

**Atributos fisiológicos de *Brachiaria* spp. en la
adaptación a suelos inundados**

Juan de la Cruz Jiménez Serna

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Agronomía
Escuela de Posgrados
Maestría en Ciencias Agrarias
Línea Fisiología de Cultivos
Bogotá, Colombia
2013

**Atributos fisiológicos de *Brachiaria spp.* en la
adaptación a suelos inundados**

Juan de la Cruz Jiménez Serna

Trabajo de Investigación presentado como requisito parcial para
optar al título de: **Magister en Ciencias Agrarias**

Directores:

Idupulapati M. Rao (Ph.D.)
Gerhard Fischer (Ph.D.)

Asesor:

(c) Juan Andrés Cardoso Arango (Ph.D.)

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Agronomía
Escuela de Posgrados
Maestría en Ciencias Agrarias
Línea Fisiología de Cultivos
Bogotá, Colombia
2013

AGRADECIMIENTOS

A Dios que todo se lo debo

A mi familia por su amor y apoyo

A Mariafer por siempre estar ahí

A los que no están físicamente pero si en el corazón, Miguelito y la Mona

Al Dr. Rao por depositar su confianza en mí, por su apoyo y sus enseñanzas

Al profe Fischer por su desinteresado, eficaz y oportuno apoyo

A Juan Andrés por su amistad, consejos y guía

A Cuarán, Don Orlando, Miller y Julián por su gran colaboración

Contenido

Resumen	6
Abstract	7
Lista de Figuras.....	9
Lista de Tablas	10
Introducción.....	11
Referencias.....	12
Objetivo General	15
Objetivos Específicos	15
Revisión de Literatura.....	16
Producción Ganadera en Latinoamérica.....	16
Género <i>Brachiaria</i>	17
Problemas asociados a inundaciones.....	18
<i>Brachiaria</i> , respuestas a suelos inundados y mecanismos de adaptación.....	19
Referencias.....	20
I. Respuesta nutricional de <i>Brachiaria</i> spp. en la adaptación a inundación y fertilidad del suelo	23
Resumen.....	23
Abstract	24
Introducción	24
Materiales y Métodos.....	27
Resultados y Discusión.....	30
Conclusiones.....	42
Referencias.....	42

II. Cambios en pigmentos protectores y peroxidación lipídica en <i>Brachiaria</i> spp. como respuesta a la inundación	48
Resumen.....	48
Abstract	49
Introducción	49
Materiales y Métodos.....	51
Resultados y Discusión.....	53
Conclusiones.....	60
Referencias.....	61
III. Cambios morfológicos radiculares en genotipos contrastantes de <i>Brachiaria</i> spp. por su tolerancia a inundación	67
Resumen.....	67
Abstract	68
Introducción	69
Materiales y Métodos.....	71
Resultados y discusión	73
Conclusiones.....	81
Referencias.....	82
Conclusiones generales	85

Resumen

Como consecuencia del calentamiento global, en algunas regiones del mundo se prevén aumentos en las precipitaciones. Los pastos de *Brachiaria* son los forrajes tropicales más sembrados para la producción de ganado, estos pastos continuamente experimentan condiciones de inundación durante las épocas lluviosas. La inundación del suelo reduce la disponibilidad de oxígeno para la planta y afecta su desarrollo radical, su crecimiento y su metabolismo. En este trabajo evaluamos las diferentes respuestas morfológicas y fisiológicas de la planta entera que presentan en el cultivar sensible Ruzi (*Brachiaria ruziziensis* Germ) y el tolerante Tully (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schwickerdt) después de ser sometidas 15 días a condiciones de inundación. El tratamiento control equivale al 80% de la capacidad de campo. El tratamiento de inundación reduce la clorofila (SPAD) y la eficiencia fotosintética (f_v'/f_m') en *B. ruziziensis* pero no en *B. humidicola*. Cuando el tratamiento de inundación fue combinado con baja fertilidad, *B. ruziziensis* reduce su biomasa aérea en mayor proporción que su contenido de clorofila y su eficiencia fotosintética. Los contenidos de antocianinas y malondialdehído aumentaron cuando las plantas estuvieron sometidas a inundación, pero solo fue significativo en *B. humidicola*. En los contenidos de carotenoides y clorofilas totales no se observaron cambios significativos entre los tratamientos inundación y control. En *B. humidicola*, las antocianinas se depositan en la epidermis foliar, posiblemente sirviendo como mecanismo de fotoprotección. El principal cambio morfológico en condiciones de inundación es la formación de aerénquima. La longitud radical total disminuye cuando las plantas están sometidas a inundación, en contraste el diámetro promedio de las raíces no varía significativamente. El porcentaje de aerénquima aumenta considerablemente cuando las plantas se someten a inundación. Encontramos que la formación de aerénquima en *B. humidicola* es un rasgo constitutivo (expresado en control e inundación), mientras que en *B. ruziziensis* es un rasgo inducible. Adicionalmente a la formación de aerénquima, *B. humidicola* presenta deposición de suberina en las partes externas de la raíz (OPR por sus siglas en inglés) formando bandas tangenciales cubriendo alrededor de 80% de las células. Por otra parte, en *B. ruziziensis* solo se observan deposiciones parciales de suberina en la OPR (<50%). Nuestros resultados indican que

el gran nivel de tolerancia a inundación exhibido por *B. humidicola* es asociado con incrementos en la formación de aerénquima en la raíz, aumentos en las deposiciones de suberina en la OPR y a la inducción de mecanismos de fotoprotección en hojas.

Palabras clave: *Brachiaria*, inundación, nutrición, sistema antioxidante, pigmentos fotoprotectores, morfología radical.

Abstract

Due to climate change, it is expected that total rainfall will increase in some regions around the world. *Brachiaria* grasses are the most widely sown tropical forages for livestock production and these grasses experience waterlogged conditions during the rainy season. Waterlogging conditions in soil reduce the availability of oxygen and affects root development, plant growth and metabolism. We evaluated the differences in root and shoot morphological and physiological responses of waterlogging-sensitive ruzigrass (*Brachiaria ruziziensis* Germ) and waterlogging-tolerant korniviagrass (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schwickerdt) that were subjected to waterlogged conditions for 15 days. We used a control treatment with 80% of field capacity for comparison. Waterlogging treatment reduced the chlorophyll content (SPAD) and the photosynthetic efficiency (f_v'/f_m') in waterlogging-sensitive *B. ruziziensis* but not in waterlogging-tolerant *B. humidicola*. When waterlogging stress was combined with low soil fertility stress, *B. ruziziensis* reduced its shoot biomass production more markedly than its leaf chlorophyll content and photosynthetic efficiency. The contents of anthocyanins and malodialdehyde increased when the plants were under waterlogging but this increase was significant in *B. humidicola*. No significant differences were observed in the content of carotenoids or total chlorophyll between waterlogging and control treatments. In *B. humidicola*, the anthocyanins were deposited in the leaf epidermal layer that could possibly serve as a photo-protection mechanisms. Waterlogging induced major changes in root morphological and anatomical characteristics. A major root morphological change that occurred under waterlogged conditions was the formation of aerenchyma. Total root length

decreased when the plants were under waterlogged conditions. However, the root diameter did not vary significantly. The aerenchyma percentage increased considerably when the plants were subjected to waterlogging. We found that the aerenchyma formation in *B. humidicola* was a constitutive trait (expressed under both control and waterlogged conditions) while it was an inducible trait for *B. ruziziensis*. In addition to aerenchyma formation, *B. humidicola* also showed suberin deposition in the root exodermis, forming tangential bands covering nearly 80% of the cells. However, *B. ruziziensis* showed partial suberin deposition in cells. Our results indicate that the higher level of waterlogging tolerance exhibited by *B. humidicola* was associated with increase in root aerenchyma formation, increased suberin deposition root exodermis, and induction of photoprotection mechanisms in leaves.

Key words: *Brachiaria*, waterlogging, nutrition, antioxidant system, photo-protectors pigments, root morphology.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Potencial redox en un suelo oxisol de Santander de Quilichao bajo dos condiciones de fertilidad y régimen hídrico. Línea punteada indica ausencia de oxígeno en el suelo..... 31
- Figura 2.** Concentración de macronutrientes en dos genotipos de *Brachiaria* bajo condiciones de inundación y suplemento de nutrientes. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 34
- Figura 3.** Concentración de micronutrientes en dos genotipos de *Brachiaria* bajo condiciones de inundación y suplemento de nutrientes. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 36
- Figura 4.** Nivel de malondialdehído en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 54
- Figura 5.** Antocianinas en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 55
- Figura 6.** Presencia de antocianinas en *B. ruzizensis* (Br4402) A control y B inundación. C y D *B. humidicola* (CIAT679) control e inundación respectivamente. 56
- Figura 7.** Cambios foliares en *B. ruzizensis* (Br4402) A control y B inundación. C y D *B. humidicola* (CIAT679) control e inundación respectivamente. 57
- Figura 8.** Contenido de clorofila en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 59
- Figura 9.** Carotenoides en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 60
- Figura 10.** Cambios en los contenidos de clorofila (SPAD) en *B. ruzizensis* y *B. humidicola* a los 0, 7 y 14 después de inundación en tres posiciones de la hoja (A= Superior, B= Medio e C= Inferior. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)..... 73

Figura 11. Cambios en la eficiencia fotosintética en <i>B. ruziziensis</i> y <i>B. humidicola</i> a los 0, 7 y 14 después de inundación en tres posiciones de la hoja (A= Superior, B= Medio e C= Inferior). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).....	74
Figura 12. Longitud radical total en <i>B. ruziziensis</i> (Br4402) y <i>B. humidicola</i> (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).....	75
Figura 13. Diámetro radical total en <i>B. ruziziensis</i> (Br4402) y <i>B. humidicola</i> (CIAT679). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Dunncan ($P > 0.05$).....	76
Figura 14. Volumen radical en <i>B. ruziziensis</i> (Br4402) y <i>B. humidicola</i> (CIAT679). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).....	77
Figura 15. Diferencia visuales entre <i>B. ruziziensis</i> (Br4402) y <i>B. humidicola</i> (CIAT679) en inundación y control.....	77
Figura 16. Porcentaje de aerénquima en <i>B. ruziziensis</i> y <i>B. humidicola</i> en tres distancias desde la base hasta el ápice de las raíces, A= (0–5cm), B= (5–10cm) y C= (10–15cm). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).....	78
Figura 17. Porcentaje de aerénquima en <i>B. ruziziensis</i> y <i>B. humidicola</i> en tres distancias desde la base hasta el ápice de las raíces, A=(0–5cm), B=(5–10cm) y C=(10–15 cm).....	79
Figura 18. Deposiciones de suberina en OPR radicular. A) <i>B. ruziziensis</i> control, B) <i>B. ruziziensis</i> inundación, C) <i>B. humidicola</i> control y D) <i>B. humidicola</i> inundación.....	80

Lista de Tablas

Tabla 1. Niveles de significancia estadística para los principales efectos de genotipo, fertilidad, tratamiento y sus interacciones en contenido de nutrientes.....	31
--	----

Tabla 2. Área foliar, biomasa verde, rendimiento cuántico y clorofila afectado por la inundación y el suplemento de nutrientes en dos genotipos de *Brachiaria*.....32

Introducción

La ganadería es una actividad estratégica para países en desarrollo, ya que provee alimentos básicos para la población. Desde la década de los años 60, en la zona tropical de América se han sembrado entre 50 y 70 millones de hectáreas de sabana nativa con pasturas de especies introducidas de *Brachiaria* (Boddey *et al.*, 1998). La renovación e intensificación de pasturas demanda el desarrollo de nuevos cultivares más productivos, con mejor calidad, que requieran un menor manejo y que puedan tolerar periodos con condiciones adversas en el medio (Miles *et al.*, 2004). En América Central, se estima que tras la adopción de cultivares de *Brachiaria* se ha generado un valor neto de US\$1.7 mil millones (Holmann *et al.*, 2004). Aumentando la producción de carne desde un 15% a un 74%, la producción de leche desde un 6% a un 157% y un incremento en el retorno económico a la mano de obra familiar comparado con el valor comercial del jornal entre 97% y 238% (Holmann *et al.*, 2008).

La producción ganadera en el trópico depende en gran medida de la productividad de las pasturas. Estas enfrentan constantemente eventos meteorológicos extremos asociados al cambio climático, que se reflejan en inundaciones que reducen la productividad de las pasturas y por ende la producción de leche y carne. Muchos modelos de cambio climático han predicho que las localidades secas serán más secas y que las localidades con alta precipitación serán aún más lluviosas (IPCC, 2010). Las altas precipitaciones pueden conllevar a inundaciones en muchas regiones y convertirse en una de las más severas adversidades para la producción de cultivos (Jiang *et al.*, 2008). En América Latina, alrededor del 11.3% de las tierras cultivables presentan drenajes pobres, principalmente por la fisiografía del terreno, niveles freáticos altos o aguas superficiales estancadas (Wood *et al.*, 2000).

La difusión de oxígeno en suelos inundados es aproximadamente 10.000 veces más baja que en el aire, además el intercambio de gases entre la raíz sumergida y el ambiente es muy limitado (Colmer, 2003a). Bajo inundación, el aire en los poros del suelo es remplazado por el agua y el oxígeno es consumido rápidamente por la respiración de las raíces y la actividad microbiana (Koppitz, 2004). Este déficit de oxígeno inhibe la respiración mitocondrial, la oxidación y los procesos de oxigenación (Koppitz, 2004), viéndose notablemente afectado el metabolismo de la planta (Sairam *et al.*, 2008).

Entre los síntomas más frecuentes generados por la inundación en *Brachiaria* se encuentran: disminución de la actividad fotosintética, disminución del crecimiento, reducción de absorción y transporte de nutrientes, reducción de translocación de carbohidratos, clorosis, cierre estomático, muerte de hojas, tallos y raíces (Dias-Filho, 2006). Aunque son diversos los daños ocasionados a las plantas por la inundación, también existen múltiples mecanismos que presentan las plantas para hacer frente a las condiciones anaeróbicas del suelo (revisado por Jiménez *et al.*, 2012).

Entender como las especies vegetales responden a la inundación es importante para ayudar a predecir el potencial productivo de una especie bajo ciertas condiciones ambientales y para proveer información necesaria sobre un manejo exitoso del cultivo (Yang *et al.*, 2007). Es por esto que la investigación en mecanismos fisiológicos de adaptación de las plantas a condiciones de inundación puede servir como base en programas de mejoramiento que busquen el desarrollo de plantas que toleren condiciones de anegamiento y presenten un rendimiento deseado.

Referencias

Colmer T. D. 2003. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. *Plant, Cell and Environment* 26: 17 – 36.

Boddey R. M., I. M. Rao y R. J. Thomas. 1998. Reciclaje de nutrimentos e impacto ambiental de las pasturas de *Brachiaria*. p 79 – 95. En: CIAT (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Boddey R. M., R. Macedo, R. M. Tarré, E. Ferreira, O. C. de Oliveira, C. de P. Rezende, R. B. Cantarutti, J. M. Pereira, B. J. R. Alves y S. Urquiaga. 2004. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103: 389 – 403.

De Oliveira O. C., I. P. de Oliveira, S. Urquiaga, B. J. R. Alves, R. M. Boddey. 2004. Chemical and biological indicators of decline/degradation of *Brachiaria* pastures in the Brazilian Cerrado. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 103: 289 – 300.

Dias-Filho M. B. 2006 Opções Forrageiras para áreas Sujeitas ao encharcamento ou alagamento temporário. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, P.A. Documentos 239, ISSN 1517-2201.

Fischer M. J. y Kerridge P. C. 1998. Agronomía y fisiología de las especies de *Brachiaria*. P 46 – 57. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Holmann F., Rivas L., Argel P., Pérez E. 2004. Impacto de la adopción de pastos *Brachiaria*: Centroamérica y México. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute (ILRI). 32 p. (Documento de Trabajo no. 197).

Holmann F., P. Argel y E. Pérez. 2008. Impacto de la adopción de forrajes mejorados en fincas de pequeños productores en Centroamérica. Cali, Colombia: Centro Internacional de

Agricultura Tropical (CIAT); Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute (ILRI). 17 p. (Documento de trabajo no. 208).

IPCC, January 2010, Meeting Report, National Center for Atmospheric Research Boulder, Colorado, USA 25-27, Expert Meeting on Assessing and Combining Multi Model Climate Projections.

Jiang D., X. Fan, T. Dai y W. Cao. 2008. Nitrogen fertiliser rate and post-anthesis waterlogging effects on carbohydrate and nitrogen dynamics in wheat. *Plant and Soil* 304: 301–314.

Jiménez J. C., L. P. Moreno y S. Magnitskiy. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 6(1): 96 – 109.

Koppitz H. 2004. Effects of flooding on the amino acid and carbohydrate patterns of *Phragmites australis*. *Limnologica* 34: 37 - 47.

Miles J. W., C. B. Do Valle, I.M. Rao y V. P.B. Euclides. 2004. Brachiariagrasses. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. *Warm Season (C4) Grasses*, Agronomy Monograph no. 45.

Sairam R. K., K. Dharmar, V. Chinnusamy y R. C. Meena. 2008. Waterlogging-induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Plant Physiology* 166: 602-616.

Wood S., Sebastian K., Scherr S. 2000. Soil resource condition. In: Pilot analysis of global ecosystems: Agroecosystems. pg. 45-54. International Food Policy Research Institute and the World Resources Institute, Washington, D.C.

Yang M. Li, D., Li W. 2007. Leaf gas exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of three wetland plants in response to long-term soil flooding. *Photosynthetica* 45 (2): 222-228.

Objetivo General

Identificar algunos atributos fisiológicos que le permiten a *Brachiaria* spp. tolerar periodos de inundación.

Objetivos Específicos

- Establecer diferencias en el comportamiento de genotipos de *Brachiaria* contrastantes por su tolerancia a inundación bajo interacción de diferentes niveles de fertilidad y humedad del suelo.
- Determinar los cambios en pigmentos y el nivel de daño oxidativo en plantas tolerantes y sensibles a la inundación.
- Analizar los cambios morfológicos que se presentan en las raíces de especies contrastantes de *Brachiaria* sometidas a inundación.

Revisión de Literatura

Producción Ganadera en Latinoamérica

La ganadería bovina en América Latina constituye una de las principales actividades productivas de la región. Su gran importancia económica radica en que se emplea una fracción muy significativa del área en todos los agroecosistemas, contribuye a la oferta total de alimentos básicos y es una fuente importante de empleo e ingresos, especialmente en las fincas pequeñas y medianas, orientadas al doble propósito (producción de carne y leche en un mismo sistema) (Rivas y Holmann, 2004a). En la región tropical de América Latina, la ganadería bovina se extiende ampliamente a través de diversos pisos térmicos y regiones geográficas, bajo diferentes sistemas de producción manejados por un grupo heterogéneo de productores que varía desde pequeños y medianos ganaderos ubicados principalmente en zonas de ladera, hasta grandes terratenientes localizados generalmente en zonas de sabanas y márgenes de bosque (Rivas y Holmann, 2004a).

En 2011, el 90.1% de la superficie agrícola en Colombia estuvo sembrada en pastos y praderas permanentes, de esta superficie el 77.7% corresponde a terrenos cultivados y el restante 22.3% corresponde a pasturas crecidas de manera natural (FAO, 2013). Este gran porcentaje de tierras utilizadas en la ganadería, resalta la gran importancia que tiene para el país la investigación y el desarrollo de pasturas. En el territorio Colombiano tradicionalmente se han definido cinco zonas ganaderas: la Costa Norte también conocida como Litoral Atlántico o Llanuras del Caribe; el Valle del Magdalena y la zona Andina; el Valle del Cauca; la zona Sur y finalmente los Llanos Orientales (Orinoquia). La Costa Norte (departamentos de Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, Guajira, Magdalena, Sucre y el Norte de Antioquia) y los Llanos Orientales (departamentos del Meta, Casanare, Arauca, Vichada y el Oriente de Cundinamarca) contabilizan en conjunto más del 60% del inventario vacuno y contienen más de la mitad del área en pasturas (Rivas y Holmann, 2004b).

Uno de los principales problemas que enfrenta la ganadería regional, basada en el pastoreo extensivo, es la limitada oferta forrajera tanto en cantidad como en calidad. Esto ha conducido históricamente a América Latina tropical a una producción deficitaria de leche y carne, recurriendo cada vez a mayores importaciones para abastecer el consumo interno de estos productos (Rivas y Holmann, 2004 a, b). La producción de carne bovina en algunos países Centroamericanos se ha caracterizado por grandes fluctuaciones que dependen entre otras variables de las condiciones climáticas (Holmann *et al.*, 2008). Por su parte, Colombia importa 1.4% de su consumo anual de leche (Rivas y Holmann, 2004a), así mismo no ha logrado consolidarse como un exportador neto de carne vacuna, variando periódicamente su posición de exportador a importador marginal (Rivas y Holmann, 2004b).

Género *Brachiaria*

El grupo taxonómico *Brachiaria* está compuesto por cerca de 100 especies, aunque se distribuyen en todo el trópico, se encuentran principalmente en África (Keller-Grein *et al.*, 1998). Los hábitats en que crecen estas especies son muy variados, aunque el ambiente típico de la mayoría de las especies está en las sabanas, pudiéndose encontrar desde pantanos, bosques de sombra ligera hasta en zonas semidesérticas (Renvoize *et al.*, 1998). En la actualidad, *Brachiaria* es el género de gramíneas de más amplia difusión en Colombia y en general en los sistemas ganaderos del trópico latinoamericano (Rivas y Hollman, 2004b). Su rápida difusión en las regiones ganaderas de Colombia se debe al amplio rango de adaptación agronómica, la calidad nutritiva y la alta productividad (Rivas y Holmann, 2004b).

Entre las diversas especies de *Brachiaria* sembradas en el trópico, *B. ruziziensis* y *B. humidicola* se encuentran probablemente entre las gramíneas forrajeras más sembradas (Fischer and Kerridge, 1998). Ambas especies figuran entre los materiales forrajeros liberados por las instituciones de investigación de la región y que se insertaron con relativo éxito en los sistemas ganaderos del trópico latinoamericano (Rivas y Holmann, 2004a). *B. ruziziensis* es nativa del Valle de Ruzi (Congo) y de Burundi, pero se ha difundido ampliamente en los países tropicales;

es un forraje altamente palatable, de alto valor nutritivo, produce abundante semilla pero necesita suelos fértiles y de buen drenaje, es también altamente susceptible al salivazo (Keller-Grein *et al.*, 1998), presenta varios racimos dispersos a lo largo del eje central, raquis bastante alado con un solo lado, espiguillas solitarias grandes y turgentes, en pedicelos cortos, formando una hilera densa y extendida (Renvoize *et al.*, 1998). Por su parte *B. humidicola* se cree que es originaria de Zambia, es un cultivar agresivo que forma un césped denso y suprime todas las malezas, tolera pastoreo intensivo y la sombra, se adapta a suelos ácidos poco fértiles y mal drenados, además presenta un hábito de crecimiento fuertemente estolonífero, la calidad forrajera es baja, siendo muy inferior a *B. ruziziensis* (Keller-Grein *et al.*, 1998), presenta de uno a cuatro racimos esparcidos en el eje central, erguidos o extendidos, raquis muy angosto casi triangular y espiguillas elípticas (Renvoize *et al.*, 1998).

Problemas asociados a inundaciones

Globalmente las inundaciones afectan económica y socialmente a más de 60 millones de personas cada año. Los ciclos de inundación tienden a ocurrir en intervalos regulares, esos ciclos parecen ser impulsados por grandes patrones climáticos como el calentamiento cíclico de los océanos (FAO y CIFOR, 2005).

En 1998 las inundaciones en las cercanías al río Yangtze devastaron grandes áreas de China, resultando en daños superiores a los US\$ 30 billones; entre Enero y Agosto de 2004, 46 millones de personas fueron afectadas por inundaciones en China; las inundaciones en el año 2000 afectaron 3.5 millones de personas en Cambodia (un tercio de la población) y 5 millones en Viet Nam, las pérdidas alcanzaron US\$ 145 millones y US\$285 millones respectivamente, en el mismo año las inundaciones en Bangladesh e India desplazaron más de 5 y 30 millones de personas respectivamente (FAO y CIFOR, 2005).

En Colombia, tras la ola invernal, entre septiembre de 2010 y mayo de 2011 se encontraron inundadas un excedente de 1'642.108 hectáreas, la mayor proporción del área inundada se presentó en la zona norte y en parte de las zonas central y sur del país; de esta cantidad, el

71% de las inundaciones extraordinarias se concentró en pastos y áreas agrícolas heterogéneas (Cepal, 2012). Durante este periodo, cerca de 2.068.385 animales habrían resultado afectados por las inundaciones, ya que debieron permanecer varios días o semanas en las tierras inundadas, cuyos pastos estaban cubiertos por una lámina de agua que les impidió el crecimiento y dificultó la alimentación del ganado. El valor del perjuicio sufrido por el inventario de ganado durante este periodo sería de 108.652 millones de pesos y el total de daños producidos como consecuencia de la ola invernal en esta valoración alcanza 11,2 billones de pesos (Cepal, 2012).

Aunque las inundaciones generan grandes repercusiones sobre los sistemas de producción agraria, éstas no pueden y no deben ser completamente controladas, ya que son importantes para mantener la biodiversidad, los bancos de peces y la fertilidad de los suelos de algunas planicies. Por ejemplo, algunas siembras de arroz dependen de las inundaciones temporales en algunos países de Asia (FAO y CIFOR, 2005).

***Brachiaria*, respuestas a suelos inundados y mecanismos de adaptación**

En la producción ganadera de las zonas húmedas de América Latina principalmente se utilizan diferentes especies de pastos de *Brachiaria* (Argel y Keller-Grein, 1988).

Existen diversos mecanismos fisiológicos que tienen las plantas para hacer frente a la falta de oxígeno en el suelo a causa de las inundaciones. Estos mecanismos son diversos y pueden agruparse en rasgos adaptativos relacionados con fenología, morfología y anatomía, nutrición, metabolismo incluyendo catabolismo anaeróbico y tolerancia a anoxia y finalmente daño y recuperación post-inundación (Setter y Waters, 2003).

Aunque en los últimos años diversos autores han trabajado en la búsqueda de rasgos de tolerancia a inundación en diferentes especies vegetales, hay muy poca información publicada sobre las respuestas de *Brachiaria* spp. al estrés ocasionado por la inundación (Baruch, 1994a; Baruch, 1994b; Baruch y Merida, 1995; Dias-Filho y Carvalho, 2000; Dias-Filho, 2002, Caetano y

Dias-Filho, 2008). Estudios comparativos han clasificado a *B. humidicola* como tolerante (Dias-Filho y Carvalho, 2000) y *B. ruziziensis* como sensible (Caetano y Dias-Filho, 2008) a suelos inundados. *B. humidicola* presenta menos reducción en crecimiento, intercambio gaseoso y clorofila en condiciones de inundación que otras especies de *Brachiaria* (p.e. *B. decumbens* y *B. brizantha*) (Dias-Filho y Carvalho, 2000). Por otra parte, *B. ruziziensis* presenta mayores grados de reducción en crecimiento que accesiones de *B. brizantha* (Caetano y Dias-Filho, 2008). Hasta el momento, no hay estudios publicados que traten sobre mecanismos adaptativos de genotipos contrastantes de *Brachiaria* a suelos inundados. La profundización en el entendimiento de los mecanismos de adaptación a suelos inundados en genotipos contrastantes de *Brachiaria* es necesaria para el desarrollo de métodos confiables, rápidos y robustos de tamizado por tolerancia a inundación, como parte del proceso de mejoramiento genético en *Brachiaria* llevado actualmente por CIAT y Embrapa.

Referencias

Argel P. J. y Keller-Grein G. 1998. Experiencia regional con *Brachiaria*: Región de América Tropical – Tierras bajas húmedas. P 226 – 246. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Baruch Z. 1994a. Responses to drought and flooding in tropical forage grasses. I. Biomass allocation, leaf growth and mineral nutrients. *Plant and Soil* 164: 87 - 96.

Baruch Z. 1994b. Responses to drought and flooding in tropical forage grasses. II. Leaf water potential, photosynthesis rate and alcohol dehydrogenase activity. *Plant and Soil* 164: 97 - 105.

Baruch Z. y Merida T. 1995. Effects of drought and flooding on root anatomy in four tropical grasses. *International Journal of Plant Science*. 156: 514 - 521.

Caetano L. P. S. y M. B. Dias-Filho. 2008. Responses of six *Brachiaria* spp. accessions to root zone flooding. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 37: 795-801.

Cepal (Comisión Económica para América Latina y el Caribe). 2012. *Valoración de daños y pérdidas. Ola invernal en Colombia, 2010-2011*. Bogotá: Misión BID - Cepal.

Dias-Filho M. B. y Carvalho C. J. R. 2000. Physiological and morphological responses of *Brachiaria* spp. to flooding. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 10: 1959-1966.

Dias-Filho M. B. 2002. Tolerance to flooding in five *Brachiaria brizantha* accessions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 439-447.

FAO. 2013. Food and agriculture organization of the united nations. FAOSTAT, disponible en línea: <http://faostat.fao.org/site/377/default.aspx#ancor>.

FAO y CIFOR. 2005. Forests and floods Drowning in fiction or thriving on facts? RAP publication, forest perspectives 2. ISBN 979-3361-64-6.

Fischer M. J. y Kerridge P. C. 1998. Agronomía y fisiología de las especies de *Brachiaria*. P 46 – 57. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Holmann F., P. Argel y E. Pérez. 2008. Impacto de la adopción de forrajes mejorados en fincas de pequeños productores en Centroamérica. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute (ILRI). 17 p. (Documento de trabajo no. 208).

Keller-Grein G., B. L. Mass y J. Hanson. 1998. Variación natural en *Brachiaria* y bancos de germoplasma existentes. 18 - 45. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Renvoize S. A., W. D. Clayton y C. H. S. Kabuye. 1998. Morfología, taxonomía y distribución natural de *Brachiaria* (Trin.) Griseb. P 1 – 17. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Rivas L. y Holmann F. 2004a. Impacto de la adopción de nuevos híbridos de *Brachiarias* resistentes al salivazo en Colombia, México y Centroamérica. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute (ILRI). 28 p. (Documento de trabajo no. 195).

Rivas L. y Holmann F. 2004b. Impacto Económico Potencial de la Adopción de Nuevos Híbridos de *Brachiaria* Resistentes a Salivazo en los Llanos Orientales y la Costa Norte de Colombia. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute (ILRI). 32 p. (Documento de trabajo no. 199).

Setter T.L. y Waters I. 2003. Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant and Soil* 253: 1–34.

I. Acumulación de minerales en genotipos contrastantes de *Brachiaria* spp. en la adaptación a inundación y fertilidad del suelo

Juan de la Cruz Jiménez^{1,2}, Juan Andrés Cardoso¹, David Arango¹, Gerhard Fischer² e Idupulapati Rao¹

¹ Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali, Colombia

² Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Resumen

Como consecuencia del calentamiento global, en algunas regiones alrededor del mundo se prevén aumentos en las precipitaciones. Esto, unido a malos drenajes, provocan inundaciones que afectan la productividad de los cultivos. Constantemente los sistemas de producción de forrajes enfrentan condiciones adversas que limitan su crecimiento y producción, uno de los mayores limitantes es la disponibilidad adecuada de nutrientes. La finalidad de este estudio fue evaluar la respuesta de *Brachiaria ruziziensis* (sensible a inundación) y *Brachiaria humidicola* (tolerante a inundación) en dos regímenes de fertilidad del suelo (alta y baja). Quince días después de inundación (ddi), las concentraciones de algunos nutrientes en suelo presentaron un gran aumento con respecto a las condiciones control, siendo más pronunciado este aumento en condiciones de alta fertilidad. En fertilidad baja, al segundo ddi el potencial redox indicó que ya no había oxígeno disponible en el suelo. En fertilidad alta el oxígeno molecular desapareció después del tercer ddi. En *B. ruziziensis* algunos parámetros fisiológicos fueron afectados significativamente cuando fue sometida a inundación. Al contrario, *B. humidicola* no se mostró afectada por la inundación. En condiciones de baja fertilidad, *B. ruziziensis* presenta baja producción. *B. humidicola* en condiciones de inundación presenta un nivel bajo en la concentración de minerales, indicando su gran uso eficiente en la absorción de minerales y su posible habilidad en la exclusión de elementos tóxicos.

Palabras clave: *Brachiaria*, fertilidad contrastante, inundación, producción, contenido de nutrientes, carbohidratos totales no estructurales.

Abstract

Due to climate change, in some regions around the world it is expected that increases in the rainfall in combination with poor drainage will result in waterlogging, which affects crop yield. Production in forage systems constantly faces adverse conditions that limit plant growth and yield and one of the most limiting factors is adequate nutrient availability. The purpose of this study was to assess the response of *Brachiaria ruziziensis* (sensitive) and *Brachiaria humidicola* (tolerant) in two levels of soil fertility (high and low). Under low fertility, the redox potential indicated that there was no oxygen available in the soil two days after waterlogging (daw), whereas in high fertility, the molecular oxygen was not available by the third daw. In *B. ruziziensis*, some physiological parameters were significantly affected under waterlogging treatment, whereas *B. humidicola* was not much affected. Under low soil fertility *B. ruziziensis* showed lower yield. *B. humidicola* showed a low level of minerals concentration under waterlogging treatment indicating its greater mineral use efficiency and their ability for exclusion of toxic elements.

Key words: *Brachiaria*, contrasting fertility, waterlogging, yield, nutrients, total non-structural carbohydrates.

Introducción

Se ha previsto que las inundaciones aumentarán en magnitud y frecuencia como consecuencia del calentamiento global, pudiendo llegar a convertirse en una de las más severas adversidades para la producción de cultivos en muchas regiones (Jiang *et al.*, 2008). Algunos fenómenos meteorológicos extremos, asociados al cambio climático, permiten predecir niveles elevados de vulnerabilidad ante las inundaciones (IPCC, 2007). Bajo condiciones normales de cultivo, los

forrajes constantemente enfrentan condiciones de inundación y baja fertilidad de los suelos. Esto reduce en gran medida la capacidad de producción y el rendimiento de los cultivos y del ganado. Bajo condiciones de inundación, el crecimiento y producción de las pasturas cesa, el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética disminuyen, acelerando la senectud de las hojas y posiblemente ocasionando la muerte de las plantas.

El mayor limitante en la vida productiva de las pasturas es la disponibilidad de nitrógeno (Rao *et al.*, 1998; 1999), seguido de un pobre manejo en la fertilización y un pastoreo excesivo (Boddey *et al.*, 2004). Aunque la aplicación de fertilizantes puede corregir los problemas por deficiencias de nutrientes, desde el punto de vista económico es inviable debido a que el nutriente en el suelo dura poco tiempo y se hace necesaria una aplicación continua (Boddey *et al.*, 1998). De Oliveira *et al.* (2001) demostraron que se puede recuperar el crecimiento de las pasturas degradadas con la aplicación de N. Por otra parte, aplicaciones de P en mezcla con K, S, Ca y Mg pero sin N, no fueron efectivas para recuperar las pasturas degradadas. La mayoría de especies comerciales de *Brachiaria* se adaptan a los suelos de baja fertilidad del trópico debido a que han desarrollado algunos atributos o habilidades como el crecimiento radical a expensas del crecimiento de la parte aérea, la adquisición y uso de ambas formas del N (NO_3 y NH_4), obtención de N mediante fijación asociativa entre otros (Rao *et al.*, 1998).

Brachiaria humidicola y *Brachiaria ruziziensis* se encuentran probablemente entre las 5 gramíneas forrajeras más sembradas en el trópico (Fischer and Kerridge, 1998). Particularmente *B. humidicola* está más adaptada a suelos con baja fertilidad y mal drenados pero presenta bajo valor nutritivo. Por el contrario, *B. ruziziensis* requiere suelos fértiles con buen drenaje y representa un forraje de buena calidad nutritiva.

Aunque poco se conoce sobre el comportamiento nutricional de estas especies, Alvim *et al.* (1990) encontraron que *B. humidicola* y *B. ruziziensis* presentan una menor respuesta a la aplicación de N que otras especies de *Brachiaria*.

La difusión de gases en suelos inundados es aproximadamente 10.000 veces más baja que en el aire (Koppitz, 2004). Consecuentemente, al presentarse la inundación se reduce la cantidad de oxígeno presente en el suelo, lo que afecta la respiración de las plantas y por ende su estado

energético (Kulichikin *et al.*, 2008). La duración de la inundación puede variar grandemente dependiendo de la cantidad de lluvia, la evapotranspiración y la estructura del suelo (Malik *et al.*, 2002). A causa del déficit de oxígeno en el suelo, se inhibe la respiración mitocondrial, la oxidación y los procesos de oxigenación en la planta (Koppitz, 2004), viéndose notablemente afectado su metabolismo (Kulichikin *et al.*, 2008; Sairam *et al.*, 2008).

Con el tiempo de inundación, el suelo gradualmente pierde la mayoría o todo el oxígeno disponible, se incrementa la concentración de gases (CO₂ y etileno), se acumulan fitotoxinas, ciertos microelementos son reducidos y se incrementa su concentración en el suelo (Setter y Waters, 2003). Así mismo algunos microorganismos pueden usar otros aceptores de electrones diferentes al oxígeno para su respiración oxidativa (Stieger y Feller, 1994). Por tanto, los electrones de algunas moléculas son gradualmente consumidos, dando lugar a reacciones redox, iniciando en un estado poco reducido donde ocurre la desnitrificación (transferencia de electrones al nitrato, 300 mV), seguido por la reducción de Mn⁴⁺ a Mn²⁺ (100 – 200 mV), continuando con la reducción de Fe³⁺ a Fe²⁺ (100 – 200 mV), seguido por la reducción de SO₄²⁻ a sulfuro de hidrogeno (H₂S) (-100, -200 mV) y luego la reducción de CO₂ a metano (CH₄) (-200, -300 mV) (Setter y Belford, 1990; Chapin *et al.*, 2002; Barrett-Lennard, 2003).

También se modifica la solubilidad de algunos elementos (Unger *et al.*, 2009), afectando la disponibilidad para la planta (Taiz y Zeiger, 2006). Por otra parte el micronutriente Zinc o los macronutrientes (Ca, K, Mg, P) no son objeto de reducción y solubilización en el suelo bajo condiciones de anaerobiosis (Stieger y Feller, 1994), por tanto no son sensibles a cambios en el potencial redox.

En términos generales, bajo condiciones de inundación se afecta la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Stieger y Feller, 1994; Unger *et al.*, 2009). Esto es debido a que se inhibe la actividad de algunas enzimas presentes en el suelo como la β-D-glucosidasa, la fluorescín diacetato, la arylsulfatasa y la actividad fosfatasa ácida y alcalina, involucradas en los ciclos del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre en el suelo (Xiao-Chang y Qin, 2006). Así mismo se presenta una baja absorción de nutrientes por parte de la planta (Armstrong y Drew, 2002) posiblemente debido a que se afecta la actividad radicular (Stieger y Feller, 1994) o por falta de

energía para activar la absorción de iones ya que el metabolismo anaeróbico genera menos energía que las vías aeróbicas (George *et al.*, 2012).

Aunque no se han establecido prácticas agronómicas para contrarrestar los efectos de la inundación, diversas investigaciones indican que el crecimiento en las plantas que se encuentran bajo condiciones de deficiencia de oxígeno podría ser mejorado cuando se incrementa el suplemento de nutrientes (Day, 1987; Huang *et al.*, 1995; Xie *et al.*, 2009).

Las toxicidades de microelementos en suelo pueden ser un factor clave asociado con tolerancia a inundación en diversos ambientes; el rango de variabilidad en tolerancia a inundación de una especie puede depender de la predisposición del suelo a una o más toxicidades de microelementos (Khabaz-Saberi *et al.*, 2006). De la misma forma, la investigación en la posible toxicidad de elementos durante inundación es la gran prioridad para futuros trabajos en tolerancia de las plantas a inundación (Setter *et al.*, 2009).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inundación en dos regímenes contrastantes de fertilidad del suelo, con el fin de establecer como es el comportamiento de algunas especies de *Brachiaria* bajo determinadas condiciones y poder generar conocimiento en la búsqueda de soluciones para enfrentar eventos extremos de inundación generados por el cambio climático.

Materiales y Métodos

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se seleccionó material vegetativo de los genotipos *Brachiaria humidicola* (CIAT679) y *Brachiaria ruziziensis* (Br4402) que presentaban condiciones uniformes de crecimiento, sin daños visuales y buen vigor. Se plantaron dos estolones de cada genotipo en potes plásticos (15,8 cm de alto, 20 cm de diámetro superior y 15,5 cm de diámetro inferior) que contenían 3,5 kg de suelo Oxisol colectado en la finca Matazul, en la altillanura plana de los llanos orientales de Colombia,

clasificado como Typic Haplustox Isohipertérmicos caoliníticos (Soil Survey Staff, 1994), mezclado con arena de río lavada y tamizada en una proporción 2:1.

Las plantas crecieron en el patio de forrajes del Centro Internacional de Agricultura Tropical (temperatura media 24.2 °C, humedad relativa 59.7%, radiación 15.9 MJ m⁻² d⁻¹, brillo solar efectivo 4.1 h) durante 50 días en óptimas condiciones de humedad bajo dos regímenes de fertilidad contrastantes, se aplicaron dosis de 0 Kg h⁻¹ N, 20 Kg h⁻¹ P, 20 Kg h⁻¹ K, 47 Kg h⁻¹ Ca, 14,2 Kg h⁻¹ Mg, 10 Kg h⁻¹ S y 0 Kg h⁻¹ Zn, Cu, B y Mo para fertilidad baja y dosis de 40 Kg h⁻¹ N, 50 Kg h⁻¹ P, 100 Kg h⁻¹ K, 101 Kg h⁻¹ Ca, 28,4 Kg h⁻¹ Mg, 20 Kg h⁻¹ S, 2 Kg h⁻¹ Zn, 2 Kg h⁻¹ Cu, 0,1 Kg h⁻¹ B y 0,1 Kg h⁻¹ Mo para fertilidad alta (Rao *et al.*, 1992). Se realizó un diseño de bloques completos al azar con estructura factorial, 3 repeticiones y 4 tratamientos (Control, inundación, fertilidad alta y fertilidad baja).

Después del establecimiento se aplicaron los tratamientos inundación y control durante 15 días. Para el tratamiento de inundación se introdujeron los potes dentro de recipientes de mayor diámetro y se cubrieron con bolsas plásticas. El suelo se saturó con agua hasta garantizar una lámina de 2 cm por encima de la superficie del suelo. Para el tratamiento control se introdujeron los potes dentro de los recipientes más grandes pero sin cubrir con bolsas plásticas y se regaron constantemente para mantener una humedad entre el 80 – 100% de la capacidad de campo.

Componentes de rendimiento

Al finalizar los 15 días de inundación se realizaron mediciones de clorofila en unidades SPAD, con el clorofilometro (SPAD 502, Konica minolta, Tokyo, Japón) y de eficiencia fotosintética con el fluorpen Fp100 (Photon Systems Instruments, Drásov, República Checa). En la cosecha se eliminaron las hojas muertas, se midió el área foliar en el equipo licor Li-3100 (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA). Finalmente, el tallo y las hojas verdes se llevan a estufa de aire circundante a 60° durante 3 días para su posterior determinación de peso seco.

Análisis de suelos

La determinación de nutrientes en suelo se realizó en el laboratorio de servicios analíticos de CIAT. El suelo se secó al aire y posteriormente se tamizó en maya de 2 mm. El contenido de materia orgánica (MO) se extrajo utilizando el método de oxidación con $K_2Cr_2O_7$ y H_2SO_4 y la determinación se realizó por espectrofotometría molecular automatizada. Los nutrientes Ca, Mg y K se extrajeron con 1M KCl y se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica. Los micronutrientes fueron extraídos con HCl, H_2SO_4 , $Ca_3(PO_4)_2$ y agua caliente, la determinación se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica y molecular manual.

Potencial redox

Las mediciones de potencial redox se realizaron en potes plásticos con la misma mezcla de suelo y los mismos tratamientos introduciendo un electrodo de platino y un electrodo de referencia conectado a un microvoltímetro (Eijkelkamp, Giesbeek, Países Bajos). Se tomaron mediciones secuenciales desde el inicio hasta el final del experimento.

Análisis de nutrientes

La determinación de nutrientes en tejidos se realizó en el laboratorio de servicios analíticos de CIAT. Tallos y hojas secas se mezclaron y molieron para pasar por un tamiz de malla de 40 líneas. Las muestras molidas posteriormente se digirieron en solución ácida (ácido perclórico-sulfúrico). Los contenidos de Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn y Zn se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica y los contenidos de P, B y N por espectrometría. La determinación de carbohidratos totales no estructurales se realizó en el laboratorio de nutrición de plantas de CIAT, digestando las muestras en NaOH, coloreando con antrona y tiourea en solución ácida y comparando con un patrón de glucosa.

Análisis estadístico

En las pruebas estadísticas de comparación se utilizó la librería Agricolae del software estadístico R (R® core development team, 2008). Inicialmente se realizó un análisis de varianza

(anova) para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos y las diferentes variables de estudio. Una vez identificadas las diferencias en el anova, se realizó un análisis postanova por medio de la prueba de Duncan para observar diferencias en los tratamientos y su efecto en cada una de las variables.

Resultados

Después de 15 días de inundación, las concentraciones de los minerales Ca, P, Cu, Fe y Mn en suelo presentan un aumento bajo condiciones de inundación con respecto al control, siendo más pronunciado este aumento en condiciones de alta fertilidad (Tabla 1). Así mismo, el S en suelo presentó un descenso y los minerales Mg, K, P, B, Zn y la materia orgánica en suelo no presentaron cambios pronunciados después de la inundación (Tabla 1).

Tabla 1. Cambios en los contenidos de nutrientes en suelo en relación a la inundación y la fertilidad.

Tratamientos	Fertilización	MO	Ca	Mg	K	P	B	S	Cu	Fe	Mn	Zn
		(g/kg)	(cmol/kg)			(mg/kg)						
Control	Baja	26.91	0.41	0.12	0.06	4.74	1.10	27.34	0.13	35.75	0.47	0.35
	Alta	27.97	0.52	0.15	0.14	12.64	0.87	28.05	0.66	42.10	0.55	0.79
Inundación	Baja	26.92	0.91	0.16	0.06	12.72	1.38	22.64	0.27	315.57	1.88	0.54
	Alta	27.76	0.97	0.18	0.11	13.87	0.56	20.44	0.70	326.10	2.02	0.96

En nuestro estudio, bajo condiciones de fertilidad alta, el potencial redox en el suelo disminuyó por debajo de 350 mV desde el tercer día después de inundación (Figura 1). En fertilidad baja el potencial redox disminuyó desde el segundo día después de inundación a valores inferiores a 300 mV (Figura 1). En condiciones control el potencial redox permaneció constante y en niveles elevados (500 – 600 mV) (Figura 1), indicando que no hubo cambios en condiciones adecuadas de aireación de suelo.

Componentes de rendimiento

B. ruziziensis en condiciones de drenaje y alta fertilidad presentó los mejores rendimientos de acuerdo a su área foliar y biomasa verde (Tabla 1). La reducción del área foliar en *B. ruziziensis* en condiciones de baja fertilidad e inundación es de un 77% respecto al control en fertilidad baja (Tabla 1). Así mismo, la reducción de la biomasa aérea en *B. ruziziensis* bajo condiciones de baja fertilidad e inundación es de un 72% respecto al control en fertilidad baja (Tabla 1).

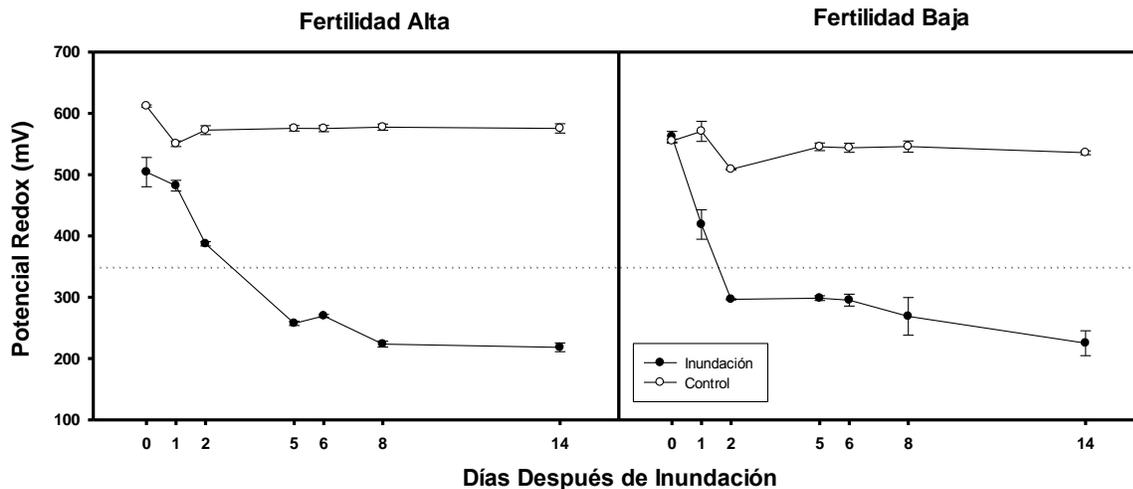


Figura 1. Potencial redox en un suelo oxisol bajo dos condiciones de fertilidad y régimen hídrico. Línea punteada indica ausencia de oxígeno en el suelo.

B. ruziziensis en fertilidad alta e inundación redujo su área foliar en 91% respecto al control en fertilidad alta (Tabla 1). En condiciones de inundación y fertilidad alta, *B. ruziziensis* reduce en 86% su biomasa aérea respecto al control en fertilidad alta.

B. humidicola bajo condiciones de fertilidad alta e inundación presentó una reducción de 42% de su área foliar y 26% de su biomasa respecto al control en fertilidad alta (Tabla 1). Por otra parte, *B. humidicola* bajo condiciones de fertilidad baja e inundación disminuyó su área foliar 21% y su biomasa en 11% respecto al control en fertilidad baja (Tabla 1). Con respecto a *B. ruziziensis*, el genotipo *B. humidicola* presentó una menor producción de biomasa en condiciones de drenaje irrespectivamente de la fertilidad (Tabla 1).

En condiciones de inundación y fertilidad baja, *B. ruzizensis* presentó una leve disminución en los niveles de rendimiento cuántico y clorofila, sin presentar diferencia significativa respecto a las condiciones control. Al contrario, *B. ruzizensis* en condiciones de inundación y fertilidad alta, presentó una disminución significativa en los niveles de eficiencia fotosintética y clorofila (Tabla 1). No hubo diferencias significativas en eficiencia fotosintética o clorofila para *B. humidicola* o *B. ruzizensis* entre los dos niveles de fertilidad en condiciones de control (Tabla 1).

Tabla 2. Área foliar, biomasa verde seca, eficiencia fotosintética y clorofila afectado por la inundación y el suplemento de nutrientes en dos genotipos de *Brachiaria*.

Genotipo	Tratamiento	Fertilidad	Área Foliar (cm ² . planta)	Biomasa (g . planta)	Eficiencia	
					fotosintética (fv'/fm')	Clorofila (SPAD)
<i>B. ruzizensis</i>	Control	Alta	735,15 a	5,54 a	0,4318 a	40,62 ab
		Baja	235,91 b	1,93 bc	0,2845 ab	39,72 ab
	Inundación	Alta	63,81 c	0,76 d	0,0000 c	12,00 c
		Baja	53,43 c	0,53 d	0,0918 bc	28,90 b
<i>B. humidicola</i>	Control	Alta	225,00 b	2,74 b	0,4634 a	48,98 a
		Baja	140,72 bc	1,93 bc	0,4852 a	45,42 a
	Inundación	Alta	131,15 bc	2,02 bc	0,5002 a	47,93 a
		Baja	110,88 bc	1,72 c	0,4264 a	43,68 a

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan (P≤0,05).

El factor genotipo presentó diferencias significativas en la mayoría de los nutrientes (Tabla 2). En contraste, la fertilidad únicamente muestra diferencias significativas para N y S (Tabla 2). Para el factor tratamientos (inundación y control) se presentaron diferencias significativas para K, Mg, S, B, Fe y Mn (Tabla 2). Se observó un efecto significativo en la interacción de los 2 genotipos x los 2 tratamientos en N, Ca, S, B, Fe, Mn y Zn (Tabla 2). Al contrastar el efecto de la fertilidad y los tratamientos solo hubo diferencias significantes en K, S y B (Tabla 2). En la triple interacción entre factores genotipo x tratamiento x fertilidad solo se presentaron diferencias significativas en S y Fe (Tabla 2).

Acumulación de nitrógeno

La concentración de N en la biomasa aérea presentó diferencias significativas en los genotipos, los niveles de fertilidad y las interacciones genotipo x fertilidad y genotipo x tratamiento (Tabla 3). En *B. ruziziensis* en fertilidad alta e inundación, la concentración de N aumenta significativamente respecto al control, en fertilidad baja e inundación no se presentan cambios significativos respecto al control (Figura 2). En *B. ruziziensis* en fertilidad baja e independiente del tratamiento, el contenido de N en la biomasa aérea es mayor que en condiciones de fertilidad alta y control (Figura 2). La concentración de N en *B. humidicola* bajo inundación no presenta cambios significativos respecto al control en ningún nivel de fertilidad (Figura 2). En condiciones de inundación y en ambos niveles de fertilidad, la concentración de N en tallos y hojas fue significativamente mayor en *B. ruziziensis* que en *B. humidicola* (Figura 2).

Tabla 3. Niveles de significancia estadística para los principales efectos de genotipo, fertilidad, tratamientos y sus interacciones en el contenido de nutrientes en la biomasa aérea.

Factores	Elementos minerales											
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Fe	Mn	Cu	Zn	CTN
Genotipo (G)	***	*	**	***	***	***	*	**	ns	ns	*	ns
Fertilidad (F)	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tratamiento (T)	ns	ns	*	ns	***	***	*	*	***	ns	ns	ns
G x F	**	**	**	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns	*	*
G x T	**	ns	ns	*	ns	*	**	*	***	ns	*	ns
F x T	ns	ns	**	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
G x F x T	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns

Diferencias significativas al 0.001 “***”, 0.01 “**”, 0.1 “*”.

Acumulación de fosforo

La concentración de P en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos y la interacción genotipo x fertilidad (Tabla 3). En *B. ruziziensis*, la concentración de P no presenta diferencias significativas entre inundación y control en ningún nivel de fertilidad (Figura 2). En *B. ruziziensis*, bajo condiciones de fertilidad baja e inundación, el contenido de P es mayor que en fertilidad alta (Figura 2). En *B. humidicola* no se presenta ningún cambio significativo en el contenido de P en la biomasa aérea en ningún nivel de fertilidad ni

tratamiento (Figura 2). En condiciones de baja fertilidad e inundación, la concentración de P en tallos y hojas es significativamente mayor en *B. ruzizensis* que en *B. humidicola* independientemente de los tratamientos y los niveles de fertilidad (Figura 2).

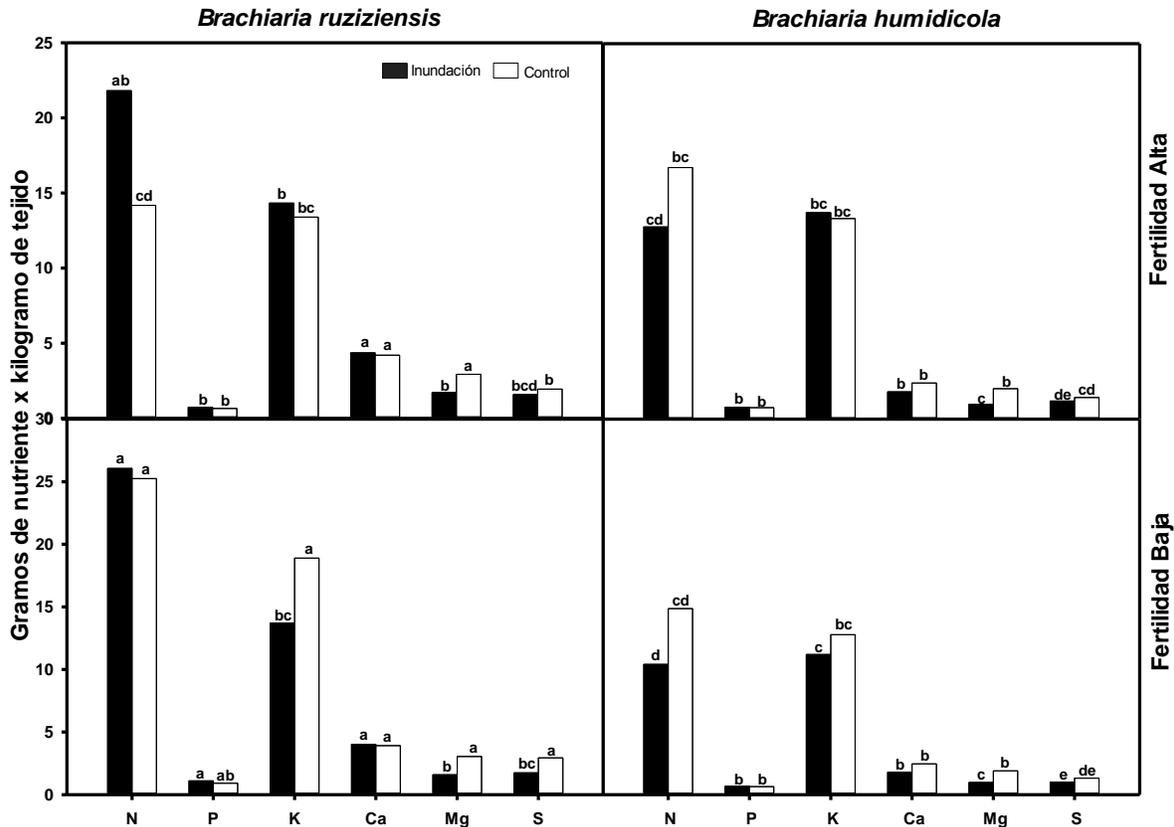


Figura 2. Concentración de macronutrientes en dos genotipos de *Brachiaria* bajo condiciones de inundación y suplemento de nutrientes. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

Acumulación de potasio

La concentración de K en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos, los dos tratamientos y las interacciones genotipo x fertilidad y fertilidad x tratamiento (Tabla 3). *B. ruzizensis* en fertilidad alta e inundación no presenta cambios significativos en la concentración de K respecto al control (Figura 2). *B. ruzizensis* en fertilidad baja e inundación disminuye significativamente el contenido de K en tejidos respecto al control

(Figura 2). En *B. ruzizensis* en fertilidad baja y control, el contenido de K en biomasa aérea es mayor que en condiciones de fertilidad alta independientemente del tratamiento (Figura 2). En *B. humidicola* no se presenta ningún cambio significativo en el contenido de K en biomasa aérea en ningún nivel de fertilidad ni tratamiento (Figura 2). En condiciones de baja fertilidad y control, la concentración de P en la biomasa aérea es significativamente mayor en *B. ruzizensis* que en *B. humidicola* independientemente de los tratamientos y los niveles de fertilidad (Figura 2).

Acumulación de calcio

La concentración de Ca en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos y la interacción genotipo x tratamiento (Tabla 3). En *B. ruzizensis* no se presenta ningún cambio significativo en el contenido de Ca en la biomasa aérea en ningún nivel de fertilidad ni tratamiento (Figura 2). Igualmente, en *B. humidicola* tampoco se presenta ningún cambio significativo en el contenido de Ca en la biomasa aérea en ningún nivel de fertilidad ni tratamiento (Figura 2). El contenido de Ca en la biomasa aérea es mayor en todos los tratamientos y niveles de fertilidad en *B. ruzizensis* que en todos los tratamientos y niveles de fertilidad en *B. humidicola* (Figura 2).

Acumulación de magnesio

La concentración de Mg en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos y los tratamientos (Tabla 3). *B. ruzizensis* y *B. humidicola* en condiciones de inundación e independiente de los niveles de fertilidad presentan una disminución significativa en el contenido de Mg en tallos y hojas con respecto al control (Figura 2). El contenido de Mg en tallos y hojas de *B. ruzizensis* en condiciones control tanto en alta como en baja fertilidad es superior a los demás tratamientos (Figura 2).

Acumulación de azufre

La concentración de S en la biomasa aérea presenta la mayor variabilidad, exhibiendo diferencias significativas en todos los factores: genotipo, tratamiento, fertilidad y sus interacciones (Tabla 3). *B. ruzizensis* en fertilidad baja e inundación presenta un descenso significativo en la concentración de S respecto al control (Figura 2). La concentración de S en tallos y hojas de *B. humidicola* en diferentes condiciones de fertilidad no presenta cambios significativos entre los diferentes tratamientos (Figura 2). En condiciones control e independiente de la fertilidad, la concentración de S en tallos y hojas es significativamente mayor en *B. ruzizensis* que en *B. humidicola* (Figura 2).

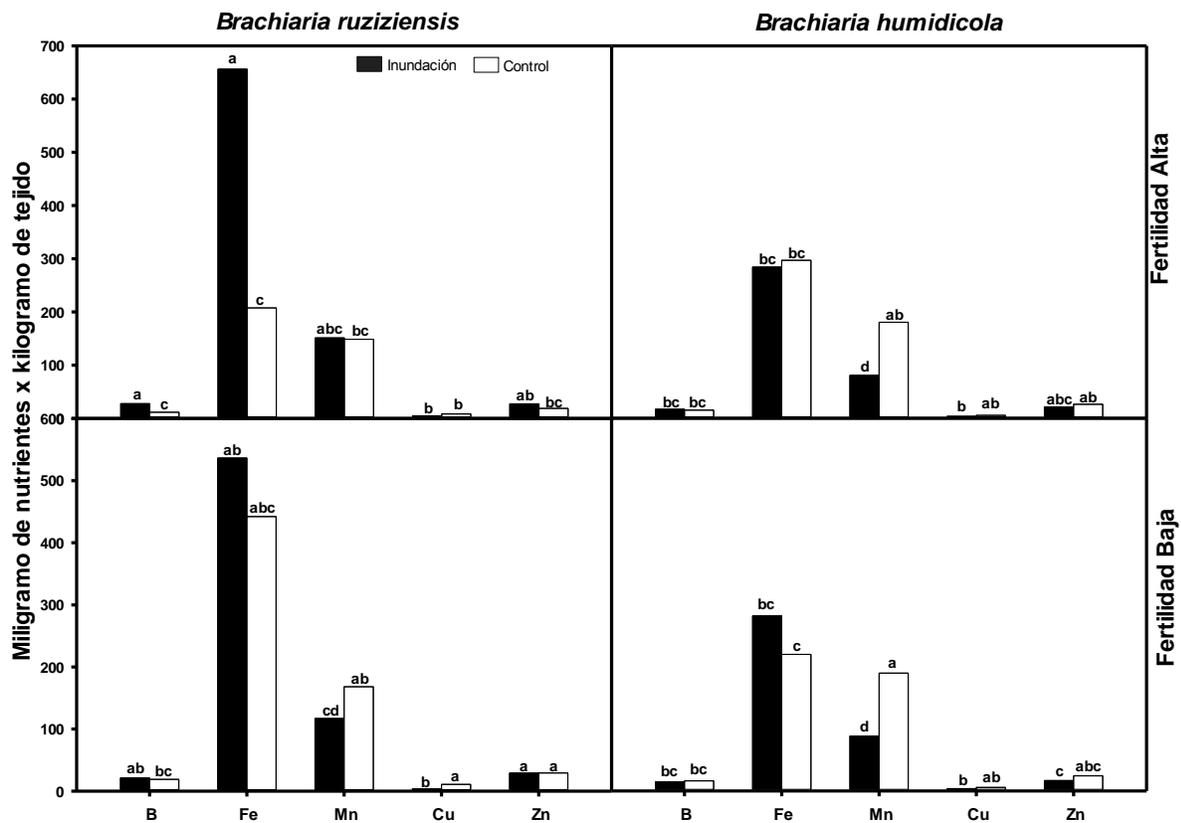


Figura 3. Concentración de microelementos en dos genotipos de *Brachiaria* bajo condiciones de inundación y suplemento de nutrientes. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

Acumulación de boro

La concentración de B en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos, los tratamientos y las interacciones genotipo x tratamiento y fertilidad x tratamiento (Tabla 3). *B. ruzizensis* en fertilidad alta e inundación presenta un aumento significativo en la concentración de B en tallos y hojas respecto al control (Figura 3). La concentración de B en tallos y hojas de *B. humidicola* en diferentes condiciones de fertilidad no presenta cambios significativos entre los diferentes tratamientos (Figura 3). *B. ruzizensis* en condiciones de fertilidad alta e inundación presentó mayor concentración en los contenidos de B en tallos y hojas que el genotipo *B. humidicola* independientemente de los tratamientos y los niveles de fertilidad (Figura 3).

Acumulación de hierro

La concentración de Fe en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos, los niveles de fertilidad y las interacciones genotipo x tratamiento y genotipo x fertilidad x tratamiento (Tabla 3). *B. ruzizensis* en fertilidad alta e inundación presentó un aumento significativo en la concentración de Fe con respecto al control (Figura 3). La concentración de Fe en tallos y hojas de *B. humidicola* en diferentes condiciones de fertilidad no presenta cambios significativos entre los diferentes tratamientos (Figura 3). *B. ruzizensis* en condiciones de inundación y en ambas fertilidades presentó mayor concentración en los contenidos de Fe que el genotipo *B. humidicola* independientemente de los tratamientos y los niveles de fertilidad (Figura 3).

Acumulación de manganeso

La concentración de Mn en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los tratamientos y la interacción genotipo x tratamiento (Tabla 3). *B. ruzizensis* en fertilidad baja e inundación disminuye significativamente las concentraciones de Mn en la biomasa aérea con respecto al control (Figura 3). *B. humidicola* en condiciones de inundación y en ambos niveles de fertilidad presenta una disminución en la concentración de Mn respecto a la condición control (Figura 3).

Acumulación de zinc

La concentración de Zn en la biomasa aérea presenta diferencias significativas entre los genotipos y las interacciones genotipo x fertilidad y genotipo x tratamiento (Tabla 3). El contenido de Zn en la biomasa aérea en *B. ruziziensis* en alta fertilidad y control es significativamente menor que en los otros tratamientos (Figura 3). La concentración de Zn en tallos y hojas de *B. humidicola* en diferentes condiciones de fertilidad no presenta cambios significativos entre los diferentes tratamientos (Figura 3).

Discusión

Se considera que la falta de oxígeno es el factor más limitante para el crecimiento de las plantas en suelos inundados (Armstrong and Drew, 2002). En los ecosistemas inundados, la condición reducida del suelo influencia en gran medida la sobrevivencia de la planta, el crecimiento y la productividad, por esto, la cuantificación del potencial redox del suelo es crítica para entender e interpretar las respuestas de las plantas a estas condiciones (Pezeshki, 2001). El potencial redox ha sido ampliamente utilizado como indicador del nivel de reducción del suelo en estudios donde se evalúa la respuesta de las plantas a inundación (Pezeshki *et al.*, 1996; Ryser *et al.*, 2011; Mendoza *et al.*, 2012).

Bajo condiciones de fertilidad alta, el potencial redox en nuestro suelo disminuyó por debajo de 350 mV desde el tercer día después de inundación (Figura 1). En fertilidad baja el potencial redox disminuyó desde el segundo día después de inundación a valores inferiores a 300 mV (Figura 1). Es generalmente aceptado que valores por debajo de 350 mV son asociados con la ausencia molecular de O₂ en suelos inundados (Setter y Waters, 2003), aunque esto depende de las condiciones climáticas y del tipo de suelo.

La inundación redujo la biomasa aérea en los genotipos evaluados, siendo en mayor proporción en el sensible *B. ruziziensis* (Tabla 2). Estudios comparativos han clasificado a *B. humidicola* como tolerante (Dias-Filho y Carvalho, 2000) y *B. ruziziensis* como sensible (Caetano y Dias-

Filho, 2008) a suelos inundados. El aumento en la senectud y la disminución de la clorofila en hojas han sido asociados con sensibilidad a suelos inundados en varias especies (Pezeshki, 1991). La gran tolerancia exhibida por *B. humidicola* es posiblemente debida a su capacidad de mantener su eficiencia fotosintética y retener el contenido de clorofila bajo condiciones de inundación (Tabla 2).

Ambas especies establecidas en fertilidad alta y posterior inundación presentaron mayor biomasa aérea y área foliar que las plantas establecidas en baja fertilidad (Tabla 2). Este comportamiento es similar al encontrado en especies de trigo contrastantes por su tolerancia a inundación (Huang *et al.*, 1995). Estos aumentos en biomasa son debidos a que un inicial desarrollo en condiciones de alta fertilidad permitió a las plantas un mejor establecimiento antes de someterse a la inundación.

Nuestros resultados indican que *B. ruzizensis* presentó un mejor comportamiento en sus parámetros fisiológicos de eficiencia fotosintética y clorofila cuando estuvo sometida a inundación y en fertilidad baja del suelo con respecto a la condición de inundación y fertilidad alta (Tabla 2). En *B. humidicola* bajo condiciones de inundación, los rasgos fisiológicos de eficiencia fotosintética y clorofila no son afectados, manteniéndose en niveles superiores tanto en alta como en baja fertilidad (Tabla 2). La eficiencia fotosintética y la clorofila son parámetros aceptados como indicadores fisiológicos que pueden determinar el estatus de las plantas en diversas condiciones. En condiciones de fertilidad baja, *B. ruzizensis* presenta baja producción, pero se muestra más tolerante a la inundación. Esto puede ser debido posiblemente a que su inicial establecimiento en un ambiente limitado, permitió el desarrollo de mecanismos de defensa para tolerar mejor la posterior inundación (p.e. la formación de aerénquima) (Evans, 2004).

Entre los principales factores que limitan el crecimiento y productividad de las pasturas se encuentran las deficiencias o toxicidades de algunos minerales (P, N, K, Ca, Mg, S y Zn) y el nivel de agua en el suelo (Rao, 2001; Xie *et al.*, 2009). Así mismo, la fertilización del suelo en periodos de inundación puede ser no adecuada para un sistema de producción de plantas, debido a que en el suelo pueden presentarse grandes incrementos de algunos elementos (Tabla

1), producto de las reacciones de óxido-reducción que ocurre en suelos inundados. Estos aumentos pueden conducir a una toxicidad en las plantas. Así mismo, en condiciones tropicales, los acelerados procesos químicos y biológicos y las altas precipitaciones resultan en la pérdida de la mayoría de los nutrientes por lixiviación (Rao, 2001).

Diversos autores han indicado que aunque la inundación reduce el crecimiento, la aplicación exógena de nutrientes presenta un efecto mejorador en las plantas (*Acer rubrum* Day, 1987; trigo Huang *et al.*, 1995; *Deyeuxia angustifolia* Xie *et al.*, 2009). A pesar de esto, la evidencia experimental en la estimulación del crecimiento de la planta por alta disponibilidad de nutrientes en ambientes inundables es escasa y los mecanismos están lejos de ser esclarecidos (Xie *et al.*, 2009).

B. ruzizensis en condiciones de fertilidad alta e inundación presentó un aumento significativo en el contenido de N (Figura 2). Bajo las mismas condiciones de fertilidad alta e inundación, *B. ruzizensis* presentó un descenso significativo en el contenido de clorofila (Tabla 2), indicando que gran parte del nitrógeno absorbido por la planta fue usado en otras funciones de la planta (p.e. producción de proteínas, aminoácidos, coenzimas, etc...) en lugar de ser utilizado en la producción de clorofila.

Contrario a nuestros datos, Malik *et al.*, (2002) encontraron que en plantas de trigo sometidas a inundación se presenta un rápido decrecimiento en la concentración de N en hojas verdes. El aumento en las concentraciones de N en tejidos de *B. ruzizensis* bajo condiciones de inundación pudo ser debido a un efecto de sobreestimación del mineral debido a que se reduce la cantidad de tejido o puede ser producto de la redistribución del nitrógeno desde las hojas senescentes hacia hojas jóvenes y tallo. El mayor contenido de N en *B. ruzizensis* con respecto a *B. humidicola* en condiciones control puede ser un indicativo de un uso más eficiente de N por parte de *B. ruzizensis*. Así mismo podría indicar que *B. ruzizensis* es un forraje de mejor calidad que *B. humidicola* (Keller-Grein *et al.*, 1998).

En *B. humidicola* bajo condiciones de inundación se presentó una disminución en la concentración de Mg en la biomasa aérea tanto en alta como en baja fertilidad (Figura 2).

Comportamiento similar al encontrado en plantas de trigo (Stieger y Feller, 1994). La disminución de Mg puede estar relacionada al exceso de Mn en suelos (Turner y Barkus, 1983).

B. ruzizensis en condiciones de fertilidad alta e inundación presentó mayor concentración en los contenidos de B, Fe y Mn que el genotipo *B. humidicola* bajo las mismas condiciones (Figura 3). Este comportamiento puede indicar que la reducción significativa en clorofila y eficiencia fotosintética exhibida por *B. ruzizensis* bajo condiciones de inundación y alta fertilidad (Tabla 2) es en parte, debida a la posible toxicidad de estos elementos, ya que en condiciones de fertilidad baja e inundación no se presentan incrementos significativos en la concentración de micronutrientes en los tejidos (Figura 3). En plantas de trigo crecidas en suelos inundados se han reportado casos similares, ya que la concentración de algunos elementos como Al, Mn, Na y Fe en tejidos se incrementa 10 o más veces en comparación con las plantas crecidas en suelos drenados (Setter *et al.*, 2009; Khabaz-Saberi *et al.*, 2006). Este comportamiento se presenta debido a que elementos como Mn, Cu, Fe, Na son redoximórficos, por tanto se aumenta su concentración en el suelo una vez se presente la inundación.

B. humidicola bajo condiciones de inundación no presentó diferencias significativas con respecto a la acumulación de microelementos (Figura 3). Esto sugiere que la especie puede presentar algún mecanismo de exclusión de micronutrientes, lo que le permite permanecer bajo condiciones de inundación sin afectar significativamente el contenido de clorofila, su eficiencia fotosintética y su producción. *B. humidicola* bajo condiciones de inundación, forma una barrera cubierta con suberina en las células de la exodermis radical (capítulo 3 de esta obra), esta barrera además de evitar la pérdida radial de oxígeno (ROL; por sus siglas en inglés) evita la entrada de posibles sustancias fitotóxicas a la raíz. Setter *et al.* (2009), señalan que la tolerancia de las especies a inundación no está exclusivamente asociada con diferencias en la capacidad de aireación de las raíces (p.e. presencia de aerénquima), sino también por rasgos asociados con tolerancia a las toxicidades por microelementos. Así mismo Close y Davidson (2003), reportan que la aclimatación de *Eucalyptus* a inundación está asociada con tolerancia a desbalances nutricionales.

Conclusiones

La respuesta de *B. humidicola* a la inundación no depende de la fertilidad del suelo. El buen comportamiento fisiológico de las especies en fertilidad baja posiblemente es debido a que el inicial establecimiento en un ambiente limitado permitió el desarrollo de mecanismos de defensa para tolerar mejor la posterior inundación. Así mismo, el estar establecidas en condiciones de fertilidad alta, se puede presentar un efecto adverso para las plantas debido a que sus demandas y requerimientos para mantener la biomasa son mayores. *B. ruzizensis* en condiciones de inundación y fertilidad alta presenta un aumento significativo en el contenido de N, B y Fe, pudiéndose generar un efecto fitotóxico en la plantas. Al contrario, *B. humidicola* en condiciones de inundación presentó un nivel bajo en la concentración de micronutrientes, lo que sugiere que esta especie puede presentar algún mecanismo de exclusión de micronutrientes lo que le permite permanecer bajo condiciones de inundación sin afectar significativamente sus parámetros fisiológicos y su producción. Por tanto, un aumento en la fertilización del suelo no ayudaría a aumentar los niveles de minerales absorbidos por los tejidos.

Referencias

Alvim M. J., M. de A. Botrel, R. S. Verneque y J. A. Salvati. 1990. Aplicação de nitrogênio em acessos de Brachiaria, efeito sobre a produção de materia seca. Pasturas Tropicales 12(2): 2 – 6.

Armstrong W. y Drew M. C. 2002. Root growth and metabolism under oxygen Deficiency. En: Plant Roots: The hidden half (3rd Edición). Editores: Yoav Waisel, Amram Eshel y Uzi Kafafi Published by Marcel Dekker, New York & Basel pp.729 - 761.

Barrett-Lennard E. G. 2003. The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. Plant and Soil 253: 35 – 54.

Boddey R. M., I. M. Rao, R. J. Thomas. 1998. Reciclaje de nutrientes e impacto ambiental de las pasturas de *Brachiaria*. p 79 – 95. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (Ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Boddey R. M., R. Macedo, R. M. Tarré, E. Ferreira, O. C. de Oliveira, C. de P. Rezende, R. B. Cantarutti, J. M. Pereira, B. J. R. Alves, S. Urquiaga. 2004. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103: 389 – 403.

Caetano L. P. S. y M. B. Dias-Filho. 2008. Responses of six *Brachiaria* spp. accessions to root zone flooding. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 37: 795-801.

Chapin III F. C., P. Matson y H. A. Mooney. 2002. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer, New York.

Close D. C. y Davidson N. J. 2003. Long-Term Waterlogging: Nutrient, Gas Exchange, Photochemical and Pigment Characteristics of *Eucalyptus nitens* Saplings. *Russian Journal of Plant Physiology* 50(6): 843 – 847.

Day F. P. 1987. Effects of flooding and nutrient enrichment on biomass allocation in *Acer rubrum* seedlings. *American Journal of Botany* 74 (10): 1541 – 1554.

De Oliveira O. C., I. P. de Oliveira, E. Ferreira, B. J. R. Alves, C. H. B. Miranda, L. Vilela, S. Urquiaga. 2001. Response of degraded pastures in the Brazilian Cerrado to chemical fertilization. *Pasturas Tropicales*. 23: 14 – 18.

Dias-Filho M. B. y Carvalho C. J. R. 2000. Physiological and morphological responses of *Brachiaria* spp. to flooding. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 10: 1959-1966.

Evans D. E. 2004. Aerenchyma formation. *New Phytologist* 161: 35 – 49

Fischer M. J. and Kerridge P. C. 1998. Agronomía y fisiología de las especies de *Brachiaria*. P 46 – 57. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (Ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

George E., W. J. Horst y E. Neumann. 2012. Adaptation of plant to adverse chemical soil conditions. En Marschner P. (Ed). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. (3^{ra} edición) Academic Press, London.

Huang B., J. W. Johnson, D. S. NeSmith y D. C. Bridges. 1995. Nutrient accumulation and distribution of wheat genotypes in response to waterlogging and nutrient supply. *Plant and soil* 173: 47 – 54.

IPCC. 2007. *Climate Change 2007: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Jiang D., X. Fan, T. Dai y W. Cao. 2008. Nitrogen fertiliser rate and post-anthesis waterlogging effects on carbohydrate and nitrogen dynamics in wheat. *Plant and Soil* 304: 301–314.

Keller-Grein G., B. L. Mass y J. Hanson. 1998. Variación natural en *Brachiaria* y bancos de germoplasma existentes. 18 - 45. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (Ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Khabaz-Saberi H., T. L. Setter y I. Waters. 2006. Waterlogging induces high to toxic concentrations of iron, aluminum, and manganese in wheat varieties on acidic soil. *Journal of Plant Nutrition*, 29: 899 – 911.

Koppitz, H. 2004. Effects of flooding on the amino acid and carbohydrate patterns of *Phragmites australis*. *Limnologica* 34, 37-47.

Kulichikhin K. Y., T. V. Chirkova y K. Fagerstedt. 2008. Intracellular pH in rice and wheat root tips under hypoxic and anoxic conditions. *Plant Signal Behavior* 3: 240–242.

Malik A. I., T. D. Colmer, H. Lambers, T. L. Setter y M. Schortermeyer. 2002. Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytologist* 153: 225 – 236.

Mendoza U. N., C. Cordeiro da Cruz, M. P. Menezes y R. J. Lara. 2012. Flooding effects on phosphorus dynamics in an Amazonian mangrove forest, Northern Brazil. *Plant and Soil* 353: 107 – 121.

Pezeshki S. R., J. H. Pardue y R. D. DeLaune. 1996. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiology* 16: 453 – 458.

Pezeshki S.R. 2001. Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany* 46: 299 – 312

R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Rao I. M., W. M. Roca, M. A. Ayarza, E. Tabares y R. Garcia. 1992. Somaclonal variation in plant adaptation to acid soil in the tropical forage legume *Stylosanthes guianensis*. *Plant and Soil* 146: 21-30.

Rao I. M., P. Kerridge y M. Macedo. 1998. Requerimientos nutricionales y adaptación a los suelos ácidos de especies de *Brachiaria*. p 58 - 78. En: J. W. Miles, B. L. Mass y C. B. do Valle con la colaboración de V. Kumble (Ed). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*.

Rao I. M., D. K. Friesen y M. Osaki. 1999. Plant adaptation to phosphorus-limited tropical soil. p 48 - 59. In: Pessaraki, M. (ed). *Handbook of plant and crops stress*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Rao I. M. 2001. Adapting tropical forages to low-fertility soils. In: J. A. Gomide, W. R. S. Mattos and S. C. da Silva (Eds.) *Proceedings of the XIX International Grassland Congress*. Brazilian Society of Animal Husbandry, Piracicaba, Brazil. pp. 247-254.

Rivera M., E. Amézquita, J. H. Bernal e I. M. Rao. 2013. Las Sabanas de los Llanos Orientales de Colombia: Caracterización Biofísica e Importancia para la Producción Agropecuaria. p 3 – 13. En: Amézquita E., I. M. Rao, M. Rivera, I. I. Corrales y J. H. Bernal (Eds). *Sistemas Agropastoriles: Un enfoque integrado para el manejo sostenible de Oxisoles de los Llanos Orientales de Colombia*. Cali, CO: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) de Colombia; Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Ryser P., H. K. Gill y C. J. Byrne. 2011. Constraints of root response to waterlogging in *Alisma triviale*. *Plant and Soil* 343: 247 – 260.

Sairam R.K., K. Dharmar, V. Chinnusamy y R. C. Meena. 2008. Waterlogging-induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Plant Physiology* 166: 602-616.

Setter T. y Belford R. 1990. Waterlogging: How it reduces plant growth and how plants can overcome its effects. *Journal of Agriculture-Western Australia* 31: 51 – 55.

Setter T. L. y Waters I. 2003. Review of prospects for germoplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant and Soil* 253: 1–34.

Setter T. L., I. Water, S. K. Sharma, K. N. Singh, N. Kulshreshtha, N. P. S. Yaduvanshi, P. C. Ram, B. N. Singh, J. Rane, G. McDonald, H. Khabaz-Saberi, T. B. Biddulph, R. Wilson, I. Barclay, R. McLean y M. Cakir. 2009. Review of wheat improvement for waterlogging tolerance in Australia and India: the importance of anaerobiosis and element toxicities associated with different soils. *Annals of Botany* 103: 221 – 235.

Stieger P. A. and Feller U. 1994. Nutrient accumulation and translocation in maturing wheat plants grown on waterlogged soil. *Plant and Soil* 160: 87 – 95.

Soil Survey Staff. 1994. *Keys to soil taxonomy*. Pocahontas Press, Blacksburg, VA, Estados Unidos.

Taiz L. y E. Zeiger. 2006. *Plant physiology*. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Unger I. M., A. C. Kennedy y R.M. Muzika. 2009. Flooding effects on soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 42: 1-8.

Turner D. W. y Barkus B. 1983. Long-term nutrient absorption rates and competition between ions in banana in relation to supply of K, Mg and Mn. *Fertilizer research* 4(2): 127-134

Xiao-Chang W. y Qin L. 2006. Effect of waterlogged and aerobic incubation on enzyme activities in paddy soil. *Pedosphere* 16(4): 532-539.

Xie Y., B. Ren y F. Li. 2009. Increased nutrient supply facilitates acclimation to high-water level in the marsh plant *Deyeuxia angustifolia*: The response of root morphology. *Aquatic Botany* 91: 1 – 5.

II. Cambios en pigmentos protectores y peroxidación lipídica en *Brachiaria* spp. como respuesta a la inundación

Juan de la Cruz Jiménez^{1,2}, Juan Andrés Cardoso¹, Gerhard Fischer² e Idupulapati Rao¹

¹ Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali, Colombia

² Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Resumen

Continuamente se vienen presentando con mayor frecuencia precipitaciones que unidas a suelos pesados y con poco drenaje generan inundaciones que limitan el crecimiento y producción de las plantas. Para mejor su adaptación a las inundaciones, las plantas pueden inducir una serie de respuestas fisiológicas, entre ellas se encuentra el aumento en la concentración de compuestos antioxidantes y pigmentos foto-protectores. En este estudio evaluamos los cambios en la respuesta antioxidante y el aumento en la concentración de algunos pigmentos vegetales en *Brachiaria ruziziensis* (sensible) y *Brachiaria humidicola* (tolerante) en respuesta a la inundación, con el objetivo de identificar rasgos que exhiben las plantas bajo condiciones limitadas de oxígeno en el suelo. Los contenidos de antocianinas y de malondialdehído (“MDA” primer producto de la peroxidación lipídica de la membrana celular) aumentaron cuando las plantas estuvieron sometidas a inundación, observándose en mayor proporción en *B. humidicola*. En los contenidos de carotenoides y clorofilas totales no se observaron cambios significativos entre los tratamientos inundación y control en ninguna de las especies. En *B. humidicola* las antocianinas se depositan en la epidermis foliar posiblemente contribuyendo como mecanismo de fotoprotección.

Palabras clave: Malondialdehído, antocianinas, clorofilas, carotenoides, fotoprotección.

Abstract

A higher frequency of rainfall on heavy soils with poor drainage can result in waterlogging conditions which limit crop growth and yield. For improving adaptation to waterlogging conditions, plants induce a range of physiological responses, such as increase in antioxidant compounds and photo-protector pigments. In this research we evaluated the changes in the antioxidant responses and the increases in the concentration of some leaf pigments in *Brachiaria ruzizensis* (waterlogging sensitive) and *Brachiaria humidicola* (waterlogging tolerant) in response to waterlogging, with the goal of identifying leaf traits that plants exhibit under oxygen shortage in the soil. The anthocyanins and malondialdehyde (MDA) (first products of lipid peroxidation of cellular membrane) increased in leaves when plants were treated with waterlogging conditions and the increase was higher in *B. humidicola* than in *B. ruzizensis*. Significant differences were not observed in carotenoids and total leaf chlorophyll contents between control and waterlogged treatments. In *B. humidicola* the anthocyanins were deposited in leaf epidermal cell layer, possibly contributing to photoprotection mechanism.

Key words: Malondialdehyde, anthocyanins, chlorophylls, carotenoides, photoprotection.

Introducción

Debido a los efectos adversos del cambio climático, se están presentando con mayores frecuencias lluvias que en conjunto con suelos poco drenados conducen a inundaciones, estas afectan en gran medida la productividad vegetal. Al presentarse la inundación, se saturan los espacios porosos del suelo, reduciendo el nivel de oxígeno presente por lo que se afecta en gran manera el comportamiento y producción de las plantas.

En respuesta al déficit de oxígeno en el suelo, la planta induce una serie de respuestas bioquímicas, fisiológicas y morfológicas (revisado por Jiménez *et al.*, 2012). Entre las respuestas fisiológicas se encuentra el aumento en los compuestos antioxidantes (enzimáticos o no enzimáticos) (Alscher *et al.*, 1997). Entre los antioxidantes no enzimáticos se incluyen los carotenoides (Bin *et al.*, 2010) y los compuestos fenólicos (Yordanova *et al.*, 2004). Dentro de

los compuestos fenólicos, se encuentran pigmentos hidrosolubles como las antocianinas (Chalker-Scott, 1999). Las cuales pertenecen al grupo de los flavonoides (Woodall y Stewart, 1998.)

La membrana fotosintética puede ser fácilmente dañada por grandes aumentos de energía absorbida por los pigmentos. Si esta energía no puede ser almacenada para realizar fotosíntesis, se hace necesario un mecanismo de protección (Taiz y Zeiger, 2006) que impida el aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés “Reactive Oxygen Species”). Los carotenoides presentan un papel importante en la disipación no fotoquímica de la luz, ya que rápidamente pueden remover la energía excedente del estado excitado de la clorofila (Taiz y Zeiger, 2006). Las antocianinas también presentan un inherente potencial para proteger las membranas celulares de los efectos del daño oxidativo, ya que remueven o capturan las ROS que atacan las células (Gould *et al.*, 2002). Esto es debido a que las moléculas de antocianina se localizan en las vacuolas y en distintas capas de células justo debajo de la epidermis superior (Woodall *et al.*, 1998; Burger y Edwards, 1996) y justamente, el daño oxidativo predomina en los cloroplastos y el mesófilo (Gould *et al.*, 2002). Aunque el papel de las antocianinas en las hojas no está bien determinado (Burger y Edwards, 1996), estos pigmentos presentan una función fotoprotectora, ya que pueden absorber los cuantos de luz y los rayos UV que de otra forma podrían dañar los cloroplastos (Woodall y Stewart, 1998; Chalker-Scott, 1999; Gould *et al.*, 2002). Además de absorber la radiación dañina para la planta, las antocianinas también ayudan al ajuste osmótico porque son glicosiladas lo que permite unirse y transportar monosacáridos (Chalker-Scott, 1999).

El estrés por inundación genera en la planta cambios que pueden ser irreversibles como la peroxidación de lípidos, degradación de clorofilas y cierre estomático (revisado por Jiménez *et al.*, 2012). Bajo condiciones de estrés, el cierre estomático conlleva a una disminución de la concentración de CO₂ en los espacios intercelulares, por tanto se presenta una caída en la tasa fotosintética (Lin *et al.*, 2006). Esto se relaciona directamente con la producción de ROS bajo estrés por inundación (Hossain *et al.*, 2009), ya que, a causa de a una menor asimilación de CO₂

se genera un desacople entre las reacciones del tilacoide y el ciclo de Calvin (Lin *et al.*, 2008). La energía lumínica excedente se transfiere al oxígeno atmosférico (O_2) presente en los cloroplastos, generando formas reducidas o ROS. La formación de las ROS se da por la excitación del O_2 a la forma simple (1O_2) o por la transferencia de uno, dos o tres electrones de la forma O_2 al radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o al radical hidroxilo (OH^-) respectivamente (Lin *et al.*, 2008; Mittler, 2002). Las ROS generan diferentes eventos adversos a las plantas, pueden causar mutaciones, disfunción de proteínas, oxidación de lípidos, daños en membranas e inhibición en la síntesis de clorofila (Ella *et al.*, 2003).

Durante un periodo de inundación prolongada, el mecanismo regulador del estrés no tiene la capacidad para reparar el daño oxidativo, por lo que se empieza a acumular las ROS (Yong-Zhong *et al.*, 2010; Balakhina *et al.*, 2010). Existen diversos parámetros que determinan el daño que ocasionan las ROS a las plantas. Entre ellos se resalta el malondialdehído (MDA) que es considerado el primer producto de la peroxidación lipídica de la membrana y es uno de los principales indicadores del daño oxidativo en la planta (Bai *et al.*, 2010; Hodges *et al.*, 1999).

El aumento en la concentración de los compuestos antioxidantes en la planta bajo condiciones deficitarias de oxígeno es un parámetro de tolerancia al estrés por inundación (revisado por Jiménez *et al.*, 2012). Por este motivo, se evaluaron algunos cambios en los pigmentos vegetales y en el contenido de malondialdehído bajo diferentes condiciones (control o inundación) en *Brachiaria ruziziensis* (sensible) y *Brachiaria humidicola* (tolerante) a inundación. Esto permitirá definir algunos atributos que ofrecen tolerancia a las especies cuando están sometidas a condiciones de suelos inundados.

Materiales y Métodos

El estudio realizó en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, se utilizaron estolones de *B. humidicola* (CIAT 679) y *B. ruziziensis* (Br 4402) que presentaran uniformidad en crecimiento, buen vigor y sin daños visibles. Los estolones se sembraron en cilindros plásticos (80 cm de alto x 7,5 cm de diámetro) llenos con 5 kg de una mezcla de suelo

Oxisol proveniente de Santander de Quilichao en alta fertilidad y arena de río lavada en proporción 1:1. Los cilindros plásticos fueron posteriormente insertados en tubos de PVC con dimensiones similares. Las plantas crecieron durante 33 días en condiciones óptimas antes de inundar. Se realizó un diseño completamente al azar, 2 genotipos, 2 tratamientos (inundación y control) y 5 repeticiones. El tratamiento de inundación se impuso durante 15 días, sellando los cilindros en la parte inferior para impedir la pérdida de agua y garantizando una lámina de agua de 3 cm sobre la superficie del suelo. En el tratamiento control se mantuvo la humedad del suelo cercana al 80% de la capacidad de campo. La fertilización del suelo se realizó de acuerdo a las necesidades óptimas para el establecimiento de una pastura de *Brachiaria* en dosis de 40 Kg h⁻¹ N, 50 Kg h⁻¹ P, 100 Kg h⁻¹ K, 101 Kg h⁻¹ Ca, 28,4 Kg h⁻¹ Mg, 20 Kg h⁻¹ S, 2 Kg h⁻¹ Zn, 2 Kg h⁻¹ Cu, 0,1 Kg h⁻¹ B y 0,1 Kg h⁻¹ Mo (Rao *et al.*, 1992), esto con el fin de evitar cualquier tipo de estrés ajeno al ensayo.

Al completar 15 días de tratamiento se realizó la cosecha. Se determinó el contenido de malondialdehído con base en la reacción de la sustancia con el ácido tiobarbitúrico. 1 gr de hoja fresca se pesó y se le añadió 20 ml de solución de ácido tricloroacético al 0.1% y se centrifugó por 15 min a 5000 rpm. 1 ml del sobrenadante fue mezclado con 4 ml de una solución de ácido tricloroacético 20% y ácido tiobarbitúrico 0.5% para luego calentar la solución por 30 min a 95 °C en baño maría, inmediatamente después se introdujo en hielo. Posteriormente se centrifugó la solución a 5000 rpm por 15 min para leer la absorbancia del sobrenadante a 532 y 600 nm (Carmak y Horst, 1991).

El contenido de MDA se calculó de la siguiente manera: $\text{MDA (nmol)} = (A_{532} - A_{600}) / 1.56 \cdot 10^5$

En la extracción de clorofilas y carotenoides se maceraron 0.1 gramos de hoja fresca en 80% de metanol frío hasta que la solución quedara homogénea. Posteriormente se filtró la muestra en papel filtro Whatman® No.2 y la solución fue medida a una absorbancia de 470, 646, 663 y 710 utilizando el lector de micro placas Synergy HT (Biotek®, Winooski, USA). La concentración de clorofila a y b fue calculada de acuerdo a Lichtenthaler y Wellburn (1983) y los carotenoides según Wellburn (1994).

$$\text{Clorofila a (mg/g)} = 12.21 * (A_{663} - A_{710}) - 2.81 * (A_{646} - A_{710})$$

$$\text{Clorofila b (mg/g)} = 20.13 * (A_{646} - A_{710}) - 5.03 * (A_{663} - A_{710})$$

$$\text{Clorofila Total (mg/g)} = \text{Clorofila a} + \text{Clorofila b}$$

$$\text{Carotenos (microgramo/ml)} = [(1000 * A_{470}) - (3.27 * \text{Clorofila a}) - (10.4 * \text{Clorofila b})] / 198$$

Para extraer las antocianinas se maceró 1 gramo de tejido fresco en 5 ml de una solución de propanol:HCl:H₂O (18 : 1 : 81; v/v/v). Las muestras se calentaron en baño maría durante 3 minutos y posteriormente se incubaron en oscuridad y temperatura ambiente durante 24 horas (Ticconi *et al.*, 2001). Pasado este tiempo se centrifugaron las muestras a 7800 rpm a 4 °C durante 40 minutos y se leyó la absorbancia del sobrenadante utilizando el lector de micro placas Synergy HT (Biotek®, Winooski, USA) a 535 y 650 nm. El contenido de antocianinas se calculó según Lange *et al.* (1971).

$$\text{Antocianinas (g/pf)} = A_{535} - A_{650}$$

En la cosecha se separaron 3 hojas al azar de cada genotipo, se mantuvieron en agua para impedir la deshidratación y se hicieron cortes transversales con láminas de acero minora®. Posteriormente se tomaron imágenes en microscopio Ortholux II (Leitz, Wetzlar, Alemania) en un objetivo de 40X para observar la disposición de antocianinas en el mesófilo de la hoja.

Resultados y Discusión

B. ruziziensis bajo condiciones de inundación no presenta cambios significativos en el contenido de MDA (Figura 4). En contraste, *B. humidicola* bajo condiciones de inundación presenta daño oxidativo, debido a que se aumenta significativamente el contenido de MDA (Figura 4). Este comportamiento es contrario a lo esperado, ya que los niveles de MDA fueron más altos en el genotipo resistente que en el genotipo sensible. En evaluaciones de tolerancia al anegamiento, diversos autores han encontrado niveles elevados de MDA en plantas sensibles a la inundación

(cítricos, Hossain *et al.*, 2009; trigo, Zheng *et al.*, 2009; maíz, Bin *et al.*, 2010; *Dendranthema* spp. Yin *et al.*, 2010).

Los valores altos de MDA en *B. humidicola* bajo condiciones de inundación se puede explicar por el aumento de antocianinas en hojas (Figura 5 y 6d). La determinación de MDA se realiza leyendo la absorbancia entre 535 y 650 nm. Las antocianinas presentan máximos de absorción a longitudes de onda cercanas a 535 nm, por tanto, al haber antocianinas puede ocurrir una sobreestimación de MDA. En algunos casos la sobreestimación generada por estos compuestos representa valores de MDA superiores al 96% (Hodges *et al.*, 1999).

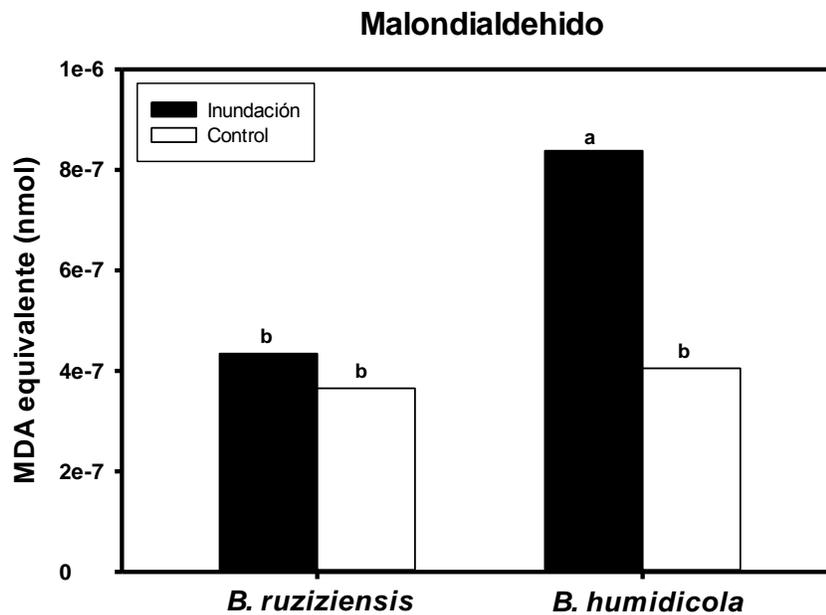


Figura 4. Nivel de malondialdehido en *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

Aunque nuestros resultados nos indican una tendencia al aumento de MDA en las plantas que fueron sometidas a inundación, no podemos establecer un nivel de daño oxidativo entre la especie tolerante y la sensible basándonos en el contenido de MDA en los tejidos ya que en la determinación analítica interfieren otros compuestos que pueden sobreestimar los verdaderos valores de MDA.

En *B. ruziziensis* bajo condiciones de inundación no se presenta un aumento significativo en el contenido de antocianinas (Figura 5), indicando que esta especie no tiene la capacidad de inducir este pigmento como mecanismo de defensa que le permita mejorar su tolerancia a inundación.

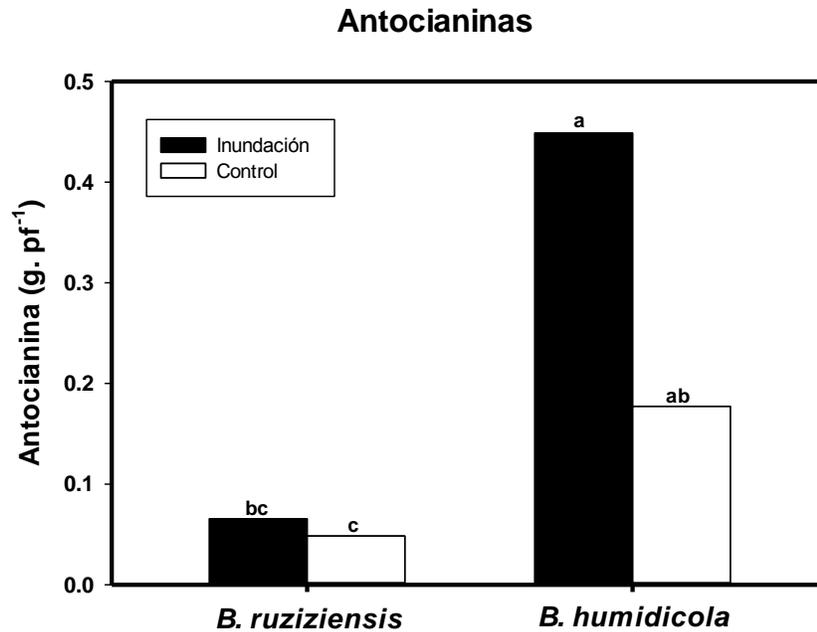


Figura 5. Antocianinas en *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

Generalmente las antocianinas son inducidas por diversos factores ambientales incluyendo radiación, temperatura y estrés hídrico (Chalker-Scott, 1999; Close *et al.*, 2004). La acumulación de antocianinas en respuesta a la inundación depende de la especie, Nemat *et al.*, (2002) encontraron que los niveles de antocianinas en plantas de maíz aumentaron significativamente a los dos días después de la inundación, mientras tanto en plantas de *Vigna sinensis* el contenido de antocianinas solo aumentó significativamente 10 días después de inundación. Así mismo, Close y Davidson (2003), encontraron que en plantas de *Eucalyptus* también se presenta un gran aumento en la acumulación de antocianinas como respuesta a la inundación.

En *B. humidicola* bajo condiciones de inundación se acumulan gran cantidad de antocianinas (Figura 5). Estas se localizan en células justo debajo de la epidermis foliar, protegiendo los cloroplastos (Figura 6). Esta observación es similar a lo reportado por Close y Davidson (2003) en hojas de *Eucalyptus*.

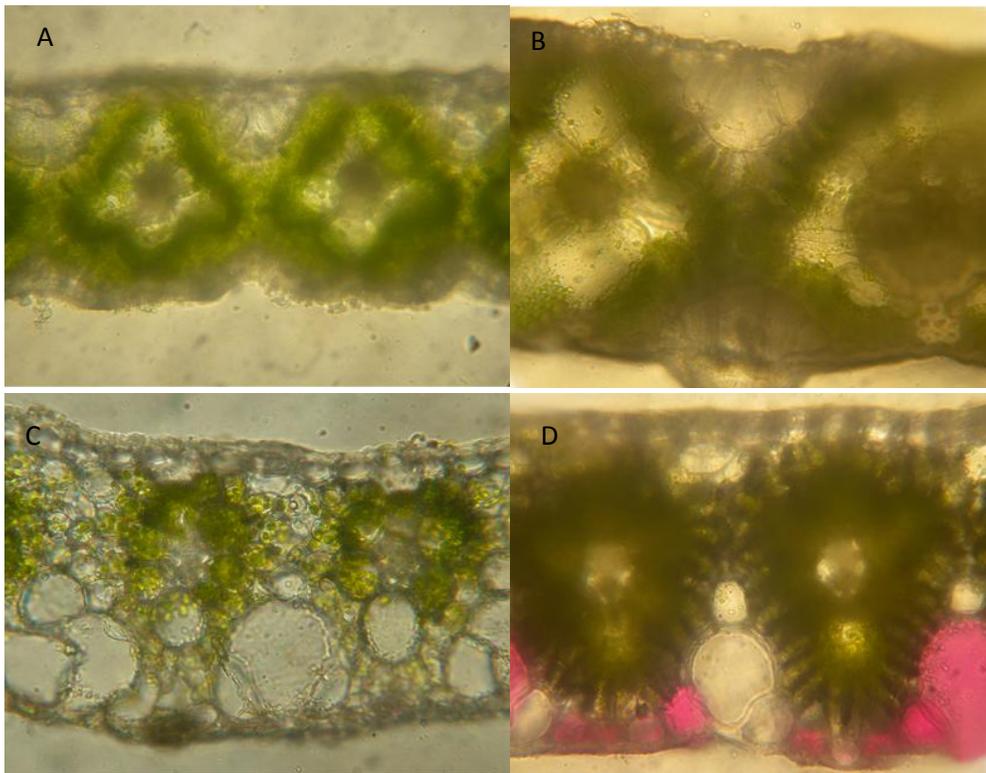


Figura 6. Presencia de antocianinas en *B. ruziziensis* (Br4402) A control y B inundación. C y D *B. humidicola* (CIAT679) control e inundación respectivamente.

Aunque las ventajas adaptativas de las antocianinas, especialmente en tejidos vegetativos no es muy clara (Chalker-Scott, 1999), la presencia de estos pigmentos en una alta concentración en el parénquima de empalizada puede significar que son importantes para absorber rayos UV (Woodall y Stewart, 1998). Así mismo, aunque la síntesis de antocianinas es metabólicamente costosa para la planta, la producción y localización de estos pigmentos en las hojas puede permitir a la planta desarrollar grados de tolerancia ante diversos estreses ambientales (Chalker-Scott, 1999).

En *B. humidicola* bajo condiciones de inundación del suelo se observa que las hojas con antocianinas se curvan hacia el sol (Figura 7D). Esta curvatura ocurre independiente de que la acumulación del pigmento se presente en el haz o en el envés (Figura 7D). De esta forma protege a los cloroplastos de los efectos adversos de los rayos del sol. En *B. humidicola* bajo condiciones control la hoja se exhibe completamente expandida (Figura 7C). En el genotipo *B. ruziziensis* bajo condiciones control, la hoja queda completamente expandida y con un color verde intenso (Figura 7A). En *B. ruziziensis* bajo condiciones de inundación las hojas exhiben un color amarillento, llegando a presentarse muerte de los tejidos empezando desde el ápice foliar (Figura 7B).

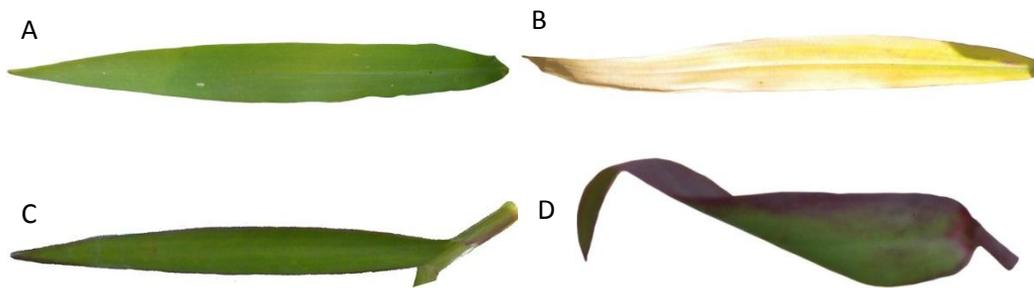


Figura 7. Cambios foliares en *B. ruziziensis* (Br4402) A control y B inundación. C y D *B. humidicola* (CIAT679) control e inundación respectivamente.

Aunque no se presentaron diferencias significativas, ambos genotipos presentaron una disminución en clorofila A cuando estuvieron sometidos a inundación (Figura 8). En el contenido de clorofila B el comportamiento de las plantas es similar, aunque *B. humidicola* exhibe un ligero aumento en condiciones de inundación (Figura 8). Resultados similares fueron reportados por Close y Davidson (2003) en plantas de *Eucalyptus* donde no se presentaron cambios significativos en los contenidos de clorofila entre la condición de inundación y control. Aunque no se presenten cambios significativos, varios autores señalan que la clorofila está estrechamente asociada con la tolerancia a inundación (Jiang y Wang, 2006; Ella e Ismail, 2006). En genotipos sensibles a inundación, el contenido de clorofila es marcadamente afectado por el

déficit de oxígeno en el suelos (Islam *et al.*, 2007). Así mismo, la concentración de clorofila en los tejidos decrece con un incremento en el nivel y tiempo de inundación (Jiang y Wang, 2006; Wang y Jiang, 2007). Los cambios en los contenidos de clorofila pueden presentar gran fluctuación dependiendo de las especies; en algunos casos la clorofila A decrece en mayor cantidad que la clorofila B (Ella e Ismail, 2006). En otros casos la clorofila B se muestra más afectada que la clorofila A (Ashraf y Arfan, 2005), y en otros casos las plantas sometidas a inundación presentan disminución tanto en los niveles de clorofila A como de clorofila B (Keles y Ünyayar, 2004; de Olivera y Joly, 2010; Gonzalez *et al.*, 2009).

Los cambios en las concentraciones de clorofila son indicadores del estado de senectud vegetal y no son suficientes para concluir como atributos de tolerancia a inundación, ya que el aumento en otros parámetros fisiológicos puede contribuir a mejorar la tolerancia a la inundación (Wang y Jiang, 2007).

En *B. humidicola* bajo condiciones de inundación, la relación clorofila A/B disminuyó significativamente (Figura 8), lo que indica que la clorofila A se degradó más rápido que la clorofila B cuando la planta estuvo sometida a inundación. La luz absorbida por los carotenoides o por la clorofila B es rápidamente transferida a la clorofila A, que a su vez son las primeras donantes de energía al fotosistema I (Taiz y Zeiger, 2006). En *B. humidicola* la menor tasa de degradación de la clorofila B puede indicar el papel foto-protector que este pigmento brinda a los cloroplastos.

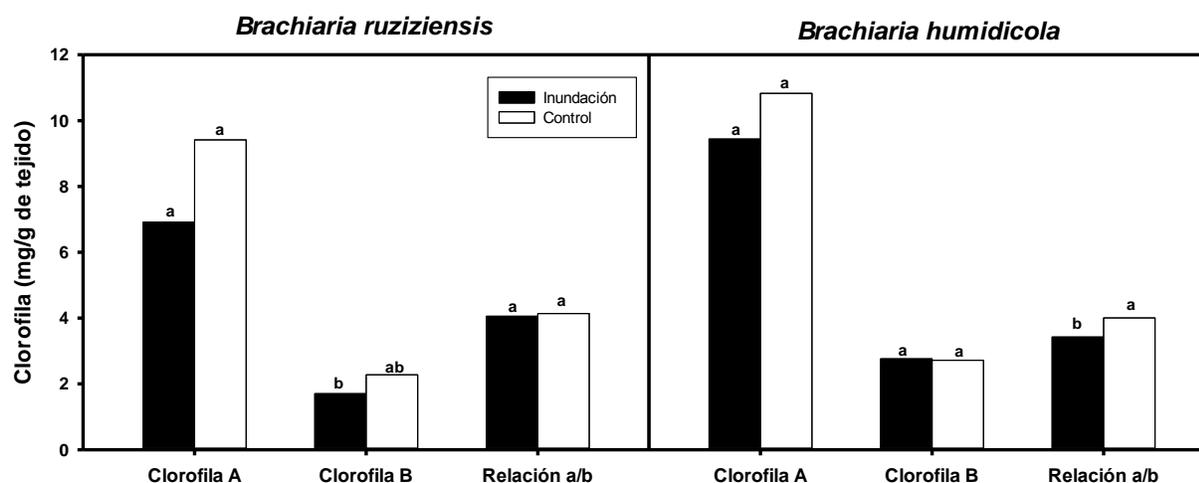


Figura 8. Contenido de clorofila en *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

B. ruziziensis en condiciones de inundación presenta una disminución del contenido de carotenoides (Figura 9). Por su parte, *B. humidicola* bajo condiciones de inundación presenta un leve aumento en el contenido de carotenoides, presentándose un aumento significativo respecto a *B. ruziziensis* en la condición de inundación (Figura 9). Esto posiblemente indica un efecto fotoprotector de los carotenoides al aparato fotosintético. Resultados similares fueron reportados por Keles y Ünyayar (2004), ya que encontraron una pérdida en el contenido de carotenos en plantas de girasol sometidas a inundación. Aumentos o descensos en los contenidos de los pigmentos pueden contribuir a una respuesta exitosa de las plantas para tolerar la inundación, debido a que la capacidad de las células de defensa para enfrentar el daño oxidativo, es determinada por el conjunto de antioxidantes y los pigmentos protectores (Keles y Ünyayar, 2004).

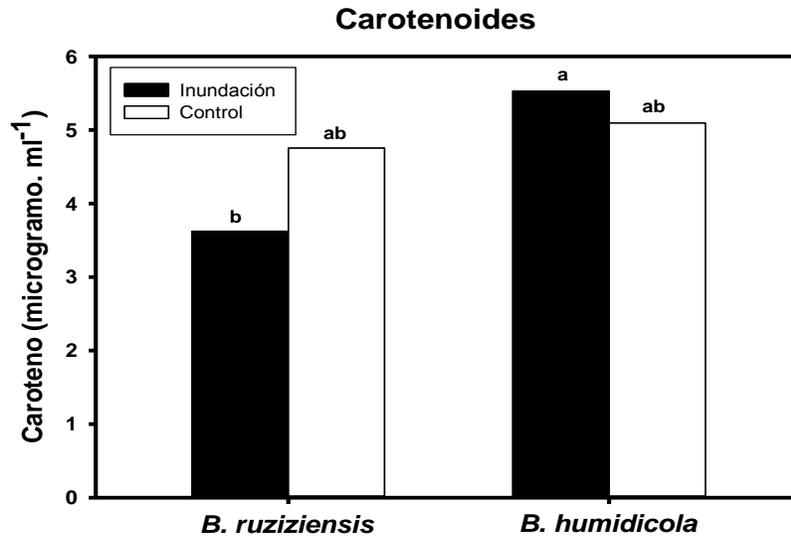


Figura 9. Carotenoides en *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

El conjunto de cambios en los pigmentos observados en el genotipo *B. humidicola* bajo condiciones de inundación evidencian el funcionamiento conjunto de los diferentes pigmentos como mecanismo de protección de la planta para hacer frente a las condiciones de estrés.

Conclusiones

- *B. humidicola* bajo condiciones de inundación presentó un aumento en el daño oxidativo según el contenido de MDA. El aumento en el contenido de MDA es debido a que en inundación simultáneamente se presenta una gran síntesis de antocianinas, lo que interfiere en la lectura real del contenido de MDA.

- La determinación de los niveles de daño oxidativo según la producción de MDA no es confiable para el género *Brachiaria*, ya que estas plantas producen compuestos que interfieren con la medición, conduciendo a una sobreestimación del contenido de MDA.
- En *B. humidicola* se presenta gran producción de antocianinas, estas se depositan justo debajo de la epidermis foliar posiblemente realizando una función de protección a los cloroplastos. De igual manera se presentan giros foliares cubiertos por antocianinas según la incidencia de sol.
- En los contenidos de carotenoides y clorofilas no se observaron cambios significativos entre los tratamientos inundación y control de cada genotipo. *B. humidicola* presenta un descenso en la relación clorofila A/B, indicando un posible efecto de la clorofila B como foto-protector, así mismo *B. humidicola* bajo inundación exhibe un aumento significativo del contenido de carotenoides respecto a *B. ruziziensis*.

Referencias

Alscher R. G., J. L. Donahue y C. L. Cramer. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiologia Plantarum* 100: 224-233.

Ashraf M. y Arfan M. 2005. Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of *Hibiscus esculentus* under waterlogging. *Biologia Plantarum* 49(3): 459-462

Bai T., C. Li, F. Ma, F. Feng y H. Shu. 2010. Responses of growth and antioxidant system to root-zone hypoxia stress in two *Malus* species. *Plant and Soil* 327: 95-105.

Balakhnina T. I., P. Bennicelli, Z. Stepniewska, W. Stepniewski e I. R. Fomina. 2010. Oxidative damage and antioxidant defense system in leaves of *Vicia faba major* L. cv. Bartom during soil flooding and subsequent drainage. *Plant and Soil* 327: 293-301.

Bin T., X. Shang-Zhong, Z. Xi-Ling, Z. Yong-Lian y Q. Fa-Zhan. 2010. Changes of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of waterlogging-tolerant and waterlogging-sensitive maize genotypes at seedling stage. *Agricultural Science in China* 9(5): 651-661.

Burger J. y Edwards G. E. 1996. Photosynthetic efficiency, and photodamage by UV and visible radiation, in red versus green leaf *Coleus* varieties. *Plant Cell Physiology* 37(3): 395-399.

Carmak I. y Horst J. H. 1991. Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiolgia Plantarum* 83: 463 – 468.

Chalker-Scott L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plants stress responses. *Photochemistry and Photobiology* 70(1): 1 – 9.

Close D. C. y Davidson N. J. 2003. Long-Term Waterlogging: Nutrient, Gas Exchange, Photochemical and Pigment Characteristics of *Eucalyptus nitens* Saplings. *Russian Journal of Plant Physiology* 50(6): 843 – 847.

Close D. C., C. L. Beadle y M. Battaglia. 2004. Foliar anthocyanin accumulation may be a useful indicator of hardiness in eucalypt seedlings. *Forest Ecology and Management* 198: 169–181.

De Olivera V. y Joly C. A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. *Trees* 24: 185 – 193.

Ella, E. S., N. Kawano y O. Ito. 2003. Importance of active oxygen-scavenging system in the recovery of rice seedlings after submergence. *Plant Science* 165: 85-93.

Ella E. S. e Ismail A. M. 2006. Seedling Nutrient Status before Submergence Affects Survival after Submergence in Rice. *Crop Science* 46: 1673 – 1681

González J. A., M. Gallardo, M. Hilal, M. Rosa, y F. E. Prado. 2009. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: dry matter partitioning. *Botanical Studies* 50: 35 - 42.

Gould K. S., J. Mckelvie y K. R. Markham. 2002. Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell and Environment* 25: 1261–1269.

Hodges D. M., J. M. DeLong, C. F. Forney y R. K. Prange. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604 – 611.

Hossain, Z., M.F. López-Climent, V. Arbona, R. M. Pérez-Clemente y A. Gómez-Cadenas. 2009. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. *Journal of Plant Physiology* 166: 1391 - 1404.

Islam M. R., A. Hamid, Q. A. Khaliq, J. U. Ahmed, M. M. Haque y M. A. Karim. 2007. Genetic variability in flooding tolerance of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotypes. *Euphytica* 156: 247 – 255.

Jiang Y. y Wang K. 2006. Growth, Physiological, and Anatomical Responses of Creeping Bentgrass Cultivars to Different Depths of Waterlogging. *Crop Science* 46: 2420 – 2426

Jiménez J. C., L. P. Moreno y S. Magnitskiy. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación. Una revisión. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 6(1): 96 – 109.

Keles Y. y Ünyayar S. 2004. Responses of antioxidant defense system of *Helianthus annuus* to abscisic acid treatment under drought and waterlogging. Acta Physiologiae Plantarum 26(2): 149 – 156.

Lange H., W. Shropshire y H. Mohr. 1971. An analysis of phytochrome-mediated anthocyanin synthesis. Plant Physiology 47: 659 – 655.

Lichtenthaler H. K. y Wellburn A. A. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical society transactions 603: 591 – 592.

Lin K. H., P. Y. Chao, S. Y. Yang, W. C. Chen, H. F. Lo y T. R. Chang. 2006. The effects of flooding and drought stresses on the antioxidant constituents in sweet potato leaves. Botanical Studies 47: 417 - 426.

Lin K. H., Y. K. Chiou, S. Y. Hwang, L. F. O. Chen y H. F. Lo. 2008. Calcium chloride enhances the antioxidative system of sweet potato (*Ipomoea batatas*) under flooding stress. Annals of Applied Biology 152: 157-168.

Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science 7(9): 405 - 410.

Nemat M. M. A., M. E. Younis, O. A. El-Shihaby y Z. M. El-Bastawisy. 2002. Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. Acta Physiologiae Plantarum 24(1): 19 – 27.

Rao I. M., W. M. Roca, M. A. Ayarza, E. Tabares y R. Garcia. 1992. Somaclonal variation in plant adaptation to acid soil in the tropical forage legume *Stylosanthes guianensis*. *Plant and Soil* 146: 21-30.

Taiz L. y Zeiger E. 2006. *Plant physiology*. 5th ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Ticconi C. A., C. A. Delatorre y A. Steffen. 2001. Attenuation of phosphate starvation responses by phosphate in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 127: 963 – 972.

Wang K. y Jiang Y. 2007. Waterlogging Tolerance of Kentucky Bluegrass Cultivars. *HortScience* 42(2): 386 – 390.

Welburn A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307 – 313.

Woodall G. S., I. C. Dodd y G. R. Stewart. 1998. Contrasting leaf development within the genus *Syzygium*. *Journal of Experimental Botany* 49(318): 79 – 87.

Woodall G. S. y Stewart G. R. 1998. Do anthocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of *Syzygium*?. *Journal of Experimental Botany* 49(325): 1447 – 1450.

Yin D., S. Chen, F. Chen, Z. Guan y W. Fang. 2010. Morpho-anatomical and physiological responses of two *Dendranthema* species to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany* 68: 122-130.

Yordanova, R., K. N. Christov, L. P. Popova. 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany* 51: 93 - 101.

Yong-Zhong L., T. Bin, Z. Yong-Lian, M. Ke-Jun, X. Shang-Zhong y Q. Fa-Zhan. 2010. Screening methods for waterlogging tolerance at maize (*Zea mays* L.) seedling stage. *Agricultural Science in China* 9(3): 362 - 369.

Zheng C., D. Jiang, F. Liu, T. Dai, Q. Jing y W. Cao. 2009. Effects of salt and waterlogging stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat. *Plant Science* 176: 575 - 582.

III. Cambios morfológicos radiculares en genotipos contrastantes de *Brachiaria* spp. por su tolerancia a inundación

Juan de la Cruz Jiménez^{1,2}, Juan Andrés Cardoso¹, Gerhard Fischer² e Idupulapati Rao¹

¹Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali, Colombia

²Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Resumen

La inundación es un grave problema ambiental en muchas regiones del mundo, esto afecta gravemente la producción de cultivos ya que se agota la disponibilidad de oxígeno en el suelo. Al no haber oxígeno disponible, la planta no puede producir energía, decayendo su estatus energético, se detienen algunos procesos fisiológicos y se acelera la senescencia celular. Entre las respuestas de las plantas a largos periodos de inundación se encuentran los cambios morfológicos. El principal cambio morfológico radical en condiciones de inundación es la formación de aerénquima, un tejido vegetal con espacios de aire. En este estudio evaluamos los cambios morfológicos en raíces que presentan *Brachiaria ruziziensis* (sensible) y *B. humidicola* (tolerante) en respuesta a la inundación, con el fin de identificar algunos cambios morfológicos que contribuyen a mejorar la respuesta de *Brachiaria* a la inundación. A las dos semanas después de inundación, el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética de *B. ruziziensis* disminuyó significativamente. La longitud radical total disminuye cuando las plantas están sometidas a inundación, en contraste el diámetro radical no varía significativamente. El porcentaje de aerénquima aumenta considerablemente cuando las plantas se someten a inundación. *B. humidicola* presenta aerénquima constitutivo debido a que forma aerénquima en condiciones control. No se observa deposición de suberina en condiciones control. En inundación, *B. humidicola* presenta deposiciones de suberina en bandas tangenciales cubriendo más del 80% de las células de la OPR. *B. ruziziensis* solo se presenta deposiciones parciales en algunas células, indicando grandes pérdidas de oxígeno desde la raíz. Nuestros resultados indican que el gran nivel de tolerancia a inundación observado en *B. humidicola* es asociado

con la formación de aerénquima en el cortex radical y la deposición de suberina en la OPR de la raíz.

Palabras clave: Aerénquima, suberina, barrera apoplástica, longitud radical.

Abstract

Waterlogging is a major environmental problem in several regions of the world, seriously affecting crop yield as a result of depleted oxygen availability in the soil. Without oxygen availability, plants cannot produce adequate energy, resulting in decays in energetic status, cessation of some physiological processes and increased cellular senescence. One response to prolonged waterlogging is morphological change, primarily in the formation of aerenchyma, a vegetative tissue with air spaces. In this study we evaluated the morphological changes in roots that occur in *Brachiaria ruziziensis* (sensitive) and *Brachiaria humidicola* (tolerant) in response to waterlogging, with the goal of identifying traits that contribute to improved tolerance to waterlogging conditions. After two weeks under waterlogged conditions, chlorophyll content and photosynthetic efficiency of *B. ruziziensis* was significantly decreased. Total root length decreased in plants under waterlogging; however the root diameters did not vary significantly. The percentage of aerenchyma in root tissue increased in both species under waterlogging conditions. But aerenchyma formation was constitutive in *B. humidicola* because it showed aerenchyma formation even under control conditions. Although suberin deposition was not observed in both species under control conditions, under the waterlogged conditions *B. humidicola* showed suberin deposition in tangential bands that cover more than 80% of the cells in the root exodermis. *B. ruziziensis* only presented partial depositions in some cells indicating greater loss of oxygen from roots. These results indicate that the higher level of waterlogging tolerance observed with *B. humidicola* was associated with aerenchyma formation in cortex and suberin formation in exodermis of roots.

Key words: Aerenchyma, suberin, apoplastic barrier, root length.

Introducción

Como consecuencia del cambio climático, se esperan eventos climáticos extremos, incluyendo inundaciones (Bailey-Serres y Voeselek, 2008). La inundación es un estrés ambiental en muchos ecosistemas naturales y artificiales alrededor del mundo (Colmer y Voeselek, 2009). La difusividad de los gases es 10.000 veces menor en agua que en aire (Colmer, 2003a; Colmer y Voeselek, 2009). La gran adversidad que enfrentan las plantas en condiciones de inundación es la dramática reducción del intercambio gaseoso entre la planta y el ambiente (Bailey-Serres y Voeselek, 2008). Además el oxígeno disuelto en el agua es rápidamente agotado por la respiración de las raíces y los microorganismos del suelo (Abiko *et al.*, 2012).

Entre las diferentes respuestas que presentan las plantas a inundación se pueden encontrar cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos. Los cambios morfológicos son relacionados con la tolerancia de las especies a largos periodos de anoxia (revisado por Jiménez *et al.*, 2012). El principal cambio morfológico que generan las plantas sometidas a inundación es la formación de aerénquima, un tejido vegetal con espacios largos e interconectados llenos de gas (Koppitz, 2004). El aerénquima ofrece a la planta una vía interna de baja resistencia para el movimiento de oxígeno y otros gases entre la parte aérea y el tejido sumergido (Visser *et al.*, 2000; Aschi-Smiti, 2003; Colmer, 2003a; Colmer, 2003b; Evans, 2004; Colmer *et al.*, 2006), facilitando el transporte de oxígeno desde la parte aérea hasta la raíz (Aschi-Smiti, 2003; Kolb y Joly, 2009). En condiciones de drenaje, el aerénquima es constitutivo en muchas especies provenientes de zonas húmedas, pero no en las raíces de la mayoría de especies de zonas secas (Abiko *et al.*, 2012). Sin embargo, algunas especies de zonas secas pueden desarrollar aerénquima en condiciones de inundación (Visser *et al.*, 2000). Por medio del tejido aerenquimatoso, el O₂ es suministrado a la raíz y a la rizósfera, mientras tanto el CO₂, etileno y metano se mueven desde el suelo a la parte aérea y a la atmósfera (Colmer, 2003a).

El oxígeno presente en el aerénquima de la raíz puede ser consumido por respiración (Colmer *et al.*, 1998). Una potencial fuga del oxígeno proveniente del aerénquima puede ser por pérdida radial de oxígeno (ROL por sus siglas en inglés "Radial Oxygen Loss") al suelo y posterior

consumo por los microorganismos de la rizósfera o por la oxidación de compuestos químicos reducidos (Visser *et al.*, 2000). Para evitar que ocurra la pérdida radial de oxígeno, las especies forman una barrera en las células de la raíz (Colmer *et al.*, 1998; Colmer, 2003a; Colmer, 2003b; De Simone *et al.*, 2003; Soukup *et al.*, 2007; Colmer y Voesenek, 2009; Shiono *et al.*, 2011; Abiko *et al.*, 2012). Estas barreras presentan aglomeraciones micro-estructurales de los espacios intercelulares en la periferia de la exodermis (Shiono *et al.*, 2011) y generalmente contienen deposiciones de suberina y lignina (De Simone *et al.*, 2003). Los depósitos de suberina pueden ser más importantes debido a que se incrementa antes que ocurran cambios en los contenidos de lignina (Shiono *et al.*, 2011). La suberización en las barreras apoplásticas pueden ser fuertemente moduladas en respuesta a la influencia de diferentes ambientes (Schreiber *et al.*, 2005). Esta barrera es constitutiva en algunas especies (Colmer, 2003a).

El aumento en las deposiciones de suberina en las partes externas de la raíz (OPR por sus siglas en inglés: rizodermis e hipo-exodermis) pueden estar involucrados en importantes procesos que ayudan a tolerar suelos inundados incluyendo restricción de pérdidas de oxígeno a la rizósfera y ajustes en el transporte de solutos y gases dentro y fuera de la raíz (De Simone *et al.*, 2003). La suberización también previene la entrada de compuestos potencialmente tóxicos (p.e. H_2S y S^{2-}) a las raíces, sustancias tóxicas como iones metálicos reducidos (p.e. Fe^{2+} y Mn^{2+}) y gases derivados del suelo inundado como CO_2 , metano y etileno (Colmer *et al.*, 1998; Colmer, 2003a; Colmer y Voesenek, 2009).

Usualmente, un aumento en la deposición de suberina en la OPR de la raíz es acompañada a la formación de aerénquima (Enstone y Peterson, 2005). Estos rasgos han sido encontrados en plantas bien adaptadas a suelos inundados (e.g. *Phragmites australis*, Armstrong *et al.*, 2000; *O. sativa*, Kotula *et al.*, 2009; *Zea nicaraguensis*, Abiko *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue evaluar algunos cambios morfológicos en raíces de 2 especies de *Brachiaria* contrastantes por su tolerancia a inundación, esto con el fin de determinar que atributos ofrecen tolerancia a las especies cuando están sometidas a condiciones anoxigénicas del suelo. Adicionalmente se cuantificó el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética en

hojas adaptadas a luz (f_v'/f_m'), con el fin de verificar como se afectan estos parámetros fisiológicos bajo condiciones de inundación en las diferentes especies.

Materiales y Métodos

Se utilizaron brotes vegetativos de *Brachiaria humidicola* (CIAT 679) y *B. ruziziensis* (Br 4402) sembrados en cilindros plásticos (80 cm de alto x 7,5 cm de diámetro) llenos con 5 kg de una mezcla de suelo Oxisol proveniente de Santander de Quilichao en alta fertilidad y arena de río lavada en proporción 1:1, los cilindros plásticos fueron insertados en tubos de PVC con dimensiones similares. Las plantas crecieron durante 20 días en condiciones óptimas antes de inundar. Se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, 2 genotipos, 2 tratamientos (inundación y control) y 5 repeticiones. El tratamiento de inundación se impuso durante 14 días, sellando los cilindros en la parte inferior para impedir la pérdida de agua y garantizando una lámina de agua de 3 cm sobre la superficie del suelo, en el tratamiento control la humedad se mantuvo cercana al 80% de la capacidad de campo, se fertilizó el suelo con unas dosis de 40 Kg h⁻¹ N, 50 Kg h⁻¹ P, 100 Kg h⁻¹ K, 101 Kg h⁻¹ Ca, 28,4 Kg h⁻¹ Mg, 20 Kg h⁻¹ S, 2 Kg h⁻¹ Zn, 2 Kg h⁻¹ Cu, 0,1 Kg h⁻¹ B y 0,1 Kg h⁻¹ Mo (Rao *et al.*, 1992), esto con el fin de evitar cualquier tipo de estrés ajeno al ensayo.

A los 14 días después de inundación (ddi) se realizó la cosecha, cortando cuidadosamente el acetato, removiendo el suelo con agua y la ayuda de un tamiz, se separó la planta entre parte aérea y raíces, la parte aérea se descartó y la raíz se separó y lavó cuidadosamente con jabón twin®.

Una vez cosechadas, las raíces se registran, etiquetan y se pasan por escáner, introduciendo la raíz completa en bandejas de acrílico llenas con agua, cuidando que queden totalmente expandidas, posteriormente las imágenes se analizan en el software Winrhizo® (Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá).

Posteriormente se seleccionaron 4 raíces vivas por planta y se conservaron en 45% de alcohol en cuarto frío a 7 °C durante el tiempo de muestreo, el alcohol se cambió cada 15 días. La determinación del aerénquima se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Cardoso *et al* (sin publicar), los cortes transversales de raíz nodal se realizaron a mano alzada con la ayuda de piezas de icopor y cuchillas de acero inoxidable, posteriormente fueron observados bajo microscopio de polarización con luz transmitida e incidente (Ortholux II, Leitz, Wetzlar, Alemania) en objetivo de 6.3x y captados con cámara fotográfica (COOLPIX P6000, Nikon®, Tokyo, Japón) acoplada al microscopio. La medición del aerénquima se realizó con la ayuda del software imageJ (versión 1.46r, National Institutes of Health, Rockville, USA) y promediando el porcentaje de aerénquima en los cortes a tres distancias desde la base hasta el ápice de las raíces, superior (0–5 cm), medio (5–10 cm) e inferior (10–15 cm).

Para visualizar la suberina se usó la metodología propuesta por Brundett *et al.*, (1988). Brevemente, se transfirieron los cortes a una solución de Berberina hemi-sulfato 0.1% (w/v) en agua destilada durante una hora, se lavaron cuidadosamente para eliminar residuos y se introdujeron en anilina azul 0,5% (w/v) en agua destilada durante 30 minutos, después de esto se volvieron a lavar los segmentos y transfirieron a una solución de 0,1% FeCl₃ (w/v) en 50% de glicerina (filtrando el extracto acuoso de 0.1% FeCl₃ y posteriormente adicionando la glicerina) para mantener el color.

Adicionalmente a los parámetros morfológicos, se realizaron mediciones fisiológicas de clorofila con el clorofilómetro SPAD (Konica, minolta®, Tokyo, Japón) y de eficiencia fotosintética (fv/fm) con el fluorpen Fp100 (Photon Systems Instruments, Drásov, República Checa) a los 0, 7 y 14 días después de inundación en tres hojas de tres diferentes estratos o posiciones (A=Superior, B=Medio y C=Inferior), inicialmente se marcaron las hojas con anillos de plástico para realizar la medición siempre en la misma hoja

En las pruebas estadísticas de comparación se utilizó la librería Agricolae del software estadístico R, se realizó un análisis de varianza (anova) para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos para las diferentes variables de estudio, adicionalmente una vez identificadas las diferencias se realizó un análisis post-anova por medio de la prueba de

Duncan para observar cuáles son los tratamientos que presentan mejor desempeño en cada una de las variables.

Resultados y discusión

B. ruziziensis bajo condiciones de inundación no presentó cambios significativos en el contenido de clorofila en los diferentes estratos de la hoja (superior, medio, inferior) a los 0 y 7 días después de inundación (ddi) (Figura 10). A los 15 ddi el contenido de clorofila en *B. ruziziensis* disminuyó significativamente en los diferentes estratos de la hoja (Figura 10). *B. humidicola* no presentó cambios significativos en los contenidos de clorofila durante los 15 días de inundación (Figura 10), rasgo que puede indicar su gran capacidad de adaptación a las condiciones de inundación.

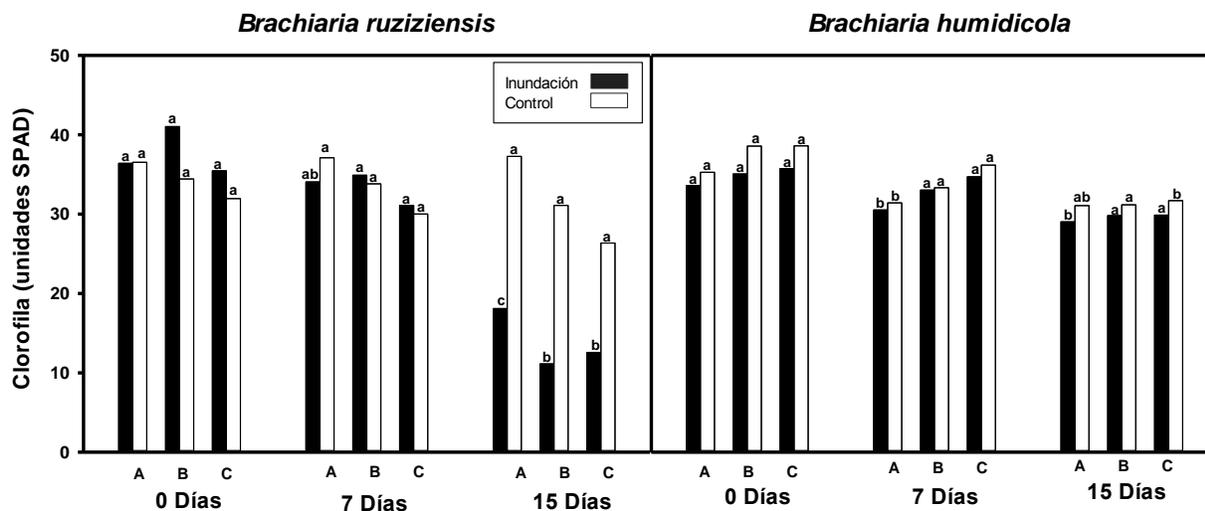


Figura 10. Cambios en los contenidos de clorofila (SPAD) en *B. ruziziensis* y *B. humidicola* a los 0, 7 y 14 después de inundación en tres posiciones de la hoja (A= Superior, B= Medio e C= Inferior). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

En *B. ruziziensis* bajo inundación, la variable eficiencia fotosintética (f_v'/f_m') en los diferentes estratos de las hojas no presentó cambios significativos a los 0 y 7 ddi (Figura 11). A los 15 ddi la

eficiencia fotosintética en *B. ruziziensis* disminuyó significativamente en los diferentes estratos de la hoja (Figura 11). En *B. humidicola* no se presentaron cambios significativos en la eficiencia fotosintética durante los 15 días de inundación a excepción del estrato inferior a los 15 ddi (Figura 10). Los contenidos de clorofila y la eficiencia fotosintética son indicativos fisiológicos básicos que pueden revelar el estado de las especies vegetales en determinados momentos o condiciones. *B. humidicola* bajo condiciones de inundación no presentó cambios significativos en estos parámetros, lo que puede ser un indicativo de la capacidad superior del genotipo para continuar sus procesos fisiológicos sin ser afectado por las condiciones anegadas del suelo.

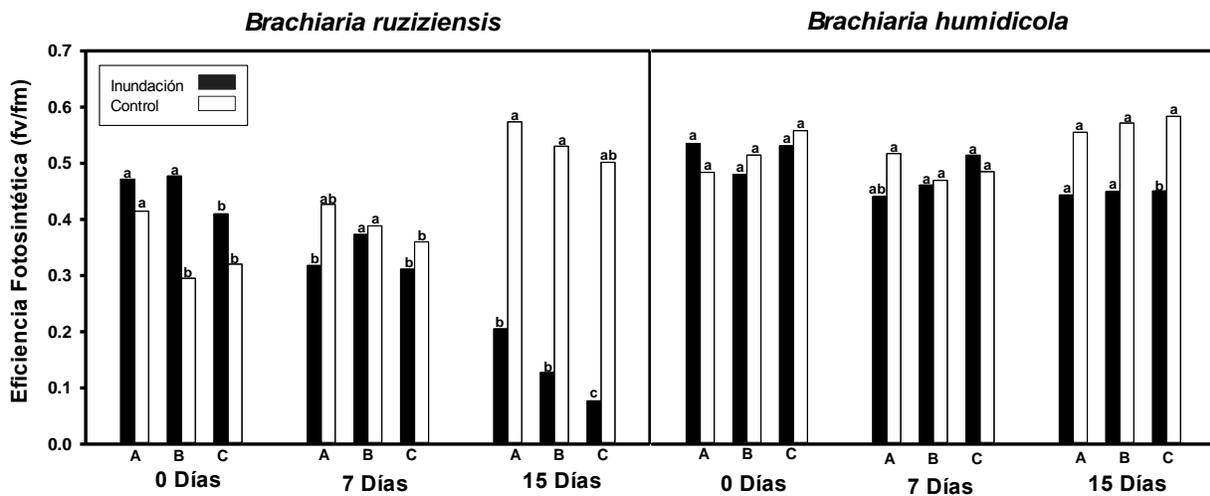


Figura 11. Cambios en la eficiencia fotosintética en *B. ruziziensis* y *B. humidicola* a los 0, 7 y 14 después de inundación en tres posiciones de la hoja (A= Superior, B= Medio e C= Inferior). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

En el presente estudio, la longitud radical total de *B. humidicola* en condiciones control fue aproximadamente 3 veces mayor que *B. ruziziensis* (Figura 12). En condiciones de inundación *B. humidicola* presentó mayor longitud radical total que *B. ruziziensis*, aunque no difieren significativamente (Figura 12). La longitud radical total entre el genotipo *B. humidicola* en condiciones de inundación y *B. ruziziensis* en condiciones control no difieren significativamente (Figura 12).

La gran longitud radical total exhibida por *B. humidicola* bajo condiciones control puede indicar una ventaja adaptativa de la especie ya que su gran sistema radical le permitiría mantener en buenas condiciones su parte aérea una vez enfrente la inundación.

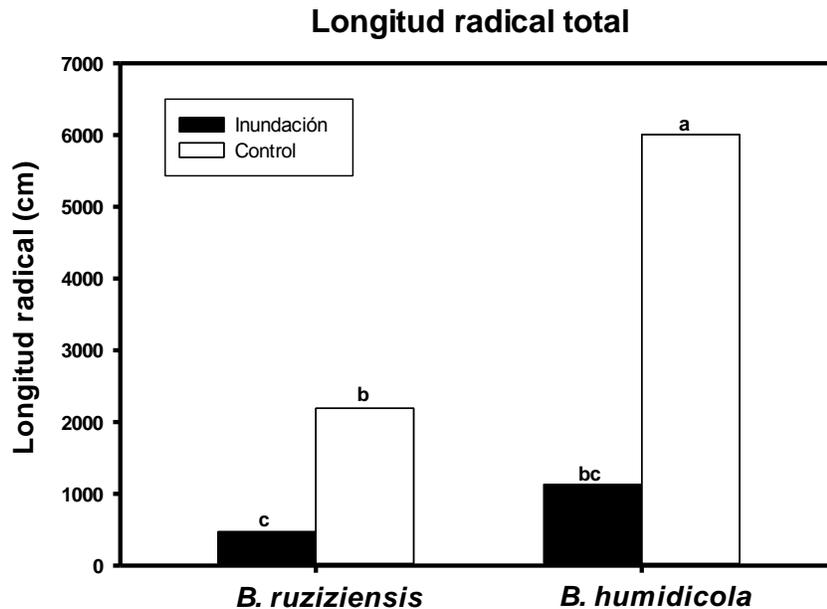


Figura 12. Longitud radical total en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

En condiciones de inundación, ambos genotipos presentaron un leve aumento en el diámetro radical, aunque no se presentaron incrementos significativos (Figura 13). El aumento en el diámetro medio radical puede indicar que se han perdido algunas raíces secundarias, lo que conduce a un aumento del diámetro promedio total. Igualmente Visser *et al.* (2000) indican que raíces más gruesas son a menudo asociadas con la formación de aerénquima en el cortex.

B. humidicola en condiciones control presenta un gran volumen radical, siendo significativamente superior a *B. ruzizensis* (Figura 14). En condiciones de inundación, la cantidad total de raíz representada en volumen disminuye drásticamente en ambos genotipos (Figura 14 y 15). *B. humidicola* en inundación presenta mayor volumen radical que *B. ruzizensis* en inundación, aunque no difieren significativamente (Figura 14). El volumen radical en el

genotipo *B. humidicola* en condiciones de inundación y *B. ruzizensis* en condiciones control no difiere significativamente (Figura 14).

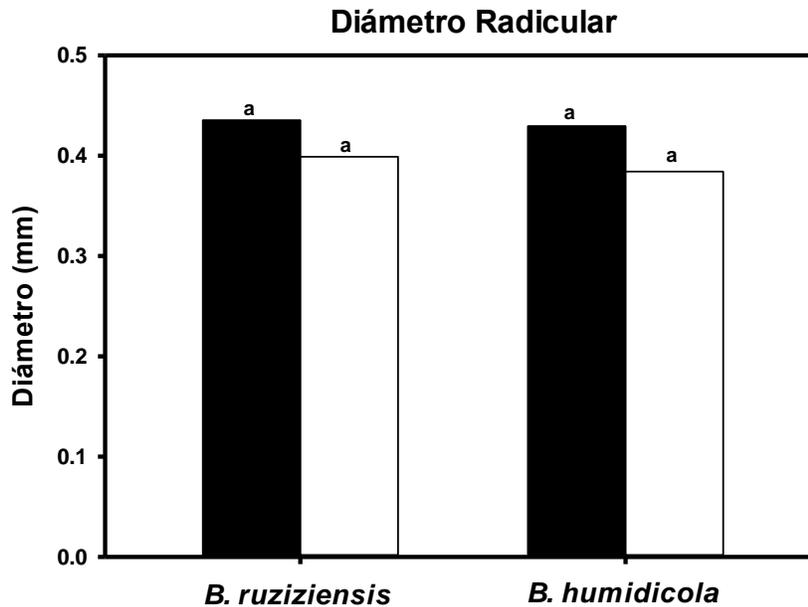


Figura 13. Diámetro radical total en *B. ruzizensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Dunncan ($P > 0.05$)

Bajo condiciones control *B. humidicola* presenta un sistema radical grande y vigoroso, gran cantidad de raíces secundarias y pelos radicales (Figura 15). En comparación, *B. ruzizensis* presenta un sistema radical poco desarrollado y con pocas raíces secundarias (Figura 15). Una vez las plantas fueron sometidas a inundación se pierden la mayoría de las raíces (Figura 15), empezando la muerte celular por los meristemos apicales, reduciendo en gran porcentaje el volumen y la longitud radical total (Figuras 12 y 13).

Una vez se presenta la inundación, ambos genotipos incrementan el porcentaje de aerénquima, este porcentaje es menor en cercanías al ápice radical (Figura 16). *B. ruzizensis* bajo inundación presenta incrementos significativos en el porcentaje de aerénquima desde los 0 a 10 cm desde la base hasta el ápice de la raíz (Figura 16). En condiciones control, la formación de aerénquima en *B. ruzizensis* es nula o casi imperceptible (Figura 16).

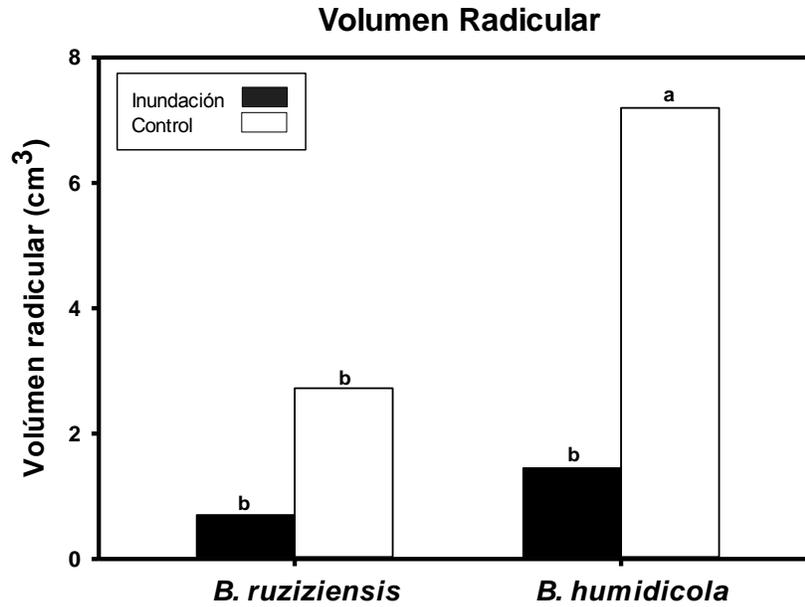


Figura 14. Volumen radicular en *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

B. humidicola bajo inundación presenta grandes incrementos en el porcentaje de aerénquima, aunque solo se presenta un aumento significativo entre los 10 y 15 cm desde la base hasta el ápice de la raíz (Figura 16). En condiciones control, *B. humidicola* presenta un gran porcentaje de aerénquima (Figura 16).



Figura 15. Diferencia visuales entre *B. ruziziensis* (Br4402) y *B. humidicola* (CIAT679) en control e inundación.

La habilidad de las raíces para desarrollar aerénquima es una importante adaptación anatómica de las plantas vasculares que le permite crecer exitosamente en suelo deficientes en oxígeno (Aguilara *et al.*, 1999).

Los cambios promedio en el contenido de aerénquima en *B. ruziziensis* fluctuaron desde 1% en condiciones control hasta un 25% en condiciones de inundación (Figura 16). Mientras tanto, *B. humidicola* presenta valores promedio de aerénquima desde 10% en condiciones aireadas hasta un 35% en condiciones de inundación (Figura 16). Valores diferentes fueron encontrados en algunas especies de mono y dicotiledóneas por Visser *et al.*, (2000), donde el incremento relativo fue al menos 40% en las especies con 25 – 30% de aerénquima en condiciones aireadas y tan solo dos veces en las especies con solo un 10% de porosidad.

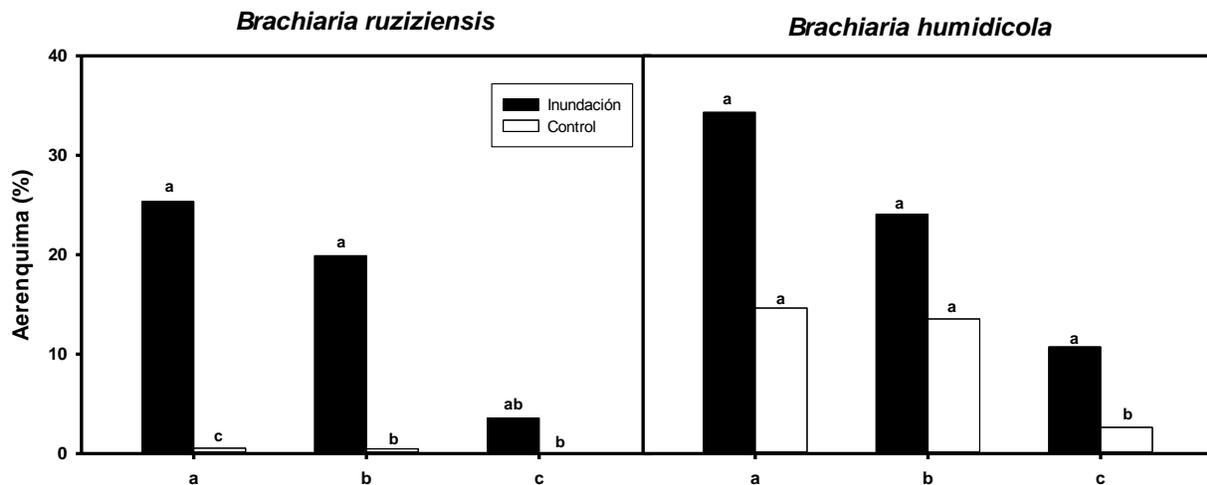


Figura 16. Porcentaje de aerénquima en *B. ruziziensis* y *B. humidicola* en tres distancias desde la base hasta el ápice de las raíces, A= (0–5cm), B= (5–10cm) y C= (10–15cm). Barras llenas y vacías indican inundación y control respectivamente. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

El desarrollo del aerénquima ha sido considerado como un mecanismo esencial de la planta para afrontar la anaerobiosis (Li *et al.*, 2006). La formación de aerénquima es específica de algunas especies y puede diferir entre genotipos dentro de una misma especie (Colmer, 2003a). Bajo condiciones control, el porcentaje de aerénquima en *B. ruziziensis* es casi despreciable, presentando diferencias significativas en comparación con *B. humidicola* bajo condiciones

control (Figura 16). Nuestros resultados indican que el aerénquima es un rasgo constitutivo en *B. humidicola*, aunque se aumenta significativamente una vez ocurre la inundación (Figura 17). En contraste, *B. ruziziensis* solo forma aerénquima después de la inundación (Figura 17). El aerénquima constitutivo puede ser considerado como una ventaja adaptativa de las especies para tolerar periodos de anegamiento, ya que esto proporcionaría a la planta una ventaja inicial al momento de presentarse la inundación.

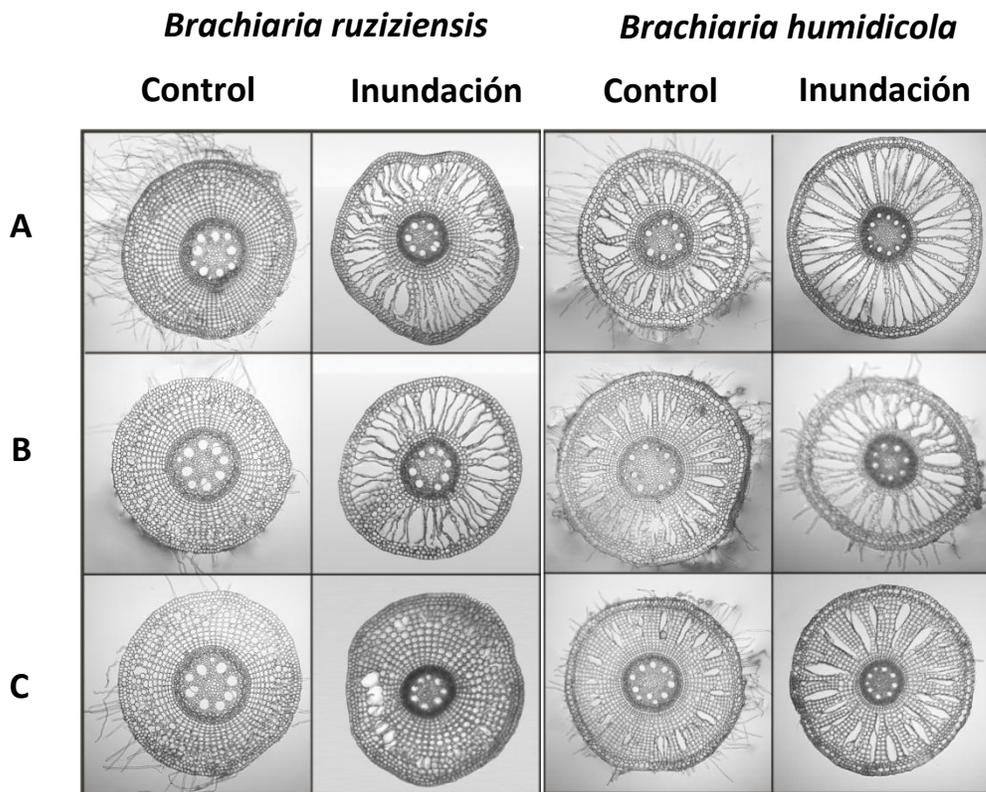


Figura 17. Porcentaje de aerénquima en *B. ruziziensis* y *B. humidicola* en tres distancias desde la base hasta el ápice de las raíces, A=(0–5cm), B=(5–10cm) y C=(10–15 cm).

Además del aumento en el porcentaje de aerénquima bajo condiciones de inundación, las plantas pierden parcialmente sus pelos radicales (Figura 17). Dicha pérdida puede representar un ahorro energético para la planta, ya que hay menos tejido vegetal por mantener.

En condiciones de drenaje no se presenta deposición de suberina en ninguno de los dos genotipos (Figura 18). En condiciones de inundación, *B. humidicola* forma una barrera extendida de suberina en forma de bandas tangenciales que se depositan en gran parte de la exodermis, cubriendo más del 80% de las células (Figura 18). En contraste, *B. ruzizensis* solo exhibe deposiciones parciales en algunas células, siendo menos del 50% de las células y en arreglos paralelos depositados solo en algunas paredes de la célula (Figura 18).

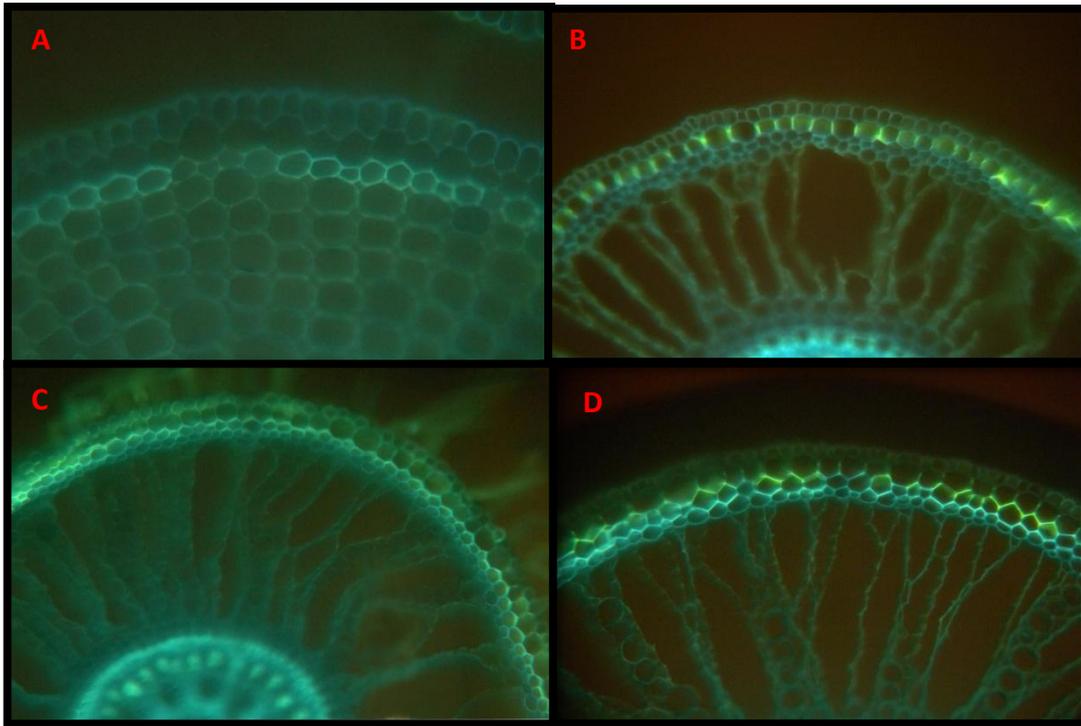


Figura 18. Deposiciones de suberina en OPR radicular. A) *B. ruzizensis* control, B) *B. ruzizensis* inundación, C) *B. humidicola* control y D) *B. humidicola* inundación.

Grandes deposiciones de suberina en la OPR de la raíz indica la formación de una barrera apoplástica para impedir ROL. De esta forma se contribuye a mejorar la aireación radicular y así mismo se mejora el transporte radial de agua y iones disueltos en el apoplasto (Schreiber *et al.*, 2005).

Nuestros resultados sugieren que la gran tolerancia a inundación exhibida por *B. humidicola* es producto de la formación sinérgica de aerénquima acompañado por un aumento en las

deposiciones de suberina en la OPR. Estos resultados son similares a lo encontrado por Abiko *et al.*, (2012) en *Zea nicaraguensis*.

Conclusiones

- A los 15 días después de inundación, el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética en *B. ruzizensis* fueron significativamente afectados. En contraste, *B. humidicola* no presentó ningún cambio significativo, indicando su gran capacidad de tolerar periodos con deficiencia de oxígeno en el suelo sin ver afectado sus procesos fisiológicos.
- La longitud y el volumen radical de *B. humidicola* en condiciones control es muy superior al de *B. ruzizensis*. Bajo condiciones de inundación, *B. humidicola* presenta mayor longitud y volumen radical que *B. ruzizensis*, aunque no difieren significativamente. El gran sistema radical que presenta *B. humidicola* bajo condiciones control, puede indicar una ventaja adaptativa de la especie, ya que una vez enfrente la inundación, este rasgo le permitiría mantener en mejor condición su parte aérea. El diámetro radical no varió significativamente para ninguna de las especies bajo inundación y control.
- Bajo condiciones control, solo *B. humidicola* presenta aerénquima, siendo un rasgo constitutivo. En condiciones de inundación ambos genotipos inducen aerénquima. Así mismo se presenta un aumento del porcentaje de aerénquima a medida que se acerca a la base de la raíz. También se suprimen los pelos radicales una vez la planta afronta la inundación.
- Bajo inundación, *B. humidicola* forma una barrera extendida de suberina con más del 80% de células suberizadas. En contraste, *B. ruzizensis* solo exhibe deposiciones

parciales en algunas células siendo menor al 50%. En condiciones de drenaje no se presentó deposición de suberina en ninguno de los dos genotipos.

- La gran tolerancia a inundación exhibida por *B. humidicola* es producto de la formación sinérgica de aerénquima acompañado por un aumento en las deposiciones de suberina en la OPR

Referencias

Abiko T., L. Kotula, K. Shiono, A. I. Malik, T. D. Colmer y M. Nakazono. 2012. Enhanced formation of aerenchyma and induction of a barrier to radial oxygen loss in adventitious roots of *Zea nicaraguensis* contribute to its waterlogging tolerance as compared with maize (*Zea mays* ssp. *mays*). *Plant Cell and Environment* 35: 1618 - 1630.

Aguilara E. A., D. W. Turnera y K. Sivasithamparam. 1999. Aerenchyma formation in roots of four banana (*Musa* spp.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 80: 57 – 72.

Armstrong W., D. Cousins, J. Armstrong, D.W. Turner, P. M. Beckett. 2000. Oxygen distribution in wetland plant roots and permeability barriers to gas-exchange with the rhizosphere: a microelectrode and modelling study with *Phragmites australis*. *Annals of Botany* 86: 687-703

Aschi-Smiti S., W. Chaièbi, R. Brouquisse, B. Ricard y P. Saglio. 2003. Assessment of enzyme induction and aerenchyma formation as mechanisms for flooding tolerance in *Trifolium subterraneum* 'Park'. *Annals of Botany* 91: 195-204.

Bailey-Serres J. y Voesenek L. A. C. J. 2008. Flooding Stress: Acclimations and Genetic Diversity. *Annual Review of Plant Biology* 59: 313 – 39.

Brundrett M.C., D. E. Enstone y C. A. Peterson. 1988. A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin, and callose in plant tissue. *Protoplasma* 146: 133 - 142.

Cardoso J. A., J. C. Jiménez e I. M. Rao. (sin publicar). Preservation, hand sectioning and staining for quantification of root anatomical traits.

Colmer T. D. 2003a. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. *Plant, Cell and Environment* 26: 17 – 36.

Colmer T. D. 2003b. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 91: 301 – 309.

Colmer T. D., M. R. Gibberd, A. Wiengweera y T. K. Tinh. 1998. The barrier to radial oxygen loss from roots of rice (*Oryza sativa* L.) is induced by growth in stagnant solution. *Journal of Experimental Botany* 49(325): 1431 – 1436.

Colmer, T. D., M. C. H. Cox y L. A. C. J. Voeselek. 2006. Root aeration in rice (*Oryza sativa*): evaluation of oxygen, carbon dioxide, and ethylene as possible regulators of root acclimatizations. *New Phytologist* 170: 767 - 778.

Colmer T. D. y Voeselek L. A. C. J. 2009. Flooding tolerance: suites of plant traits in variable Environments. *Functional Plant Biology* 36: 665 – 681.

De Simone O., K. Haase, E. Muller, W. J. Junk, K. Hartmann, L. Schreiber y W. Schmidt. 2003. Apoplasmic Barriers and Oxygen transport Properties of Hypodermal Cell Walls in Roots from Four Amazonian Tree Species. *Plant Physiology* 132: 206 – 217.

Enstone D. E. y Peterson C. A. 2005. Suberin lamella development in maize seedlings roots grown in aerated and stagnant conditions. *Plant, Cell and Environment* 28: 444 - 455.

Evans D. E. 2004. Aerenchyma formation. *New Phytologist* 161: 35 - 49.

Kolb R. M. y Joly C. A. 2009. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: Metabolic, morphological and growth responses. *Flora* 204: 528-535.

Koppitz H. 2004. Effects of flooding on the amino acid and carbohydrate patterns of *Phragmites australis*. *Limnologica* 34: 37 - 47.

Kotula L., K. Ranathunge, L. Schreiber y E. Steudle. 2009. Functional and chemical comparison of apoplastic barriers to radial oxygen loss in roots of rice (*Oriza sativa* L.) grown in aerated or deoxygenated solution. *Journal of Experimental Botany* 60: 2155 - 2167.

Jiménez J. C., L. P. Moreno y S. Magnitskiy. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 6(1): 96 – 109.

Li Shuwen, S. R. Pezeshki, F. D. Shields Jr. 2006. Partial flooding enhances aeration in adventitious roots of black willow (*Salix nigra*) cuttings. *Journal of Plant Physiology* 163: 619 – 628.

Rao I. M, W. M. Roca, M. A. Ayarza, E. Tabares y R. Garcia. 1992. Somaclonal variation in plant adaptation to acid soil in the tropical forage legume *Stylosanthes guianensis*. *Plant and Soil* 146: 21 - 30.

Schreiber L., R. Franke y K. Hartmann. 2005. Effects of NO₃ deficiency and NaCl stress on suberin deposition in rhizo and hypodermal (RHCW) and endodermal cell walls (ECW) of castor bean (*Ricinus communis* L.) roots. *Plant and Soil* 269: 333–339

Shiono K., S. Ogawa, S. Yamazaki, H. Isoda, T. Fujimura, M. Nakazono y T. D. Colmer. 2011. Contrasting dynamics of radial O₂-loss barrier induction and aerenchyma formation in rice roots of two lengths. *Annals of Botany* 107: 89 – 99.

Soukup A., W. Armstrong, L. Schreiber, R. Franke y O. Votrubová. 2007. Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration: a chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. *New Phytologist*, 173: 264 – 278.

Visser E. J. W., T. D. Colmer, C. W. P. M. Blom y L. A. C. J. Voeselek. 2000. Changes in growth, porosity, and radial oxygen loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. *Plant, Cell and Environment* 23: 1237 – 1245.

Conclusiones generales

Se estudiaron diferentes mecanismos fisiológicos que le permiten a *Brachiaria* spp. tolerar periodos de inundación. Encontramos que bajo condiciones de inundación el oxígeno en el suelo se pierde a los pocos días (2, 3 aproximadamente) por lo que la planta empieza a sufrir un verdadero estrés al poco tiempo de iniciar los ensayos. Se observan claramente diferencias marcadas entre *B. ruziziensis* siendo muy sensible a inundación y *B. humidicola* de gran desempeño bajo condiciones saturadas del suelo. La producción de biomasa aérea es baja en ambas especies bajo condiciones baja fertilidad del suelo. Así mismo, se presenta un buen comportamiento en el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética cuando las plantas están sometidas a inundación y fertilidad baja. Este comportamiento es posiblemente debido a que el inicial establecimiento en un ambiente limitado permitió el desarrollo de mecanismos de defensa para tolerar mejor la posterior inundación. En condiciones de inundación, *B. ruziziensis*

presentó una gran absorción de algunos micronutrientes, pudiendo llegar a niveles tóxicos para la planta. Al contrario, *B. humidicola* en condiciones de inundación presenta un nivel bajo de absorción de micronutrientes, lo que sugiere que esta especie puede presentar algún mecanismo que impida la entrada de sustancias tóxicas.

Se determinó que la evaluación del daño oxidativo según la producción de malondialdehído no es confiable para el género *Brachiaria*, ya que estas plantas producen compuestos que interfieren con la medición espectrofotométrica, conduciendo a una sobreestimación. Así mismo en, *B. humidicola*, algunos pigmentos como las antocianinas se depositan justo debajo de la epidermis foliar, posiblemente realizando una función de fotoprotección. De igual manera, *B. humidicola* presenta giros foliares cubiertos por antocianinas según la incidencia de sol.

La longitud y el volumen radical de *B. humidicola* en condiciones control es muy superior al de *B. ruziziensis*. Esta condición puede indicar una ventaja adaptativa de la especie ya que presenta un gran sistema radical inicial y una vez enfrente la inundación este rasgo le permitiría mantener en mejor condición su parte aérea. Una vez sometidas a inundación, las plantas forman aerénquima. Bajo condiciones control solo el genotipo *B. humidicola* presenta aerénquima, siendo un rasgo constitutivo. Así mismo en condiciones de inundación, el genotipo *B. humidicola* forma una barrera extendida de suberina con más del 80% de células suberizadas. En contraste, *B. ruziziensis* solo exhibe deposiciones parciales en algunas células, presentando menos del 50% de células suberizadas. Nuestros resultados indican que el gran nivel de tolerancia a inundación exhibido por *B. humidicola* es asociado con incrementos en la formación de aerénquima en la raíz, aumentos en las deposiciones de suberina en la OPR y a la inducción de mecanismos de fotoprotección en hojas.