphate deficiency. Plant Breeding Reviews 29: 359-419.

Jayachandran, K., Schwab, A.P., Hetrick, B.A.D. 1992. Mineralization of organic hosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biology and Biochemistry, 24: 897–903.

Jeschke, W., Kirkby, E., Peuke, A., Pate, J., Hartung, W., 1997. Effects of P efficiency on assimilation and transport of nitrate and phosphate in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.). Journal of Experimental Botany, 48: 75–91.

Jones, D.L. 1998. Organic acidsin the rizosphere- a critical review. Plant soil 205: 25-44.

Keller, G., Maass, B., Hanson, J. 1998. Variación natural de *Brachiaria* y Bancos de Germoplasma existentes. *Brachiaria:* Biología, Agronomía y Mejoramiento.

Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. Annual Review Plant Biology 55:459-493.

Larsen, P.B., Tai, C.Y., Kochian, L.V., Howell, S.H. 1996. Arabidopsis mutants with increased sensitivity to aluminum. Plant Physiology 110: 743-751.

Lasso, N. 1998. Efecto del nitrógeno, fósforo y aluminio en la estructura del sistema radical de tres especies del género *Brachiaria.* Tesis Biólogo, Universidad del Valle, Santiago de Cali, 64 p.

Lee, R.B., Ratcliffe, R.G., 1993. Subcellular distribution of inorganic phosphate, and levels of nucleoside triphosphate, in mature maize roots at low external phosphate concentrations: measurements with 31P NMR. Journal of Experimental Botany, 44: 587–598

Lee, R.B., Ratcliffe, R.G., Southon, T.E., 1990. 31P NMR measurements of the cytoplasmic and vacuolar Pi content of mature maize roots: relationships with phosphorus status and phosphate fluxes. Journal of Experimental Botany, 41: 1063–1078

Le Mare, P.H., 1982. Sorption of isotopically exchangeable an non exchangeable phosphate by some acid soils of Colombia and Brasil, and comaparsons whit soils os sourthen Nigeria. In*:* Journal of Soil Science 33: 691-707

Lesk, A.M. 2002. Introduction to bioinformatics. Oxford University Press New York. 283 p.

Liao, H., Wan, H., Shaff, J., Wan, X., Yan, X., Kochian, L. 2006. Phosphorous and aluminum interactions in soybean in relation to aluminum tolerance. Exudation of specific organic acids from different regions of the intact root system. Plant physiology, 141:674-684.

Liu, C., Muchhal, U.S., Raghothama, K.G. 1997. Differential expression of TPSI1, a phosphate starvation-induced gene in tomato. Plant Molecular Biology 33: 867–874.

Lynch, J., Ebel, K., Bonser, R., Beck, A. 1995. La adaptación de fríjol común (*Phaseolus vulgaris L.)* a baja disponibilidad de fósforo. *In:* Mejoramiento y manejo agronómico del fríjol común (*Phaseolus vulgaris*) para adaptación en suelos de bajo fósforo. Memoria del taller internacional sobre bajo fósforo en el cultivo del fríjol. San José, Costa Rica. 13 – 15 nov. p. 58-75.

Lynch, J., Brown, K. 2001. Topsoil foraging - an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. Plant and Soil 237: 225-237.

Ma, J.F. 2000. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. Plant Cell Physiology 41(4):383-390.

Ma, J.F., Taketa, S., Yang, Z.M. 2000. Aluminum tolerance genes on the short arm of chromosome 3R are linked to organic acid release in triticale. Plant Physiology*,* 122:687-694.

Marschner, H. 1991. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. Plant and Soil*,* 134:1- 20.

Matsumoto, H. 2000. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. International Review of Cytology, 200:1-39.

Martín, A.C., Pozo, J.C., Iglesias, J., Rubio, V., Solano, R., De La Peña, A., Leyva, A., Paz-Ares, J. 2000. Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in *Arabidopsis*. Plant Journal 24: 559–567.

Marschner, H. 1991. Mechanisms of adaptation of plant to acid soil. In: Plant Soil 134:1-20

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academics Press. London. 265-277 p

Miles, J., Maass, B., Do Valle, C., 1998. *Brachiaria:* Biología, Agronomía y Mejoramiento. CIAT Publicación No 268. p vii-viii.

Miles, J., Dovalle, C., Rao, I.M., Euclides, V., 2004. Brachiariagrasses. In: L. Moser, B. Burson and L. E. Sollenberger, (eds) Warm-season (C_4) grasses. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, p. 745-783.

Mimura, T., 1995. Homeostasis and transport of inorganic phosphate in plants. Plant Cell Physiology 36: 1–7.

Mimura, T., Sakano, K., Shimmen, T., 1996. Studies on the distribution, retranslocation and homeostasis of inorganic phosphate in barley leaves. Plant Cell Environment, 19: 311–320.

Mudge, S.R., Rae, A.L., Diatloff, E., Smith, F.W. 2002. Expression analysis suggests novel roles for members of Pht1 family of phosphate transporters in Arabidopsis. Plant Journal 31: 341–353.

Muñoz, F., Beck, D. 1995. Investigaciones efectuadas en Ciat sobre fuentes de mecanismos de tolerancia a bajo fósforo en fríjol común. In*:* Mejoramiento y manejo agronómico del fríjol común (*Phaseolus vulgaris*) para adaptación en suelos de bajo fósforo. Memoria del taller internacional sobre bajo fósforo en el cultivo del fríjol. San José, Costa Rica. 13 – 15 nov. p. 85-94

Nandi, S.K., Pant, R.C., Nissen, P., 1987. Multiphasic uptake of phosphate by corn roots. Plant Cell Environ 10: 463–474

Nguyen, V.T., Burow, M.D., Nguyen, H.T., Le, B.T., Le, T.D., Paterson, A.H. 2001. Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics*,* 102:1002–1010.

Osawa, H., Matsumoto, H. 2001. Possible involvement of protein phosphorylation in Aluminium-responsible malate efflux from wheat root apex. Plant Physiology 126:411-420.

Oshima, Y., Ogawa, N., Harashima, S. 1996. Regulation of phosphatase synthesis in Saccharomyces cerevisiae – a review. Gene 179: 171–177.

Pellet D.M., Papernik L.A., Kochian, L.V. 1996. Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat. Plant Physiology*,* 12:591-597.

Era, A.L., Jarmey, J.M., Mudge, S.R., Smith, F.W. 2004. Over-expression of a high-affinity phosphate transporter in transgenic barley plants does not enhance phosphate uptake rates. Functional Plant Biology, 31: 141–148.

Raghothama, K. G. 2000. Phosphate transport and signaling. Curr. Opin. Biol. 3: 182-187.

Randall, J. E. 1995. *Zebrias captivus*, a new species of sole (Pleuronectiformes: Soleidae) from the Persian Gulf. J. South Asian Nat. Hist. 241-246.

Rao, I.M., Zeigler, R.S., Vera, R. Sarkarung, S. 1993. Selection and breeding for acid-soil tolerance in crops: Upland rice and tropical forages as case studies. BioScience, 43: 454-465.

Rao, I.M. Terry, N. 1995. Leaf phosphate status, photosynthesis, and, carbon partitioning in sugar beet. IV. Changes whit time following increased of phosphate to low phosphate plants. *In:* Plant Physiology, 107:1313-1321

Rao, I. M. 1996. The role of phosphorus in photosynthesis. In: M. Pessarakli, Ed. Handbook of Photosynthesis. Marcel Dekker, Inc. New York

Rao, I.M., Kerridge, P., Macedo, M., 1998a. Requerimientos nutricionales y adaptación a los suelos ácidos de especies de *Brachiaria.* In*: Brachiaria:* Biología, Agronomía y Mejoramiento. CIAT Publicación No 268. p 64-67.

Rao, I.M., Miles, J.W., Granobles, J.C.. 1998b. Differences in tolerance to infertile acid soil stress among germplasm accessions and genetic recombinants of the tropical forage grass genus, *Brachiaria*. Field Crops Research, 59: 43-52.

Rao, I.M., Friesen, D.K., Osaki, M., 1999. Plant adaptation to phosphorus-limited tropical soil. In: M. Pessarakli. Ed. Handbook of plant and crops stress. Second edition. Chap. 4. Marcel Dekker, Inc. New York.

Rao, I.M., Terry, N. Photosynthetic adaptation to nutrient stress. In: Probing Photosynthesis – Mechanisms, regulation and adaptation. Londres, Inglaterra, Taylor and Francis. Pag. 380. ISBN: 0-7484-0821-5

Rao, I.M. 2001a. Role of physiology in improving crop adaptation to abiotic stress in the tropics: The case of common bean and tropical forages. M. Pessarakli, ed. In: Handbook of plant and crop physiology. Marcel Dekker, Inc. New York. 583-613

Rao, I.M. 2001b. Adapting tropical forages to low-fertility soils. In: XIX International Grassland Congress 2001. Sao Paulo, Brazil, 11-21 february. p 249.

Renvoize, S., Clayton, W., Kabuye, C., 1998. Morfología, Taxonomía y Distribución natural de *Brachiaria. Brachiaria*: Biología, Agronomía y Mejoramiento. p 1-17.

Rivero, L., 1991. Testes do pH exsudato e caracterizaçao física para avaliaçao da qualidade de sementes de *Brachiaria decumbens.* Stapf, Rio Grande do Sul, Brasil.

Rossiter, R.C. 1978. Phosphorus deficiency and flowering in subterranean clover (*Tr. Subterraneum* L). In: Annals of Botany, 42: 325-329.

Rout, G.R., Samantara, Y.B., Dasb, P. 2001. Aluminium toxicity in plants: A review. *Agronomie* 21: 3–21.

Runge-Metzger, A. 1995. Closing the cycle: obstacles to efficient P management for improved global security. In: Tiessen, ed. Phosphorus in the global environment: transfers, cycles and management. Chichester: John Wiley and Sons, 27–42.

Salinas, J.G., Garcia, R. 1985. Métodos químicos para el análisis de suelos ácidos y plantas forrajeras. CIAT, Cali, Colombia. 87 p.

Salinas, J.G., Castilla, S.L. 1990. Estrategias para el uso y manejo de los suelos ácidos en América Tropical. *In:* Sorgo para suelos ácidos. CIAT, Cali, Colombia. P. 93-108.

Sanchez, P., Salinas J., 1981. Low-input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America. Advanced Agronomy. 34:279-406.

Sanchez, P., Salinas, J., 1983. Suelos ácidos: Estrategias para su manejo con bajos insumos en América tropical. Montoya y Araujo, Bogotá, Colombia. 93 p.

Schachtman, D. Reid, R. and Ayling S. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *In:* Plant Physiol. 116: 447-453.

Schaffert, R.E., Alves, V.M.C., Parentoni, S.N., Raghothama, K.G. 1999. Genetic control of phosphorus uptake and utilization efficiency in maize and sorghum under marginal soil conditions. *In*:

http://www.cimmyt.org/ABC/map/research_tools_results/wsmolecular/workshopmolecular/WSdroughtGeneticcontrol.htm

Schaffert, R.E., Alves, V. M. C., Pitta, G. V. E., Bahia F. C., Santos, F. G., 2001. Genetic variability in sorghum for P efficiency and responsiveness. In: Developments in Plant and Soil Sciences. Plant Nutrition. Netherlands. p. 71-73.

Schümann, P.H.D., Richardson, A.E., Smith, F.W., Delhaize, E. 2004. Characterization of promoter expression patterns derived from the Pht1 phosphate transporter genes of barley (Hordeum vulgare L.). Journal of Experimental Botany, 55: 855–865.

Scott, B.J. Selection of genotypes tolerant of aluminum and manganese. Sydney: Harcouth Brace Jovanovich Publishers, 1989. In: Soil acidity and plant growth. ISBN: 0-12-590655-2.

Sibov, S.T., Gaspar, M., Silva, M.J., Ottoboni, L.M.M., Arruda, P., Souza, A.P. 1999. Two genes control aluminum tolerance in maize: genetic and molecular mapping analyses. Genome, 42:475 –482.

Smith, S.E., Read, D.J., 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, San Diego, CA.

Smith, F.W., Mudge, S.R., Rae, A.L., Glassop, D. 2003. Phosphate transport in plants. Plant and Soil, 248: 71–83.

Snowden, K.C., Richards, K.D., Gardner, R.C. 1995. Aluminum induced genes (induction by toxic metals, low calium, and wounding and pattern of expression in root tips): Plant Physiology 107: 341-348.

Sussman, M.R., Gabelman, W.H. 1989. Genetic aspects of mineral nutrition: Future challenges and directions. *In*: HortScience, 24:591-594

Taylor, G.J., McDonald-Stephens, J.L., Hunter, D.B., Bertsch, P.M., Elmore, D. 2000. Direct measurement of Aluminum uptake and distribution in single cells of *Chara corallina*. Plant Physiology, 123:987-996.

Thomson, B.D., Clarkson, D.T., Brain, P. 1990 Kinetics of phosphorus uptake by the germ-tubes of the vesicular-arbuscular fungus *Gigaspora margarita*. New Phytologyst, 116: 647–653.

Trull, M., Deikman, J. 1998. An Arabidopsis mutant missing one acid phosphatase isoform. Plant, 206: 544-550.

Vance, C.P., Uhde-Stone, C., Allan, D.L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytologist, 157: 423–447.

Vitorello, V.A., Capaldi, F.R., Stefanuto, V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. Vol. 17. No. 1. Pag. 129-143. ISSN 1677-0420.

Wasaki, J., Yonetani, R., Shinano, T., Kai, M., Osaki, M. 2003. Expression of the OsPI1 gene, cloned from rice roots using cDNA microarray, rapidly responds to phosphorus status. New Phytologist, 158: 239–248.

Watt, D.A. 2003. Aluminum-responsibe genes in sugarane: identification and analysis of expression under oxidative stress. *J Exp Bot* 54:1163-1174.

Wenzl, P. 2000. Mechanisms of adaptation to acid soils in signalgrass, (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk). PhD. Thesis. University of Vienna, Austria.

Wenzl, P., Patiño, G.M., Chaves, A.L., Mayer, J.E., Rao, I.M. 2001. The high level of Aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. *Plant Physiol* 125:1473-1484.

Wenzl, P., Arango, A., Chaves, A. Buitrago, M.E., Patiño, G., Miles, J., Rao, I.M. 2006. A greenhouse method to screen brachiariagrass genotypes for aluminum resistance and root vigor. Crop Science 209: 2-6.

Xiong, L., Zhu JK. 2001. Abiotic stress signal transduction in plant: Molecular and genetic perspectives. *Physiol Plant* 112:152-166.

Yang, Z.M., Nian H., Sivaguru M., Tanakamaru S., Matsumoto H. 2001. Characterization of aluminum-induced citrate secretion in aluminum-tolerant soybean (*Glycine max*) plants. *Physiologia Plantarum* 113:64-71.

10. Anexos

Anexo 1. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas durante 3 semanas con bajo y alto P sin presencia de Al.

Genotipo	Área foliar		Biomasa aérea		Longitud de raíz		Diámetro de raíz		L. específica de raíz		Peso seco de raíz	
	(cm^2 $planta^{-1}$)		(g $planta^{-1}$)		(m $planta^{-1}$)		(mm $planta^{-1}$)		(m g^{-1})		(g $planta^{-1}$)	
(*µ*M de P)	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5
Bd	46.3	66.3	0.58	0.77	6.94	7.07	0.19	0.20	187.1	187.9	0.04	0.04
Br	58.0	79.0	0.54	0.74	4.87	5.51	0.22	0.24	130.0	126.8	0.04	0.05
Media	52.2	72.7	0.56	0.76	5.91	6.29	0.20	0.22	158.5	157.3	0.04	0.04
$DMS_{0.05}$	13.2	25.2	0.17	0.24	1.77	2.58	0.01	0.01	8.9	28.6	0.01	0.02
Significancia	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	**	**	**	**	N.S	N.S

L: Longitud

Anexo 2. Evaluación de *Bd* y *Br* en soluciones nutritivas durante 3 semanas con bajo y alto P en presencia de Al.

(μM de P)	Área foliar (cm^2 $planta^{-1}$)				Biomasa aérea (g $planta^{-1}$)				Peso seco de raíz (g $planta^{-1}$)				Diámetro de raíz (mm $planta^{-1}$)			
	0		5		0		5		0		5		0		5	
Semana	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***
1	15.70	15.70	12.90	11.13	0.26	0.25	0.23	0.31	0.0082	0.0067	0.0091	0.0069	0.316	0.384	0.323	0.388
2	15.78	15.33	29.03	13.28	0.28	0.30	0.31	0.24	0.0065	0.0073	0.0140	0.0085	0.325	0.444	0.353	0.474
3	11.85	15.37	32.87	13.82	0.28	0.20	0.49	0.22	0.0068	0.0077	0.0199	0.0109	0.339	0.495	0.334	0.499
4	22.96	20.29	24.68	21.19	0.37	0.37	0.42	0.30	0.0095	0.0149	0.0249	0.0120	0.320	0.514	0.316	0.509
Media	16.57	16.67	24.87	14.85	0.30	0.28	0.36	0.27	0.0078	0.0091	0.0170	0.0096	0.325	0.459	0.332	0.468
$DMS_{0.05}$	9.97		14.63		0.22		0.27		0.0051		0.0130		0.068		0.096	
Significancia	NS		**		NS		NS		NS		*		**		**	

Continuación Anexo 2.

(μM de P)	Longitud de raíz (m planta^{-1})				L. especifica de raíz (m g^{-1})				Volumen de raíz (cm^3 planta^{-1})				Puntas de raíz (# planta^{-1})			
	0		5		0		5		0		5		0		5	
Semana	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***
1	0.65	0.36	0.57	0.40	83.87	58.21	64.02	57.87	0.051	0.042	0.048	0.046	275.8	173.5	234.0	175.3
2	0.69	0.39	1.05	0.47	105.98	54.30	79.71	61.44	0.058	0.059	0.104	0.083	243.0	182.0	315.3	197.5
3	0.65	0.35	1.30	0.54	100.59	55.68	122.53	53.13	0.058	0.065	0.117	0.097	193.8	156.0	386.5	215.3
4	0.70	0.55	1.77	0.51	77.13	39.57	83.93	42.71	0.054	0.119	0.146	0.099	187.8	208.8	453.3	218.3
Media	0.67	0.41	1.17	0.48	91.89	51.94	87.55	53.79	0.055	0.071	0.104	0.081	225.1	180.1	347.3	201.6
$DMS_{0.05}$	0.24		0.64		32.75		87.92		0.035		0.070		94.1		184.9	
Significancia	**		**		**		NS		NS		NS		*		**	

Anexo 3. Evaluación de *Bd*, *Br* y población conformada por sus recombinantes genéticos en solución nutritiva con y sin Al.

Genotipo	Longitud de raíz (m planta^{-1})		Diámetro de raíz (mm planta^{-1})		Volumen de raíz (cm^3 planta^{-1})	
Nivel de Al (*µ*M)	0	200	0	200	0	200
6	7,91	6,29	0,29	0,31	0,53	0,46
103	10,32	6,12	0,27	0,32	0,59	0,49
180	9,31	5,18	0,27	0,33	0,52	0,42
163	9,28	4,93	0,26	0,28	0,49	0,31
94	6,61	4,80	0,26	0,31	0,35	0,35
3	10,03	4,73	0,27	0,35	0,54	0,44
86	9,07	4,65	0,27	0,34	0,48	0,41
189	7,75	4,46	0,27	0,34	0,46	0,39
33	6,20	4,40	0,26	0,29	0,32	0,29
177	8,35	4,34	0,29	0,34	0,54	0,38
186	8,96	4,25	0,28	0,35	0,53	0,39
106	7,23	4,22	0,27	0,32	0,41	0,33
65	10,38	4,20	0,28	0,34	0,64	0,38
90	6,89	4,19	0,31	0,37	0,51	0,42
174	8,74	4,12	0,30	0,38	0,60	0,46
2	9,59	4,11	0,28	0,29	0,54	0,27
59	7,96	4,09	0,31	0,39	0,62	0,48
79	9,32	4,06	0,27	0,34	0,54	0,35
80	6,01	4,05	0,33	0,39	0,49	0,45
154	7,50	3,96	0,29	0,37	0,50	0,42
23	8,70	3,94	0,28	0,33	0,52	0,32
121	7,99	3,89	0,25	0,34	0,37	0,36
56	9,01	3,89	0,28	0,37	0,53	0,39
197	7,34	3,79	0,30	0,36	0,51	0,37
109	6,82	3,78	0,24	0,32	0,32	0,30
36	7,04	3,78	0,27	0,35	0,39	0,35
66	7,61	3,74	0,26	0,33	0,40	0,31
41	6,89	3,73	0,28	0,35	0,42	0,36
53	5,81	3,69	0,30	0,32	0,40	0,29
134	5,99	3,68	0,32	0,39	0,48	0,45
14	8,50	3,64	0,31	0,41	0,64	0,47
1372	8,67	3,60	0,26	0,33	0,44	0,31
93	6,52	3,59	0,30	0,37	0,45	0,38
92	5,61	3,57	0,29	0,36	0,36	0,38
31	6,89	3,53	0,30	0,42	0,47	0,45
21	7,15	3,50	0,28	0,33	0,45	0,31
192	8,63	3,50	0,27	0,35	0,47	0,32
68	6,12	3,48	0,30	0,33	0,40	0,31
111	8,68	3,47	0,30	0,40	0,59	0,45
13	7,99	3,47	0,28	0,37	0,49	0,38
113	4,84	3,45	0,33	0,38	0,40	0,38
172	8,18	3,45	0,32	0,41	0,63	0,43
155	7,12	3,38	0,25	0,33	0,34	0,28
171	6,98	3,33	0,33	0,41	0,61	0,43
89	7,34	3,32	0,26	0,33	0,38	0,28

Continuación Anexo 3

Genotipo	Longitud de raíz (m planta^{-1})		Diámetro de raíz (mm planta^{-1})		Volumen de raíz (cm^3 planta^{-1})	
Nivel de Al (μM)	0	200	0	200	0	200
8	9,37	3,23	0,30	0,30	0,65	0,22
25	6,78	3,23	0,26	0,37	0,35	0,36
85	5,87	3,21	0,29	0,35	0,37	0,29
81	7,38	3,21	0,32	0,42	0,57	0,45
176	7,23	3,18	0,28	0,35	0,45	0,30
159	5,19	3,15	0,28	0,34	0,31	0,28
167	5,60	3,14	0,28	0,34	0,36	0,28
Bd	4,83	3,14	0,27	0,31	0,25	0,23
173	5,42	3,13	0,27	0,32	0,29	0,25
190	5,35	3,12	0,32	0,39	0,43	0,34
151	5,71	3,11	0,29	0,37	0,37	0,33
194	7,36	3,11	0,29	0,35	0,48	0,29
16	4,47	3,09	0,24	0,34	0,19	0,27
69	5,74	3,09	0,34	0,39	0,51	0,34
198	5,66	3,06	0,27	0,34	0,33	0,26
7	6,32	3,03	0,33	0,38	0,52	0,33
87	6,44	3,02	0,30	0,39	0,44	0,36
18	7,67	3,02	0,28	0,35	0,45	0,30
165	4,42	3,02	0,33	0,41	0,37	0,40
34	7,30	3,00	0,28	0,37	0,47	0,31
184	6,93	2,96	0,31	0,40	0,49	0,36
15	5,98	2,96	0,29	0,35	0,36	0,28
84	7,72	2,94	0,27	0,31	0,43	0,21
127	5,86	2,93	0,34	0,43	0,52	0,39
139	6,06	2,90	0,29	0,35	0,37	0,29
149	6,64	2,89	0,33	0,41	0,56	0,37
64	6,52	2,88	0,26	0,41	0,37	0,38
135	6,02	2,87	0,29	0,38	0,39	0,31
58	6,71	2,85	0,31	0,38	0,52	0,31
110	5,36	2,85	0,28	0,36	0,31	0,28
26	8,16	2,85	0,27	0,34	0,45	0,25
96	4,47	2,82	0,30	0,40	0,32	0,33
70	4,35	2,81	0,30	0,37	0,30	0,30
51	5,15	2,79	0,34	0,40	0,50	0,35
160	5,98	2,78	0,31	0,37	0,45	0,28
166	6,20	2,73	0,29	0,35	0,39	0,24
152	5,57	2,72	0,28	0,35	0,33	0,27
74	4,67	2,71	0,31	0,38	0,34	0,28
61	8,02	2,70	0,29	0,39	0,53	0,32
39	5,30	2,70	0,30	0,34	0,38	0,24
119	8,32	2,69	0,27	0,37	0,50	0,29
169	6,99	2,69	0,29	0,38	0,46	0,29
161	4,56	2,68	0,29	0,34	0,31	0,21
27	7,11	2,66	0,27	0,33	0,41	0,22
1752	5,10	2,63	0,35	0,42	0,51	0,34
193	3,85	2,59	0,35	0,37	0,34	0,26

Continuación Anexo 3

Genotipo	Longitud de raíz (m planta^{-1})		Diámetro de raíz (mm planta^{-1})		Volumen de raíz (cm^3 planta^{-1})	
Nivel de Al (μM)	0	200	0	200	0	200
36061	5,42	2,59	0,44	0,56	0,79	0,64
132	5,78	2,58	0,32	0,43	0,46	0,34
20	4,01	2,58	0,27	0,36	0,24	0,26
55	7,64	2,57	0,29	0,40	0,51	0,31
187	5,41	2,57	0,26	0,36	0,29	0,26
114	5,83	2,55	0,29	0,42	0,38	0,33
99	7,31	2,55	0,27	0,29	0,41	0,19
78	4,89	2,53	0,33	0,40	0,42	0,31
188	7,49	2,52	0,31	0,42	0,56	0,34
1485	6,45	2,51	0,31	0,44	0,43	0,33
182	6,57	2,47	0,33	0,42	0,53	0,33
100	5,24	2,47	0,34	0,45	0,48	0,35
157	5,79	2,47	0,28	0,35	0,35	0,24
196	4,67	2,46	0,30	0,39	0,35	0,29
115	7,36	2,45	0,28	0,37	0,44	0,26
19	6,13	2,45	0,32	0,40	0,49	0,31
191	5,95	2,44	0,31	0,43	0,47	0,34
181	4,92	2,39	0,31	0,40	0,35	0,28
141	5,82	2,36	0,28	0,36	0,36	0,23
199	5,78	2,36	0,34	0,41	0,52	0,29
179	3,90	2,35	0,34	0,39	0,31	0,27
108	5,89	2,34	0,24	0,30	0,27	0,16
679	5,98	2,34	0,22	0,28	0,21	0,13
24	6,81	2,34	0,28	0,42	0,42	0,31
75	5,03	2,32	0,33	0,40	0,42	0,27
42	4,49	2,31	0,32	0,37	0,36	0,25
30	4,87	2,30	0,30	0,41	0,37	0,33
129	3,72	2,28	0,27	0,35	0,21	0,21
122	5,99	2,27	0,30	0,39	0,39	0,27
156	3,04	2,26	0,34	0,39	0,26	0,24
178	4,54	2,26	0,28	0,35	0,28	0,22
146	6,15	2,26	0,31	0,41	0,45	0,29
195	5,29	2,24	0,30	0,41	0,38	0,28
142	5,33	2,24	0,31	0,40	0,41	0,29
117	6,44	2,23	0,31	0,43	0,48	0,31
91	5,78	2,23	0,32	0,41	0,46	0,27
112	3,39	2,22	0,28	0,44	0,21	0,34
148	6,63	2,21	0,31	0,44	0,50	0,32
128	5,31	2,20	0,33	0,43	0,47	0,31
98	5,31	2,16	0,29	0,38	0,35	0,24
1245	4,34	2,11	0,27	0,40	0,25	0,26
6133	3,11	2,11	0,26	0,28	0,16	0,11
76	5,85	2,06	0,30	0,42	0,40	0,25
62	5,14	2,04	0,21	0,38	0,18	0,23
60	3,77	2,02	0,29	0,36	0,26	0,20
137	4,84	2,02	0,32	0,38	0,39	0,22

Continuación Anexo 3

Genotipo	Longitud de raíz (m planta^{-1})		Diámetro de raíz (mm planta^{-1})		Volumen de raíz (cm^3 planta^{-1})	
Nivel de Al (μM)	**0**	**200**	**0**	**200**	**0**	**200**
101	5,14	2,01	0,29	0,36	0,34	0,20
130	6,30	1,99	0,26	0,36	0,33	0,20
118	2,14	1,97	0,30	0,38	0,15	0,22
147	4,19	1,89	0,33	0,41	0,35	0,26
126	5,54	1,89	0,34	0,45	0,51	0,29
150	4,80	1,88	0,29	0,30	0,33	0,13
47	3,37	1,86	0,36	0,40	0,33	0,24
123	2,96	1,85	0,31	0,38	0,22	0,21
72	2,75	1,82	0,32	0,45	0,17	0,24
162	5,97	1,81	0,33	0,49	0,50	0,34
125	3,00	1,78	0,37	0,46	0,31	0,27
175	5,36	1,77	0,31	0,44	0,40	0,26
40	3,98	1,76	0,33	0,39	0,33	0,23
185	3,28	1,76	0,34	0,37	0,28	0,19
143	4,17	1,76	0,33	0,43	0,34	0,24
49	3,66	1,72	0,31	0,39	0,27	0,21
105	3,43	1,68	0,36	0,42	0,36	0,23
120	3,95	1,67	0,30	0,38	0,30	0,19
12	4,08	1,63	0,27	0,43	0,23	0,22
6294	4,76	1,63	0,30	0,43	0,32	0,23
77	4,76	1,62	0,35	0,44	0,44	0,24
158	3,17	1,59	0,30	0,38	0,20	0,15
67	5,01	1,55	0,29	0,38	0,31	0,18
183	4,65	1,53	0,32	0,43	0,36	0,22
35	2,76	1,42	0,33	0,41	0,23	0,16
82	3,55	1,41	0,39	0,44	0,40	0,21
83	4,80	1,41	0,33	0,48	0,42	0,23
133	2,58	1,39	0,32	0,43	0,22	0,16
136	2,39	1,35	0,36	0,46	0,23	0,21
32	2,73	1,31	0,34	0,49	0,25	0,23
36087	2,97	1,30	0,48	0,66	0,52	0,41
9	2,29	1,29	0,34	0,39	0,21	0,16
73	3,86	1,28	0,31	0,42	0,27	0,16
153	4,41	1,26	0,33	0,44	0,33	0,18
28	3,66	1,20	0,35	0,45	0,36	0,18
124	2,23	1,19	0,32	0,43	0,20	0,17
88	3,21	0,90	0,35	0,50	0,32	0,16
Br	1,90	0,89	0,38	0,47	0,20	0,15
102	2,81	0,86	0,30	0,39	0,19	0,09
26110	1,49	0,59	0,40	0,70	0,20	0,19
Media	5,80	2,72	0,31	0,39	0,40	0,30
$DMS_{0.05}$	1,04	0,60	0,01	0,02	0,07	0,06
Significancia	**	**	**	**	**	**

Anexo 4. Evaluación de *Bd* y *Br* en suelo ácido procedente de Matazul (Meta) con diferentes niveles de P durante 80 días.

Nivel de P	Área foliar		Biomasa aérea		Peso seco de material muerto		Peso seco de raíz		Biomasa total	
(Kg ha^{-1})	(cm^2 planta^{-1})		(g planta^{-1})		(g planta^{-1})		(g planta^{-1})		(g planta^{-1})	
Genotipo	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***
0	368.6	275.6	7.03	3.46	0.76	1.10	3.67	3.35	11.47	7.91
10	690.2	443.6	13.90	7.40	0.74	1.37	7.31	5.39	21.96	14.16
15	803.3	555.2	15.13	10.13	0.58	1.55	8.46	7.76	24.16	19.44
20	784.0	511.3	16.11	10.17	0.83	1.65	8.94	7.42	25.88	19.24
50	848.1	441.1	20.42	9.62	1.56	2.16	11.71	6.97	33.68	18.75
Media	698.9	445.4	14.52	8.16	0.89	1.57	8.02	6.18	23.43	15.90
$DMS_{0.05}$	153.7		2.41		0.56		1.91		3.95	
Significancia	**		**		**		**		**	

Continuación Anexo 4.

Nivel de P (Kg ha^{-1})	Absorción de P en biomasa aérea (mg planta^{-1})		Absorción de P en raíz (mg planta^{-1})		Absorción de P en material muerto (mg planta^{-1})		Eficiencia en el uso de P (g g^{-1})		Relación B. Aérea/raíz (g g^{-1})	
Genotipo	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***	***Bd***	***Br***
0	3.38	2.17	1.67	1.71	0.23	0.30	1328.2	832.3	1.94	1.05
10	6.63	5.06	3.22	2.75	0.18	0.34	1377.7	911.6	1.93	1.37
15	8.74	8.00	3.65	3.51	0.18	0.37	1208.0	856.5	1.81	1.30
20	9.68	8.60	4.63	3.33	0.20	0.42	1114.0	821.7	1.80	1.41
50	12.04	12.29	6.37	3.58	0.49	1.07	1086.7	575.3	1.75	1.41
Media	8.09	7.22	3.91	2.98	0.26	0.50	1222.9	799.5	1.85	1.31
$DMS_{0.05}$	1.91		1.01		0.37		175.8		0.39	
Significancia	*		**		**		**		**	

B: Biomasa

Anexo 5. Evaluación de *Bd*, *Br* y población conformada por sus recombinantes genéticos en suelo de Matazul (Meta) con bajo P.

Genotipo	Área foliar	Biomasa aérea	Peso seco de raíz	Biomasa total	Relación B.Aérea/raíz	Absorción de P en biomasa aérea	Absorción de P en raíz	Eficiencia en el uso de P
	(cm^2 $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g g^{-1})	(mg $planta^{-1}$)	(mg $planta^{-1}$)	(g g^{-1})
90	422.5	6.23	7.36	11.09	1.28	4.36	2.07	974.4
7	623.3	6.04	3.07	9.11	1.94	4.24	0.49	1333.2
40	550.6	6.02	3.76	9.78	2.22	4.40	0.73	1188.4
46	448.5	5.39	1.15	6.54	4.67	4.60	0.26	1121.0
54	585.3	5.24	3.17	8.41	2.00	3.47	0.51	1263.8
58	501.9	5.01	3.95	8.96	1.87	3.62	0.43	1262.6
100	464.4	4.86	7.44	12.30	1.05	3.39	1.56	968.4
1	429.4	4.85	2.33	7.17	2.08	4.08	0.70	1100.2
59	560.6	4.71	7.47	12.18	0.99	4.43	2.11	786.9
14	339.9	4.49	6.85	11.34	0.73	3.15	1.65	1018.2
80	534.5	4.46	3.81	8.27	1.88	3.71	0.71	1018.6
9	453.8	4.35	6.42	10.77	0.90	3.53	1.95	893.9
28	380.2	4.34	4.64	8.98	1.06	3.61	1.01	1046.9
5	430.0	4.29	6.78	11.07	0.71	3.03	2.36	903.9
16	476.1	4.23	3.24	7.47	2.05	3.15	0.24	1342.1
79	401.2	4.21	6.90	11.11	0.84	2.97	1.73	850.5
66	473.3	4.19	7.09	11.28	0.97	4.29	1.70	662.1
85	441.3	4.19	5.04	9.23	1.14	3.39	1.45	954.3
35	318.9	4.17	6.92	11.09	1.13	4.35	1.34	774.9
61	405.7	4.15	6.87	11.02	0.84	3.15	2.23	863.1
31	477.9	4.14	3.97	8.11	1.21	3.31	0.57	1025.4
101	398.4	4.13	6.02	10.15	1.01	2.96	1.75	1083.1
60	386.7	4.06	6.62	10.68	0.68	2.53	2.11	928.2
8	453.4	4.01	5.56	9.57	0.73	3.03	2.10	780.6
95	337.1	3.99	8.92	12.91	0.77	2.56	1.50	1145.5
21	334.3	3.96	6.56	10.52	0.71	2.88	1.59	920.9
55	379.5	3.95	7.30	11.25	0.86	2.62	1.62	944.0
65	430.4	3.92	4.86	8.78	1.10	3.33	1.65	853.8
105	328.2	3.91	6.04	9.94	1.05	2.99	1.44	997.4
45	443.5	3.90	6.54	10.44	1.53	3.25	1.16	923.2
44	412.0	3.89	5.70	9.59	1.07	3.71	1.18	721.6
26	334.0	3.81	6.75	10.56	0.77	2.45	1.11	1113.0
57	371.1	3.77	7.05	10.82	0.70	3.44	1.51	862.3
22	360.4	3.76	5.29	9.05	0.90	2.53	1.33	1022.4
69	325.1	3.70	5.64	9.34	0.74	3.13	2.93	652.7
27	278.3	3.69	4.53	8.22	3.04	3.26	1.13	948.2
104	350.5	3.63	6.36	9.99	0.78	2.62	1.41	1044.6
53	334.1	3.63	7.07	10.69	0.65	2.86	1.96	840.8
33	299.8	3.62	9.00	12.62	0.77	2.65	1.57	942.2
30	336.0	3.55	6.45	10.00	0.58	2.58	2.00	916.9
70	338.7	3.54	5.34	8.89	0.86	2.59	2.16	831.2
13	294.0	3.54	5.99	9.53	0.72	3.51	1.57	746.9

Continuación Anexo 5.

Genotipo	Área foliar	Biomasa aérea	Peso seco de raíz	Biomasa total	Relación B.Aérea/raíz	Absorción de P en biomasa aérea	Absorción de P en raíz	Eficiencia en el uso de P
	(cm^2 $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g g^{-1})	(mg $planta^{-1}$)	(mg $planta^{-1}$)	(g g^{-1})
19	311.1	3.50	5.98	9.48	0.82	2.35	1.37	1089.1
36	412.1	3.49	5.80	9.29	0.76	2.35	1.20	957.6
41	328.6	3.48	2.87	6.19	1.17	2.63	1.21	881.2
50	351.8	3.47	9.64	13.10	0.67	2.66	1.92	848.3
6	341.5	3.42	7.52	10.94	0.63	2.46	1.82	874.2
182	317.6	3.38	6.43	9.81	0.74	2.66	1.55	867.3
11	257.8	3.37	4.85	8.22	0.88	2.94	1.73	763.1
37	325.5	3.30	7.93	11.23	0.73	2.24	1.32	947.4
47	360.7	3.30	5.38	8.68	0.86	3.14	1.48	810.0
51	417.0	3.30	3.89	7.19	1.81	3.21	0.96	851.2
20	351.9	3.28	6.26	9.54	0.68	2.59	1.37	931.1
25	332.9	3.28	4.97	8.25	0.83	2.51	1.88	845.9
29	410.6	3.27	2.26	5.53	1.47	2.86	1.13	818.7
2	313.9	3.25	4.87	8.12	0.81	2.17	1.19	1093.4
137	282.0	3.25	5.78	6.17	1.04	2.49	1.38	819.7
3	375.0	3.24	7.40	10.64	0.66	2.41	2.01	828.2
93	284.8	3.22	5.59	8.82	1.00	2.55	1.40	848.7
108	370.2	3.22	2.98	6.20	0.96	3.90	1.49	657.4
34	311.1	3.20	6.07	9.26	0.71	2.33	1.83	845.9
151	328.5	3.13	5.79	8.92	0.72	2.29	1.02	927.8
92	347.1	3.13	7.92	11.05	0.66	2.51	1.31	838.6
56	358.5	3.11	4.56	7.67	0.82	2.45	1.36	803.3
39	342.4	3.09	5.88	8.97	0.81	2.27	1.48	966.6
102	313.5	3.07	4.36	7.44	0.97	2.60	1.20	888.9
75	259.3	3.06	5.09	8.15	0.68	2.70	1.53	799.1
86	373.7	3.00	3.11	6.11	0.97	2.23	1.64	779.2
155	331.4	3.00	5.62	8.61	1.01	2.84	0.89	844.7
84	271.7	2.98	5.50	8.48	0.67	2.38	1.61	767.1
83	342.9	2.96	2.65	5.61	1.30	2.17	0.88	972.8
17	337.5	2.96	6.16	9.12	0.56	2.14	1.68	808.6
81	381.0	2.95	6.42	9.37	0.64	2.40	1.36	883.1
96	259.4	2.95	5.60	8.55	0.74	2.16	1.06	989.4
52	272.7	2.95	4.36	7.30	0.82	2.92	1.58	645.0
12	214.6	2.89	5.06	7.94	0.93	2.29	1.22	888.1
115	297.5	2.89	5.86	8.74	0.69	2.13	1.70	807.5
97	236.8	2.85	6.00	8.85	0.80	2.60	1.12	717.5
199	293.6	2.85	6.96	9.81	0.81	1.84	1.15	927.1
143	319.2	2.85	4.74	7.58	1.01	2.25	0.77	988.2
72	298.9	2.82	4.49	7.31	0.81	2.42	1.66	804.0
68	378.6	2.79	6.13	8.93	0.76	2.32	1.59	745.1
91	246.9	2.79	4.94	7.73	0.71	2.27	1.52	835.4
149	286.2	2.79	4.55	7.33	0.69	2.34	1.72	724.6
148	273.2	2.78	5.07	7.86	0.69	2.16	0.99	848.1
136	266.7	2.78	4.58	7.36	0.97	2.99	0.91	629.8

Continuación Anexo 5.

Genotipo	Área foliar	Biomasa aérea	Peso seco de raíz	Biomasa total	Relación B.Aérea/raíz	Absorción de P en biomasa aérea	Absorción de P en raíz	Eficiencia en el uso de P
	(cm^2 $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g g^{-1})	(mg $planta^{-1}$)	(mg $planta^{-1}$)	(g g^{-1})
49	295.7	2.77	5.31	8.09	0.62	2.28	1.49	721.7
153	332.8	2.77	4.15	6.93	1.02	2.09	0.92	1028.2
166	297.6	2.77	4.85	7.61	0.85	1.83	1.33	975.0
169	292.7	2.76	6.29	9.06	0.58	2.03	1.14	907.3
195	234.6	2.73	6.13	8.86	0.62	2.06	0.92	865.4
43	272.8	2.71	5.67	8.38	0.61	2.14	1.48	784.2
23	279.2	2.68	4.93	7.61	0.68	2.08	1.48	749.9
87	324.6	2.65	6.38	9.03	0.54	1.83	1.14	750.0
177	224.1	2.64	9.06	11.70	0.66	2.08	0.85	816.1
159	287.6	2.62	4.62	7.24	0.89	2.08	0.71	1022.4
130	282.1	2.62	6.02	8.63	0.71	2.32	0.96	796.5
165	302.9	2.61	4.57	7.19	0.88	2.28	0.81	905.5
171	260.7	2.60	6.58	9.18	0.59	2.11	1.38	830.3
42	294.8	2.59	6.64	9.23	0.66	1.98	1.64	764.7
88	239.3	2.59	2.91	5.49	0.91	1.91	0.99	842.5
10	278.7	2.57	4.87	7.44	0.66	1.94	1.10	891.6
198	273.6	2.57	2.68	5.28	0.99	1.94	0.95	888.7
64	265.6	2.57	5.61	8.17	0.77	2.21	1.20	828.1
99	259.7	2.53	5.27	7.80	0.84	1.78	0.79	1042.1
110	294.9	2.53	4.31	6.84	0.87	2.03	1.12	917.4
15	189.5	2.52	4.94	7.46	0.84	1.38	1.53	991.0
73	272.9	2.51	4.72	7.22	0.62	2.37	1.67	647.3
103	296.8	2.50	5.31	7.81	0.75	2.28	1.28	725.2
134	275.4	2.48	5.82	8.96	0.76	2.01	1.19	766.0
168	199.1	2.48	4.77	7.25	0.81	2.12	0.63	970.8
109	288.0	2.47	6.44	8.91	0.64	2.02	1.18	768.9
78	178.8	2.46	6.54	9.00	0.58	1.54	1.46	930.7
158	232.1	2.44	5.03	7.47	0.91	1.85	1.05	964.4
146	248.1	2.40	3.94	6.34	0.75	2.05	0.98	741.8
154	271.5	2.39	2.35	4.74	1.01	1.87	0.91	863.8
4	207.6	2.38	4.12	6.50	0.79	1.82	1.50	858.2
124	199.7	2.38	4.22	6.60	0.81	1.61	1.07	944.6
183	253.9	2.38	4.60	6.98	0.89	1.94	0.75	919.3
98	204.4	2.37	5.71	8.08	0.78	1.78	0.67	980.4
125	213.6	2.37	4.36	6.73	0.88	2.01	1.18	770.7
188	244.8	2.36	5.66	8.03	0.66	1.84	0.83	938.0
152	273.7	2.36	7.28	9.64	0.49	2.05	0.94	839.2
135	242.1	2.34	4.65	6.98	0.70	1.86	0.84	941.9
189	216.6	2.33	5.64	7.96	0.65	1.72	1.05	961.2
157	246.7	2.29	5.67	7.96	0.80	2.13	0.98	752.0
106	274.0	2.28	5.64	7.92	0.57	1.65	1.26	830.2
128	253.2	2.28	4.80	7.08	0.65	2.01	0.87	778.1
167	254.8	2.27	5.59	7.86	0.51	1.66	1.20	683.5
141	187.1	2.24	4.31	6.55	0.60	1.52	1.26	851.5

Continuación Anexo 5.

Genotipo	Área foliar	Biomasa aérea	Peso seco de raíz	Biomasa total	Relación B.Aérea/raíz	Absorción de P en biomasa aérea	Absorción de P en raíz	Eficiencia en el uso de P
	(cm^2 $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g g^{-1})	(mg $planta^{-1}$)	(mg $planta^{-1}$)	(g g^{-1})
156	243.0	2.22	5.18	7.40	0.60	1.79	1.11	827.0
150	217.3	2.20	5.20	7.40	0.66	2.34	0.98	621.0
24	179.0	2.17	5.98	8.15	0.76	1.40	1.04	979.2
144	258.4	2.17	4.00	6.17	0.75	1.79	0.85	832.2
170	216.3	2.14	6.09	8.23	0.46	1.86	1.07	879.9
89	166.2	2.13	5.19	7.32	0.66	1.46	1.25	876.7
196	210.5	2.11	3.93	6.04	0.86	1.76	1.11	789.7
107	245.0	2.09	7.00	9.09	0.51	1.66	1.37	705.0
187	241.5	2.09	5.21	7.30	0.58	1.79	1.00	784.2
123	200.4	2.08	2.64	4.72	0.79	1.74	1.43	658.7
140	220.0	2.08	1.91	3.99	1.10	1.77	0.73	837.3
174	218.4	2.06	2.36	4.42	0.89	1.29	1.03	886.6
186	217.0	2.05	7.66	9.48	0.36	1.65	0.48	836.6
67	191.8	2.05	3.77	5.82	1.44	1.88	0.53	817.8
120	187.6	2.04	3.78	5.82	0.78	1.63	0.91	904.8
126	181.1	2.02	4.57	6.60	0.73	1.45	0.84	924.5
133	138.4	1.98	5.03	7.02	0.81	1.33	0.72	1192.9
112	205.2	1.98	1.49	3.47	1.32	1.70	0.62	895.2
191	199.4	1.95	5.64	7.59	0.60	1.27	0.73	999.3
161	223.8	1.94	3.47	5.41	0.72	1.45	0.95	838.7
178	176.5	1.93	3.71	5.64	0.67	1.49	1.04	861.3
197	184.6	1.92	5.95	7.88	0.41	1.31	1.05	662.2
132	226.6	1.92	4.26	6.19	0.66	1.51	0.90	970.0
139	229.8	1.88	3.61	5.48	0.51	1.53	1.40	644.3
173	150.3	1.84	4.44	6.29	0.69	1.56	0.69	910.0
114	226.5	1.83	3.92	5.75	0.78	1.67	1.03	767.0
192	153.4	1.79	4.90	6.69	0.64	1.62	0.55	944.3
184	203.5	1.79	5.56	7.35	0.55	1.37	0.85	802.3
121	213.3	1.78	5.11	6.89	0.58	1.44	0.91	845.6
129	170.7	1.76	1.89	3.65	0.96	1.23	0.71	905.9
163	212.2	1.74	5.23	6.97	0.58	1.62	0.83	767.3
160	192.7	1.74	2.06	3.80	0.78	1.44	0.86	743.3
117	216.1	1.72	2.45	4.17	0.69	1.16	0.97	796.6
63	158.0	1.70	3.91	5.61	0.70	1.54	0.66	869.7
76	192.3	1.67	4.55	6.22	0.49	1.31	1.01	664.7
74	193.5	1.62	4.96	6.57	0.52	1.41	0.91	606.6
172	139.7	1.60	4.04	5.64	0.61	1.62	0.85	670.2
138	167.1	1.58	3.67	5.25	0.74	1.55	0.58	753.8
62	229.9	1.56	5.53	7.09	0.40	1.39	0.93	663.1
176	177.2	1.54	5.74	7.28	0.34	1.58	1.84	441.4
181	131.8	1.54	2.77	4.31	1.67	1.72	0.13	1089.2
180	120.1	1.54	2.18	3.72	0.70	1.14	1.00	708.6
111	137.8	1.53	5.83	7.36	0.50	1.16	1.02	823.1
119	152.7	1.45	3.57	5.01	0.69	1.40	0.81	726.4

Continuación Anexo 5.

Genotipo	Área foliar	Biomasa aérea	Peso seco de raíz	Biomasa total	Relación B.Aérea/raíz	Absorción de P en biomasa aérea	Absorción de P en raíz	Eficiencia en el uso de P
	(cm^2 $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g $planta^{-1}$)	(g g^{-1})	(mg $planta^{-1}$)	(mg $planta^{-1}$)	(g g^{-1})
179	132.8	1.44	2.60	4.04	3.14	1.28	0.12	1087.1
175	153.3	1.43	5.00	6.43	0.43	1.36	1.25	586.2
194	166.9	1.39	4.85	6.24	0.47	1.29	1.12	673.4
147	185.7	1.38	1.53	2.90	0.91	1.56	0.59	639.5
118	116.4	1.37	3.87	5.24	0.50	0.89	1.03	784.1
113	140.9	1.36	2.61	3.98	1.52	1.21	0.22	1021.1
Bd	135.0	1.35	0.92	2.27	2.88	1.75	0.33	764.5
122	191.4	1.33	5.15	6.47	0.41	1.10	1.01	647.9
142	161.4	1.30	4.86	3.50	0.59	0.91	0.79	762.1
82	122.0	1.29	1.90	3.19	1.28	1.06	0.26	1073.7
185	178.5	1.28	2.72	2.57	1.05	1.19	0.54	732.6
77	123.9	1.25	3.20	4.45	2.59	1.36	0.11	1047.9
193	112.2	1.22	1.66	2.88	2.41	1.07	0.11	1174.5
164	132.7	1.20	1.75	2.95	2.79	1.23	0.06	1009.7
162	149.8	1.15	1.65	2.80	0.69	1.03	0.56	729.4
Br	94.8	1.01	1.79	2.79	0.66	1.19	0.65	603.5
94	81.7	0.87	0.26	0.89	2.38	0.93	0.06	1639.4
190	49.6	0.66	1.79	2.45	1.89	0.51	0.06	1570.9
127	45.5	0.46	1.93	2.39	1.27	0.45	0.07	1088.0
Media	276.3	2.74	4.88	7.57	0.94	2.19	1.13	874.1
$DMS_{0.05}$	160.4	1.49	1.31	2.35	0.92	1.40	0.72	271.2
Significancia	**	**	**	**	**	**	**	**

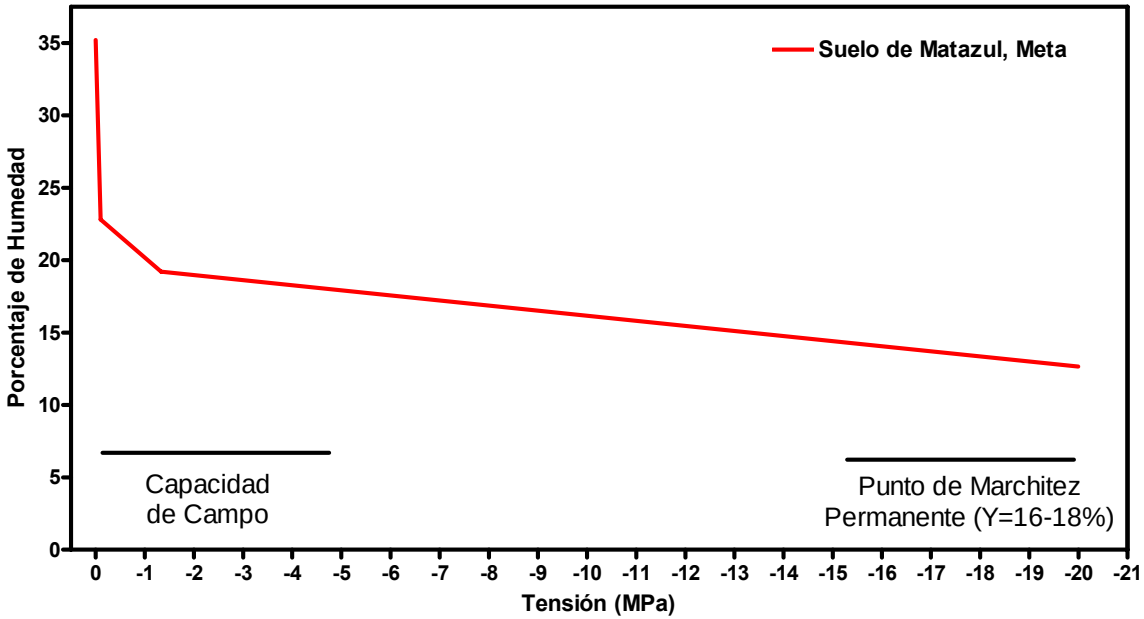
Anexo 6. Evaluación de *Bd*, *Br* y 8 recombinantes genéticos contrastantes por su adaptación a bajo P

Genotipo	Área foliar		Biomasa aérea		Peso seco de raíz		Relación B. Aérea/raíz		Longitud de raíz		Diámetro de raíz	
	(cm^2 $planta^{-1}$)		(g $planta^{-1}$)		(g $planta^{-1}$)		(g g^{-1})		(m $planta^{-1}$)		(mm $planta^{-1}$)	
(Kg ha^{-1} de P)	0	50	0	50	0	50	0	50	0	50	0	50
Bd	35	432	0.45	6.2	0.08	1.65	5.88	3.85	11.9	118	0.28	0.38
Br	54	368	0.75	5.8	0.21	1.90	4.23	3.28	10.9	94	0.39	0.46
H-7	93	650	1.35	10.9	0.42	3.29	3.16	3.39	67.8	218	0.30	0.38
H-40	100	592	1.16	10.5	0.38	3.45	3.02	3.08	62.7	225	0.28	0.36
H-28	72	358	0.98	6.2	0.38	2.32	2.50	2.68	42.5	167	0.27	0.33
H-58	83	650	1.09	13.1	0.27	3.98	4.05	3.29	34.5	249	0.28	0.33
H-190	49	491	0.59	10.4	0.12	3.33	5.30	3.18	21.6	241	0.26	0.34
H-94	81	476	1.15	10.5	0.29	2.74	4.11	3.86	43.5	224	0.28	0.32
H-82	16	427	0.50	9.9	0.13	3.09	3.54	3.26	18.9	183	0.31	0.35
H-179	42	502	0.90	10.1	0.19	2.36	4.97	4.29	24.3	160	0.28	0.33
Mejor adaptados (H)	87	562	1.14	10.2	0.36	3.26	3.18	3.11	51.9	215	0.28	0.35
Menor adaptados (H)	47	474	0.79	10.2	0.18	2.88	4.48	3.65	27.1	202	0.28	0.33
Media	63	494	0.89	9.4	0.27	3.07	3.83	3.38	39.5	208	0.28	0.34
$DMS_{0.05}$	34	144	0.45	2.4	0.14	0.99	2.36	0.87	19.7	43.8	0.03	0.07
Significancia	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**

Continuación Anexo 6.

Genotipo	L. específica de raíz		Volumen de raíz		Absorción de P en B. Aérea		Absorción de P en raíz		Eficiencia en el uso de P		Eficiencia en la absorción de P	
	(m g^{-1})		(cm^3 $planta^{-1}$)		(mg $planta^{-1}$)		(mg $planta^{-1}$)		(g g^{-1})		(mg m^{-1})	
(Kg ha^{-1} de P)	0	50	0	50	0	50	0	50	0	50	0	50
Bd	156	79.1	0.71	12.3	0.41	8.76	0.09	1.64	1077	594	0.04	0.09
Br	58	52.2	1.35	15.0	0.68	8.91	0.32	2.15	873	590	0.07	0.12
H-7	160	66.7	4.63	22.8	0.68	8.70	0.16	2.21	1595	1018	0.01	0.05
H-40	164	66.0	3.95	22.0	0.60	6.95	0.14	1.67	1563	1242	0.01	0.04
H-28	111	75.8	2.70	13.9	0.63	6.28	0.12	1.29	1328	832	0.02	0.05
H-58	126	62.5	2.18	21.7	0.62	11.19	0.16	2.08	1460	989	0.02	0.05
H-190	178	74.3	1.21	21.8	0.39	9.48	0.04	1.76	1761	927	0.02	0.05
H-94	158	82.1	2.85	18.1	0.75	9.47	0.09	1.36	1460	983	0.02	0.05
H-82	148	60.4	1.42	17.9	0.22	8.68	0.04	1.57	1999	967	0.01	0.06
H-179	135	68.9	1.51	14.2	0.36	9.61	0.06	1.46	2135	905	0.02	0.07
Mejor adaptados (H)	140	67.8	3.36	20.1	0.63	8.28	0.14	1.81	1486	1020	0.02	0.05
Menor adaptados (H)	155	71.4	1.75	18.0	0.43	9.31	0.06	1.53	1839	945	0.02	0.06
Media	148	69.6	2.56	19.0	0.53	8.80	0.12	1.72	1525	905	0.02	0.06
$DMS_{0.05}$	36.4	21.9	1.32	6.01	0.38	3.99	0.06	0.92	495	226	0.01	0.03
Significancia	**	NS	**	**	NS	NS	**	NS	*	**	**	**

Anexo 7. Curva de retención de humedad para el suelo de Matazul, Meta.



Anexo 8. Análisis de suelo de Santander de Quilichao (Cauca), utilizado para el aumento del material vegetativo de los genotipos evaluados.

Tipo de Muestra	pH	Sat. Al %	Al	Ca	Mg	K	P ppm
			meq/100g				
S. Quilichao	5.04	2.05	0.26	8.50	3.49	0.42	5.3

Anexo 9. Niveles de fertilización empleados para el suelo Matazul, Meta

Fuente	Nutriente	Contenido del nutriente	Total
		(%)	(Kg ha^{-1})
Urea	N	46.0	80.0
Superfosfato triple	P	20.0	50.0
	Ca	14.0	35.0
KCl	K	52.0	100.0
Cal dolomítica	Ca	22.0	66.0
	Mg	9.8	29.4
Flor de azufre	S	86.0	20.0
ZnCl2	Zn	47.0	2.0
CuCl2 2H2O	Cu	37.1	2.0
H3BO3	B	17.4	0.1
Na2 MoO4 2H2O	Mo	39.4	0.1