

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE GRADUADOS



**EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA A ALUMINIO EN 125
ACCESIONES DE BROMO (*Bromus valdivianus* Phil.)**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magíster en Ciencias Mención Producción Animal.

MARCELO JOSÉ NOBILE TONEATTI BASTIDAS
VALDIVIA – CHILE

2006

PROFESOR PATROCINANTE

.....
Dante Pinochet T.
Ing. Agr., M.Sc., Ph. D.
Instituto Ingeniería Agraria y suelos
Facultad de Ciencias Agrarias

PROFESORES EVALUADORES

.....
Oscar Balocchi L.
Ing. Agr., M.Sc., Ph. D.
Instituto Producción Animal
Facultad de Ciencias Agrarias

.....
Ricardo Fuentes P.
Ing. Agr., M.Sc.
Instituto Producción y Sanidad
Vegetal
Facultad de Ciencias Agrarias

Yo, Marcelo José Nobile Toneatti Bastidas, declaro que soy el autor del presente trabajo, que lo he realizado en su integridad y no lo he publicado para obtener otros Grados o Títulos.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mi profundo agradecimiento a mis profesores patrocinantes e informantes Dante Pinochet, Oscar Balocchi y Ricardo Fuentes, a ellos les agradezco su orientación académica, pero especialmente su apoyo personal para lograr este objetivo.

Al escribir esta nota, afortunadamente, los recuerdos se llenan de agradecimientos, para mis profesores Luis, René, Daniel, Achim, Humberto y para todos los amigos de los laboratorios del Instituto de Producción Animal y del Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, por supuesto para Aracely y Viviana, en fin si se me olvida alguien estoy seguro que seré perdonado.

También quiero agradecer a Guillermo y Rosita, quienes fueron compañeros y amigos en esta jornada.

Por último, quiero agradecer a mi familia, por su comprensión y apoyo.

A todos, por siempre Muchas Gracias.

ÍNDICE DE MATERIAS

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Acidificación de los suelos, conceptos generales	3
2.1.1 Causas de la acidificación	4
2.1.2 Concepto de acidez	6
2.2 Aluminio en el suelo	7
2.2.1 Aluminio y nutrición mineral	9
2.2.2 Síntomas y efectos de la toxicidad de Aluminio en las plantas	10
2.2.2.1 Síntomas y efectos de la toxicidad en las raíces	10
2.2.2.2 Síntomas y efectos de la toxicidad en los tallos	11
2.2.2.3 Efectos del aluminio a nivel celular	12
2.3 Corrección de la toxicidad por aluminio	14
2.4 Mecanismos de tolerancia a aluminio en vegetales	16
2.4.1 Mecanismos externos de tolerancia a aluminio	20
2.4.2 Mecanismos internos de tolerancia a aluminio	24
2.4.2.1 Plantas acumuladoras de aluminio	25
2.4.3 Otros mecanismos de tolerancia al aluminio	29
2.5 Resultados de estudios sobre la tolerancia a aluminio	29
2.6 Metodologías para determinar la tolerancia a aluminio	33
2.7 Índices utilizados en la evaluación de la tolerancia a aluminio	35
2.8 Efectos del aluminio en la relación planta – animal – hombre	36
2.9 Descripción botánica de Bromo (<i>Brumus valdivianus</i> Phil.)o	37

3.	MATERIAL Y MÉTODOS	40
3.1	Ubicación y duración del ensayo	40
3.2	Condiciones de trabajo	40
3.2.1	Temperatura	40
3.2.2	Humedad relativa	41
3.2.3	Luz	41
3.2.4	Material experimental	41
3.3	Etapas de experimentación	41
3.3.1	Primera parte: Prueba preliminar ("screening")	41
3.3.2	Segunda Parte "ensayo en Jarra Leonard"	42
3.3.2.1	Preparación y montaje	43
3.3.2.1.1	Lavado de jarras	43
3.3.2.1.2	Tamizado y lavado del cuarzo	43
3.3.2.1.3	Determinación del aluminio intercambiable en el cuarzo utilizado en el ensayo	43
3.3.2.1.4	Montaje y llenado de las jarras	43
3.3.2.1.5	Esterilización de las jarras	43
3.3.2.1.6	Germinación	44
3.4	Trasplante de plántulas	44
3.5	Tipo de solución nutritiva y aplicación	44
3.6	Tratamientos	44
3.7	Trasplante de plántulas	44
3.8	Cosecha del material vegetal	45
3.9	Molienda del material vegetal	45
3.10	Determinación de la concentración de aluminio	45
3.11	Parámetros a evaluar	46
3.11.1	Largo de raíces y parte aérea ("screening")	46
3.11.2	Calificación radical y aérea ("screening")	46
3.11.3	Materia seca radical (mg)	46
3.11.4	Materia seca aérea (mg)	46
3.11.5	Concentración de aluminio en las raíces (mg kg ⁻¹)	46
3.11.6	Concentración de aluminio en la parte aérea (mg kg ⁻¹)	47

3.12	Criterios de clasificación de las accesiones en la etapa preliminar	47
3.13	Diseño experimental	48
3.14	Análisis estadístico	48
4.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
4.1	Clasificación preliminar	49
4.1.1	Variabilidad de las accesiones en los tratamientos de aluminio en solución	49
4.1.2	Distribución de frecuencia de las variables evaluadas	51
4.1.2.1	Largo de raíz	51
4.1.2.2	Largo aéreo	53
4.1.2.3	Calificación radical	56
4.1.2.4	Calificación aérea	58
4.1.3	Ordenamiento en función del parámetro ponderado, relación crecimiento radical – largo aéreo y variables cualitativas	60
4.1.4	Selección de las accesiones para segunda etapa del estudio	63
4.2	Ensayo en jarras Leonard de las accesiones seleccionadas (sustrato sólido).	65
4.2.1	Producción de materia seca	65
4.2.1.1	Producción de materia seca radical	65
4.2.1.2	Producción de materia seca radical por accesión y nivel de aluminio	66
4.2.1.3	Producción de materia seca aérea	68
4.2.1.4	Producción de materia seca aérea por accesión y nivel de aluminio	70
4.2.2	Concentración de aluminio	74
4.2.2.1	Concentración promedio de aluminio en las raíces según nivel de aluminio	74
4.2.2.2	Concentración promedio de aluminio aéreo según nivel de aluminio	75

4.2.2.3	Concentración de aluminio radical por accesión y nivel de aluminio	76
4.2.2.4	Concentración de aluminio en la parte aérea por accesión y nivel de aluminio	79
4.2.2.5	Relaciones entre concentración radical y aérea	81
4.2.3	Análisis de regresión	84
4.2.3.1	Análisis de regresión para concentración de aluminio aéreo y rendimiento aéreo	84
5.	CONCLUSIONES	91
6.	RESUMEN	93
7.	SUMMARY	95
8.	BIBLIOGRAFÍA	97
	ANEXOS	111

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
1	Principales áreas de suelos ácidos en el mundo	3
2	Distribución relativa y carga promedio de los diferentes tipos de Al soluble, en función al pH	8
3	Estructuras propuestas para las interacciones ADN-Al	13
4	Reacción de desplazamiento y neutralización de Al ⁺³ de intercambio mediante el carbonato de calcio	15
5	Mecanismos de tolerancia versus mecanismos de exclusión del Al	18
6	Ácidos orgánicos capaces de formar estructuras de anillo con 5 a 6 enlaces junto con el aluminio, que protegen a la planta de la toxicidad	22
7	Distribuciones de frecuencia para largo radical de las accesiones en los distintos niveles de Al	51
8	Distribuciones de frecuencia para largo aéreo de las accesiones en los distintos niveles de Al	54
9	Distribuciones de frecuencia para calificación radical de las accesiones en los distintos niveles de Al	56
10	Distribuciones de frecuencia para calificación radical de las accesiones en los distintos niveles de Al	59
11	Gráfica de comparación entre los parámetros de evaluación	62
12	Peso de la raíz de acuerdo a niveles de aluminio en solución	68
13	Peso de la parte aérea de acuerdo a niveles de aluminio en solución.	73
14	Concentración de aluminio en las raíces	78

15	Concentración de aluminio en la parte aérea	80
16	Graficas de las ecuaciones de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo de accesiones y especies	87

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág.
1	Ubicación taxonómica del pasto Bromo de acuerdo a Font Quer, Matthei, Forde y Edgar	38
2	Variables ponderadas	47
3	Valores de P de los ANDEVA para <i>Bromus valdivianus</i>	50
4	Parámetros estadísticos descriptivos para largo de raíz	53
5	Parámetros estadísticos descriptivos para largo aéreo	56
6	Parámetros estadísticos descriptivos para calificación radical	58
7	Parámetros estadísticos descriptivos para calificación aérea	60
8	Ejemplo de los ordenamientos de las accesiones y especies de acuerdo a disminución del porcentaje de evaluación respecto al testigo sin Al en solución	64
9	Peso promedio de la raíz de acuerdo a niveles de aluminio en solución	65
10	Producción de materia seca radical por accesión y nivel de Al	66
11	Peso promedio de la parte aérea de acuerdo a niveles de Al en solución	69
12	Peso aéreo (mg) por accesión y nivel de Al (μM)	70
13	Concentración promedio de aluminio radical y aéreo	74
14	Concentración de aluminio radical por accesión y nivel de Al	76
15	Concentración de Al aéreo por accesión y nivel de Al	79

16	Ordenamiento por la proporción entre la concentración entre Al radical y aéreo en los distintos niveles de Al en solución	82
17	Parámetros de la ecuación de regresión de concentración Al aéreo – rendimiento aéreo	85
18	Determinación de la concentración para el valor A/2	89

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
1	Composición de la solución nutritiva	112
2	Detalle del ordenamiento efectuado de las accesiones de acuerdo a disminución del porcentaje de evaluación respecto al testigo sin Al en solución.	113
3	Rangos de clasificación para largo aéreo	119
4	Rangos de clasificación para calificación radical	119
5	Rangos de clasificación para calificación aérea	120
6	Análisis de varianza para variable dependiente concentración de Al radical	120
7	Análisis de varianza para variable dependiente peso radical	121
8	Análisis de varianza para variable dependiente concentración de Al aéreo	121
9	Análisis de varianza para variable dependiente peso aéreo	121
10	Parámetros de la ecuación de regresión concentración de Al radical-rendimiento aéreo.	122
11	Parámetros de la ecuación promedio de regresión concentración Al aéreo-rendimiento aéreo.	122
12	Gráficas para los promedios de ecuaciones de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo de accesiones y especies	123
13	Gráficas para las de ecuaciones de regresión para concentración de Al radical y rendimiento radical de accesiones y especies.	124

1 INTRODUCCIÓN

En Chile, los suelos ácidos se localizan principalmente en la zona centro-sur y sur, e imponen restricciones agronómicas, entre las cuales la toxicidad por aluminio representa una de las principales limitantes para la producción de cultivos. El encalado superficial ha sido la práctica común para la corrección de la acidez superficial en los suelos y los problemas derivados de la presencia de aluminio, pero es generalmente lenta en el mejoramiento de la acidez del subsuelo.

En los últimos años, el uso de cultivos tolerantes a la acidez y particularmente a la presencia de aluminio tóxico ha entregado un enfoque complementario al encalado de los suelos como solución a los problemas generados por la acidificación, debido a que en respuesta a este estrés, existen plantas que han desarrollado estrategias que les permiten detoxificar el aluminio, ya sea internamente o en la rizósfera. En este sentido, la búsqueda de material vegetal que tenga la capacidad de tolerar el aluminio tóxico generado por la acidificación de los suelos en los lugares donde el problema de la acidez esta presente parece ser una alternativa válida, pues se considera que la presión de selección ejercida por la presencia de aluminio en la solución del suelo ha generado ecotipos vegetales con distintos grados de tolerancia, que pueden ser incorporados en programas de mejoramiento.

El estudio propone que bajo las condiciones de acidez y presencia de aluminio propios de los suelos del sur de Chile, se han desarrollado especies capaces de tolerar aluminio, debido a que los elevados niveles de aluminio tóxico han generado una presión de selección que determinó la evolución de especies con mecanismos de adaptación a esta condición predominante en la zona. Al respecto, el *Bromus valdivianus* es una especie pratense nativa de Chile, que está

presente frecuentemente en las praderas naturalizadas de la zona, y por lo tanto, presenta una adaptación natural a las condiciones edafoclimáticas de la zona sur.

Por lo anterior, en esta investigación se plantea como hipótesis que, “el aluminio en solución presente en los suelos de la X Región derivados de materiales volcánicos, ha producido una presión de selección originando la existencia de ecotipos de *Bromus valdivianus* con distintos grados de tolerancia a su fitotoxicidad”.

En este sentido, se plantea como objetivo general, determinar la variación de la tolerancia al aluminio en 125 accesiones de *Bromus valdivianus* colectadas en la X Región de Chile. Específicamente se pretende evaluar en parámetros de crecimiento de las plantas, largo radical y largo aéreo, la tolerancia a distintos niveles de aluminio en solución, y proceder a un ordenamiento y selección de acuerdo al nivel de tolerancia o susceptibilidad. Posteriormente, evaluar en accesiones seleccionadas por grado de tolerancia la productividad de materia seca y concentración de aluminio en condiciones controladas de crecientes niveles de aluminio. Adicionalmente, evaluar la relación entre la concentración de aluminio en los tejidos y la productividad de las accesiones e inferir probables mecanismos de adaptación de las accesiones al incremento de aluminio en solución.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Acidificación de los suelos, conceptos generales

Los suelos ácidos ocupan aproximadamente el 30% de la superficie de la tierra del planeta libre de hielo (von Uexküll y Mutert, 1995), encontrándose los suelos más ácidos en zonas húmedas, especialmente en aquellas donde se combina con altas temperaturas, como es el caso de las zonas tropicales (Suárez, 1992).

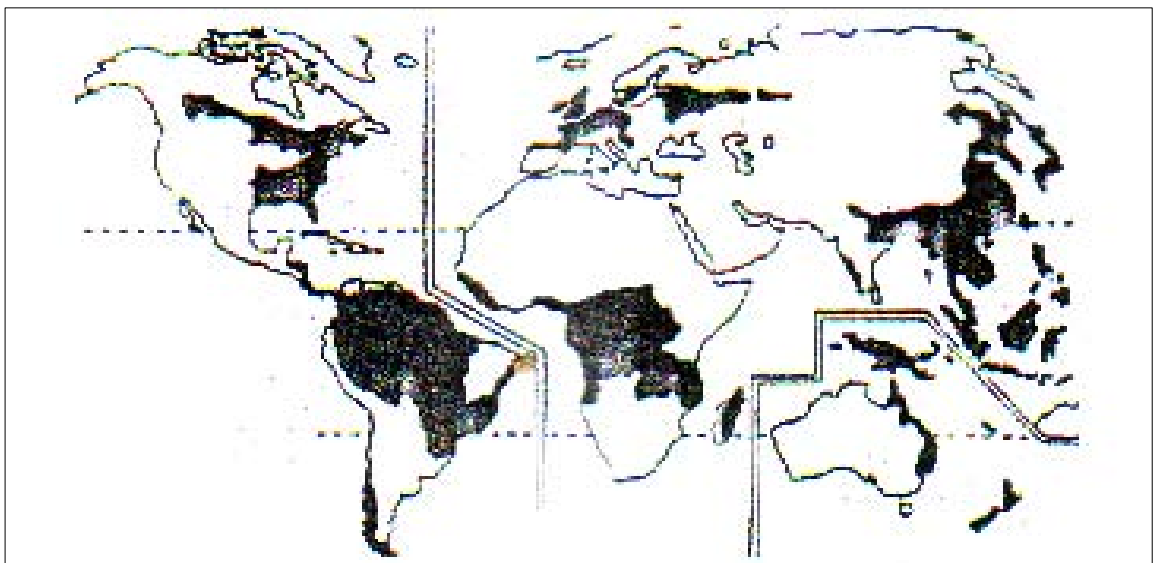


FIGURA 1. Principales áreas de suelos ácidos en el mundo.

FUENTE: Venegas (1993)

Según Araos (1992), la acidificación de un suelo corresponde al empobrecimiento de éste en los elementos básicos o alcalinos, potasio (K), sodio (Na), magnesio (Mg) y calcio (Ca). Según las revisiones realizadas por Sadzawka

(1991); Sadzawka y Campillo (1993), los suelos ácidos se han generado por una pérdida de los cationes básicos Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+1} y Na^{+1} y una acumulación de cationes ácidos de aluminio (Al^{+3}) e hidrógeno (H^{+1}).

La acidez de los suelos limita el crecimiento de las plantas debido a una combinación de factores que incluyen la toxicidad de Al^{+3} , manganeso (Mn^{+2}) e H^{+1} (Marschner, 1991), y la deficiencia de nutrientes esenciales, especialmente Ca, Mg, fósforo (P) y molibdeno (Mo), pero el factor más importante que limita el crecimiento en los suelos ácidos es el Al soluble. Wright y Ritchie, citados por Sadzawka y Campillo, (1993) y Araos (1992), señalan también al hierro (Fe^{+2}), como otro elemento capaz de causar fitotoxicidad en los vegetales.

2.1.1 Causas de la acidificación

Según Sadzawka y Campillo (1993), existen varios factores que condicionan la magnitud e intensidad del proceso de acidificación de los suelos.

- El laboreo de los suelos, propio de una agricultura de carácter intensiva, la cual acelera el proceso descrito anteriormente.
- La alta caída pluviométrica, provocando una lixiviación o arrastre hacia el interior del perfil de suelo de las bases de intercambio, reemplazándolas por los cationes de intercambio.
- La descomposición de residuos orgánicos, que como producto liberan dióxido de carbono (CO_2), el cual se combina con agua para formar ácido carbónico.
- La fijación simbiótica de nitrógeno (N) que durante su proceso libera iones H^{+1} a la solución del suelo.

A esto se suma lo expuesto por Rodríguez (1993), en donde afirma que las causas de la acidez son:

- Exportación de bases químicas en los productos de las cosechas.
- Exportación de bases en los residuos de las cosechas.
- Acumulación y/o lixiviación de nitratos como resultado de la mineralización de la materia orgánica.
- Lluvia ácida, polución por ácido sulfúrico y nítrico.

Sadzawka y Campillo (1993), afirman que para entender cabalmente el proceso de acidificación es importante conocer algunas características químicas de los suelos. Por esto es común referirse a los suelos volcánicos chilenos como suelos de carga variable. Esto significa que son suelos en los cuales una proporción significativa de la carga eléctrica de la superficie de las partículas o coloides que son responsables de la retención de los cationes, son dependientes del pH. Por ello cuando disminuye el pH, también se produce una disminución de la capacidad del suelo para atraer cationes, los cuales al estar presentes en la solución podrán perderse fácilmente por el arrastre de las aguas lluvia. A la inversa, cuando aumenta el pH de la solución de suelo, este puede atraer una mayor cantidad de cationes que estarán disponibles para las plantas.

Mora *et al.* (1993), afirman que las causas por las cuales en la actualidad cerca del 25% de los suelo agrícolas de la IX Región se encuentran en la categoría de suelos ácidos, son principalmente la pérdida de bases de intercambio producida por exceso de pluviometría, y el uso intensivo de suelos, sin una adecuada reposición de ellas.

2.1.2 Concepto de acidez

Los estudios sobre acidez demuestran que es posible hablar de tres tipos de acidez presentes en el suelo: la acidez real o activa, la acidez intercambiable y la acidez residual (Brady y Weil, 1999).

La acidez activa, está determinada por la concentración de iones hidrogeno (H^+) en la solución del suelo y más exactamente por la actividad de éstos. La actividad del H^+ y Al^{3+} en la solución, se define como la concentración efectiva de H^+ en el suelo, como en líquidos fisiológicos. La acidez activa es muy pequeña comparada con las formas de acidez intercambiable o residual, sin embargo es extremadamente importante, ya que la solución del suelo es el medioambiente de las raíces de las plantas y los microorganismos (Brady y Weil, 2000).

La acidez intercambiable es aquella asociada a la presencia de iones de Al^{3+} e H^+ intercambiables, usualmente en grandes cantidades en muchos suelos ácidos. Estos iones pueden ser liberados a la solución del suelo por intercambio catiónico, por ello se utiliza en su determinación la sal no tamponada KCl en concentración 1 M (Brady y Weil, 1999). El equivalente químico de la acidez intercambiable en los suelos fuertemente ácidos es normalmente mil veces mayor que la acidez activa en la solución del suelo. La acidez intercambiable varía con el tipo de arcilla debido a la adsorción no específica de cationes.

Y finalmente, la acidez residual, corresponde a la suma de las dos anteriores más la acidez producida por todas aquellas otras fuentes del suelo que no son intercambiables. Está generalmente asociada con iones de hidróxido de aluminio y con iones de H^+ y Al^{3+} que están enlazados en forma no intercambiable por la materia orgánica y las arcillas silicatadas (Brady y Weil, 2000).

Sierra (1992), indica que históricamente en el sur de Chile se ha realizado la importancia de la fertilización fosfatada por parte de las diferentes instituciones

que han trabajado en investigación agrícola. Sin embargo, durante los últimos años, se ha podido constatar que otros factores asociados con la fertilidad del suelo, como la toxicidad de Al, están afectando la adecuada productividad de las leguminosas.

Larsen *et al.* (1996), indican que en las plantas el Al produce síntomas generales de toxicidad que son similares a los producidos por la deficiencia de nutrientes.

2.2 Aluminio en el suelo

Yamamoto *et al.* (1996), señalan que el Al es uno de los mayores componentes de los suelos, y los iones de Al^{+3} que se encuentran libres, solubilizados a pH bajo 5,0; son la principal limitante para el crecimiento vegetal. La conducta química de los suelos ácidos está íntimamente ligada a la química del Al.

El Al comprende el 7,1% de la corteza terrestre y está contenido en minerales primarios, secundarios y en óxidos e hidróxidos de Al. El Al contribuye a la acumulación y estabilización de la materia orgánica de los suelos volcánicos, debido a la formación de complejos estables humus - Al, los cuales no son vulnerables al ataque microbiano (Inque, citado por Sadzawka, 1991).

La solubilidad del Al, no ha sido aún clarificada en su totalidad, es por esto que varios autores plantean sus hipótesis. Al respecto, Walker, citado por Zysset *et al.* (1999), considera que el control de la solubilidad del Al está en el horizonte orgánico del suelo, mediante reacciones de intercambio entre el H y Al en la materia orgánica del suelo. Mulder, citado por Zysset *et al.* (1999), sostiene que la solubilidad del Al puede ser generada mediante la formación de complejos con la materia orgánica del suelo, sin embargo Mulder *et al.*, citados por Zysset (1999), afirman que la solubilidad del Al es controlada por diferentes rangos de

pH, lo que concuerda con lo expuesto por Bohn *et al.* (1993), en donde afirman que el tipo de Al presente en el suelo depende directamente del pH, es así que a un pH bajo 4,7 predomina el Al^{3+} , entre 4,7 y 6,5 el $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ y entre 6,5 y 8,0 el $\text{Al}(\text{OH})_3^0$. Además de estas formas solubles, el $\text{Al}(\text{OH})_3$ de fase sólida precipita en todo el intervalo de pH cubierto, siempre que exceda su producto de solubilidad.

En los suelos acidificados, la forma más abundante corresponde a Al^{3+} que es la que presenta una mayor toxicidad a las especies vegetales (Bohn *et al.*, 1979).

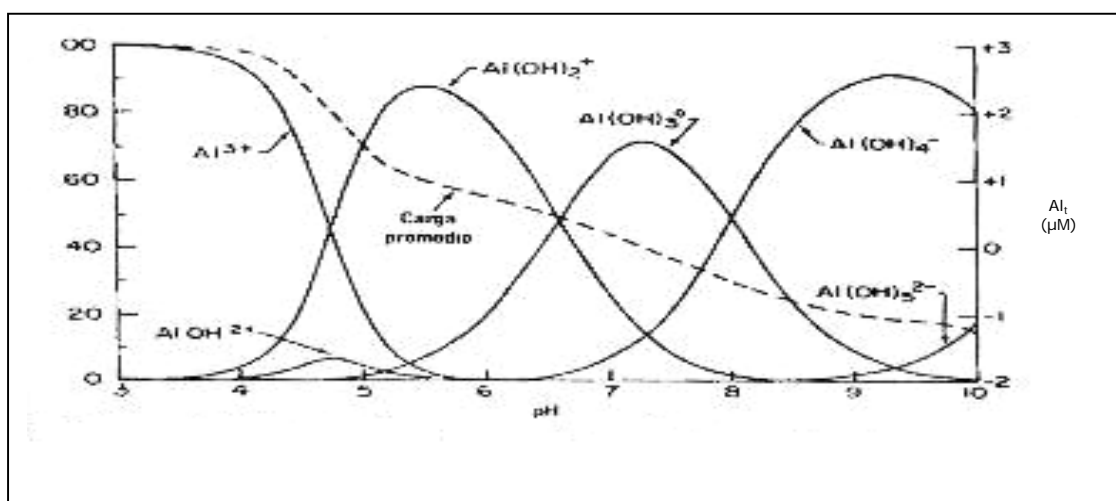


FIGURA 2. Distribución relativa y carga promedio de los diferentes tipos de Al soluble, en función del pH.

FUENTE: Bohn *et al.* (1979).

El $\text{Al}(\text{OH})_5^{-2}$ existe en todo el rango de pH del suelo, en pH bajos estarían los iones $\text{Al}(\text{OH})^{+2}$ y en pH altos estarían los iones $\text{Al}(\text{OH})^3$ O y $\text{Al}(\text{OH})^{-4}$ (Bohn *et al.* 1979).

2.2.1 Aluminio y nutrición mineral

La presencia de altos niveles de Al de intercambio afecta al desarrollo radical, limitando una adecuada nutrición y disminuyendo por tanto el rendimiento. Por otra parte, el ión Al^{+3} es capaz de competir con los nutrientes como el Ca, Mg y K, y de esta manera limitar la nutrición vegetal (Mora *et al.*, 1993).

Nichol *et al.* (1993), en estudios realizados en cebada (*Hordéum vulgare* L.), revelan que el ión Al^{+3} afecta la absorción mineral, manifestándose particularmente en una inhibición en la entrada del Ca (muy fuertemente inhibido), K y amonio (NH_4^+), y un aumento en la entrada de nitrato (NO_3^-) y P, concluyen que el Al^{+3} inhibe en mayor grado la entrada de cationes divalentes (Ca^{+2}), respecto a los monovalentes (K^+ y NH_4^+) y que en contraste estimula la entrada de aniones (NO_3^- y PO_4^-). El mecanismo mediante el cual el Al^{+3} inhibe el transporte de los iones, es aún desconocido; sin embargo se plantean algunas hipótesis. Una de ellas, planteada por Suhayda y Haug, citados por Nichol *et al.* (1993), es que el Al^{+3} puede fijarse a los fosfolípidos de la membrana plasmática, alterando la interacción lípido-proteína y modificando la actividad de los transportadores. Al respecto Kinraide *et al.*, citados por Nichol *et al.* (1993), afirman que el Al^{+3} puede reducir la carga negativa asociada con los fosfolípidos de la membrana plasmática y proteínas por fijación de estos grupos cargados o que cubren el potencial de la superficie. Otra posibilidad es que el Al^{+3} se fije directamente a los transportadores proteicos y de este modo dañe su función (Schoereoder, citado por Nichol *et al.* 1993).

El pH y los niveles de Al, también hacen que la actividad de los microorganismos en el suelo disminuya, y por lo tanto, el aporte (mineralización) de N, azufre (S) y P, sea muy bajo, porque permanece acumulado en la materia orgánica en formas que no son absorbidas por las plantas (Mora *et al.*, 1993).

Borie (1993), afirma que se ha establecido que la acidificación puede afectar negativamente la fijación simbiótica por *Rhizobium* a tres niveles:

- Afectando el número y tipo de *Rhizobium*
- Disminuyendo la nodulación
- Disminuyendo la efectividad nodular

2.2.2 Síntomas y efectos de la toxicidad por aluminio en las plantas

En general, la toxicidad por Al es importante como factor limitante en el crecimiento de las plantas en todos los suelos ácidos bajo pH 5,0, pero puede ocurrir a niveles de pH mayores (entre 5,0 y 6,2) dependiendo de la especie vegetal. El problema de toxicidad es particularmente serio en suelos fuertemente ácidos que son difíciles de encalar (Foy *et al.*, citado por Radic, 2001).

Larsen *et al.* (1996), indican que en los vegetales el Al produce síntomas generales de toxicidad que son similares a los producidos por la deficiencia de nutrientes. Foy *et al.* (1978), indican que los síntomas de lesiones por Al no son siempre fáciles de determinar, ya que a nivel foliar se parece a deficiencias de P impidiendo el crecimiento general, observándose plantas pequeñas, color verde oscuro en las hojas, madurez tardía, tallos, hojas y venas de las hojas de color púrpura, amarillamiento y muerte de las puntas de las hojas.

2.2.2.1 Síntomas y efectos de toxicidad en las raíces

Entre las anomalías que el exceso de Al causa en raíces se cuentan, la reducción del tamaño radical y la reducción o inhibición del crecimiento del eje principal de las raíces, donde el blanco primario del Al sería la cofia radical (Roy y Marschner citados por Radic, 2001).

La atrofia de las raíces es una consecuencia de la inhibición de la elongación de ellas. Las raíces son usualmente gruesas y quebradizas, además las puntas de las principales, así como de las laterales, pueden tornarse gruesas y de color café. Las raíces como tales se vuelven ineficaces absorbiendo agua y nutrientes. Las plantas jóvenes son más susceptibles que las plantas más viejas (Mossor-Pietraszewska *et al.*, 1997).

El Al pareciera no interferir con la germinación de la semilla, pero daña el crecimiento de raíces nuevas y a la plántula en su establecimiento (Nosko *et al.*, 1988). Al respecto Clarkson, citado por Snowden y Gardner (1993), señalan que subsecuentemente a los efectos inhibitorios de la elongación ocurre la inhibición del crecimiento de la planta.

Estudios realizados en trigo (*Triticum aestivum* L.) por Kinraide (1988), concluyen que el Al^{+3} afectó severamente las raíces, produciendo una atrofia y un desarrollo anormal. Estas raíces fueron gruesas, sin punta, y exhibieron un engrosamiento en células pequeñas de la epidermis y fuera de la corteza, en la zona de elongación.

2.2.2.2 Síntomas y efectos de toxicidad en tallos

Los tallos, en contraste a la situación observada con la toxicidad de Mn, son menos afectados por el Al (Chang *et al.*, 1999 y Ryan *et al.*, 1992). En los tallos, la toxicidad por Al disminuye el crecimiento de brotes, lo cual ha sido demostrado en arroz, café y cebada (Roy *et al.*, 1988). En las hojas, las más jóvenes reducen su tamaño normal, se enroscan a lo largo del margen y se vuelven cloróticas, mientras que en las hojas más viejas se observa una clorosis marginal, la cual progresa desde el centro de la hoja hacia los bordes. Este efecto clorótico, con la subsecuente muerte de tejidos se ha determinado en cultivos como el arroz, donde concentraciones superiores a 1000 ppm han provocado necrosamiento de los tejidos (Roy *et al.*, 1988).

En la parte aérea, los síntomas son difíciles de identificar, algunas plantas parecen tener síntomas de deficiencia de P, de Ca de Mg o Fe (Jones citado por Feixa, 2001). Estos síntomas podrían sugerir que la toxicidad por Al interfiere con otros elementos nutritivos esenciales para la planta y que no son sólo debido a una inhibición del crecimiento radicular (Lee y Pritchard, 1984 y Poschenrieder *et al.* citados por Feixa, 2001).

2.2.2.3 Efectos del aluminio a nivel celular

A nivel celular, la toxicidad de Al afecta entre otros, a la estructura y funcionamiento de la membrana, síntesis de ADN, elongación celular, nutrición mineral y metabolismo en general (Marschner, 1991).

El Al induce cambios en las cantidades de proteínas de membrana y citoplasma (Mistrik *et al.* 2000), pero aunque hay muchas evidencias, no se ha encontrado una función directa que relacione estas proteínas con la tolerancia al Al. En otros casos se ha visto que el gen que codifica para estas proteínas se ha encontrado tanto en la variedad tolerante como en la sensible, por lo que parece más bien involucrada en la respuesta al estrés por Al que a la tolerancia al Al. (Mistrik *et al.*, 2000).

Según Naindoo *et al.*, citados por Demanet (1994), la presencia de Al en los ácidos nucleicos, enlazado a las moléculas de fosfato puede estabilizar la doble cadena de ADN, impidiendo la división celular. Este elemento, también se puede acumular en el citoplasma de las plantas uniéndose al ARN y a la membrana y de esta forma interferir con la producción de energía y proteína.

Existe escasa evidencia concluyente sobre la toxicidad del Al a nivel citoplasmático (citotoxicidad). Sin embargo Bennet y Breen (1991), evidenciaron que la acción del Al involucraría un bloqueo del ciclo celular durante la síntesis de ADN.

Experimentos desarrollados *in vitro* por Karlik *et al.* (1980), proponen que la especie de Al que se une al DNA es dependiente del pH y el efecto del Al sería diferente dependiendo del pH, según la Figura 3.

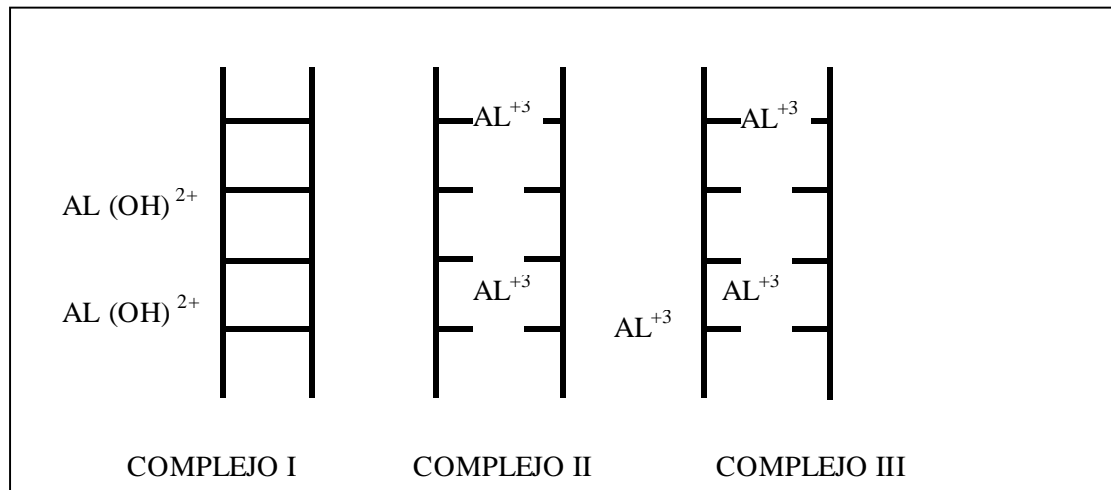


FIGURA 3. Estructuras propuestas para las interacciones ADN- Al.

FUENTE: Karlik *et al.* (1980)

A pH sobre 6,0, se formaría el complejo I, que tendría afinidad con los grupos fosfatos de la doble cadena y sería estabilizante. A pH inferior a 6,0 se formaría el complejo II, que desestabilizaría formando uniones entre cadenas. El complejo III se formaría en todos los rangos de pH y tendría efectos dispares.

Algunos autores afirman que la mayor parte del Al en el núcleo, se encuentra unido a la cromatina, provocando una depresión de su actividad. La unión del Al con el ADN, provoca un aumento de la estabilidad de la molécula, reduciendo su capacidad de replicación (Matsumoto; Morimura, citados por Feixa, 2001).

La inhibición directa de la división celular por la interacción del Al con ADN o ARN, requeriría aparentemente de altas concentraciones de especies tóxicas de

Al monoméricas, a moderadas concentraciones de Al monomérico, la inhibición de la elongación celular no se vería mayormente afectada (Marschner, 1991).

Finalmente, Huang *et al.*, (1992); Rengel y Robinson, (1989); Ishikawa y Wagatsuma, (1998), mencionan que el exceso de Al disminuye la absorción de nutrientes, particularmente Ca y Mg. Provoca desorden en la función de la membrana plasmática por unión a fosfolípidos y proteínas (Chen *et al.*, 1991, y Caldwell, 1989) y/o inhibe la fosfolipasa C, lo cual causa un desorden en la señal de transducción de la vía inositol 1, 4, 5-trifosfato-mediado y en la dinámica del citoesqueleto (Jones y Kochian, 1995).

2.3 Corrección de la toxicidad por aluminio

La corrección de los niveles de acidificación, se basa fundamentalmente en el aumento de pH y en la disminución de los niveles de Al de intercambio. Con este fin se emplean enmiendas calcáreas en los suelos, que mejoran la capacidad de intercambio catiónico (CIC), disminuyen la capacidad de retención de P, mejoran la actividad microbiológica y en definitiva aumentan el nivel de fertilidad del suelo.

Por otra parte, una muy buena alternativa de fertilización nitrogenada en suelos con riesgo de acidificación, la constituyen los fertilizantes amoniacales neutralizados, y la dosis necesaria, según resultados de la investigación, se encuentra entre 4 y 6 Kg de CaCO₃ por cada Kg de N-NH₄⁺ para suelos trumaos (Mora *et al.*, 1993).

Al agregar P a un medio con altos contenidos de Al se produce un efecto favorable por inactivación del Al. La tolerancia de la planta al Al estaría ligada en este caso, por la capacidad de absorber y de utilizar P en presencia de exceso de Al (Foy *et al.* citados por Fröhlich, 1991).

El objetivo de las enmiendas calcáreas es desplazar al Al o Mn intercambiable en la fase sólida del suelo y neutralizar el ión Al^{+3} libre en la solución del suelo. Al agregar carbonato de Ca al suelo, la primera reacción que ocurre es de hidrólisis. El ácido carbónico así formado se disocia, formando agua y CO_2 . El Ca desplaza al H^+ y Al^{+3} adsorbidos en las arcillas y materia orgánica del suelo que pasan a la solución del suelo. Los H^+ y Al^{+3} se combinan con los OH^- formados en la hidrólisis de CaCO_3 , dando H_2O e $\text{Al}(\text{OH})_3$ que precipita, como se muestra en la Figura 4 (Rodríguez, 1993).

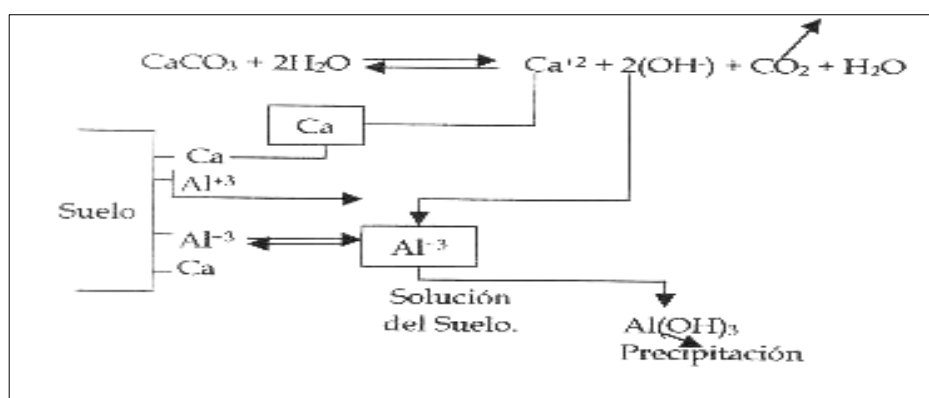


FIGURA 4: Reacción de desplazamiento y neutralización de Al^{+3} de intercambio mediante el carbonato de calcio.

FUENTE: Rodríguez (1993).

Según Kochian *et al.* (2004), aunque el encalado puede mejorar la acidez del suelo, esta no es una opción económicamente rentable para agricultores pobres, y tampoco constituye una efectiva estrategia para mejorar la acidez del subsuelo.

Una segunda alternativa de más reciente data, es la utilización de especies tolerantes a la acidificación. Al respecto no existen dudas de que la tolerancia es una característica genética y por tanto se han desarrollado prácticamente en todos los cultivos, variedades tolerantes a Al, que poseen además un alto potencial de rendimiento (Gallardo *et al.*, 1995). La tolerancia a Al encontrada en

algunos cultivares parece ser el resultado del uso y selección de material genético por mucho tiempo en regiones del mundo con problemas de acidez (Foy *et al.*, citado por Jungjohann *et al.*, 1997).

La tolerancia varietal es una alternativa válida para enfrentar la acidificación de los suelos, sin embargo es claro que por si sola no soluciona el problema en situaciones críticas, donde se requiere un manejo integrado que involucre enmiendas, fuentes nitrogenadas no acidificantes y una rotación de cultivos adecuada. El uso de plantas tolerantes a Al ofrece una solución parcial a los problemas de toxicidad de Al en suelos donde la adición de enmiendas no es económicamente posible o no es efectiva, como es el caso de acidez en el subsuelo (Sadzawka, 1991).

2.4 Mecanismos de tolerancia al aluminio en vegetales

Generalmente, en la mayoría de los vegetales y especialmente en las plantas de cultivos, la tolerancia al Al es interpretada como la habilidad de eludir al Al (Matsumoto, 2000).

Diversos estudios sobre los mecanismos de adaptación al Al, han sido desarrollados para mejorar la productividad de los cultivos en suelos ácidos. Estos mecanismos de adaptación pueden ser separados en: a) la exclusión del Al y b) la inactivación interna del Al. En general, las especies de plantas que han desarrollado mecanismos del primer tipo son llamadas aluminio - exclusoras, y aquellas que han desarrollado mecanismos internos son llamadas aluminio - acumuladoras. Los mecanismos de exclusión del Al en estas especies no han sido completamente dilucidados y pueden involucrar algunos mecanismos fuertemente relacionados con la exudación de ácidos orgánicos desde las raíces. En las especies acumuladoras se supone que se crea un complejo Al ligando (principalmente ácidos orgánicos) para la translocación (Watanabe y Osaki, 2002).

Yamamoto *et al.* (1996), afirman que los mecanismos de adaptación al Al no han sido suficientemente caracterizados, o establecidos debido a la compleja expresión de su fitotoxicidad en las plantas y la variada sintomatología que estaría involucrada en los procesos fisiológicos afectados (Foy *et al.*, 1978; Roy *et al.*, 1988; Marschner, 1993; Horst, 1995).

Marschner (1991), señala que la baja demanda interna de nutrientes como el Ca, o la alta recirculación de nutrientes en las plantas son mecanismos de adaptación presumiblemente menos importantes que la alta tolerancia a elementos tóxicos como Mn o Al en particular.

Las plantas tolerantes tienen la capacidad de detonar, bajo condiciones de estrés, una serie de mecanismos fisiológicos específicos, lo que les permite funcionar normalmente (Baker, citado por González, 1997). Al respecto Taylor, (1988), agrupa estos mecanismos en dos tipos, el primero, como de exclusión, exclusión del estrés o que dejan fuera de la raíz al Al, y el segundo, como mecanismos de inclusión, tolerancia al estrés o que lo incluyen dentro de la planta. Los componentes más importantes de las adaptaciones a la tolerancia y exclusión se muestran en la Figura 5.

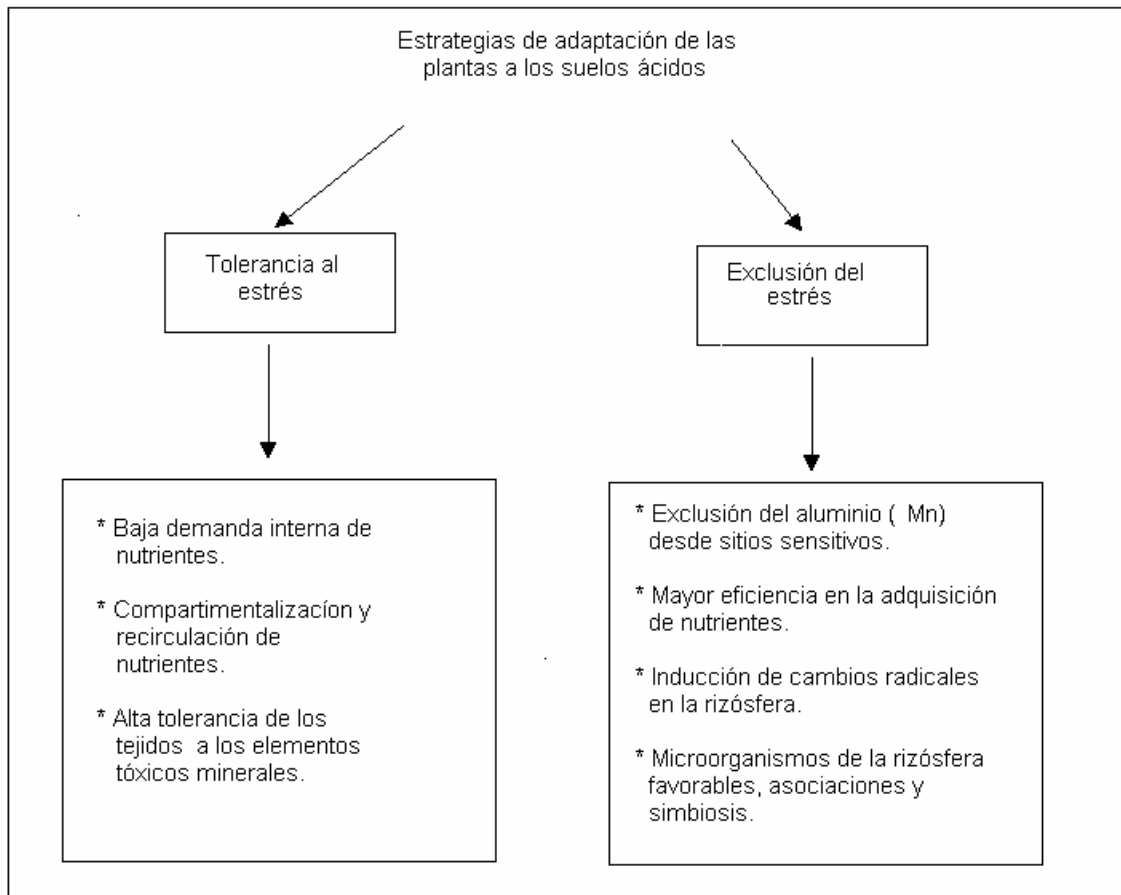


FIGURA 5. Mecanismos de tolerancia versus mecanismos de exclusión del Al.

FUENTE: Marschner (1995).

Existen diversas estrategias de adaptación de las especies vegetales a los suelos minerales ácidos como son: la exclusión de los sitios sensitivos de las plantas, la alteración del pH de la rizósfera, la producción de exudados radicales, la presencia de asociaciones micorrízicas, existiendo además de éstas, estrategias relaciones con la nutrición del Ca, P y N de las plantas (Roy *et al.*, 1988; Marschner, 1995). Así, dentro de ciertos límites las plantas pueden alterar sus ambientes para su propio beneficio o detrimento (Foy *et al.*, 1978).

Por su parte Kochian *et al.* (2004) señalan que, esta claro que existen dos clases de mecanismo de tolerancia al Al, aquellos que operan excluyendo el Al del

ápice radicular y aquellos que permiten a la planta tolerar la acumulación en las raíces y en el simplasma aéreo, mencionando una lista de claves de toxicidad a Al.

Claves de la toxicidad al aluminio:

- Mecanismos básicos de toxicidad al Al: cuando el pH del suelo disminuye bajo 5, el Al^{+3} es solubilizado hacia la solución de suelo y ésta es la especie de Al más tóxica en la rizósfera (Kinraide 1991; Kidd *et al.*, citado por Kochian *et al.*, 2004).
- El síntoma primario de la toxicidad al Al es una rápida inhibición del crecimiento radical (comienza en minutos), resultando en un sistema radical dañado y reducido, y en una limitada absorción de agua y nutrientes (Kochian *et al.*, 2004).
- La rapidez de esta respuesta indica que el Al primero inhibe la expansión y elongación de las células radicales; sin embargo en un plazo más largo la división celular también es inhibida (Kochian, Matsumoto, citado por Kochian *et al.*, 2004).
- El sitio donde se produce la toxicidad por Al está localizado en el ápice de la raíz; así las investigaciones sobre los mecanismos de tolerancia deberían estar focalizadas en esta región de la raíz (Ryan *et al.*, Sivaguru *et al.*, citado por Kochian *et al.*, 2004).
- El Al es muy reactivo dado que existen muchos sitios susceptibles de ser dañados (núcleo, citoesqueleto, pared celular (Kochian *et al.*, 2004).
- Aunque la mayor parte de la reacción raíz-Al ocurre en el apoplasto, una pequeña porción de Al entra rápidamente en el simplasto e interactúa con

sitios simplásticos (Lazof *et al.*, Silva *et al.*, Taylor *et al.*, citado por Kochian *et al.*, 2004).

- El Al disturba la dinámica del citoesqueleto, interactuando ya sea con microtúbulos o filamentos de actina, lo que podría ser un importante componente en la inhibición, de la elongación radicular, inducida por el Al. (Blancaflor *et al.*, Grabski y Schnidler, Sivaguru *et al.*, citados por Kochian *et al.*, 2004).
- El Al interactúa con señales de transducción, en particular con la homeostasis de Ca^{+2} , la exposición al Al podría alterar los niveles de Ca^{+2} en el citosol (Hoekenga *et al.*, Jones *et al.*, Zhang y Rengel citados por Kochian *et al.*, 2004) y puede interactuar e inhibir la enzima fosfolipasa C de la vía del fosfoinositol asociada a Ca (Jones y Kochian, Rengel y Zhang, citados por Kochian *et al.*, 2004).
- La exposición a Al produce la inducción de especies de oxígeno reactivo (EOR), también como daño peroxidativo de membranas. Aunque la peroxidación de lípidos no es comúnmente un mecanismo primario de toxicidad (Horts *et al.*, Yamamoto *et al.*, citado por Kochian *et al.*, 2004). La generación de las EOR inducidos por Al y asociadas a disfunción mitocondrial podrían estar involucradas en la inhibición del crecimiento radical (Yamamoto *et al.*, citado por Kochian *et al.*, 2004).

2.4.1 Mecanismos externos de tolerancia a aluminio

La tolerancia externa o también llamada de exclusión, sucede en el apoplasto radical, que corresponde a la porción externa de la membrana celular (Carver y Ownby, 1995). Este mecanismo se basa en prevenir la entrada de Al al simplasma o porción interna de la membrana celular (excluida la vacuola), evitando el contacto con sitios metabólicamente sensibles (Taylor, 1988).

Especies de plantas tolerantes a Al tienen una alta actividad de la enzima fosfatasa en las raíces, y absorben bajos niveles de P orgánico o inorgánico más eficientemente que las plantas Al - sensibles, por lo cual se puede deducir que la tolerancia a Al en algunas plantas está asociada con su habilidad para absorber y metabolizar P (Borie y Rubio, Clarck y Brown, citados por Vicuña, 1997).

Entre los mecanismos de tolerancia externa se encuentra el aumento de pH en zonas cercanas a las raíces en el suelo o solución nutritiva de algunas variedades de trigo, cebada, arroz y líneas híbridas de maíz, para así reducir el Al soluble (Foy y Scott, y Fisher, citados por Vicuña, 1997), precipitando hidróxido de Al. En contraste, cultivares de la misma especie, pero sensibles disminuyen el pH de la rizósfera y quedan expuestos a mayores niveles de Al por períodos prolongados. Al respecto, no está muy claro si el cambio en el pH es la causa primaria o el efecto de la tolerancia diferencial a Al; sin embargo, las raíces podrían mantener zonas de pH diferencial en la capa de mucílago que no serían detectadas por una medida de pH normal (Foy, 1988).

La primera indicación en la literatura para mecanismos de exclusión de Al localizados en la raíz llegó a partir de trabajos preliminares con trigo, en los cuales se mostró que genotipos Al tolerantes tenían entre 3 a 8 veces menos Al en el ápice, que aquellos genotipos Al-sensibles. Una exclusión significativa de Al no ocurre en tejidos maduros, esto se explica por la continua liberación de una sustancia que acompleja Al en la rizósfera. La demostración fue hecha primero en una especie de poroto verde y luego en trigo, señalando que los genotipos tolerantes presentan una fuerte exudación de ácidos orgánicos que pueden quelar Al (citrato en poroto, y malato en trigo), ausentes en los genotipos sensibles a Al (Kochian *et al.*, 2004).

La resistencia a Al está asociada metabólicamente con la exclusión de Al por el ápice de la raíz. En trigo, existen diferencias en tolerancia ligadas a que la exclusión del Al se relaciona a que el Al estimula la exudación de malato, se ha encontrado que el malato sólo estuvo presente en el ápice de la raíz (el sitio

primario para la toxicidad del Al) en todas aquellas líneas tolerantes expuestas a Al. La exudación de malato puede quelar y probablemente disminuir la actividad de Al^{+3} en la rizósfera y de esta manera reducir la toxicidad del Al, en cambio en maíz la resistencia a Al estaría ligada a la exudación de citrato (Pellet *et al.*, 1996).

Respecto al rol de los ácidos orgánicos, hay evidencia considerable que indica que la función de éstos en los mecanismos de tolerancia al Al, esta dada por la capacidad de formar complejos con el Al^{+3} que no son tóxicos a las plantas. Al evaluar la habilidad de un número de diferentes ácidos orgánicos para proteger las raíces de la planta de la toxicidad por Al en cultivos hidropónicos. Se encontró que ácidos orgánicos pertenecientes a los grupos hidroxilo y carboxilo fueron capaces de formar estructuras de anillo estables junto con el Al^{+3} que consistió en 5 ó 6 enlaces que le confirieron la mayor protección frente a la toxicidad por Al (Figura 6). Ácidos orgánicos normalmente encontrados en plantas que encajaron con este criterio son cítricos, oxálicos y málicos (Hue *et al.*, 1986).



FIGURA 6. Ácidos orgánicos capaces de formar estructuras de anillo con 5 a 6 enlaces junto con el Al, que protegen a la planta de la toxicidad.

FUENTE: Hue *et al.* (1986)

Se sabe ahora que muchos de los genotipos Al-tolerantes, exudan algunas especies de ácidos orgánicos como respuesta a Al. Estos quelatos de ácidos orgánicos y Al, por consiguiente protegen a las raíces de la toxicidad del Al. Por ejemplo en respuesta a la exposición de Al, el trigo exuda malato, el maíz, el

poroto y soja exudan citrato y triticale, avena, rábano y centeno exudan malato y citrato (Ryan *et al.*, 2001 y Ma *et al.*, 2001).

Investigaciones realizadas en algodón (*Gossypium hirsutum* L.) por Hue *et al.* (1986), afirman que trabajando en una solución experimental pura, los ácidos carboxílicos de cadena corta son capaces de acomplejar el Al, dividiéndose dentro de tres grupos como Al detoxificadores:

- Fuertes: cítrico, oxálico, tartárico.
- Moderados: málico, malónico, salicílico.
- Débil: succinico, láctico, fórmico, acético.

Delhaize *et al.* (1993), demostraron que la liberación de malato ocurre hasta pocos milímetros del ápice de la raíz, también la liberación es activada rápidamente por el Al (pocos minutos), indicando que todo el mecanismo para la liberación de malato esta en las células de la raíz previamente a la exposición a Al, y la activación ocurre en las proteínas y no a nivel génico, presumiblemente una continua exudación de malato aumenta la concentración de este en la superficie de la raíz llegando a una concentración suficientemente alta como para quelar una importante cantidad de Al, previniendo así la entrada de este hacia la raíz. Esta barrera de quelación se mantiene a medida que la raíz se expone a nuevos sitios ácidos en el suelo producto de su crecimiento.

La evidencia más sostenible respecto a los mecanismos de exclusión son resumidas por (Kochian *et al.*, 2004):

- Existe una fuerte correlación entre tolerancia a Al y liberación de ácidos orgánicos activados por Al en numerosas especies de plantas.
- La adición de ácidos orgánicos (malato, citrato, oxalato) a la solución nutritiva de las raíces, aumenta la tolerancia a Al en variedades sensibles a este.

- Complejos de Al con ácidos di y tricarboxílicos no son transportados hacia las membranas o absorbidos por las raíces.
- La exudación de ácidos orgánicos esta localizada en el ápice del tallo, que es el sitio primario para la toxicidad por Al, en general la activación de este mecanismo es gatillado específicamente por Al^{+3} exógeno, aunque pueden existir otros análogos que gatillen la respuesta.
- La pérdida de cromosomas específicos resulta en una disminución a la tolerancia a Al en líneas de trigo diterosómicas, relacionándose estrechamente con las tasas de liberación de malato apical y disminución de la exclusión de Al a partir del ápice radical.
- La sobreexpresión de enzimas envueltas en el metabolismo de ácidos orgánicos (citrato sintetasa y malato deshidrogenasa) en tabaco transgénico, arabidopsis y alfalfa, puede, en algunos casos resultar en un aumento del contenido de ácidos orgánicos en las raíces y en la exudación de estos, aumentando así la tolerancia al Al.

2.4.2 Mecanismos internos de tolerancia a aluminio

La tolerancia interna a Al o de inclusión, es el paso de Al dentro del simplasma, y la detoxificación corresponde a la inmovilización o cambios en el metabolismo que ocurren en este punto (Taylor, 1988).

El apoplasta contiene la mayoría del Al presente en raíces de plantas que crecen en suelos con problemas por toxicidad de Al, pero parte de este elemento ingresa al simplasma (Taylor, 1988). El ambiente dentro del simplasma es neutro, así que la concentración de Al^{+3} sería extremadamente baja comparado con el ambiente externo ácido en la rizósfera (Wright, 1989). Sin embargo, Al^{+3} puede aún contribuir a la toxicidad a un nivel de actividad menor a 10^{-10} M,

debido a la fuerte afinidad de éste con componentes donadores de O₂, tales como los fosfatos (Haug, citado por Vicuña, 1997).

En ciertas especies leñosas y especies "acumuladoras", el Al citoplasmático es acomplejado por moléculas orgánicas y así no desorganizan el metabolismo celular. Este Al, una vez desactivado, puede ser mantenido dentro del citoplasma o depositado en vasos más antiguos del xilema o en paredes celulares (Jackson y Helyar, citados por Vicuña, 1997).

De acuerdo a Foy (1983), la distribución diferencial de Al en los tejidos entre los ápices y las raíces ha sido reportada como un posible mecanismo de tolerancia.

La compartimentalización en vacuolas es propuesto como un mecanismo de tolerancia externa (Taylor, 1988), además existe alguna evidencia experimental del desarrollo de enzimas tolerantes a Al bajo condiciones de estrés por este elemento (Foy, 1988), pero esta conclusión no ha sido confirmada (Wright, 1989).

Desde el punto de vista de la producción vegetal, se podría pensar que no tiene mayor relevancia si el tipo de mecanismo de tolerancia a Al es de exclusión o de inclusión. Sin embargo, si se tiene en cuenta que el Al no es un constituyente normal o esencial en la nutrición humana o animal, su presencia en la parte comestible del vegetal pudiera traer alguna consecuencia a la salud de la población humana, en el largo plazo, sobre todo si se considera que se ha asociado a Al a serios trastornos neurológicos (Gallardo *et al.*, 1995).

2.4.2.1 Plantas acumuladoras de aluminio

Así como las especies acumuladoras de Na en suelos salinos y las especies acumuladoras de metales pesados en otras condiciones de suelo, las especies

acumuladoras de Al se distribuyen en suelos ácidos, particularmente en los trópicos. Más de medio siglo atrás Chenery citado por Watanabe y Osaki (2002), determinó la concentración en hojas de miles de especies de plantas y las clasificó como: especies acumuladoras, aquellas que tenían mayor o igual a 1000 mg de Al por kilo; y no acumuladoras, las que tenían menos de 1000 mg de Al por kilo. Además, reportó que 1779 de 2859 especies en dicotiledóneas, 33 de 269 de monocotiledóneas y gimnospermas, y 615 de 1401 de criptógamas, fueron Al - acumuladoras, en esta investigación las Rubiáceas contienen el más alto número de acumuladoras que cualquier familia. Jansen *et al.* (2000), encontró fuertes especies acumuladoras en Rubioideae, una subfamilia de las Rubiaceas, ellos concluyen que la acumulación de Al es una característica quimiotaxonómica. En resumen, para Rubiaceae se han encontrado muchas familias fuertemente acumuladoras, por ejemplo Meleostomataceae, Violaceae, Euphorbiaceae, Theaceae y Myrtaceae.

Masunaga *et al.* (1998), investigaron la concentración de Al en hojas y corteza de varios árboles en un bosque tropical lluvioso en el Oeste de Sumatra, Indonesia, ellos encontraron que la concentración en hojas fue más altas que la concentración en la corteza de la mayoría de las especies acumuladoras, mientras algunos miembros de las Euphorbiaceae, Meleostomataceae y Ulmeaceas mostraron una tendencia contraria, muchas especies acumuladoras de Al, especialmente plantas leñosas, acumulan más de 10000 mg por Kilo en las hojas, sugiriendo que estas especies tienen algunos mecanismos para aliviar la toxicidad en el tejido, dentro de ellos se consideran principalmente dos:

- **Formación de un complejo con el ión Al.** Algunas especies exclusoras exudan ácidos orgánicos desde la raíz para formar un complejo con Al y aliviar la toxicidad de la rizósfera. En los tejidos de algunas especies acumuladoras se forman complejos orgánicos, la planta de té, *Camellia sinensis*, es una planta acumuladora que acumula más de 30000 mg de Al por kilo en hojas viejas (Matsumoto, citado por Watanabe y Osaki, 2002).

Según Takeda *et al.* citados por Watanabe y Osaki (2002); *Hydrangea macrophylla*, que es también una especie acumuladora de Al y cuyas flores cambian de rosado a azul por la aplicación de Al, reportan que este cambio de color es causado por la formación de un ácido complejo en las flores. Por otro lado Ma *et al.* (1997), reporta que la principal forma de Al en hojas de *Hydrangea* es un complejo citrato-Al. En otras plantas de Asia se han encontrado formación de complejos entre oxalato y Al, hasta ahora, sólo sustancias orgánicas fueron ligadas como sustancias acumuladoras de Al, aunque sustancias inorgánicas, como por ejemplo el silicio son también comunes (Britez *et al.*, 1997).

- Compartimentalización intracelular en los tejidos. El aislamiento de sitios que fueron insensibles a Al, de aquellos que fueron sensibles (citoplasma) es también considerada una estrategia de adaptación. El Al ha sido localizado en las células de la epidermis de hojas de muchas especies acumuladoras (por ejemplo la planta de té), basado en esto, las células epidermales de las hojas, las cuales no participan directamente en el proceso de fotosíntesis, son consideradas sitios comunes para la acumulación de Al en estas especies, incidentalmente las células epidermales de las hojas son el principal sitio de acumulación de zinc (Zn), níquel (Ni) y metales pesados (Küpper *et al.*, 1999), en contraste, la distribución de Al en el mesófilo ha sido también reportada por Haridasan citado por Watanabe y Osaki (2002).

Cuenca *et al.* (1990), indican que el Al alcanza la vacuola y el cloroplasto en hojas de *R. grandis*. Watanabe *et al.* (1998), observó que una gran cantidad de Al monomérico estaba presente en hojas de *M. malabathricum* sugiriendo que el Al fue distribuido en sitios ácidos como las vacuolas. Matsumoto, citado por Watanabe y Osaki (2002), reportó que plantas de té creciendo en el campo acumularon 30000 mg de Al por kilo en hojas viejas, aunque sólo 600 en hojas jóvenes y especula que el Al se acumula lenta y gradualmente en las hojas. Sin embargo, las diferencias de concentración de Al entre hojas viejas y jóvenes fueron muy pequeñas en muchas plantas leñosas desarrolladas en suelos ácidos (De Medeiros, citado por Watanabe y Osaki, 2002), la concentración de Al en las

hojas más jóvenes fue de 7000 mg por kilo, mientras en las hojas más viejas fue de 10000 mg por kilo, en plantas creciendo en una solución nutritiva de 0,5 mM de Al por seis semanas (Watanabe *et al.*, 1997). Lo encontrado indica que los mecanismos de absorción y translocación de Al en estas especies difiere de lo que ocurre en las plantas de té. Watanabe *et al.* (2001) investigó que la cinética de absorción de Al de *M. malabathricum* indica que la hiperacumulación de Al en esta planta fue causada por una más alta capacidad de retener Al en el simplasto de las raíces, que por una mayor tasa de absorción hacia el simplasto.

El líquido xilemático fue analizado para examinar la translocación en especies acumuladoras. Del xilema obtenido a partir de ramas de *R. grandis* creciendo en bosques nubosos de Venezuela, se encontró un total de Al en la savia de 200 mg de Al por litro (7,4 mM) y 65% del total de Al formó un complejo con algún ligando (Cuenca, 1990), recientemente Watanabe y Osaki (2001) reportaron sobre la translocación de Al de raíz a tallo en *M. malabathricum*.

Basado en análisis de ácidos orgánicos y Al en la savia del xilema en solución nutritiva de 0,2 mM por tres semanas, la forma de translocación encontrada fue de un complejo citrato-Al en una relación 1:1 y la concentración de Al fue 3 mM (15 veces más alta que la concentración el medio) y el pH fue 5,8. Además, la savia del xilema de esta planta, creciendo en ausencia de Al, contiene altas concentraciones de malato, mientras que, más altas concentraciones de citrato fueron encontradas en la savia del xilema de estas plantas, creciendo en presencia de Al. Esto indica que en estas plantas aumenta la síntesis de citrato con lo cual, la estabilidad de los quelatos de Al es más alta que con malato (Kochian *et al.*, 2004).

2.4.3 Otros mecanismos de tolerancia al aluminio

Para prevenir la toxicidad del Al en plantas creciendo en suelos ácidos se ha desarrollado la habilidad para excluir o tolerar las altas concentraciones en los tejidos de las plantas (Watanabe y Osaki, 2002).

A pesar de que existe evidencia considerable que asocia a los ácidos orgánicos en los mecanismos de tolerancia a Al de muchas especies, existen otras especies que usan mecanismos que aparentemente no incluyen, o no dependen de los ácidos orgánicos. Por ejemplo, *Brachiaria decumbans*, es una especie altamente Al-tolerante, y ésta no secreta ácidos orgánicos en respuesta a Al, por lo que se piensa, posee maneras diferentes de adaptarse a los niveles tóxicos de Al en la solución del suelo (Wenzl *et al.*, 2001).

Como las formas fitotóxicas de Al son altamente dependiente del pH, un mecanismo basado en aumentar el pH alrededor del ápice de la raíz debiera proporcionar un grado de protección contra el Al. La evidencia se apoya en el estudio de un mecanismo que viene de un mutante Al-tolerante de *Arabidopsis* (alr1). Este mutante fue encontrado exhibiendo un aumento en el pH de la solución que rodea inmediatamente el ápice de la raíz y esto habría producido una disminución en la actividad de Al^{+3} (Dengenhardt *et al.*, 1998).

2.5 Resultados de estudios sobre la tolerancia a aluminio

Pellet *et al.* (1996), señalan que la toxicidad es uno de los mayores factores que limita la productividad de las plantas cultivadas en suelos ácidos. Las especies y cultivares exhiben una significativa variabilidad genética en su respuesta a niveles tóxicos de Al en el suelo. Esta variabilidad ha servido como base para una considerable cantidad de recientes investigaciones, sobre la comprensión de los mecanismos que dan como resultado la resistencia a Al de los cultivos. Según ellos se está comenzando a comprender los procesos celulares

que confieren la resistencia a Al en las plantas. La mayoría de los trabajos recientes se han focalizado sobre la exclusión del Al desde el ápice radicular, como el principal mecanismo de tolerancia al Al.

Baligar y Smedley (1989), señalan que la presencia de Al reduce el crecimiento de tallos y raíces; sin embargo la magnitud de la reducción de crecimiento depende de cada especie y cultivar. El crecimiento de raíces y tallos mostraron diferencias significativas con respecto a especies, cultivares, niveles de Al y su interacción. El Al redujo la absorción de muchos nutrientes esenciales. Con 100 μM de Al, pasto ovillo tuvo el más alto contenido de nutrientes y *Phleum pratense* cv. Clímax, el más bajo.

Hojito *et al.* (1985), al comparar alfalfa y trébol blanco con respecto a la tolerancia al Al, señalan que la menor tolerancia a Al del trébol blanco se debería a sus raíces más pequeñas en relación con alfalfa que sería más tolerante debido a su sistema radicular más profundizador.

En términos generales, es posible deducir que en condiciones experimentales el pH tiene un claro efecto detrimental en distintos tipos de trébol; el trébol rosado es más sensible a la toxicidad de Al que el trébol blanco, lo cual permite dar una primera orientación para investigaciones en invernadero y campo donde es posible encontrar respuestas diferentes, dada la posibilidad de aminorar el efecto fitotóxico de Al por la presencia de otros elementos, principalmente P y Ca, a los que se le reconoce una acción antagónica definida frente a los efectos adversos del Al (Borie *et al.* 1992).

Mackay *et al.* (1991), estudiaron la tolerancia a Al de varias especies gramíneas y leguminosas. Entre las leguminosas la más tolerante fue *Lotus corniculatus*, y entre las gramíneas fue *Paspalum dilatatum* seguido por *Bromus willdenowii*.

Desde el punto de vista de la fertilidad de los suelos, *Bromus valdivianus* domina en sitios con bajos niveles de Al intercambiable, baja saturación de Al y pH ácido. Siendo esta especie de acuerdo a los cluster, susceptible a las variaciones de los niveles de Al y acidez del suelo (López *et al.*, 1997).

Wheeler *et al.* (1992a), catalogan a *Bromus willdenowii* como sensible a Al en un estudio muy amplio que comparó 34 especies de plantas (87 cultivares). En ese mismo estudio se comprobó que *Agrostis tenuis* (capillaris) fue al menos, el doble de tolerante que la más próxima especie tolerante.

Wheeler *et al.* (1992b), realizaron una selección preliminar ("screening") para tolerancia a Al en ballica inglesa. Se utilizaron 510 líneas, aunque ninguna fue consistentemente más tolerante, 23 plantas fueron seleccionadas de 13 líneas por su superior vigor y color en presencia de Al.

La toxicidad por Al es un factor que limita el crecimiento en suelos ácidos en muchas praderas de gramíneas. La diversidad genética entre cultivares de gramíneas para tolerancia a Al no es bien conocida, 150 genotipos de *Poa pratensis* (cultivares y líneas seleccionadas) pertenecientes a siete ecotipos fueron seleccionados para realizar una prueba preliminar ("screening") para tolerancia a Al. Los resultados indican que los cultivares de *Poa pratensis* varían genéticamente en tolerancia a Al y que existe un potencial para mejorar tal tolerancia con mejoramiento y afinamiento de las recomendaciones para un cultivar específico, en cuanto a pH del suelo (Liu *et al.*, 1995).

Según Ring *et al.* (1997), las principales fitotoxinas en suelos ácidos son el Al y Mn. La tolerancia a estos elementos es heredada independientemente y su solubilidad en los suelos varía. En ese trabajo la acidez del suelo fue estudiada en tres suelos con diferentes concentraciones de Al y Mn. Una suministró una moderada concentración de Al con bajas concentraciones de Mn; otra suministró altas concentraciones de ambos (Al y Mn), y la tercera suministró una muy alta concentración de Mn y una relativamente baja concentración de Al.

La respuesta de un cultivar a cambios en la acidez del suelo inducido por CaO o adición de ácido reflejan:

- El grado de estrés por Al y/o Mn proporcionado por un suelo en particular.
- La habilidad del cultivar para soportar este estrés.

El estudio de la tolerancia a la toxicidad por Al, Mn, H⁺ y boro (B) se justifica económicamente como un objetivo mayor del mejoramiento, donde estos problemas estén presentes, los costos de los tratamientos del suelo sean relativamente caros y los sistemas productivos generen márgenes netos bajos (Helyar y Sutherland, 1994).

De la Fuente *et al.* (1997), introdujo *Pseudomonas aureoginosas* citrato sintetasa (CS) en tabaco y papaya, provocando que la actividad de CS y la exudación de citrato aumentara, mejorando la tolerancia a Al en estas plantas transgénicas. Koyama *et al.* (2000), introdujo un gen mitocondrial con CS desde *Daucus carota* hacia *Arabidopsis thaliana*, provocando el mismo efecto que en las plantas transgénicas. Estos resultados denotan la efectividad de la exudación de ácidos orgánicos en plantas tolerantes a Al. A pesar de las altas concentraciones de Al en la rizósfera, muchas plantas adaptadas a suelos ácidos mantienen bajas concentraciones de Al en los tallos y crecen bien en suelos ácidos (Geoghegan y Sprent, 1996). Esto sugiere que estas plantas tienen una fuerte habilidad para excluir el Al.

Osawa *et al.* (1997) encontraron que el Al induce la exudación de citrato a partir de las raíces en *Paraserianthes falcataria* y *Acacia mangium*, las cuales son leguminosas leñosas que crecen en suelos ácidos del trópico. Ishikawa *et al.* (2000) reporta que *Brachiaria brizantha*, gramínea tropical, fue muy tolerante a la toxicidad por Al y continuamente exuda citrato desde las raíces hacia la rizósfera. Cuando *Brachiaria ruziziensis* creció en solución nutritiva de 0,56 mM

de Al por dos semanas, el crecimiento no fue inhibido y la concentración de Al en los tejidos permaneció baja (Osaki, 1997).

Aunque se sospecha que existen otros mecanismos de exclusión de Al, por ejemplo la alcanización de la rizósfera, no han sido aun bien reportados en plantas adaptadas a suelos ácidos (Cuenca, 1990).

Por último Larsen *et al.* (1996), señalan que los suelos ácidos son particularmente abundantes en los países en desarrollo, y el uso de plantas resistentes al Al puede formar parte de una estrategia de manejo de cultivos para la producción agrícola en estos suelos.

2.6 Metodologías para determinar la tolerancia a aluminio

Cuando se estudia directamente en suelos el efecto depresivo de los H^+ y Al^{+3} sobre el crecimiento radical de las plantas, es difícil distinguir claramente la toxicidad neta de uno u otro. Sin embargo, los estudios realizados en solución son de gran utilidad ya que permiten visualizar cada uno de dichos efectos, su sinergismo y/o la posible disminución de la toxicidad con miras a poder extrapolar dicho comportamiento, *a posteriori*, a un suelo en particular (Borie *et al.*, 1992).

De acuerdo a Carver Y Ownby (1995), existen variadas metodologías para realizar, en condiciones de laboratorio, un "*screening*" o clasificación relativa de la tolerancia o sensibilidad a Al de especies y variedades. Estos métodos pueden ser clasificados en los siguientes grupos:

a) Cultivo de células y tejidos: ha sido poco difundido por las dificultades técnicas que se presentan, ya que los cultivos se realizan sobre gel agar, el cual tiene problemas para gelificar a un pH menor a 4,5 y se inhibe el crecimiento celular, incluso en ausencia de Al (Carver y Ownby, 1995).

b) Cultivo en soluciones nutritivas: metodología más usada para efectuar una clasificación de variedades. Dentro de esta categoría existen tres métodos:

- De corta exposición: las plántulas se someten a una solución con muy pocos nutrientes durante cuatro días, en la cual las necesidades de fósforo las provee las reservas de la semilla y la concentración es muy baja en la solución (menor a 10 μM) (Shuman *et al.* 1993). Este método fue diseñado para minimizar la precipitación de Al y para representar más exactamente el estrés ambiental comparado con el experimento tradicional de larga duración (Carver y Ownby, 1995).
- De larga exposición: las plántulas crecen cerca de tres semanas en una solución nutritiva que entrega la posibilidad de estudiar los efectos del cambio de un factor del complejo acidez del suelo sin afectar a los otros. Así, los efectos de pH, Ca, Mg, Al, Mn y P pueden ser evaluados separadamente. No obstante, se debe considerar que los resultados obtenidos de las técnicas de cultivo en solución no pueden ser extrapolados a campo sin modificación (Edmeades *et al.*, 1995).
- Tests rápidos o bioensayos: se realizan sobre potes pequeños en un suelo con alto contenido de Al en condiciones corregidas (suelo encalado) o sin corregir (suelo como tal), sobre el cual se hacen crecer pequeñas plántulas. Cumplido un cierto plazo, se evalúan las raíces (Baligar *et al.* 1993). Se debe destacar que con este método no es posible evaluar los efectos del pH y algunos elementos por separado sobre los vegetales, además de los problemas originados por la heterogeneidad de los suelos (Edmeades *et al.*, 1995).

En general, de acuerdo a Edmeades *et al.* (1995), un gran número de ensayos de corta duración han sido desarrollados para clasificar la tolerancia de las plantas a la acidez en suelo o en solución nutritiva. Una de las ventajas de estas técnicas son el gran número de plantas, suelos y tratamientos que pueden

ser utilizados con el mínimo de tiempo y recursos. Además, se ha aceptado que la elongación radical sobre 1 a 3 días es una medición apropiada del grado de toxicidad en un suelo o de tolerancia en una planta.

2.7 Índices utilizados en la evaluación de la tolerancia a aluminio

Son muchos los índices o parámetros que han sido utilizados por diversos investigadores para evaluar la tolerancia o sensibilidad de los cultivos a la toxicidad por Al, entre los cuales se encuentran:

- Peso seco de la parte aérea. Este índice no es efectivo para evaluar la tolerancia o sensibilidad a Al en cultivos de trigo, debido a que los efectos causados por este elemento en el follaje no están claramente definidos (Carver y Ownby, 1995).
- Capacidad de producir nódulos en las leguminosas. Parámetro que se basa en un exceso de Al que perjudica la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, interfiriendo en la nodulación y funcionamiento del proceso simbiótico (Wright y Carvalho *et al.*, citados por Vicuña, 1997).
- Número total de raíces y número de raíces secundarias (Sartain y Kamprath, citados por Vicuña, 1997).
- Test de tinción radical por exposición a la hematoxilina. La repetibilidad y simplicidad de este método es reforzado por su alta relación con los resultados en ensayos de campo; los genotipos clasificados como tolerantes basados en este procedimiento con frecuencia tienen buena respuesta frente al estrés causado por los suelos ácidos (Carver y Ownby, 1995).
- Rendimiento de grano (Fageria *et al.*, 1988).

- Longitud y peso seco de las raíces. Índice más utilizado en ensayos evaluativos de tolerancia o sensibilidad a Al en cultivares de trigo y otras especies, debido a los efectos del Al en esta parte de la planta (Taylor y Foy, 1985; Ritchey *et al.*, 1988; Foy y Peterson, 1994).
- Vicuña (1997), señala que al comparar los métodos de medición radical, sea éste sobre toda la raíz como sobre la longitud principal, resultaron ser similares; sin embargo, este último tipo de medición es más recomendable para estudios posteriores, debido a que se establecen mejor las diferencias entre los tratamientos y cultivares y a que se evita desarrollar una técnica engorrosa con un instrumental de alto valor agronómico.

2.8 Efectos del aluminio en la relación planta – animal – hombre

Foy *et al.* (1978), señalan que el Al no se considera como un elemento esencial para el crecimiento de la planta, pero bajo algunas condiciones, las concentraciones bajas de éste pueden aumentar el crecimiento e incluso producir algunos efectos benéficos. Los mecanismos por los cuales cantidades pequeñas de Al pueden beneficiar a las plantas en el crecimiento no están claras, y pueden variar para los diferentes genotipos de plantas, estas respuestas no serían necesariamente el resultado de los efectos directos del Al sobre las plantas, estos autores han informado que ciertas concentraciones de Al incrementan la solubilidad y disponibilidad del hierro en suelos calcáreos. También se ha descrito que el Al podría prevenir la toxicidad de cobre (Cu) y de Mn, servir de fungicida o reducir crecimientos aéreos indeseables en semilleros ricos en nitrógeno (N) (Roy *et al.*, 1988).

La relación del Al con los animales, esta referida a los problemas nutricionales que este acarrea y a como éste puede ser traspasado a los animales a través del consumo de forraje. Es así como producto de estas deficiencias o

excesos de Al se producen ciertas alteraciones. Fontenot, citado por Alfaro (1997), menciona que en el rumen de animales muertos por hipomagnesemia se han encontrado valores de 2373 ppm de Al, mientras que el promedio para animales sanos solo alcanza 405 ppm.

En algunos experimentos realizados en ratas se pudo observar que concentraciones de Al de 30 μ M resultaron en la degeneración de las membranas celulares y también de nodulaciones en los huesos (Bellows, citado por Radic, 2001). En un experimento realizado por Alfaro (1997), los animales alimentados con forraje proveniente de sectores con acidificación arrojaron valores de concentración sanguínea de Al de un 22,4% mayor que los animales alimentados en sectores con suelos no acidificados.

2.9 Descripción botánica de Bromo (*Brumus valdivianus* Phil.)

El género *Bromus* contiene aproximadamente 400 especies que están presentes en toda la zona norte de las regiones templadas, montañas tropicales, África del sur y América del sur. Comprende muchas especies anuales, algunas de las cuales son malezas (Blanco, 1998).

El género, esta formado por plantas cuyas características permiten diferenciarlo del resto de los componentes de la familia, lo cual da la sensación de que se trata de un grupo muy uniforme. Pero al hacer un estudio específico del género, se observan claras diferencias, las cuales son de tal magnitud que permite reunir las en grupos bien definidos (Mathei, 1986).

Betin, citado por Ide (1996), señala que *Bromus catharticus* , *Bromus sitchensis*, *Bromus carinatus* y *Bromus valdivianus* son consideradas como especies que poseen una alta productividad, rápido establecimiento, aptitud para

crecer en verano y persistencia por 3 ó 4 años, pero además son susceptibles a la falta de agua, tienen baja capacidad de enraizamiento y poseen un crecimiento temprano impredecible.

Por su gran diversidad genética y por ser nativo de esta parte del mundo, el bromo, representa un gran potencial para trabajos de selección y mejoramiento, siendo considerada una especie promisoriosa por su resistencia, rusticidad y facilidad de manejo; sin embargo posee cierta desventaja en cuanto a la cantidad de forraje producido en relación a otras especies como la ballica (Bernal, 1986).

Bromus valdivianus Phil. (Sinónimo: *Bromus stamineus typus valdivianus*), posee los siguientes nombres comunes: pasto del perro, hierba del perro o lanco. Su nombre genérico proviene del griego, alimento; aplicado a la avena y él específico se refiere a que crece en Valdivia (Navas, 1973).

CUADRO 1. Ubicación taxonómica del pasto Bromo de acuerdo a Font Quer, Matthei, Forde y Edgar.

División	Angiospermas
Clase	Monocotiledóneas
Orden	Glumifloras
Familia	Gramíneas (Gramineae o Poaceae)
Tribu	Bromeae
Sección	Ceratochloa
Genero	Bromus
Especie	<i>Bromus valdivianus</i>

FUENTE: Blanco (1998)

Bromo, se asemeja mucho a *Bromus willdenowii* Kunt; conocido anteriormente como *B. unioloides* Humb. Bonpl. , Kunth o *Bromus catharticus* Vahl, pero se distingue por sus pequeños y numerosos macollos. Se encuentra en todas las regiones de Chile, también en forma natural en otras partes del mundo, particularmente en aquellas con inviernos templados y veranos secos, incluyendo California, Australia, Reino Unido y Nueva Zelandia. Además, esta especie tiene una excelente capacidad de persistencia bajo pastoreo continuo y cortes frecuentes; probablemente esto se deba a su número y tamaño de macollos vegetativos, a un menor número de espigas de segunda producción y a un alto número de macollos en el verano (Stewart, 1992).

Bromus valdivianus es una especie perenne, de 0,4 - 0,7 m de altura. Vainas de color ocre cerrados, pilosas, láminas planas, de 10-15 cm de largo y 2-4 mm de ancho, cubiertas de pelos largos poco densos y márgenes dentados. La lígula es membranosa, de 1-3 mm no decurrente, de borde obtuso y dentado. Panoja algo laxa, de 5-10 cm de largo; espiguillas de 20-22 mm de largo incluyendo las aristas y antecios pubescentes. El fruto es un cariopsis linear, algo comprimido, surcado, posee el ápice con pelos blancos, es de color café y mide aproximadamente 6,5 mm de largo. Además posee una arista que suele medir de 3 a 5,5 mm de largo (Latour y Muñoz, citados por Blanco, 1998).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación y duración del ensayo

El ensayo se realizó, en su primera parte, en el laboratorio de forrajeras ubicado en el Instituto de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. La segunda parte se realizó en la cámara de crecimiento del mismo laboratorio.

El período de experimentación de la prueba preliminar ("*screening*"), tuvo una duración de 19 días, siguiendo la metodología descrita por Borie *et al.* (1992), trabajando con un nivel de acidez de pH 4,2.

La segunda etapa del experimento tuvo una duración de 40 días y se desarrolló de acuerdo a la metodología empleada por Ponce (1999).

3.2 Condiciones de trabajo

Las condiciones ambientales de ensayo fueron controladas, de manera de procurar un óptimo crecimiento y desarrollo de las plántulas durante el período de evaluación para los distintos tratamientos.

3.2.1 Temperatura. La temperatura de la cámara fue controlada con un sistema de ventilación automático regulado a una temperatura promedio de 20 °C ± 3 °C. Las temperaturas registradas durante el período experimental se monitorearon con un termómetro de máxima y mínima.

3.2.2 Humedad relativa. La humedad relativa se controló con el mismo sistema de ventilación utilizado para controlar temperatura. Se estableció una humedad relativa media del 70% durante el ensayo. Para medir la humedad relativa se dispuso de un higrómetro, esta información fue registrada diariamente durante el transcurso de los experimentos.

3.2.3 Luz. Se utilizó un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. La duración del fotoperíodo fue controlada mediante un sistema automático con relojes sincronizados.

3.2.4 Material experimental. El material biológico experimental que se utilizó en el ensayo correspondió a 125 accesiones de *Bromus valdivianus*. Las semillas de bromo correspondieron a las proporcionadas por la cosecha de semillas provenientes de 125 accesiones colectadas por Blanco (1998), en la Provincia de Valdivia y establecidas en el predio Vista Alegre de la Universidad Austral de Chile; además se utilizó *Lolium perenne* y *Bromus stamineus*, como especies controles.

3.3 Etapas de experimentación

3.3.1 Primera parte: Prueba preliminar (*screening*). Las semillas se germinaron en placas de vidrio sobre un germinador Jacobsen con toalla de papel húmedo, por 8 días, a una temperatura de 20 °C. El octavo día las plántulas se trasladaron y colocaron en láminas de poliestireno flotando en la solución, en distintos niveles de Al y a pH 4,2. Se dispuso una plántula por orificio en el poliestireno. Se utilizaron 27 fuentes plásticas con una capacidad aproximada de 10 L de solución nutritiva.

El Al se adicionó como sulfato de aluminio hidratado ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 18 \text{H}_2\text{O}$). Cada día se aireó la solución, mediante la utilización de mangueras que introdujeron aire generado por bombas de acuario, reponiendo solución nutritiva diariamente de acuerdo a las pérdidas que se observaron hasta el nivel que permitió una adecuada hidratación de las plántulas, esto fue agregado con un vaso de precipitado con la solución correspondiente a cada tratamiento. Además cada seis días se reemplazó completamente la solución nutritiva en cada tratamiento. Transcurridos 19 días se procedió a evaluar el material de acuerdo a longitud radical, longitud aérea, calificación radical y calificación aérea.

Los resultados se analizaron a través de estadística descriptiva para determinar el desarrollo promedio de cada accesión en estudio y los testigos, para ordenarlos desde los con mayor a menor desarrollo, de acuerdo al nivel de Al empleado. Al final de esta fase se seleccionaron 5 accesiones de las que resultaron con mayor desarrollo (tolerantes), 3 que se ubicaron en el rango intermedio, y 2 que se ubicaron en el rango de menor desarrollo, de acuerdo a las ponderaciones expuestas en el Cuadro 3.

3.3.2 Segunda Parte "ensayo en Jarra Leonard". En primer lugar se debe señalar que a esta segunda fase del estudio pasaron aquellas accesiones que resultaron evaluadas en las categorías señaladas anteriormente para la etapa del "screening", además de los testigos *Lolium perenne* y *Bromus stamineus*.

Con el objetivo de entregar una superficie de contacto sólida a la raíz, se utilizaron jarras Leonard confeccionadas a partir de botellas de vidrio de 0,75 L de capacidad, las que fueron llenadas en su parte superior con cuarzo. Las jarras se ubicaron en las repisas de la cámara de crecimiento.

3.3.2.1 Preparación y montaje

3.3.2.1.1 Lavado de jarras. Las jarras se lavaron inicialmente con una solución diluida de ácido clorhídrico (7,5%). Posteriormente el material fue sometido a sucesivos lavados con agua destilada.

3.3.2.1.2 Tamizado y lavado del cuarzo. Se utilizó cuarzo de tamaño menor a 2 mm de diámetro. Este fue lavado varias veces con ácido clorhídrico (37%), luego se lavó con agua potable y por último, se lavó con agua destilada. Finalmente fue puesto a secar en un horno a 60 °C.

3.3.3.1.3 Determinación del Al intercambiable en el cuarzo utilizado en el ensayo. Previamente al trasplante de las plántulas, en el cuarzo utilizado como sustrato se determinó el contenido de Al intercambiable de acuerdo al método utilizado para la determinación de este elemento en suelos por el Laboratorio de Análisis de Suelo de la Universidad Austral de Chile. El aluminio intercambiable del cuarzo utilizado fue 0,032 mg kg⁻¹.

3.3.2.1.4 Montaje y llenado de las jarras. En cada jarra se montó un pabito para la conducción de la solución nutritiva por capilaridad desde el recipiente inferior hacia el recipiente superior de la jarra. El pabito fue sujetado a la altura del gollete de la botella por medio de lana de vidrio, de manera de impedir su deslizamiento, y a la vez sirvió de soporte del volumen de cuarzo seco depositado en el recipiente superior. Se procuró que el pabito adoptara una posición helicoidal dentro del volumen ocupado por el cuarzo, la cual abarcó un 90% de la capacidad del recipiente (aproximadamente 280 g de cuarzo por jarra).

3.3.2.1.5 Esterilización de las jarras. Una vez montadas las jarras, se realizó una esterilización de éstas por un período de una hora, a una presión de 1 atm a 121 °C, utilizando autoclave.

3.3.2.1.6 Germinación. Las semillas fueron germinadas sobre papel filtro saturado con una solución al 0,5 % de KNO_3 en un germinador tipo Jacobsen.

3.4 Trasplante de plántulas

Se trasplantaron 8 plantas por jarra, seleccionando las de desarrollo más vigoroso.

3.5 Tipo de solución nutritiva y aplicación

Se utilizó la solución nutritiva propuesta por Robinson y Rengel (1989) en ensayos de similares características (Anexo 1). Las soluciones nutritivas fueron renovadas diariamente, utilizando un volumen aproximado de 125 ml por jarra. En cada ocasión de reposición de la solución nutritiva se controló el pH a un nivel constante de 4,2, mediante la utilización de un pHmetro digital, para estandarizar el pH de la solución se utilizó HCl y/o NaOH aplicado con gotario.

3.6 Tratamientos

Se aplicaron 4 niveles de Al, los que correspondieron a 0, 50, 75, y 100 μM de Al en solución nutritiva en la forma de sulfato de aluminio hidratado.

3.7 Cosecha del material vegetal

Las plantas fueron cosechadas enteras desde las jarras y sometidas a baños con agua destilada tanto en su parte aérea como raíces. Se separó la parte aérea de las raíces de las plantas, determinándose la producción de materia seca aérea y radicular, para lo cual el material fue secado a 60 °C por 48 hrs. en estufa de secado.

3.8 Molienda del material vegetal

El material vegetal completo fue molido en un molino del tipo Arthur H. Thomas Co, modelo 175-A, diseñado para operar con cantidades restringidas de material. El tamaño de molido fue menor a 1 mm, de acuerdo a las normas para análisis de macronutrientes en tejidos vegetales (Pontificia Universidad Católica de Chile, 1975).

3.9 Determinación de la concentración de aluminio

La materia seca obtenida en el ensayo fue sometida a su mineralización mediante calcinación. En crisoles descontaminados se pesó una muestra (aproximadamente 0,5 g) de la parte aérea y de la parte radicular. Luego de someterlas a calcinación en mufla a 550 °C se determinó el Al a través de la metodología propuesta por la Pontificia Universidad Católica de Chile (1975), utilizando Espectrofotometría de Absorción Atómica. Dada la escasa cantidad de materia seca en las muestras en cada caso se procedió ajustar la metodología de determinación del Al.

3.10 Parámetros evaluados

En crecimiento y desarrollo del material vegetal, los parámetros evaluados fueron los siguientes:

3.10.1 Largo de raíces y parte aérea (*screening*). La medición de la longitud de la sección aérea y radical se efectuó con una hoja de papel milimetrado previamente plastificado donde se midió y registró cada sección de la planta en particular.

3.10.2 Calificación radical y aérea (*screening*). Se estableció una escala subjetiva de 1,0 a 7,0 para calificar tanto el desarrollo radical como aéreo de acuerdo a la observación visual del efecto del Al sobre el desarrollo de ambas secciones. Por definición se estableció nota 7,0 para las plantas que estaban en el tratamiento 0 (sin adición de Al). En el Cuadro 2 se presenta el detalle de la escala de evaluación de la calificación aérea y radical utilizada.

Cuadro 2: Detalle de la escala de evaluación radical y aérea.

Nota	Calificación Radical Descripción	Calificación Aérea Descripción
1,0	Escaso desarrollo radical, severos síntomas de toxicidad, raíces escasamente elongadas.	Escaso desarrollo aéreo, severos síntomas de toxicidad, la mayoría de las hojas están secas.
2,0	3 a 5 raíces desarrolladas, más cortas y gruesas.	Menor desarrollo aéreo, severos síntomas de toxicidad, aumenta claramente el número de hojas secas.
3,0	4 a 6 raíces desarrolladas, más cortas y gruesas.	Menor desarrollo aéreo, severos síntomas de toxicidad, algunas hojas están secas
4,0	Menor número de raíces, menor longitud, las raíces se pueden contar fácilmente (7-9)	Desarrollo aéreo menor, hojas con mayores síntomas de toxicidad, pierden turgencia en forma clara.
5,0	Disminución evidente del número de raíces, longitud menor, color gris más oscuro	Desarrollo aéreo menor, hojas con claros síntomas de toxicidad.
6,0	Menor desarrollo radical, cambio de color en las raíces (gris), raíces profusas pero menos abundantes.	Desarrollo aéreo menor, hojas de color verde claro, escasos síntomas de toxicidad.
7,0	Desarrollo en solución sin Al, desarrollo normal, gran desarrollo de raíces adventicias.	Desarrollo aéreo en solución sin Al, desarrollo normal hojas de color verde intenso, ausencia de síntomas de deficiencia.

3.10.3 Materia seca radical (mg). Se procedió en primer lugar, a cortar la planta separando su parte aérea y radical, luego la parte radical se llevó a estufa a 60° por 48 horas para posteriormente proceder al pesaje con una balanza analítica.

3.10.4 Materia seca aérea (mg). Del mismo modo que en el punto anterior, la parte aérea fue llevada a estufa a 60° por 48 horas y posteriormente se procedió al pesaje con una balanza analítica.

3.10.5 Concentración de Al en las raíces (mg kg⁻¹). Para la determinación del contenido de Al radicular se procedió a la molienda del material vegetal, posterior mineralización y análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica.

3.10.6 Concentración de Al en la parte aérea (mg kg⁻¹). Para la determinación del contenido de Al aéreo se procedió a la molienda del material vegetal, posterior mineralización y análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica.

3.11 Criterios de clasificación de las accesiones en la etapa preliminar

Para el establecimiento de la clasificación de tolerante, tolerancia intermedia y susceptible, se realizó una clasificación ponderada respecto de la clasificación obtenida por cada accesión en la clasificación de la variable respectiva, y en cada nivel de Al en solución, a saber, largo radical, largo aéreo, nota radical y nota aérea. El detalle de la ponderación es presentada en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Detalle de variables ponderadas según criterio de clasificación de la etapa preliminar

	Variables (ponderadas en %)			
	Largo radical	Largo aéreo	Nota radical	Nota aérea
Clasificación 1*	33	33	33	-
Clasificación 2	33	33	33	-
Clasificación 3	30	30	30	10
Clasificación 4	30	30	30	10
Clasificación 5	40	40	10	10
Clasificación 6	40	40	10	10

* La clasificación indica la ponderación de las variables y el nivel de Al en solución para el ordenamiento de las accesiones en relación al desarrollo observado en el nivel 0 μM (1=100 μM , 2=200 μM , 3=100 μM , 4=200 μM), y así alternadamente, hasta la clasificación 6.

De acuerdo a las ponderaciones señaladas en el Cuadro 3, se procedió al ordenamiento de las accesiones en cada una de las clasificaciones, así se seleccionó a las accesiones que se presentaban con mayor frecuencia en los primeros lugares del tercio superior como más tolerantes, luego se seleccionó a las que estaban en el último tercio como susceptibles, y finalmente para el caso de accesiones de tolerancia intermedia se seleccionó a aquellas que aparecían con mayor frecuencia en el tercio superior cuando la concentración era del nivel de 100 μM y luego caían al tercio inferior al pasar a concentraciones de 200 μM . en relación al desarrollo observado en el nivel 0 μM de aluminio.

3.12 Diseño experimental

Para la prueba preliminar (*screening*), se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar, con 3 repeticiones, consistiendo en un nivel de pH 4,2 con 3 niveles de Al (0, 100 y 200 μM) y un día de establecimiento, procediéndose a plantar todos los bloques en un mismo día.

En la Segunda Parte "ensayo en Jarras Leonard", las jarras fueron puestas en repisas en un diseño experimental en bloques completos al azar, con 4 repeticiones, consistiendo en un nivel de pH 4,2 con 4 niveles de Al (0, 50, 75 y 100 μ M) y un día de establecimiento, procediéndose a plantar todos los bloques en un mismo día.

3.13 Análisis estadístico

En la primera etapa de experimentación, los resultados fueron sometidos a análisis descriptivo y ordenamiento ponderado de los parámetros largo radical, largo aéreo, nota radical y nota aérea.

En la segunda etapa de experimentación, los datos fueron sometidos a análisis de varianza utilizando el paquete estadístico SAS, y la prueba específica SNK, que lleva a cabo la prueba de comparaciones para todos los promedios simples. Para las regresiones se utilizó Graphpad Prism Versión 4.0.

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Clasificación preliminar

La primera parte del estudio está orientada a discriminar entre las accesiones de *Bromus valdivianus* respecto a su tolerancia o susceptibilidad a Al en solución.

A continuación se detallan los resultados obtenidos comenzando con un análisis de la variabilidad de las accesiones en los distintos niveles de Al. Luego, se presenta la distribución de frecuencia realizada sobre la medición de largo radical, largo aéreo, nota radical y nota aérea, que fueron las variables consideradas en la selección. Aún cuando en la literatura es el desarrollo radical (largo y/o peso de las raíces) el parámetro más usado en la evaluación de la tolerancia a Al, en este estudio se incorporaron otras tres variables de medición. Una variable cuantitativa (largo aéreo) y dos variables cualitativas (calificación radical y calificación aérea), para tener un mayor apoyo en la decisión de seleccionar una u otra accesión como sensible o tolerante a las concentraciones de Al en solución.

4.1.1 Variabilidad de las accesiones en los tratamientos de aluminio en solución

En el Cuadro 4 se muestran los valores de probabilidad (P) general y promedio de la prueba de Fisher, del Análisis de Varianza realizado a las variables largo raíz, largo aéreo, calificación radical y calificación aérea.

Los parámetros largo radical, largo aéreo, calificación radical y calificación aérea mostraron la variabilidad de las accesiones en relación a su respuesta a los niveles de Al considerados. Esta variabilidad fue estadísticamente significativa para todas las concentraciones en largo radical, largo aéreo, calificación radical, pero no fue significativa en la calificación aérea. Los valores de P no se presentan en el caso de las calificaciones radical y aérea en el nivel de Al 0, dado que por definición se optó por calificar las plantas en ese nivel con calificación 7,0.

CUADRO 4: Valores de P de los ANDEVA para diferentes parámetros de *Bromus valdivianus* bajo tres niveles de aluminio.

Parámetro	Valores de Probabilidad (P)		
	0 μ M	100 μ M	200 μ M
Largo de raíz	< 0,0001	0,0003	< 0,0001
Largo aéreo	< 0,0001	0,0013	< 0,0001
Calificación radical	-	0,0470	0,0010
Calificación aérea	-	0,8020	0,0620

Las accesiones de *Bromus valdivianus* presentaron variabilidad en los tratamientos de niveles de Al. Estas diferencias se expresan tanto en los tratamientos que incluyen Al, como también en el tratamiento sin adición de Al. Esto sugiere que las accesiones presentan distinto grado de tolerancia a Al.

La variabilidad de las accesiones en el tratamiento 0 (sin adición de Al) muestra la sensibilidad de las accesiones a la toxicidad de H⁺, dado que el pH utilizado fue 4,2 (Marschner, 1995). También puede deberse a otros factores como crecimiento diferencial propio de cada accesión y a la variabilidad natural de las accesiones o a otros factores mantenidos como constantes en este estudio, como lo es los contenidos de nutrientes propios de la solución. En todo caso, es claro que la variable calificación aérea no permitió discriminar entre las accesiones.

4.1.2 Distribución de frecuencia de las variables evaluadas

Para evaluar la variabilidad frente a los tratamientos se analizaron las distribuciones de frecuencias de las 125 accesiones de *Bromus valdivianus*, con respecto a los tratamientos en largo radical, largo aéreo, calificación radical y calificación aérea.

4.1.2.1 Largo de raíz. Como se observa en la Figura 7, el largo de raíz muestra variabilidad entre las accesiones evaluadas en todos los niveles de AI.

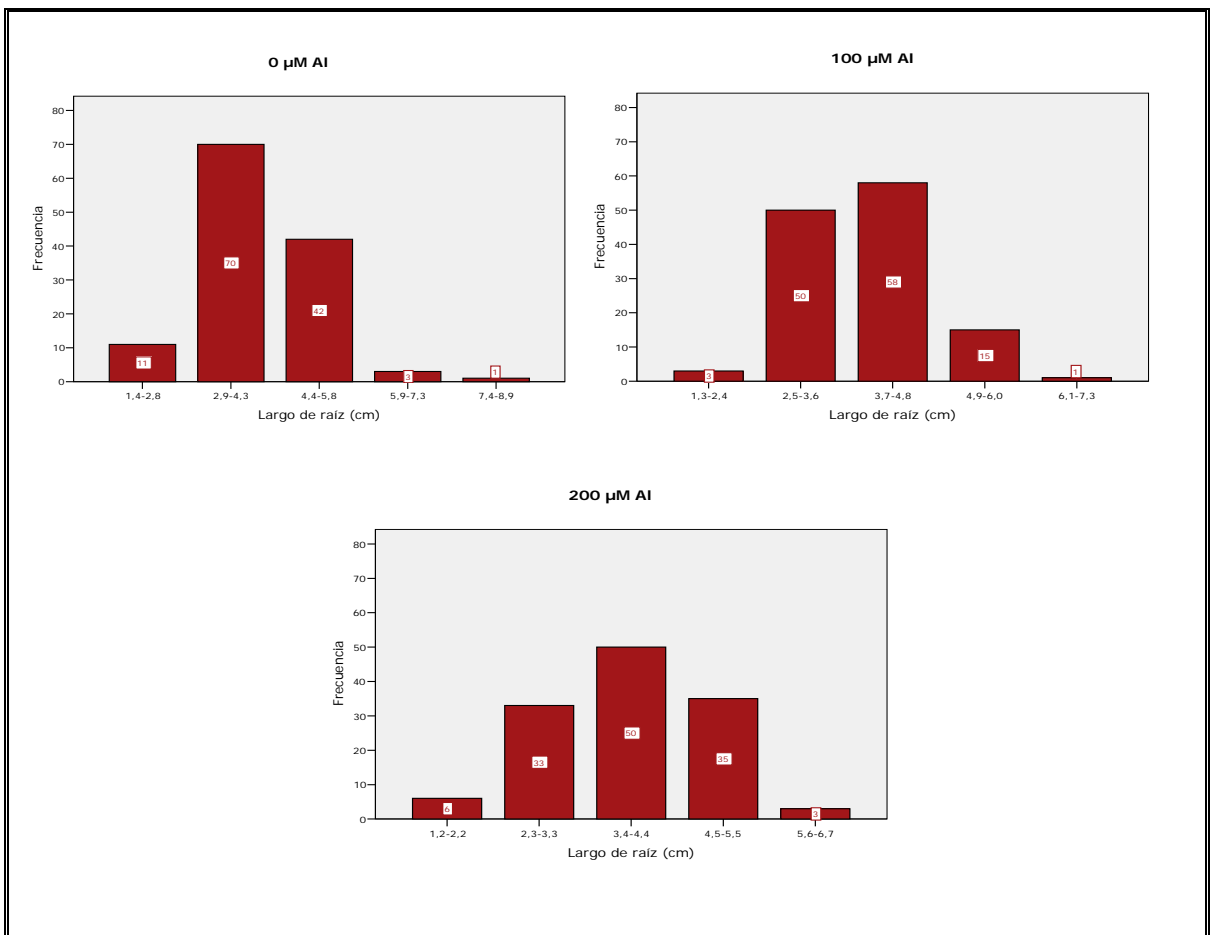


FIGURA 7. Distribuciones de frecuencia para largo radical de las accesiones en los distintos niveles de AI.

En el nivel de 0 μM de Al adicionado, el largo de raíz varió entre 1,4 a 7,4 cm, distribuyéndose cinco rangos entre estos valores. La mayor parte de las accesiones se ubican en los rangos intermedios, desde 2,9 a 7,3 cm, los que representan el 90,5%, (115 accesiones), los rangos extremos sólo representan el 9,5% de las plantas, e incluyen a 12 accesiones.

En el tratamiento 100 μM , se observa un comportamiento similar. La mayor parte de las plantas se ubicó en el rango desde 2,5 a 6,0 cm, donde estos rangos intermedios representan el 96,8% (123 accesiones) y los rangos extremos el 3,2% (4 accesiones).

En el tratamiento 200 μM , las plantas que se ubican en el rango desde 2,3 a 5,5, representan el 92,9% (118 accesiones), en los valores extremos se encuentran el 7,1% (9 accesiones).

Por otra parte, para efectos ilustrativos, todos los niveles de Al se presentan en igual número de rangos, se observa que los rangos fueron distintos en los diferentes niveles de Al. Los más altos se determinaron para el tratamiento en solución sin Al, y los valores más bajos en los niveles de 100 y 200 μM de Al en solución. Ello es indicativo del efecto tóxico del Al sobre el desarrollo radical, como lo han mostrado Robinson y Rengel (1989) y Marschner (1995), quienes señalan que el menor crecimiento es una rápida respuesta a Al tóxico debido a una inhibición de la división celular de los meristemas apicales.

En el Cuadro 5 se presentan los parámetros estadísticos de la variable largo de raíz. Los valores muestran que en los tres tratamientos el promedio, la moda y la mediana son similares. El valor de P de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, muestra que existió normalidad en los datos, las desviaciones estándares son similares, lo mismo ocurre con el error estándar, el que es muy bajo.

CUADRO 5. Parámetros estadísticos descriptivos para largo de raíz

Parámetro	Niveles de Al (μM)		
	0	100	200
Promedio	4,060	3,890	3,850
Moda	4,000	4,000	4,000
Mediana	4,000	4,000	4,000
Valor P (K-S)	0,200	0,200	0,200
Desv. Standard	1,330	1,260	1,260
Error Standard	0,068	0,064	0,064

4.1.2.2 Largo aéreo. En la Figura 8 se muestran las distribuciones de frecuencia establecidas a partir de los rangos en que fueron clasificados los datos de largo aéreo. A diferencia de lo observado en el caso del largo radical, las frecuencias obtenidas, especialmente en el caso del tratamiento 0 (sin adición de Al), tienden a estar desplazadas hacia los valores extremos del lado izquierdo, concentrando un porcentaje de 25,2%. En los tratamientos con inclusión de Al, se observa una mayor cantidad de accesiones distribuyéndose en los rangos intermedios, de lo cual se infiere el efecto detrimental del Al en el crecimiento aéreo sobre la mayoría de las accesiones.

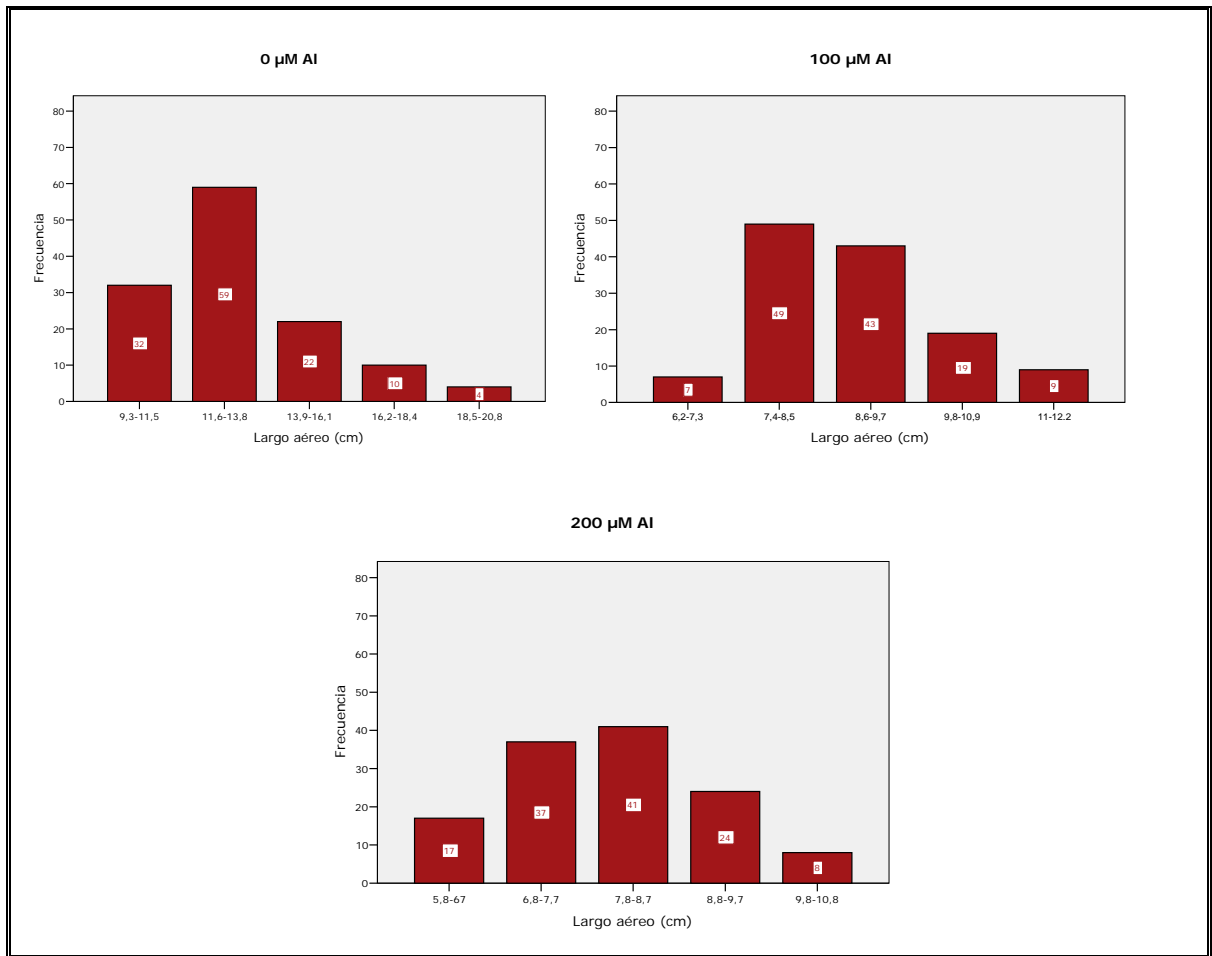


FIGURA 8. Distribuciones de frecuencia para largo aéreo de las accesiones en los distintos niveles de Al

En el tratamiento 0 μM , los rangos extremos representan el 28,3% (36 accesiones) y los rangos intermedios el 71,7% (91 accesiones), en este caso la distribución pudo estar dada por la variabilidad propia de las accesiones al pH de la solución nutritiva.

En el tratamiento 100 μM , los rangos extremos representan el 12,6% (16 accesiones) y los rangos intermedios el 87,4% (111 accesiones).

Para el tratamiento de 200 μM se observa que los rangos extremos representan el 19,7% (25 accesiones) y los rangos intermedios el 80,3% (102 accesiones).

Los valores extremos presentes en los tratamientos con adición de Al son menores, lo que podría señalar que las accesiones tolerantes o susceptibles, representan una clara minoría dentro de las accesiones estudiadas.

Como se señaló anteriormente, sólo en el caso del tratamiento sin Al se observa una concentración de las plantas en el rango de menor desarrollo aéreo, pero al aplicar el Al en la solución, la distribución de la frecuencia cambió notoriamente, concentrándose en niveles intermedios. La existencia de igual número de rangos en cada tratamiento es una forma de ordenamiento que necesariamente oculta que dichos rangos están constituidos por largos aéreos distintos dependiendo del nivel de Al en solución, mostrando los valores más altos aquellas accesiones sometidas a solución nutritiva sin Al, respecto de las mismas accesiones en los tratamientos con adición de Al de 100 y 200 μM , presentándose los rangos menores en el tratamiento de mayor contenido de Al.

En el Cuadro 6 se presentan los parámetros estadísticos descriptivos de la variable largo aéreo, de acuerdo al valor de P, se observa que la distribución no son normales en todos los tratamientos. Los datos indican que en los tres tratamientos el promedio, la moda y la mediana, son similares. Las desviaciones estándares son similares en los tratamientos con Al; sin embargo en el tratamiento sin Al la desviación estándar es mayor prácticamente el doble, lo mismo ocurre con el error estándar donde los tratamientos con Al tienen un error estándar muy bajo, en el caso del tratamiento sin Al el error estándar es bajo, pero representa casi el doble de lo observado en los tratamientos con Al, estos resultados pueden estar dados también por la presencia de *Bromus stamineus* y *Lolium perenne* dos especies diferentes.

CUADRO 6. Parámetros estadísticos descriptivos para largo aéreo

Parámetro	Niveles de Al (μM)		
	0	100	200
Promedio	13,01	8,90	8,01
Moda	10,00	8,00	8,00
Mediana	12,50	9,00	8,00
Valor P (K-S)	<0,001	<0,001	<0,001
Desv. Standard	3,26	1,71	1,50
Error Standard	0,16	0,08	0,07

4.1.2.3 Calificación radical. Como se señaló en Materiales y Métodos, el nivel 0 μM de Al en solución se definió como nota 7,0; por lo tanto, en la Figura 9 se presentan los gráficos de frecuencia para los tratamientos de 100 μM y 200 μM de Al.

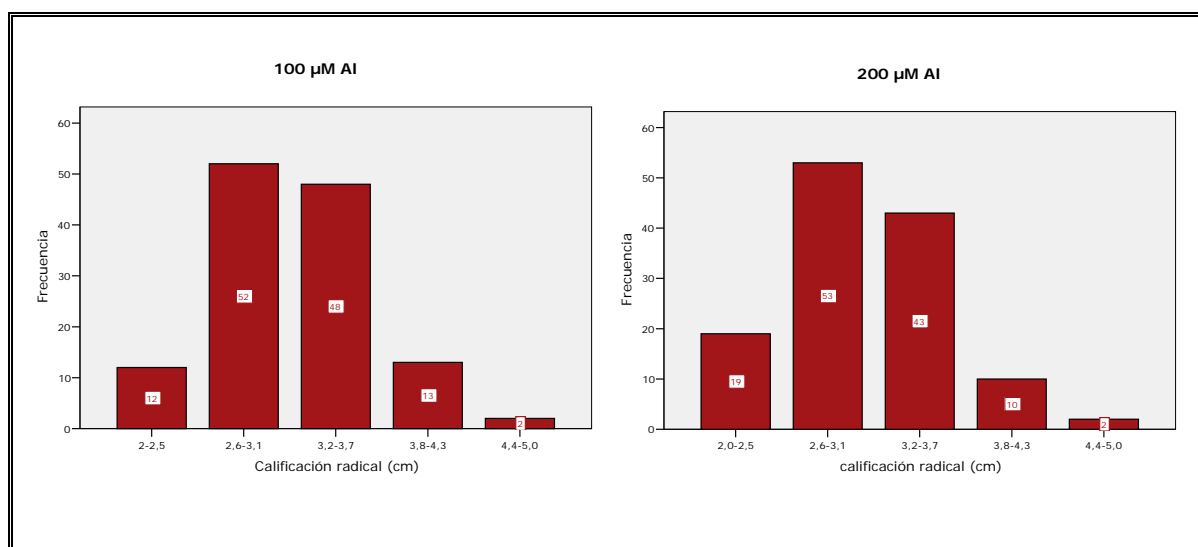


FIGURA 9. Distribuciones de frecuencia para calificación radical de las accesiones en los distintos niveles de Al

En general, existe una concentración de las accesiones en las calificaciones intermedias, dado que la nota es algo convencional. En el caso del tratamiento 100 μM las frecuencias están desplazadas hacia la izquierda (valores más pequeños), en cambio en el tratamiento de 200 μM existe un leve desplazamiento hacia la derecha (valores más altos), pero globalmente los valores extremos están en minoría.

Se observa que los rangos extremos en el tratamiento de 100 μM representan una minoría de plantas, 11% (14 accesiones), y los rangos intermedios el 89% (113 accesiones).

En el tratamiento 200 μM , los valores extremos representan el 16,6% (21 accesiones) y los rangos intermedios alcanzan el 83,4% (106 plantas).

Como se ve, los rangos extremos son significativamente inferiores; de este modo podemos inferir que las accesiones que son afectadas de manera diferencial representan una minoría dentro de las sometidas al estudio.

En el Cuadro 7, se presentan los parámetros estadísticos descriptivos de la variable calificación radical. Los valores de P confirman que en todos los tratamientos no existe una distribución normal. Como se ha explicado, los valores del tratamiento de 0 μM fueron establecidos como 7,0, por lo que no caben consideraciones sobre los parámetros estadísticos, en cambio, en los tratamientos de 100 y 200 μM , los resultados muestran una gran similitud entre el promedio, la moda y la mediana, las desviaciones estándares son muy parecidas, lo mismo ocurre con el error estándar que, en este caso idéntico.

CUADRO 7. Parámetros estadísticos descriptivos para calificación radical.

Parámetro	Niveles de AI (μM)		
	0	100	200
Promedio	7,0	3,18	3,10
Moda	7,0	3,00	3,00
Mediana	7,0	3,00	3,00
Valor P (K – S)	<0,001	<0,001	<0,001
Desv. Standard	0	0,88	0,83
Error Standard	0	0,04	0,04

4.1.2.4 Calificación aérea. Como se mencionó, la nota en el nivel 0 μM no se consideró en la Figura 10, por lo tanto, se presentan a continuación las calificaciones aéreas en los tratamientos 100 y 200 μM , las que reflejan que los valores extremos en ambos casos son minoritarios y la mayor parte de las accesiones se concentran en los valores intermedios. En relación al ordenamiento general de las calificaciones aéreas se constata que en el tratamiento 100 μM , la frecuencia se encuentra ligeramente desplazada hacia la derecha y en el tratamiento 200 μM , la frecuencia se encuentra desplazada hacia la izquierda.

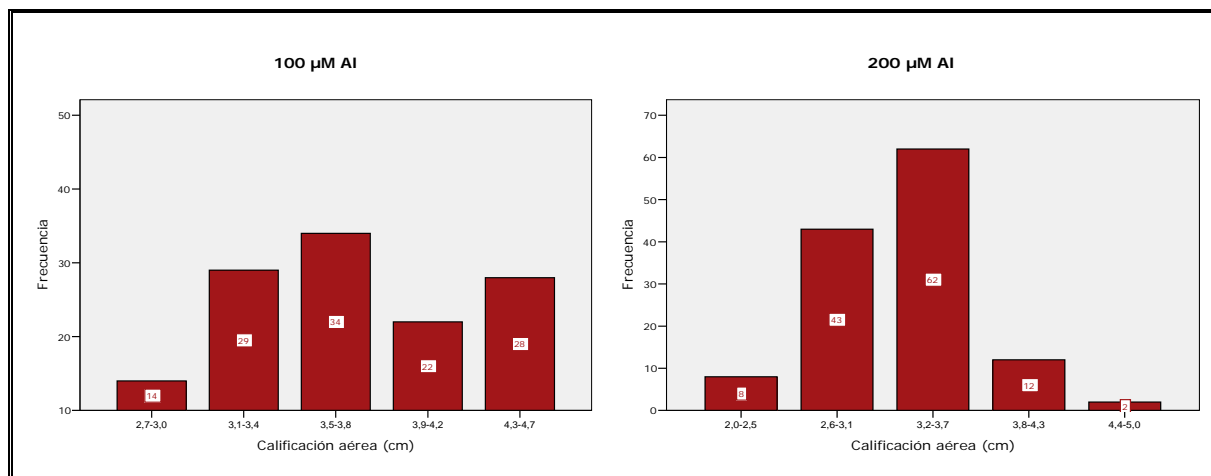


FIGURA 10. Distribuciones de frecuencia para calificación aérea de las accesiones en los distintos niveles de Al.

Como se observa en la Figura 10, las plantas que se ubican en los rangos extremos en el tratamiento de 100 µM alcanzan el 33,1 % (42 accesiones) y los rangos intermedios representan el 66,9 % (85 accesiones).

En el tratamiento de 200 µM, los rangos extremos representan el 7,9% (10 accesiones), y los rangos intermedios el 92,1% (117 accesiones). Se debe tener presente que la calificación aérea no fue una variable con la cual se pudieran discriminar las accesiones, y su valoración, para la selección de las accesiones, fue disminuida por este motivo, aunque si considerada.

En el Cuadro 8 se presentan los parámetros estadísticos descriptivos de la variable calificación aérea. Los valores de P confirman que en todos los tratamientos no existe una distribución normal. Como se ha explicado, los valores del tratamiento de 0 µM fueron establecidos como 7,0. En los tratamientos de 100 y 200 µM, los resultados muestran una gran similitud entre el promedio, la moda y la mediana, las desviaciones estándares son muy parecidas, lo mismo ocurre con el error estándar que, en este caso es prácticamente igual.

CUADRO 8. Parámetros estadísticos descriptivos para calificación aérea.

Parámetro	Niveles de AI (μM)		
	0	100	200
Promedio	7,0	3,73	3,31
Moda	7,0	4,00	3,00
Mediana	7,0	4,00	3,00
Valor P (K – S)	<0,001	<0,001	<0,001
Desv. Standard	0	0,85	0,80
Error Standard	0	0,04	0,041

4.1.3 Ordenamiento en función del parámetro ponderado, relación crecimiento radical - largo aéreo y variables cualitativas

La Figura 11 representa una forma de relacionar el parámetro largo de raíz con los parámetros largo aéreo, calificación radical y calificación aérea, ésta incluye a todas las accesiones.

En general, existen accesiones en todos los cuadrantes, y la mayoría se ubican cercanos a la intersección de los ejes, sólo una cantidad menor de accesiones parecen alejarse de los ejes. En términos de criterios de selección, las accesiones que logran valores positivos en ambos factores deberían ser más tolerantes y aquellas que logran valores negativos en ambos factores deberían ser más susceptibles. En términos porcentuales, se ubican en el primer cuadrante de la figura el 37% de las accesiones, en el segundo cuadrante se ubica el 15%, en el tercero el 23,6% y en el cuarto el 24,4%. En términos de tolerancia el tercer cuadrante representa a las accesiones más sensibles, dado su menor desarrollo radical y su menor valor ponderado de crecimiento aéreo, nota aérea y nota radical. Contrariamente, en el primer cuadrante se ubican las accesiones que presentan el mayor grado de tolerancia o menor grado de sensibilidad, los cuadrantes 2 y 4 representan situaciones intermedias, donde el cuadrante 2

incluye a las accesiones con ponderación radical positiva y el cuarto cuadrante ubica a las accesiones con ponderación crecimiento aéreo, nota aérea y nota radical positiva.

Se debe tener presente que la Figura 11 representa la distribución de las accesiones en torno al promedio generado por los datos obtenidos a partir de las variables estudiadas. De este modo, se puede señalar que la relación entre el parámetro largo de raíz y los otros parámetros ponderados es variable dentro del grupo de accesiones.

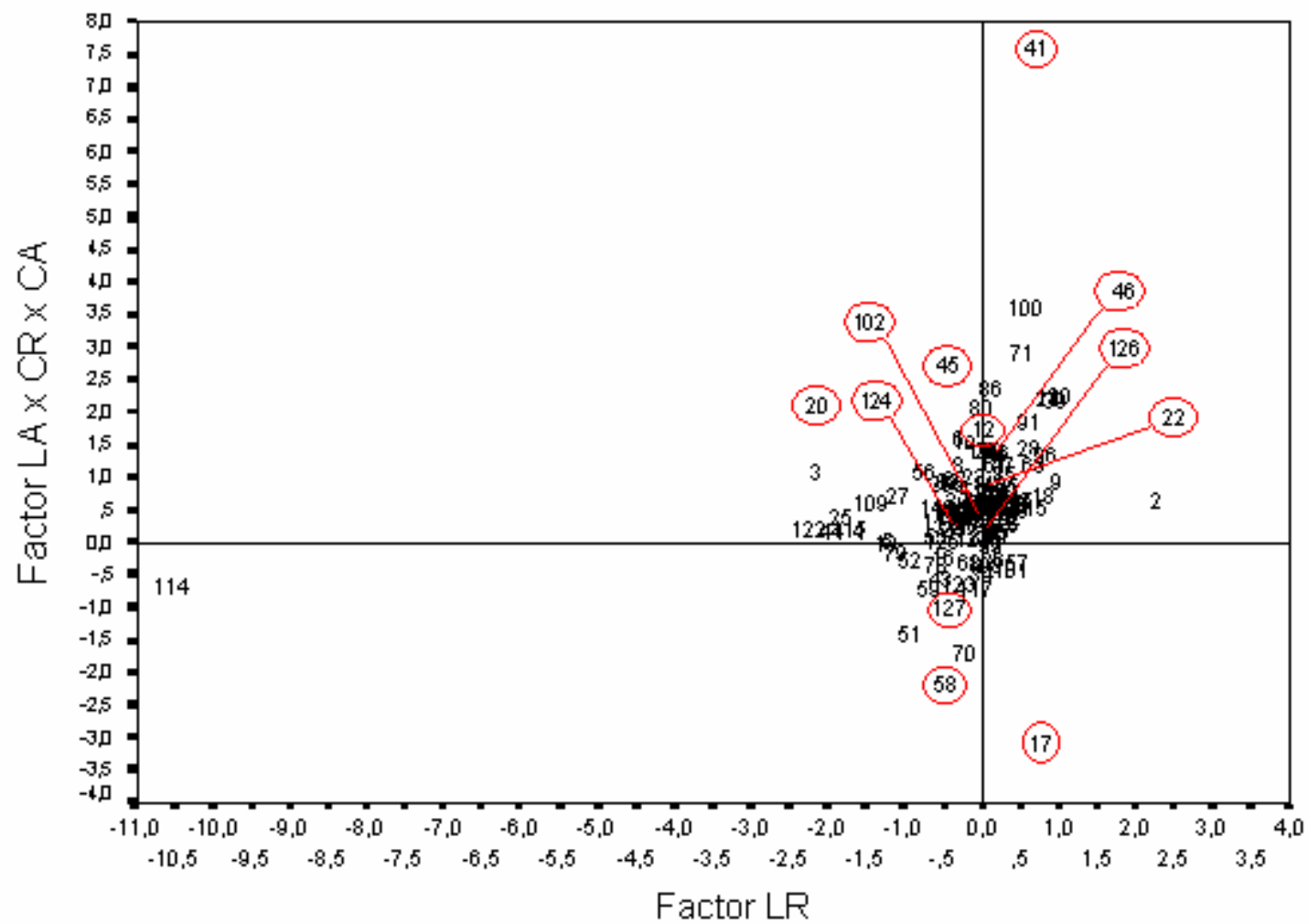


FIGURA 11. Gráfica de comparación entre los parámetros de evaluación

4.1.4 Selección de las accesiones para segunda etapa del estudio

A partir de los resultados del estudio preliminar, se procedió a seleccionar accesiones para el estudio en jarras Leonard, para tal efecto se efectuó un ordenamiento decreciente en términos de tolerancia que consideró el crecimiento de las accesiones expresada en porcentaje en relación al crecimiento del tratamiento sin Al (para el caso de largo radical y largo aéreo). En cuanto a la calificación radical y aérea se procedió a ordenar las accesiones de acuerdo a la calificación obtenida respecto del tratamiento 0 (sin adición de Al), también expresada en porcentaje respecto al testigo sin Al. Como una forma de validar la selección, se consideraron para la segunda etapa accesiones seleccionadas como tolerantes, de tolerancia intermedia y como susceptibles, según calificación ponderada establecida en el Cuadro 3 de Material y Métodos, dada las consideraciones planteadas fueron seleccionadas las accesiones: 12, 20, 41, 45, 46, 124 como tolerantes; las accesiones 22 y 102, de tolerancia intermedia y susceptibles las accesiones 17 y 58.

La utilización de la calificación aérea en el proceso de selección aérea fue minimizada en el establecimiento de las calificaciones ponderadas (sólo 10%), dado que no constituía en un factor de discriminación, y fue mantenida pues inicialmente estaba entre los parámetros a considerar como criterio de selección.

A modo ilustrativo, en el Cuadro 9 se presenta un resumen del ordenamiento de las accesiones de acuerdo a disminución del porcentaje de evaluación respecto al tratamiento 0 (sin adición de Al). Fueron consideradas accesiones tolerantes aquellas que se mantenían con mayor frecuencia en el tercio superior del ordenamiento en ordenamiento según clasificación ponderada. Como de tolerancia intermedia aquellas accesiones que en el nivel de aluminio 100 μM se presentaban en el tercio superior, y en el nivel de aluminio de 200 μM bajaban al último tercio. Las accesiones susceptibles fueron aquellas que aparecían con mayor frecuencia en el tercio inferior del ordenamiento ponderado. El detalle del ordenamiento efectuado se muestra en Anexo 2.

Cuadro 9: Ejemplo del ordenamiento de las accesiones y especies de acuerdo a disminución del porcentaje de evaluación respecto al testigo sin AI en solución.

Tercio	Lugar	100 µM; 33-33-33		200 µM; 33-33-33		100 µM 30-30-10		200 µM 30-30-10		100 µM 40-10-10		200 µM 40-10-10		
		Accesión	% Disminución	Accesión	% Disminución	Accesión	% Disminución	Accesión	% Disminución	Accesión	% Disminución	Accesión	% Disminución	
1° TERCIO	1	86	8,66	41	6,999	8	9,1	41	10,5	41	8,8	41	7,4	
	2	8	8,99	12	9,665	86	10,5	12	11,8	86	10,6	12	13,2	
	3	41	10,33	96	15,331	120	10,6	96	14,3	8	11,6	100	14,9	
	4	120	11,33	20	15,665	39	13,5	20	14,5	120	13,8	20	18,4	
	5	39	13,66	100	16,998	41	14,5	71	18,9	20	14,1	96	18,8	
	6	12	14,99	45	17,331	12	16,1	46	21,3	6	16,1	56	21,0	
	13	23	25,66	2	27,997	23	27,1	56	28,9	124	29,1	2	31,6	
	14	48	29,66	63	27,997	60	29,5	54	32,7	21	29,3	64	32,2	
	15	102	31,99	54	31,330	71	30,6	47	33,1	100	30,1	72	32,2	
	16	99	32,33	66	33,663	99	30,6	23	33,9	26	33,4	9	32,4	
	17	60	32,66	23	33,996	48	32,7	64	35,3	48	33,5	90	32,4	
	18	71	33,33	64	34,663	3	24,2	63	35,8	91	36,0	80	33,3	
	19	26	34,32	29	35,996	28	36,2	8	36,2	99	37,6	61	33,4	
	20	49	34,32	47	35,996	96	36,2	66	36,7	28	38,0	14	33,8	
	21	116	34,99	61	36,329	47	36,3	29	37,1	25	38,4	54	34,4	
	22	3	35,32	120	38,662	116	36,8	89	37,2	60	38,8	29	35,6	
	23	28	36,66	8	38,996	49	37,5	120	37,2	119	39,2	66	37,4	
	24	100	36,66	14	39,329	102	37,9	24	37,6	71	40,4	82	39,3	
	25	47	38,32	9	39,662	26	38,4	94	39,2	102	40,7	23	39,5	
	26	96	38,66	94	39,996	18	39,7	61	39,5	116	41,0	110	41,0	
	27	16	41,32	24	40,329	100	42,4	19	39,8	3	41,2	83	42,0	
	28	91	41,32	19	40,995	16	42,8	53	40,3	16	41,5	120	42,1	
	29	7	41,99	89	40,995	15	44,4	62	42,7	49	43,4	21	42,7	
	30	18	42,66	62	42,995	119	45,9	72	42,8	18	44,1	30	42,9	
	3° Tercio	121	51	109,3	98	103,323	17	109,1	52	102,8	33	108,9	99	108,2
		122	17	110,3	123	105,989	118	109,9	17	104,7	51	109,0	121	109,1
		123	58	111,9	124	107,655	51	110,0	123	104,8	118	110,6	123	110,5
		124	33	112,3	121	112,655	33	112,9	121	107,6	17	111,1	124	110,9
		125	127	114,9	102	115,988	72	115,2	102	114,1	127	111,3	58	114,5
		126	72	115,3	58	117,654	127	116,2	58	114,7	72	112,9	102	117,5
127		84	117,3	127	121,987	84	118,1	127	122,4	84	115,7	127	119,1	

Tolerante

Tolerancia intermedia

Susceptible

4.2 Ensayo en jarras Leonard de las accesiones seleccionadas (sustrato sólido)

La segunda fase del ensayo tuvo como objetivo verificar que la clasificación preliminar se ratificaba en sustrato sólido y evaluar los efectos de la presencia del Al en solución en condiciones de sustrato sólido sobre la producción de materia seca y concentración de Al radical y aéreo. Como se señaló en la prueba de selección preliminar, fueron seleccionadas las accesiones: 12, 20, 41, 45, 46, 124 como tolerantes; las accesiones 22 y 102, de tolerancia intermedia y susceptibles las accesiones 17 y 58. Además, se incluyen como controles las especies *Bromus stamineus* cultivar Gala y *Lolium perenne*. Dadas las condiciones del ensayo, la presentación de tolerancia por exclusión estuvo limitada en la etapa preliminar por la continua renovación de la solución nutritiva, de este modo, se puede esperar para algunas accesiones un comportamiento disímil en la segunda etapa, lo que se atribuye a que en condición de sustrato sólido y menor cantidad de solución nutritiva con y sin adición de Al se favorece el posible cambio de la condición de la rizósfera por parte de las plantas.

4.2.1 Producción de materia seca

Con el objetivo de evaluar el efecto de Al en solución en condiciones de sustrato sólido sobre el desarrollo radical y aéreo se presentan a continuación los rendimientos de materia seca, radical y aérea en los 4 tratamientos de Al en solución.

4.2.1.1 Producción de materia seca radical. En el Cuadro 10 se presenta el efecto de los distintos niveles de Al en solución sobre la producción de materia seca en jarras Leonard.

CUADRO 10. Peso promedio de la raíz de acuerdo a niveles de Al en solución.

Nivel de Al (μM)	Peso raíz (mg/jarra)	
0	1079,2	a
50	614,8	b
75	661,3	b
100	471,0	c

Letras distintas indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

Se observa la conformación de tres grupos, siendo uno de ellos el nivel 0 de Al (a), otro grupo el que está conformado por los niveles 50 (b) y 75 (b) y el tercer grupo conformado por el nivel 100 (c). En consecuencia, los mayores pesos de raíz se presentaron en aquellos casos en que el nivel de Al fue menor, confirmando lo informado por Wheeler *et al.* (1992), respecto al efecto del Al sobre el desarrollo radical.

4.2.1.2 Producción de materia seca radical por acesión y nivel de aluminio. En el Cuadro 11 se presenta el efecto de diversos tratamientos sobre la producción de materia seca radical por acesión.

CUADRO 11. Producción de materia seca radical por accesión y nivel de Al (mg/jarra)

Accesión – especies	Nivel de Al (μM)			
	0	50	75	100
12	117,0 ab	52,5 ab	67,8 a	48,1 ab
17	124,2 ab	66,4 ab	73,9 a	43,1 ab
20	69,9 b	54,9 ab	49,2 a	33,6 ab
22	89,3 b	56,5 ab	53,0 a	34,5 ab
41	198,0 a	72,5 ab	91,8 a	71,6 a
45	73,7 b	65,3 ab	65,5 a	42,6 ab
46	111,2 ab	80,1 ab	73,8 a	73,2 a
58	90,3 b	26,2 b	55,9 a	25,9 b
102	108,3 ab	71,1 ab	77,5 a	47,9 ab
124	87,4 b	59,1 ab	68,7 a	32,3 ab
<i>B. stamineus</i>	155,5 ab	105,2 a	83,2 a	77,3 ab
<i>L. perenne</i>	68,7 b	26,5 b	31,8 a	34,3 ab

Letras distintas en la columna indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

Como se observa, las diferencias en producción de materia seca radical son mínimas y ocurren en los niveles 0, 50 y 100 μM . En el primer nivel (0 adición de Al), destaca la accesión 41 y luego un grupo no diferenciado claramente constituido por las accesiones 12, 17, 46, 102 y *Bromus stamineus* y finalmente existe un grupo de inferior rendimiento (accesiones, 20, 22, 45, 58, 124 y *Lolium perenne*), lo que refleja la capacidad de cada accesión a desarrollarse en condiciones de pH bajo (4,2) y la particular habilidad de responder a los componentes de la solución nutritiva utilizada.

Por otra parte, en el nivel 50 μM se observa la formación de dos grupos, el primero de mayor tolerancia y rendimiento formado por la especie *Bromus stamineus*, y las accesiones, 12, 17, 20, 22, 41, 45, 46, 102 y 124 no diferenciadas claramente, que se ven afectados de modo similar, y luego un

grupo de menor rendimiento formado por la accesión 58 y *Lolium perenne*, que presentan diferencias, lo que refleja que este grupo de plantas tiene una mayor sensibilidad a Al.

En el nivel 75 μM , no se observan diferencias significativas; sin embargo a nivel de 100 μM se muestra la formación de 2 grupos, el primero de mayor crecimiento radical conformado por las accesiones 41 y 46, junto a un grupo no diferenciado claramente constituido por las accesiones 12, 17, 20, 22, 45, 102, 124, y las especies *Bromus stamineus* y *Lolium perenne*. El segundo grupo sólo esta constituido por la accesión 58 de menor tolerancia.

En la Figura 12 se muestra el efecto detrimental del Al en el desarrollo adical de las accesiones evaluadas. Se observa que el desarrollo de las accesiones en el tratamiento 0 (sin adición de Al) es más variable, expresando el potencial de rendimiento de cada accesión y especie en particular y probablemente la distinta tolerancia a los niveles de H^+ presentes en la solución.

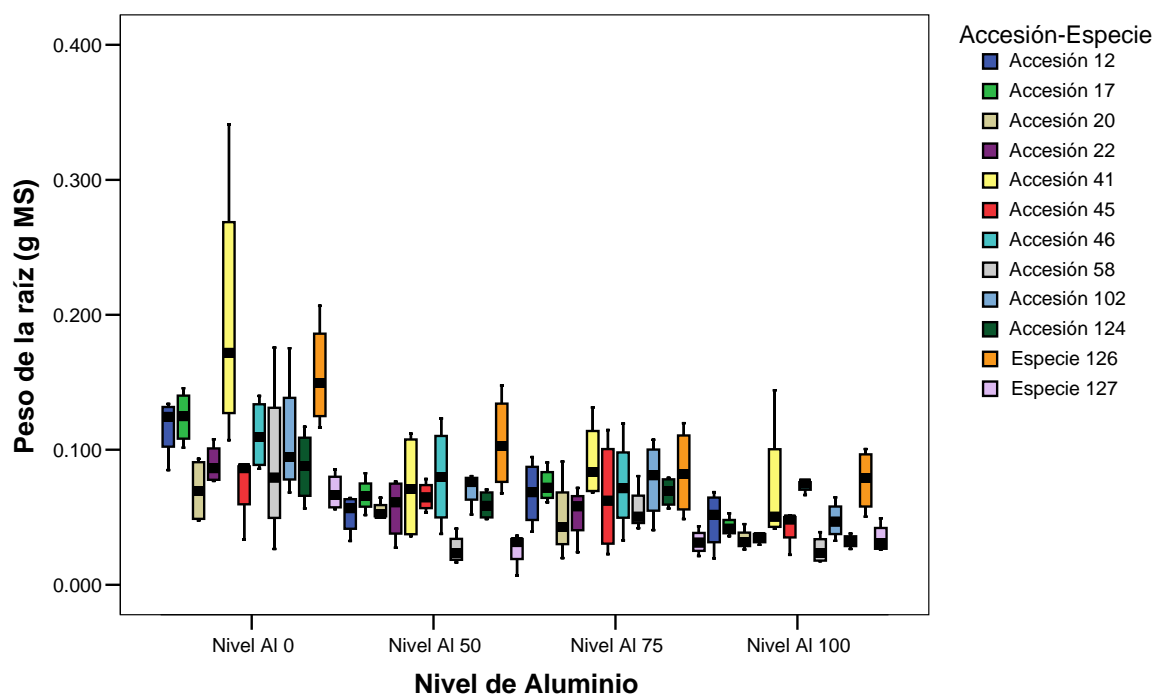


FIGURA 12. Peso de la raíz de acuerdo a niveles de Al en solución (g MS/jarra).

En la Figura 12, cada accesión y especie está representada por un color específico, la barra central de cada accesión del color correspondiente, representa el 50% de los valores alcanzados por esa accesión, las prolongaciones (en negro) de las barras, representan el otro 50% de los valores, y se desplazan hasta los valores extremos alcanzado por la accesión en el parámetro peso de raíz. Además, en la barra coloreada está representada con una línea horizontal (en negro) la mediana para el parámetro correspondiente. Se observa que en los tratamientos con Al la dispersión de los datos disminuye, presentando las accesiones un crecimiento más homogéneo y el efecto fitotóxico del aluminio se ve reflejado en la menor producción de materia seca radical.

4.2.1.3 Producción de materia seca aérea. En el Cuadro 12 se observa el efecto de los distintos niveles de Al en solución sobre el peso promedio de la parte aérea de las accesiones.

CUADRO 12. Peso promedio de la parte aérea de acuerdo a niveles de Al en solución

Nivel de Al (μM)	Peso parte aérea (mg/jarra)	
0	574	a
50	133	b
75	111	b
100	91	b

Letras distintas indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

Se identifica la formación de dos grupos, el primero constituido por el peso de la parte aérea en solución nutritiva sin Al y el segundo grupo formado por los tratamientos con presencia de Al, detectándose un efecto de disminución del peso aéreo. Bade (2002) y De la Fuente y Herrera (1999), señalan que siendo el efecto sobre las raíces el más fácil de identificar, al darle a la planta suficiente exposición a este elemento, aparecen una serie de otros síntomas en las raíces y parte aérea, pero sin producir una clara discriminación entre los tratamientos de

solución con Al ya que el efecto directo se produce principalmente a nivel radical (Taylor y Foy, 1985). En términos porcentuales el grupo conformado por los tratamientos con Al en solución sólo representa el 19,4% del peso promedio alcanzado en el grupo sin adición de aluminio, mostrando nuevamente el severo efecto del Al en solución sobre el crecimiento vegetal. La inexistencia de diferencias significativas, en términos de producción de materia seca aérea, también es indicativo que la dosis de 50 μM resulta ser un nivel alto que produce un efecto severo en el desarrollo, y las dosis siguientes no pueden diferenciarse dado que la dosis de 50 μM , puede estar en rangos máximos para las accesiones y especies consideradas en el estudio.

Sin embargo, a pesar de que en la parte aérea los síntomas son difíciles de identificar, algunas plantas podrían tener deficiencias de P, Ca, Mg o Fe (Jones citado por Feixa, 2001). Estos síntomas sugerirían que la toxicidad por Al interfiere con otros elementos nutritivos esenciales en la planta y que no son sólo debido a una inhibición del crecimiento radicular (Lee y Pritchard, 1984 y Poschenrieder *et al.* citados por Feixa, 2001).

4.2.1.4 Producción de materia seca aérea por accesión y nivel de aluminio. En el Cuadro 13 se observa el peso aéreo por accesión en los diversos tratamientos de Al, observándose la conformación de grupos, lo que refleja un comportamiento diferenciado de las accesiones respecto a la presencia de Al.

CUADRO 13. Peso aéreo (mg/jarra) por accesión y nivel de Al (μM)

Accesión – especies	Nivel Al μM			
	0	50	75	100
12	504,8 b	108,8 abc	110,7 ab	101,7 abc
17	666,5 b	171,7 a	134,5 ab	115,7 a
20	349,0 b	111,2 abc	88,2 bc	67,5 bc
22	562,8 b	129,2 abc	88,5 bc	81,2 abc
41	1.019,0 a	173,7 a	150,2 a	108,2 ab
45	470,2 b	154,0 ab	112,0 ab	100,7 ab
46	611,2 b	147,7 ab	109,2 ab	103,0 ab
58	228,8 b	70,3 bc	91,7 bc	54,7 c
102	493,0 b	143,3 ab	110,7 ab	96,5 ab
124	498,3 b	153,0 ab	153,2 a	94,7 ab
<i>B. stamineus</i>	1.066,3 a	183,8 a	131,5 ab	119,2 a
<i>L. perenne</i>	420,7 b	56,0 c	56,8 c	52,7 c

Letras distintas en la columna indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

En el nivel 0 μM se observa sólo la conformación de 2 grupos sobre la base de las accesiones y especies para la variable peso de la parte aérea, lo que indica que hay accesiones que presentan un mayor crecimiento aéreo frente a la acidez utilizada (4,2) y tipo de solución nutritiva, destacan en este sentido el rendimiento de la accesión 41, catalogada como tolerante en la primera etapa y *Bromus stamineus*. Esto coincide con los resultados obtenidos en la producción de materia seca radicular de la accesión 41 en este nivel de Al. En el caso del *Bromus stamineus*, que en cuanto a crecimiento radical no logra diferenciarse, para el desarrollo aéreo se ubica junto a la accesión 41.

En el nivel 50 μM , se observa la conformación de 2 grupos, las accesiones con mayor rendimiento son la 17 y 41, la especie *Bromus stamineus* junto a un grupo de accesiones 45, 124, 46, 102, 22, 20, y 12, no diferenciadas claramente, en el caso de la accesión 17 representa una diferencia respecto al

ordenamiento de la etapa preliminar. Luego en un grupo de menor rendimiento aparecen la accesión 58 y *Lolium perenne*, denotando su mayor sensibilidad a Al.

En el nivel 75 μM , se observa la conformación de 2 grupos, en el de mayor rendimiento se encuentran las accesiones 124, 41, 17, la especie *Bromus stamineus* y las accesiones 45, 12, 102, 46, el segundo grupo de menor rendimiento está representado por las accesiones 58, 22, 20 y la especie *Lolium perenne* denotando esta última, su alta sensibilidad al elemento Al.

En el nivel 100 μM , se observa la conformación de 2 grupos, el primero constituido por la especie *Bromus stamineus* y las accesión 17, junto a las accesiones 41, 46, 12, 45, 102, 124 y 22 no diferenciadas claramente; a continuación el grupo formado por la accesión 58 y la especie *Lolium perenne*, a este nivel se observan los menores rendimientos de materia seca, y los efectos de toxicidad observados fueron evidentes, aun así se logran diferenciar grupos, aunque en términos estrictos las diferencias entre algunos grupos no son marcadas, lo que muestra que a niveles altos de Al es más difícil establecer diferencias, dado que el efecto fitotóxico del Al reduce las posibles diferencias entre accesiones y/o especies.

Baligar y Smedley (1989), señalan que la presencia de Al reduce el crecimiento de tallos y raíces, sin embargo, la magnitud de la reducción de crecimiento depende de cada especie y cultivar.

Esto se visualiza en la Figura 13, donde se muestra la respuesta en producción de materia seca de las accesiones sometidas a la presencia de Al en la solución. En general, se observa que el tejido aéreo se desarrolla con mayor variación en ausencia del elemento tóxico (amplitud de las barras), en cambio en solución nutritiva con Al (existencia de estrés) el rango de variación se reduce significativamente y las accesiones en ese ambiente parecen ser mucho más

homogéneas, pudiéndose inferir una respuesta en desarrollo aéreo más o menos similar e indicando, probablemente, que la tolerancia y su expresión en desarrollo aéreo sea un fenómeno minoritario, tal como lo demostraron Wheeler *et al.* (1992), quienes trabajando con 510 líneas de ballica inglesa, encontraron que ninguna de las líneas fue consistentemente más tolerante, aunque 23 plantas fueron seleccionadas de 13 líneas por su superior vigor y color en presencia de Al.

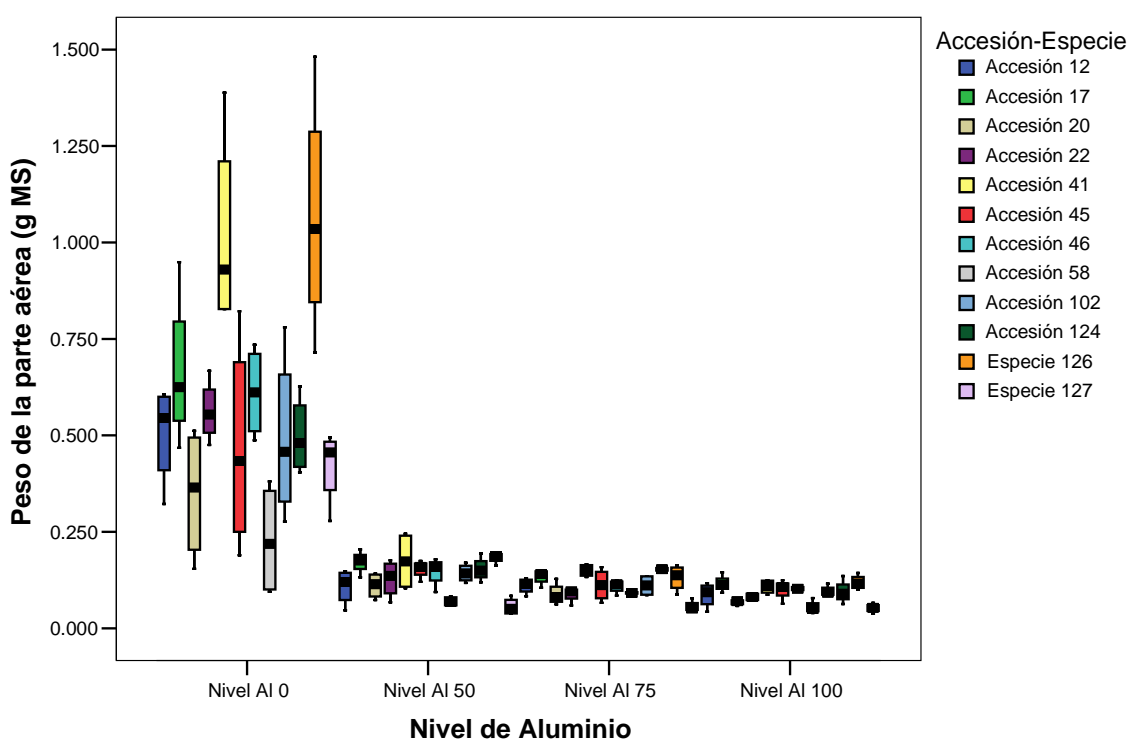


FIGURA 13. Peso de la parte aérea de acuerdo a niveles de Al en solución (g MS/jarra).

En la Figura 13 cada accesión y especie está representada por un color específico, la barra central (coloreada) representa el 50% de los valores alcanzados por las accesiones, las prolongaciones (en negro) de las barras representan el otro 50% de los valores, y se desplazan hasta los valores extremos alcanzado por la accesión en el parámetro peso aéreo. Además, en la barra coloreada, está representada con una línea horizontal (en negro) la

mediana, para el parámetro correspondiente. Se observa que la disminución en rendimiento es pronunciada y, es probable que las dosis utilizadas estuviesen en rangos máximos para las accesiones y especies, dificultando la expresión de mecanismos de tolerancia.

De modo general, a partir de los rendimientos observados en producción de materia seca aérea se puede establecer una clasificación por grado de tolerancia a Al, de este modo de acuerdo al comportamiento general observado en los diferentes niveles de Al, se pueden clasificar como tolerantes aquellas accesiones y especies que persistentemente presentaron mayores rendimientos en presencia de Al en solución, en esta condición se encuentran las accesiones 12, 17, 41, 45, 46, 102, 124 y la especie *Bromus stamineus*. En segundo término se pueden clasificar como de tolerancia intermedia las accesiones 20 y 22, que según el nivel de Al en solución cambian su ubicación en términos de tolerancia o sensibilidad. Y por último como accesiones y especies sensibles se clasifica a la accesión 58 y la especie *Lolium perenne*.

4.2.2 Concentración de aluminio

Con el objetivo de evaluar el efecto del Al en solución sobre la concentración de Al radical y aéreo, se presentan a continuación los valores de concentración de Al radical y aéreo en las distintas accesiones y especies

4.2.2.1 Concentración promedio de aluminio en las raíces según nivel de aluminio. En el Cuadro 14 se presenta el efecto de los distintos niveles de Al en solución sobre la concentración de Al radical

CUADRO 14: Concentración promedio de Al radical y aéreo.

Nivel Al (μM)	Concentración Radical Promedio ($\text{mg kg}^{-1} \text{MS}$)		Concentración Aérea Promedio ($\text{mg kg}^{-1} \text{MS}$)	
0	142,9	d	39,06	d
50	2334,9	c	112,61	c
75	5949,8	b	146,38	b
100	6728,9	a	285,98	a

Letras distintas indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

Se observan diferencias en la concentración de Al radical producto de los distintos tratamientos (niveles de Al) a los que el material fue expuesto, esto muestra que el medio externo (solución) afecta la absorción de Al, determinando la concentración de Al a nivel radical (Tisdale *et al.*, 1993, 1995; Wheeler y Dodd, 1995).

En términos proporcionales, la concentración radical aumenta 16,33 veces al pasar del nivel 0 Al a 50 μM . Al pasar de 50 μM a 75 μM , la proporción del aumento disminuye a 2,54. Finalmente al pasar de 75 μM a 100 μM la proporción del aumento disminuye nuevamente a 1,13, lo que refleja primero la gran capacidad de la solución nutritiva de influir en la absorción de Al por las raíces, y posteriormente en dificultar este mismo proceso por trastornos producidos por el propio Al en el desarrollo radical y en el proceso mismo de absorción.

4.2.2.2 Concentración promedio de aluminio aéreo según nivel de aluminio. La concentración de Al aéreo mostró diferencias significativas entre los diversos tratamientos de Al. En el Cuadro 14 se presentan los valores de concentración de Al aéreo observados, los que reflejan una relación estrecha entre el contenido de Al en solución y el contenido de Al aéreo, al igual que lo ocurrido a nivel radical.

Se puede observar que la concentración aérea es menor a la concentración radical, y que la concentración aérea en los tratamientos con Al aumenta en proporciones menores a las ocurridas entre tratamientos para concentración radical. En el caso de la concentración aérea entre el tratamiento 50 μM Al respecto del tratamiento sin Al, la concentración aumenta en una proporción de 2,88, luego en el tratamiento de 75 μM , aumenta en 1,29 en relación al tratamiento 50 μM , para finalmente aumentar en 1,95 en el tratamiento 100 μM respecto del tratamiento 75 μM . Lo que refleja, en primer lugar que la concentración aérea esta ligada a la concentración de Al en solución, pero que el proceso de translocación desde la raíz ocurre de manera más paulatina, para luego acelerarse y nuevamente disminuir. Probablemente se vean afectados más severamente los procesos metabólicos al aumentar el aluminio aéreo, entre ellos el propio proceso de translocación.

4.2.2.3 Concentración de aluminio radical por accesión y nivel de aluminio. En el Cuadro 15 se presenta el efecto de los distintos niveles de Al en solución sobre la concentración de Al en las raíces en cada una de las accesiones y especies.

CUADRO 15. Concentración de Al radical (mg kg⁻¹ MS) por accesión y nivel de Al

Accesión - Especies	Nivel de Al (µM)							
	0		50		75		100	
12	124,85	ab	1791,90	a	4303,10	a	6384,28	ab
17	106,62	b	2911,11	a	6564,39	a	8881,19	a
20	178,64	ab	2107,51	a	7329,25	a	7238,09	ab
22	135,60	ab	2020,45	a	6088,50	a	7105,88	ab
41	95,54	b	2413,31	a	5878,94	a	7645,38	ab
45	166,36	ab	2259,85	a	5878,94	a	6972,03	ab
46	138,77	ab	3603,51	a	6634,00	a	6795,74	ab
58	158,68	ab	1601,80	a	4254,31	a	6182,54	ab
102	103,43	b	3270,44	a	5200,92	a	6389,37	ab
124	158,00	ab	2087,81	a	6875,05	a	6583,14	ab
<i>B. stamineus</i>	118,31	b	1979,35	a	6294,36	a	4564,34	b
<i>L. perenne</i>	230,16	a	1963,87	a	5659,60	a	6005,36	ab

Letras distintas en la columna indican diferencia significativa Prueba SNK (P < 0,05)

A nivel de 0 µM de Al, se observa la conformación de 2 grupos, el de mayor concentración está representado por la especie *Lolium perenne*, luego un grupo no diferenciado estadísticamente donde están la mayoría de las accesiones, entre estas 12, 20, 22, 45, 46, 58 y 124. Finalmente las que se ubican con menores concentraciones son las accesiones 41, 102 y la especie *Bromus stamineus*.

A nivel 50 y 75 µM, no se observan diferencias entre accesiones y/o especies en cuanto a concentración de Al. Finalmente a nivel del tratamiento 100 µM, se observa la conformación de 2 grupos, el de mayor concentración esta representado por la accesión 17 junto a un grupo no diferenciado claramente en donde están la mayoría de las accesiones: 12, 20, 22, 41, 58, 102, 124, y la especie *Lolium perenne*, por último en el segundo grupo sólo aparece la especie *Bromus stamineus*.

En la Figura 14 se muestra la variación en la concentración de Al radical de las accesiones estudiadas en cada nivel de Al aplicado. Se observa el aumento de la concentración de Al en todas las accesiones y especies a medida que aumenta el nivel de Al en solución, la menor variación se observa en el tratamiento sin adición de Al.

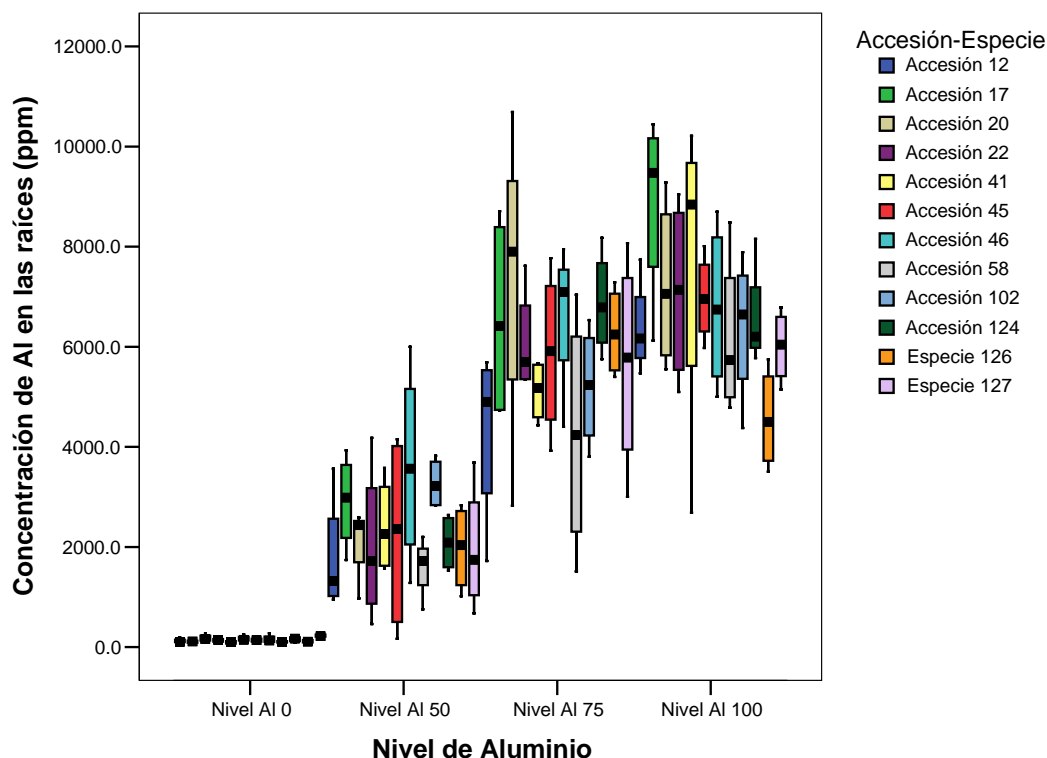


FIGURA 14. Concentración de aluminio en las raíces de acuerdo a lo niveles de aluminio en solución.

En la Figura 14 cada accesión y especie está representada por un color específico, la barra central (coloreada) representa el 50% de los valores alcanzados por esa accesión, las prolongaciones (en negro) de las barras representan, el otro 50% de los valores, y se desplazan hasta los valores extremos alcanzados por la accesión en el parámetro peso aéreo. Además, en la barra coloreada está representada con una línea horizontal (en negro) la mediana para el parámetro concentración de aluminio en las raíces. Aun cuando en sólo dos de los tratamientos se establecieron diferencias significativas en la figura, se observa que las accesiones presentan una gran dispersión de los resultados para esta variable, y que sólo en el nivel 0 Al, la dispersión de datos es estrecha.

4.2.2.4 Concentración de aluminio en la parte aérea por accesión y nivel de aluminio. En el Cuadro 16 se observa la concentración promedio por accesión en los diversos tratamientos de Al.

CUADRO 16. Concentración de Al aéreo (mg kg^{-1} MS) por accesión y nivel de aluminio.

Accesión - Especie	Nivel Al (μM)							
	0		50		75		100	
12	34,33	a	160,85	ab	130,10	a	320,62	abc
17	25,20	a	85,37	b	133,87	a	324,52	abc
20	41,92	a	123,12	ab	157,30	a	250,60	abc
22	27,20	a	111,55	b	232,18	a	236,10	abc
41	52,35	a	86,95	b	121,60	a	437,67	ab
45	36,83	a	79,15	b	177,62	a	281,55	abc
46	42,50	a	75,57	b	138,50	a	303,75	abc
58	90,05	a	177,82	ab	129,05	a	325,05	abc
102	33,08	a	87,28	b	147,32	a	476,07	a
124	39,33	a	71,82	b	150,28	a	207,70	bc
<i>B.stamineus</i>	15,33	a	72,68	b	106,88	a	86,92	c
<i>L. perenne</i>	30,62	a	219,20	a	131,90	a	181,12	c

Letras distintas en la columna indican diferencia significativa Prueba SNK ($P < 0,05$)

A nivel 0 μM (sin adición de Al), no se observaron diferencias entre accesiones y/o especies en cuanto a concentración de Al aéreo. A nivel 50 μM , se observa la conformación de 2 grupos, el de mayor concentración esta representado por *Lolium perenne*, y un grupo no diferenciado claramente esta representado por las accesiones 12, 20 y 58, luego el segundo grupo lo conforman las accesiones 17, 22, 41, 45, 46, 102, 124 y *Bromus stamineus*.

Por otra parte, en el nivel 75 μM no se observan diferencias en concentración de Al, en cambio, en el nivel 100 μM se conforman 3 grupos por nivel de concentración, en primer lugar la accesión 102, luego en un grupo no diferenciado aparecen las accesiones 12, 17, 20, 22, 41, 45, 46, 58 y 102. Luego, se ubica la accesión 124, finalmente con la menor concentración aérea a este nivel se presentan las especies *Bromus stamineus* y *Lolium perenne*.

En la Figura 15 se observa el efecto del nivel de Al en solución en la concentración de Al en la parte aérea, el comportamiento de las accesiones, aún en el tratamiento sin Al es variable, reflejando lo observado por Wheeler y Dodd (1995) y Kochian (1995), quienes señalan que la concentración en la parte aérea se relaciona con la concentración de Al en la solución, aunque sigue un comportamiento que se relaciona con el grado de tolerancia o susceptibilidad de las especies, y con los mecanismos propios de tolerancia.

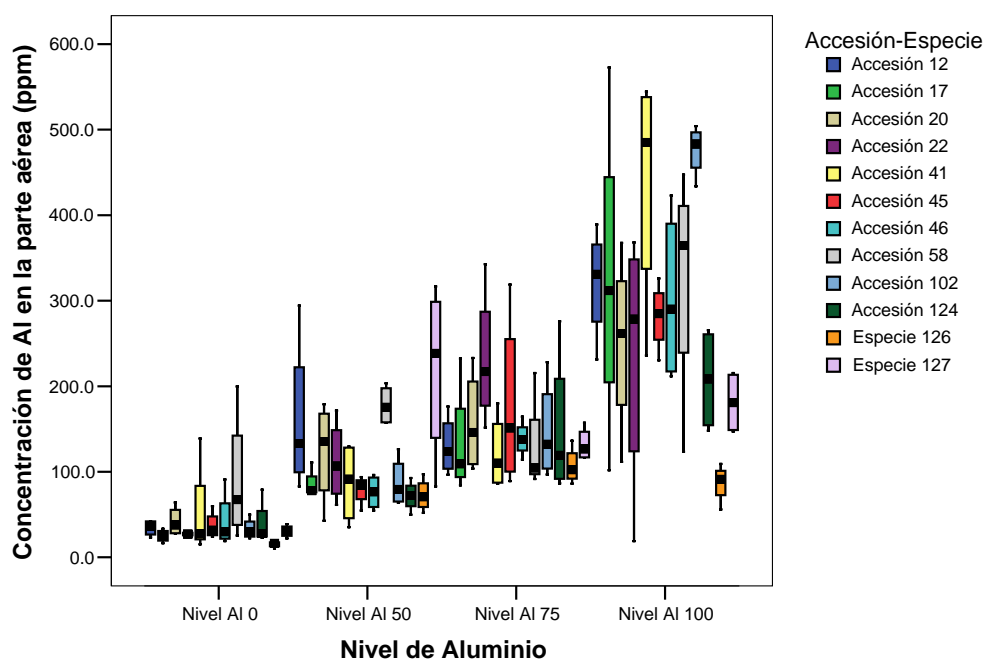


FIGURA 15. Concentración de aluminio en la parte aérea de acuerdo a los niveles de aluminio en solución

En la Figura 15 cada accesión y especie está representada por un color específico, la barra central (coloreada) representa el 50% de los valores alcanzados por esa accesión, las prolongaciones (en negro) de las barras representan el otro 50% de los valores, y se desplazan hasta los valores extremos alcanzados por la accesión en el parámetro peso aéreo. Además, en la barra coloreada está representada con una línea horizontal (en negro) la mediana para el parámetro concentración de aluminio en la parte aérea.

4.2.2.5 Relaciones entre concentración radical y aérea. Como una forma de inferir los mecanismos de tolerancia al aluminio presentados por las accesiones y especies, se presenta un ordenamiento por la proporción entre concentración de Al radical y aérea en los distintos niveles de Al en solución.

En el Cuadro 17 se puede observar que la proporción entre la concentración radical y aérea tiende a aumentar desde el tratamiento 0 (sin adición de Al) hasta el nivel 75 μM , para luego disminuir en el nivel 100 μM , con promedios de 4,7; 24,4; 41,7 y 26,1 respectivamente. Esto indica que el nivel de aluminio en solución afecta la concentración de aluminio en el tejido vegetal, pero también afecta la proporción de este elemento entre la raíz y el tejido aéreo indicando que el nivel de aluminio afecta el proceso de acumulación y translocación del Al en las plantas.

CUADRO 17. Ordenamiento por la proporción entre la concentración de Al radical y aéreo en los distintos niveles de Al en solución

	0 μM		50 μM		75 μM		100 μM
Accesión – Especie		Accesión y Especie		Accesión y Especie		Accesión y Especie	
58	1,8	L. perenne	9,0	22	26,2	102	13,4
102	3,1	58	9,0	58	33,0	41	17,5
12	3,6	12	11,1	12	33,1	58	19,0
20	3,8	20	14,1	45	33,1	12	19,9
41	4,1	22	18,1	102	35,3	46	22,4
17	4,2	<i>B.stamineus</i>	27,2	<i>L. perenne</i>	42,9	22	23,0
45	4,5	41	27,8	124	45,7	45	24,8
22	5,0	45	28,6	20	46,6	17	27,4
46	5,3	124	29,1	46	47,9	20	28,9
124	6,1	17	34,1	41	48,3	124	31,7
<i>L. perenne</i>	7,5	102	37,5	17	49,0	<i>L. perenne</i>	33,2
<i>B.stamineus</i>	7,7	46	47,7	<i>B.stamineus</i>	58,9	<i>B.stamineus</i>	52,5
Promedio	4,7		24,4		41,7		26,1

Al realizar un ordenamiento de las accesiones y especies en términos de la proporción entre la concentración de Al radical y la concentración aérea, se puede observar que este ordenamiento cambia dependiendo del nivel de Al en solución, mostrando probablemente la capacidad de cada accesión y especie de regular el paso del Al al tejido aéreo y, de este modo, indirectamente indicar el mecanismo de tolerancia utilizado, al aumentar la proporción entre la concentración radical y aérea por un aumento en la concentración radical, indica que la planta es capaz de acumular y tolerar en mayor medida el Al, en su tejido radical, de este modo su mecanismo de tolerancia es de inclusión, a nivel radical (tolerancia interna) .

El caso particular de accesiones y especies que presentan escasa capacidad de generar mecanismos que impidan el paso de Al hacia el tejido aéreo, está dado en la accesión 58 y la especie *Lolium perenne*, la primera aparece en casi todos los tratamientos con una relación estrecha entre concentración de Al radical y aéreo, indicando su carencia de mecanismos para impedir la translocación hacia la parte aérea de la planta. *Lolium perenne* en cambio, en el nivel 0 (sin adición de Al) aparece con una proporción más amplia, pero al incluir Al en la solución (50 μM) pasa a estar en la proporción más estrecha entre concentración de Al radical y aéreo, esto indica que esta especie es incapaz, en los niveles inferiores de Al en solución, de regular el paso de Al hacia la parte aérea.

En el caso de las accesiones 17 y 41 que aparecen como tolerantes en términos de desarrollo aéreo, tienen un comportamiento en el nivel 0 (sin adición de aluminio) en torno al promedio de la proporción Al radical-Al aéreo, pero al pasar al siguiente nivel (50 μM), estas accesiones aumentan la proporción entre Al radical y aéreo indicando una cierta capacidad de impedir la translocación hacia la parte aérea, lo mismo ocurre a nivel de 75 μM , a nivel de 100 μM se observa una disminución generalizada de las proporciones entre concentración radical y aérea, no obstante las accesiones 17 y 41 varían su comportamiento, al variar su ubicación en el ordenamiento por proporción, de modo que la accesión 41 se ubica en este nivel entre las menores proporciones y la accesión 17,

aunque sube algunos lugares en el ordenamiento aún se ubica en el tercio inferior, que muestra las mayores proporciones.

4.2.3 Análisis de regresión

Con el objetivo de comprender los mecanismos de tolerancia a Al presentados por las accesiones y especies, a continuación se presenta el análisis de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo.

4.2.3.1 Análisis de regresión para concentración de aluminio aéreo y rendimiento aéreo. Según análisis de regresión, la ecuación general (exponencial con una fase de decaimiento) que representa la relación entre concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo es la siguiente.

$$Y = A * e^{(-k*x)} + B \quad [1]$$

En el Cuadro 18 se presentan los parámetros correspondientes a la ecuación de regresión de concentración de Al aéreo-rendimiento aéreo, para cada una de las accesiones y especies con su respectivo coeficiente de correlación (R^2).

CUADRO 18. Parámetros de la ecuación de regresión de concentración Al aéreo-
rendimiento aéreo.

Accesión – especie	A	K	B	R ²	Sy.x	Datos omitidos
12	1,1300	0,02973	0,08059	0,947	0,04701	(0)
17	1,4970	0,04099	0,11490	0,946	0,06287	(0)
20	1,095	0,02836	0,06402	0,899	0,05176	(28,0-0,253) (42,8-0,142)
22	1,355	0,03883	0,08647	0,954	0,05014	(19,1-0,074)
41	3,458	0,06366	0,11860	0,956	0,08656	(138,9-1,033)
45	8,1050	0,10150	0,10090	0,972	0,0376	(0)
46	1,3100	0,03600	0,09500	0,880	0,08434	(91,1-0,487)
58	0,6933	0,02694	0,06152	0,881	0,03626	(0)
102	1,5150	0,04408	0,09908	0,879	0,07324	(0)
124	2,1560	0,07387	0,12850	0,919	0,04268	(79-0,627)
<i>B. stamineus</i>	2,9770	0,07808	0,13450	0,982	0,06259	(0)
<i>L. perenne</i>	1,0810	0,03573	0,04682	0,972	0,03009	(0)

Se puede observar en el Cuadro 18 que el valor de k, que expresa la velocidad de caída de la producción de materia seca en función de la concentración de aluminio aéreo, es distinto para cada una de las accesiones y especies mostrando las especies variabilidad en su respuesta a la concentración alcanzada de Al a nivel de tejido aéreo, ubicándose en el primer tercio (mayor velocidad de caída) la accesión 45, luego *Bromus stamineus*, y seguidamente las accesiones 124 y 41, lo que es indicativo de que estas accesiones y especies no presentan mecanismos de tolerancia a nivel aéreo y que reducen drásticamente su rendimiento cuando el Al es translocado a la parte aérea. En el tercio siguiente se ubican las accesiones 102, 17, 22 y 46. Por último en el tercio que supone una velocidad de caída más lenta se ubica la especie *Lolium perenne* y las accesiones 12, 20 y 58. De modo general se puede observar que no existen especies o accesiones que tengan una diferencia mayor en este parámetro, lo que indica que

si estas accesiones o especies presentan mecanismos de tolerancia al Al este no estaría expresado en una tolerancia interna a nivel de tejido aéreo.

En cuanto al valor del parámetro B, que muestra el nivel donde se estabiliza la producción de materia seca y que refleja el grado de tolerancia en términos de sustentar una mayor producción con mayores concentraciones de aluminio aéreo, los resultados muestran que en el primer tercio por producción se ubican *Bromus stamineus* y las accesiones 124, 41 y 17. Luego en el tercio intermedio se ubican las accesiones 45, 102, 46 y 22. Por último en el tercio inferior se ubican las accesiones 12, 20 y 58 junto a la especie *Lolium perenne*.

En la Figura 16 se presentan las graficas correspondientes a cada una de las ecuaciones de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo de accesiones y especies.

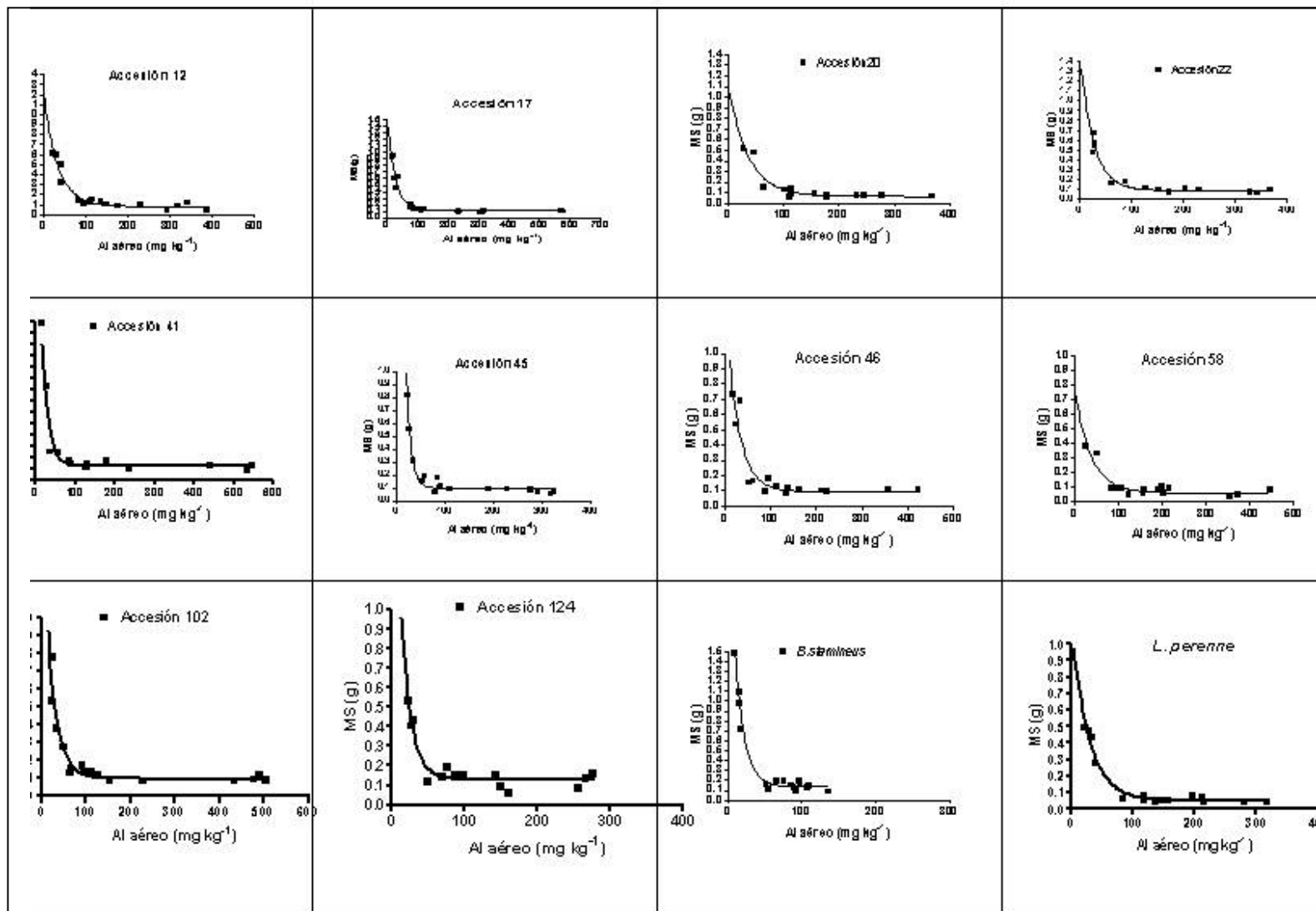


FIGURA 16. Gráficas de cada una de las ecuaciones de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo de accesiones y especies

En la Figura 16, se puede observar que las curvas de las ecuaciones describen claramente el fenómeno de que a una mayor concentración de Al aéreo disminuye abruptamente la producción de materia seca aérea de las accesiones y especies.

Las gráficas muestran además, que existiendo grandes similitudes en la representación general de la regresión, existen particularidades en términos de puntos máximos alcanzados, pendientes de las curvas (K), valor de B alcanzado para cada una de las especies y accesiones consideradas. Además, las concentraciones a las que ocurre el fenómeno de disminución de rendimiento aéreo es distinto para cada accesión y especie, lo que nuevamente refleja lo señalado con anterioridad en el sentido de denotar diferencias atribuibles a cada accesión y/o especie en términos de su tolerancia o susceptibilidad a los niveles de Al a nivel foliar, e indica que existe un nivel umbral de Al que determina el momento en que la toxicidad por Al se expresa nítidamente, no obstante lo anterior, es preciso realizar ensayos con niveles de Al en solución menores, para poder discriminar de mejor forma la variabilidad entre accesiones, pues las dosis utilizadas produjeron una drástica caída del rendimiento desde el primer tratamiento con adición de Al (50 μ M), impidiendo el establecimiento de diferencias más marcadas entre accesiones y especies.

Como una forma de objetivizar el comportamiento de cada una de las accesiones y especies ante la concentración de Al a nivel aéreo se procedió a calcular la concentración de aluminio que produce el 50% del valor A de cada ecuación de regresión, y a partir de estos resultados se procedió a ordenar las accesiones y especies, la ecuación para este calculo corresponde a la ecuación 2 y los resultados se presentan en el Cuadro 19.

$$X = [\ln(((A*0,5)-B)/A)] /-K \quad [2]$$

CUADRO 19. Determinación de valor de la concentración para el valor A/2

Accesión – Especie	Valor de X (mg kg⁻¹ MS)	Lugar en Ordenamiento
12	28,49	10
17	20,97	6
20	28,83	11
22	21,37	7
41	12,0	4
45	7,08	1
46	23,15	9
58	32,98	12
102	18,90	5
124	11,10	3
<i>B. stamineus</i>	10,09	2
<i>L. perenne</i>	21,94	8

En el Cuadro 19 se puede observar que las accesiones y especies en las cuales se produce la caída del valor de A a la mitad ($A*0,5$) a la menor concentración es la accesión 45, la especie *Bromus stamineus*, y las accesiones 124 y 41, demostrando esto que si estas especies poseen algún mecanismo de tolerancia este no ocurre a nivel aéreo, sólo queda la posibilidad de exclusión o tolerancia interna a nivel radical.

Un segundo grupo está constituido por las accesiones 102, 17, 22 y la especie *Lolium perenne* que están en un rango intermedio de concentración para producir el mismo efecto. Finalmente, en el tercio que ubica a las especies donde se necesita mayor concentración se ubican las accesiones 46, 12, 20 y 58. No obstante este ordenamiento, no es esperable que existan mecanismos de tolerancia a nivel aéreo.

5 CONCLUSIONES

De los resultados expuestos anteriormente, se concluye:

- A través de la selección preliminar se pudo clasificar como accesiones tolerantes sólo al 4,8% de las accesiones de *Bromus valdivianus* Phil., lo que indica que la presencia de mecanismos de adaptación al aluminio son de escasa frecuencia.
- El efecto fitotóxico del Al, en cuanto a longitud aérea y radical, y producción de materia seca, estuvo relacionada con el nivel de Al al que las plantas fueron sometidas y en menor medida a las características particulares de las accesiones, esto puede indicar que los niveles de aluminio utilizados pudieron ser demasiado altos para que se expresen diferencias a nivel de accesiones. La concentración de Al, tanto aéreo como radical, se relacionó con la concentración de Al en las soluciones aplicadas y con el aumento de la concentración de Al en solución.
- La proporción entre la concentración de Al radical y aéreo, indica que el *Bromus valdivianus* sólo tendría mecanismos de tolerancia por exclusión del Al o tolerancia interna a nivel radical.
- Se determinó una relación exponencial inversa entre concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo, mostrando que un aumento de la concentración aérea produce una disminución en la producción de materia seca. Esta respuesta fue particular para cada una de las especies y accesiones consideradas, denotando la inexistencia de mecanismos de tolerancia diferentes a nivel de tejido aéreo.

- Existió variabilidad de las accesiones de *Bromus valdivianus* en cuanto a su tolerancia o susceptibilidad a Al en solución, mostrando que la presión de selección derivada del estrés por este elemento presente en los suelos del sur de Chile ha producido accesiones que muestran adaptabilidad a esta condición y que pueden ser objeto de nuevos estudios que precisen con mayor profundidad el grado de esta tolerancia y los mecanismos más precisos que la producen.

6 RESUMEN

Se estudio la respuesta al aluminio en solución nutritiva (Al) en 125 accesiones de *Bromus valdivianus* colectados en la X Región de Chile, como controles se utilizaron *Bromus stamineus* y *Lolium perenne*. El estudio se dividió en dos etapas, en la primera se efectuó una prueba de selección preliminar (*screening*) con tres niveles de aluminio en solución: 0, 100 y 200 μM , esto permitió seleccionar a 10 accesiones, agrupadas como tolerantes (accesiones, 12, 20, 41, 45, 46 y 124), de tolerancia intermedia (accesiones, 22 y 102) y susceptibles (accesiones, 17 y 58), de acuerdo a un grupo de parámetros seleccionados comparando las accesiones expuestas y no expuestas a los tratamientos con Al.

En la segunda etapa del estudio, con las accesiones seleccionadas más las especies control se desarrolló un ensayo en Jarras Leonard, con cuatro niveles de aluminio en solución: 0, 50, 75 y 100 μM . Los resultados de ambas etapas mostraron el efecto detrimental de los niveles crecientes de aluminio en solución sobre el desarrollo radical, desarrollo aéreo y concentración de aluminio de las plantas. Aunque la primera fase del estudio permitió una adecuada selección de las accesiones susceptibles, en cuanto a la selección de especies tolerantes, los resultados de la segunda etapa no son concluyentes, no obstante, existen mecanismos distintos que pueden haber operado en esta etapa. La clasificación de la segunda etapa fue la siguiente, como tolerantes se clasificaron las accesiones 12, 17, 41, 45, 46, 102, 124 y la especie *Bromus stamineus*, como de tolerancia intermedia las accesiones 20 y 22, y como susceptibles la accesión 58 y la especie *Lolium perenne*.

En cuanto a la concentración de Al radical y aéreo se concluyó que ésta depende de la concentración de Al en la solución nutritiva y que la concentración

a nivel radical y aéreo aumenta al aumentar la concentración de Al en la solución nutritiva. Respecto a la relación entre concentración radical y concentración aérea ésta varió a través de los distintos tratamientos, y las accesiones y especies mostraron un comportamiento distinto, especialmente las catalogadas como tolerantes, que aumentaban la proporción entre Al radical y aéreo al aumentar la concentración de Al en la solución nutritiva, las accesiones y especies susceptibles en general tuvieron una relación entre aluminio radical y aéreo más estrecha.

En cuanto al análisis de regresión, este mostró que existió una relación exponencial inversa entre concentración de aluminio aéreo y rendimiento aéreo, y se pudo identificar que las accesiones y especies tuvieron un comportamiento particular, demostrando la existencia de variabilidad entre accesiones y especies, además de, indicar los parámetros de las ecuaciones la inexistencia de mecanismos de tolerancia a nivel aéreo, e indicando que los mecanismos de tolerancia sólo pueden estar circunscritos a tolerancia por exclusión o tolerancia interna a nivel radical.

Finalmente, se concluye que dada las condiciones de los suelos del sur de Chile se generó una presión de selección que ha determinado la existencia de accesiones de *Bromus valdivianus* con tolerancia al estrés por Al.

7 SUMMARY

The response of 125 accessions of *Bromus valdivianus*, collected in the X Region of Chile, placed in aluminum nutritious solution (Al) was study. As controls there were used *Bromus stamineus* and *Lolium perenne* plants. The study was divided in two stages. At first, a preliminary screening was carried out by using three aluminum levels in solution: 0, 100 and 200 μM , respectively. This search allowed it to select 10 accessions which were separated in three groups and classified as tolerant (accessions 12, 20, 41, 45, 46 and 124), middle tolerant (accessions 22 and 102) and susceptible (accessions 17 and 58). Such classification was done taking in count a selected group of plant development parameter comparing accessions exposed or not to aluminum.

Once the accessions were selected, in a second stage of the study, a test in Leonard Jars was developed. In this assay, the accessions and controls were tested with four aluminum levels in solution: 0, 50, 75 and 100 μM , respectively. In both work stages, it was obtained a detrimental effect for radical and aerial plant development when increasing the aluminum levels in solution. An increase of aluminum concentration in plants was also founded. Although a suitable selection of the susceptible accessions was obtained in the first screening assay the results of the second stage were not conclusive. However, it should be taken in count that different Al tolerance mechanisms could be operating in last stage. On the light of the second stage results a new classification was done being tolerant the accessions 12, 17, 41, 45, 46, 102, 124 and *Bromus stamineus* specie, middle tolerant the accessions 20 and 22 and susceptible the accession 58 and *Lolium perenne*.

Regarding the Al concentration, accumulated in the aerial and radical part of the plants, it was concluded it depends on the initial Al concentration in the

solution. In general, the Al accumulated in plants increase when the initial Al concentration increases. In relation to the ratio of Al concentration on the radical and aerial part of treated plants it varied among treatments. In fact, the tolerant accessions increased this ratio when the initial Al concentration increases while middle tolerant and susceptible accessions keep it narrowed.

The regression analysis showed there was an inverse exponential relation among the plant aerial aluminum concentration and the aerial plant yield. Furthermore, it allowed identifying that accessions and species had a particular behavior, demonstrating the variability among them. In addition, the equation regression parameter indicates the nonexistence of aerial Al tolerance mechanisms. Such tolerance mechanisms could only be acting on plant root which would be circumscribed to tolerance by exclusion or internal tolerance.

Finally, it could be concludes due to the grounds conditions in south Chile a selection pressure has been generated. As a consequence, Al stress tolerant accessions of *Bromus valdivianus* have been appeared.

8 BIBLIOGRAFÍA

- ALFARO, M. 1997. Acidificación de suelos: Efectos sobre la pradera y la producción animal. *Tierra Adentro* 5: 36 – 38.
- ARAOS, J. 1992. Problemas de acidez y Al en los suelos. *Chile Agrícola* 16 (177): 157 – 159.
- BADE, S. 1999. Clasificación preliminar de accesiones de *Agrostis capillaris* L., *Bromus valdivianus* Phil. y *Holcus lanatus* L., según tolerancia al Al en solución. Tesis Licenciado en Agronomía. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 96p.
- BALIGAR, V. y M. SMEDLEY. 1989. Response of forage grasses to aluminum in solution culture. *Journal of Plant Nutrition* 12: 783-786.
- BALIGAR, V., WRIGHT, R., FAGERIA, N. y R. MURRMANN. 1993. Inter and intraspecific root responses of cereals to acid soil chemical constraints. Cereals roots response to soil acidity. *Cereals Research Common* 20 (2): 95-101.
- BENNET, R. J. y C.M. BREEN. 1991. The aluminium signal: New dimensions to mechanism of aluminum tolerance. *Plant and Soil* 134: 153-166.
- BERNAL, J. 1986. Manual de pastos y forrajes. Fadegan. Medellín, Colombia. 235p.
- BLANCO, J. 1998. Caracterización agronómica y análisis de la variabilidad fenotípica en ecotipos de bromo (*Bromus valdivianus* Phil) de la provincia de Valdivia. Tesis Mg. Cs. M. Producción Animal. Universidad Austral de Chile. 64p.

- BOHN, H.L., Mc NEAL, B.L. y G.A. O'CONNOR. 1979. Soil density, New York, John Wiley.
- BHON, H., Mc NEAL, B. y G. O'CONNOR. 1993. Química del suelo. Limusa, S.A. México. 370p.
- BORIE, F., MORALES, A. y M. PINO. 1992. Toxicidad de acidez y Al sobre plántulas de Trébol rosado y Trébol blanco, crecidos en solución nutritiva. Agricultura Técnica 52: 134-138.
- BORIE, F. 1993. Rizósfera y acidificación. Frontera Agrícola 1(1): 5-7.
- BRADY, N. y R. WEIL. 1999. The nature and properties of soil. 881 p. 12th ed. Pentice Hall, New Jersey. USA.
- BRADY, N. y R. WEIL. 2000. Element of de nature and properties of soil. Prentice Hall, INC. New Jersey. 559 p.
- BRITEZ, R.M., REISSMANN, C.B.; SILVA, S.M.; ATHAYDE, S.F.; LIMA, R.X. and R.M.B. DE QUADROS. 1997. chemical characterization of two forests on the coastal plains of the ilha do mel, Parana Brazil. In *Plants Nutrition for sustainable Food Production and Environment*; Ando, T.Fujita, K., Mae, T., Matsumoto, H., Mori, S., S Ekiya, J., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht. 461 – 462.
- CALDWELL, C.R. 1989. Analysis of aluminum and divalent cation binding to wheat root plasma membrane proteins using terbium phosphorescence. Plant Physiology. 91: 233 – 241.
- CARVER, B. y J. OWNLY. 1995. Acid soil tolerance in wheat. Advances Agronomy 54: 117-173.

- CHANG, Y.C., YAMAMOTO, Y. y MATSUMOTO, H. 1999. Accumulation of aluminum in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells treated with a combination of aluminum and iron. *Plant Cell Environment* 22: 1009-1017.
- CHEN, J., E. SUCOFF y I. STADELMANN. 1991. Aluminum and temperature alteration of cell membrane permeability of *Quercus rubra*. *Plant Physiology* 96(2): 644-649.
- CUENCA, G., R. HERREA y E. MEDINA. 1990. Aluminum tolerant en trees of a tropical cloud forest. *Plant Soil* 125 (2): 169 – 175.
- DEGENHARDT, J., P.B. LARSEN, S.H. HOWELL y L.V. KOCHIAN. 1998. Aluminum resistance in the *Arabidopsis mutant* alr-104 is caused by an aluminum-induced increased in rhizosphere pH. *Plant Physiology*. 117: 19 – 27.
- DE LA FUENTE, J. M., V. RAMIREZ, J.L. CABRERA y L. HERRERA. 1997. Aluminum in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276 (5318): 1566 – 1568.
- DE LA FUENTE, J. Y L. HERRERA. 1999. Advances in the understanding of aluminum toxicity and development of aluminum-tolerant transgenic plants. *Advances Agronomy*. 66:102-120.
- DELHAIZE, E., P. RYAN y P. RANDALL. 1993. Aluminum tolerance in wheat. (*Triticum aestivum* L). II. Aluminum – stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiology*. 103: 695-702.
- DEMANET, R. 1994. Praderas y acidificación. FONDEF 2-88. N°1. 64 p.

- EDMEADES, D., F. BLAMEY y M. FARINA. 1995. Techniques for assessing plant responses on acid soils. In: R. A. Date et al. (Ed.). Plant soil interactions at low pH. Kluwer Acad. Publisher, Dordrecht: 221-233.
- FAGERIA, N., R. WRIGHT y V. BALIGAR. 1988. Rice cultivar response to aluminum in nutrient solution. Soil Science and Plant Analysis 19:1133-1142.
- FEIXA, X. 2001. Poliamidas y tolerancia al Al en variedades tolerantes y sensibles de *Zea mays*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de ciencias. Departamento de Biología animal, Biología vegetal y ecología. 148p.
- FOY, C. D. 1984. Physiological effects of hydrogen, aluminum and manganese. Toxicities in acid soil. In ; soil acidity and liming; 2da ed. F. Adams (ed).ASA.CSA-SSSA. Publisher. Madison, Wisconsin, 57-97.
- FOY, C. 1983. The physiology of plant adaptation to mineral stress. Iowa State Journal of Research 19: 959-987.
- FOY, C. 1988. Plant adaptation to acid, aluminum –toxic soils. Communication in Soil Science. Plant Analysis. 19: 959-987.
- FOY, C. y C. PETERSON. 1994. Acid, soil tolerates of wheat lines selected for high grain protein content. Journal Plant Nutrition 17: 377-400.
- FRÖHLICH, V. 1991. Comportamiento de tres variedades de alfalfa bajo tres condiciones de acides del suelo. Tesis licenciado en Agronomía. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 55p.
- GALLARDO, F., C. RIQUELME, F. BORIE y J. SANTANDER. 1995. Selección de especies y cultivares tolerantes a Al. Frontera Agrícola (Chile). 3(1): 4-12.

- GEOGHEGAN, I. E. y J. I. SPRENT. 1996. Aluminum and nutrient concentrations in species native to central Brazil. *Communication in Soil Science. Plant Analysis*. 27 (18 – 20): 2925 – 2934.
- GONZÁLEZ, S. 1997. Respuesta vegetal al estrés metálico. *Agricultura Técnica* 57(1): 42-49.
- HUANG, J.W., J.E. SHAFF, D.L. GRUNES y L.V. KOCHIAN. 1992. Aluminum effects on calcium fluxes at the root apex of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiology* 98 (1): 230:237.
- HELYAR, K. y G. SUTHERLAND. 1994. Edaphic constraints to perennial grasses: Change the plant to suit the soil or viceversa?. *New Zealand Journal of Agriculture Research* 37:391-397.
- HOJITO, M., A. NISHIMUNE y K. TAKAO. 1985. The comparison of the tolerance to soil acidity among several pasture grasses. In XV International grassland Congress. 1985. Kyoto Japan.
- HORST, W. 1995. The role of apoplast in Al toxicity and resistance of higher plants: A review. *Z. Pflanzenernahr Bodenk* 158: 419-428.
- HUE, V., G. Craddock y F. Adams. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in sub soils. *Soil Science Society of America Journal* 50(1): 28-34.
- IDE, S. 1996. Caracterización fonológica y productiva de *Arrhenatherum elatius* ssp. *bulbosus*, *Agrostis capillaris*, *Bromus valdivianus* y *Holcus lanatus* en el Dominio Humedo de Chile. Tesis Licenciado en Agronomía. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. 91 p.

- ISHIKAWA, S. y T. WAGATSUMA. 1998. Plasma membrane permeability of roots-tip cells following temporary exposure to Al ions is a rapid measure of Al tolerance among plants species. *Plant Cell Physiology*. 39 (5) 516-525.
- ISHIKAWA, S., T. WAGATSUMA y R. SASAKI. 2000. Comparison of the amount of citric and malic acids in Al media of seven plant species and two cultivars each in five plants species. *Soil Science Plant Nutrition* 46 (3): 751 – 758.
- JANSEN, S., S. DESSEIN, F. PIESCHAERT, E. ROBBRECHT y E. SMETS. 2000. Aluminum Accumulation in Leaves of Rubiaceae: Systematic and Phylogenetic Implications. *Annals of Botany*. 85 (2): 91 – 101.
- JONES, D.L. y L.V. KOCHIAN. 1995. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity?. *Plant Cell*. 7 (11): 1913 – 1922.
- JUNGJOHANN, J., L. LONGERI y I. VIDAL. 1997. Tolerancia diferencial de cultivares de trigo al Al. *Agricultura Técnica* 57 (3): 169-176.
- KARLIK, S.J., J.L. EICHORN, P.N. LEWIS y D.R. CRAPPER. 1980. Interaction of aluminum species with deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*. 19:5991-5998.
- KINRAIDE, T.B. 1988. Proton extrusion by wheat roots exhibiting severe aluminum toxicity symptoms. *Plant Physiology* 88: 418 – 423.
- KINRAIDE, T.B. 1991. Identity of the rhizotoxic aluminum species. *Plant Soil* 134: 167 – 178.
- KOCHIAN, L. 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*. 46: 237-260.

- KOCHIAN, L. O. HOEKENGA y M. PIÑEROS. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? mechanism of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. *Annual Review Plant Biology*. 55: 459 – 493.
- KOYAMA, H., A. KAWAMURA, T. KIHARA, E. TAKITA y D. SHIBATA. 2000. Over expression of mitochondrial citrate syntetase in *Arabidopsis thaliana* improved growth on a phosphorus-limited soil. *Plant Cell Physiology*. 41 (9): 1030 – 1037.
- KÜPPER, H., F.J. ZHAO y P. McGRATH. 1999. Cellular partmentation of zing in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*. 119 (1): 305 – 311.
- LARSEN, P., L. KOCHIAN y S. HOWELL. 1996. Arabidopsis mutants with increased sensitivity to aluminum . *Plant Physiology*. 110: 743 – 751.
- LEE, J. y M. PRITCHARD. 1984. Aluminum toxicity expression on nutrient uptake, growth and roots morphology of *Trifolium repens* L. *Plant and Soil* 82(1): 101-116.
- LIU, H., J. HECKMAN y J. MURPHY. 1995. Screening Kentucky bluegrass for aluminum tolerance. *Journal of Plant Nutrition*. 18:1797-1811.
- LOPEZ, I., O. BALOCCHI, M. LAILHACAR y S. OYARZUN. 1997. Características de sitios de crecimiento de seis especies pratenses nativa y naturalizadas del dominio húmedo de Chile. *Agro Sur* 25: 62-80.
- MA, J.F., S. HIRADATE, S. NOMOTO, T. IWASHITA y H. MATSUMOTO. 1997. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea. *Plant Physiology*. 113 (4): 1033 – 1039.

- MA, J.F., P.R. Ryan y E. Delhaize. 2001. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Science*. 6: 273-278
- MACKAY, A., J. CARADUS y L. WEWALA. 1991. Aluminium tolerance of forage species. *Plant and Soil Science* 45:925-930.
- MARSCHNER, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. New York, 674 p.
- MARSCHNER, H. 1991. Mechanisms of adaptation of plants to acid soil. *Plant and Soil* 134: 1-20.
- MARSCHNER, H. 1993. Mineral nutrition of higher plants. 2th Edition. Academic Press. Harcourt Brace & company. San Diego. USA. 889p.
- MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher soil. 2nd ed. Academic Press, London, Great Britain, 889 p.
- MASUNAGA, T. D. KUBOTA, M. HOTTA and T. WAKATSUKI. 1998. Mineral composition of leaves and bark in aluminum accumulators in a tropical rain forest in Indonesia. *Soil Science. Plant Nutrition*. 44 (3): 347 – 358.
- MATHEI, O. 1986. El genero *Bromus* L (Poaceae) en Chile. *Gayana Botánica*. 43 (1-4): 47 – 110.
- MATSUMOTO, H. 2000. Cell biology of aluminium toxicity and tolerante in higher plants. *International Review Cytology* 200: 1-46.
- MITSTRÍK, I., L .TAMÁS y J. HUTTOVÁ. 2000. Quantitative changes in maize membrane proteins induced by aluminum. *Biologia Plantarum* 43(1): 85 – 91.

- MORA, M., C. VENEGAS y W. LOBOS. 1993. Dolomitas una nueva alternativa para suelos ácidos. *Frontera Agrícola* 1: 54-62.
- MOSSOR-PIETRASZEWSKA, T., KWIT, M. y M. LEGIEWICZ. 1997 The influence of aluminum ions on activity changes of some dehydrogenases and aminotransferases in yellow lupine. *Biology Bulletin. Poznan* 34: 47-48.
- NAVAS, E. 1973. Flora de la cuenca de Santiago. Pteridophyta, Gimnospermae, Monocotyledonae. Andrés Bello. Santiago. Vol. 1.301 p.
- NICHOL, B., L. OLIVEIRA, A. GLASS y M. SIDDIQUI. 1993. The effects of aluminum on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate, and phosphate in an aluminum- sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L). *Plant Physiology* 101: 1263- 1266.
- NOSKO, P., P. BRASSARD, J.R. KRAMER y K.A. KERSHAW. 1988. The effect of aluminum on seed germination and early seedling establishment, growth and respiration of white spruce (*Picea glauca*). *Canadian Journal of Botany* 66: 2305-2310.
- OSAWA, H., K. KOJIMA y S. SASAKI. Excretion of citrate as an aluminum-tolerance mechanism in tropical leguminous trees. 1997. In *Plant Nutrition for Sustainable Foods production and Environment*; Ando, T. , Fujita, K., Mae, T. , Matsumoto, H., Mori, S., Sekeya, J., Eds.; Kluwer academic Publishers: Dordrecht. 455 – 456.
- PELLET, D., L. PAPERNIK y L. KOCCHIAN. 1996. Multiple aluminum – resistance mechanisms in wheat. *Plant Physiology*. 112: 591-597.
- PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE. 1975. Manual de laboratorio. Facultad de Cs. Agrarias. 52p.

- PONCE, J. 1999. Evaluación del comportamiento de cinco especies pratenses ante distintos niveles de Al en solución.) Tesis Ingeniero Agrónomo., Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 110 p.
- RADIC, S. 2001. Estudio de la tolerancia a la toxicidad por Al de cuatro ecotipos de bromo (*Bromus valdivianus* Phil) Tesis Ingeniero Agrónomo., Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 73p.
- RENGEL, Z. y D.L. ROBINSON. 1989. Comparative Al³⁺ inhibition of net Mg²⁺ uptake by intact *Lolium multiflorum* roots. I. kinetics. Plant Physiology 9 (4): 1407 – 1413.
- RING, S., R. FISHER., G. POILE., K.R. HELIAR., M. CONYERS y S. MORRIS. 1997. Screening species and cultivars for their tolerance to acidic soil conditions. Plant and Soil 155: 521-524.
- RITCHEY, K., V. BALIGAR y R. WRIGHT. 1988. Wheat seedling responses to acid soil acidity and implications for subsoil rooting. Communication in Soil Science. Plant Analysis. 19: 1285-1293
- ROBINSON, D.L. y Z. RENGEL. 1989. Aluminum effects on growth and macronutrient uptake by annual ryegrass. Agronomy Journal 81: 28-215.
- RODRIGUEZ. J. 1993. Manual de fertilización. Pontificia Universidad Católica de Chile. Departamento de ciencias vegetales. Facultad de Agronomía. Santiago. Chile.
- ROY, A.K., A. SHARMA y G. ALUKDER. 1988. Some aspects of aluminum toxicity in plants. The Botanical Review 54: 145-178.

- RYAN, P.R., E. DELHAIZE y D.L. JONES. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* 52: 527-560.
- RYAN P.R., J.E. SHAFF y L.V. KOCHIAN. 1992. Aluminum toxicity in roots. Correlation among ionic currents, ion fluxes, and root elongation in aluminum-sensitive and aluminum-tolerant wheat cultivars. *Plant Physiology*. 99: 1193-1200.
- SADZAWKA, A. 1991. Acidez y encalado en la región de Los Lagos. *INIA Remehue* 15: 9-21.
- SADZAWKA, A. y R. CAMPILLO. 1993. Problemática de la acidez de los suelos de la IX región. Génesis y características del proceso. *Investigación y progreso agropecuario* 12(3): 3-8.
- SHUMAN, L., D. WILSON y R. DUNCAN. 1993. Screening wheat and sorghum cultivars for aluminum sensitive at low aluminum levels. *Journal Plant Nutrition* 16: 2383-2395.
- SIERRA, C. 1992. Fertilidad de Suelo y Praderas Permanentes **In:** Seminario Manejo de Praderas Permanentes. Serie Remanente N°31. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Estación Experimental Remehue. 152 p.
- SNOWDEN, K. y R. GARDNER. 1993. Five Genes Inducted by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L) Roots. *Plant Physiology*. 103 : 855-861.
- STEWART, A.V. 1992. "Grasslands Gala" grazing brome (*Bromus stamineus* Desv.)- a new dryland pasture species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 35: 349-353.

- STEWART, A.V. 1996. Potential value of *Bromus* species of the section Ceratochloa. New Zealand Journal of Agricultural Research 39: 611-618.
- SUÁREZ, D. 1992. Antecedentes técnicos y económicos para el manejo de los suelos ácidos del país, elección de fertilizantes y enmiendas. Panorama Económico de la Agricultura 81: 19-23.
- TAYLOR, G. 1988. The physiology of Al tolerance. Metal ions. Biological systems (Ed). E.E.U.U. 165-198.
- TAYLOR, G. 1995. Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminum resistance. Plant and Soil 171:89-103.
- TAYLOR, G. y C. FOY. 1985. Mechanisms of aluminum tolerance. *Triticum aestivum* L. I. differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. American Journal of Botany 72(5): 695-701.
- TAIZ L. Y E. ZEIGER. 1991. Plant Physiology. Benjamín/Communings Publishing Company. Estados Unidos, Tercera Edición. 559 p.
- TISDALE, W. W. NELSON, J. BEATON and J. HAVLIN. 1993. Soil fertility and fertilizers. Mscmillsn Coll Div; Quinta Edición. 634 p.
- VICUÑA, A. 1997. Comparación de métodos indicadores de tolerancia a Al en seis cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.). Tesis Ingeniero Agrónomo., Temuco. Universidad de la Frontera. Facultad de ciencias Agropecuaria y Forestales.83p.
- VENEGAS, C. 1993. Tolerancia de los cultivos a la acidez del suelo. Frontera Agrícola 1(1): 23-27.

- VON UEXKÜLL, H.R. y E. MUTERT. 1995. Global extent, development and economic impact of acis soil. *Plant Soil* 171(1): 1 – 15.
- WAGATSUMA, T. 1984. Characteristics of upward translocation of aluminum plants. *Soil Science Plant Nutrition*. 30 (3); 345-358
- WATANABE, T., M. OSAKI y T. TADANO. 1997. Aluminum-induced growth stimulation in relation to calcium, magnesium, and silicate nutrition in *Melastoma malabathricum* L. *Soil Science Plant Nutrition*. 43 (4): 827 – 837.
- WATANABE, T., M. OSAKI, T. YOSHIHARA and T. TADANO. 1998. Distribution and chemical speciation of aluminium in the Al accumulator plant, *Melastoma malabathricum* L. *Plant Soil* 201, 165-173.
- WATANABE, T., M. OSAKI y T. TADANO. 2001. Al uptake kinetics in roots of *Melastoma malabathricum* L. an Al accumulator Plant. *Plant Soil* 231 (2): 283 – 291.
- WATANABE, T. y M. OSAKI. 2001. Influence of aluminum and phosphorus on growth and xylem sap composition in *Melastoma malabathricum* L. *Plant Soil* 237 (1): 63 – 70.
- WATANABE, T. y M. OSAKI. 2002. Mechanisms of adaptation to high aluminium conduction in native plants species growing in acids soils: A Review. *Plant Anal.* 33 (7 & 8): 1247 – 1260.
- WHEELER, D., P. EDMEADES., D. SMITH y P. WEDDERBURN. 1992. Screening perennial rye-grass. New Zeland for aluminum tolerance. *Plant and Soil* 146:9-19.

- WHEELER, D., P. EDMEADES., D. SMITH y R. CHRISTIE. 1992. Effect of aluminum on plant chemical concentration in some temperate grasses grown in solution culture at low ionic strength. *Journal of Plant Nutrition* 15:387-402.
- WHEELER, D. y M. DODD. 1995. Effect of aluminum on yield and plant chemical concentration of some temperate legumes. *Plant and Soil* 173: 133-145.
- WENZL, P., G.M. PATINO, A.L. CHAVES, J.E. MAYER y I.M. RAO. 2001. The high level of aluminium resistance in signal grass is not associated with known mechanisms of aluminium detoxification in root apices. *Plant Physiology* 125: 1473-1484.
- WRIGHT, R. 1989. Soil aluminum toxicity and plant growth. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 20: 1479- 1497.
- YAMAMOTO, Y., K. MASAMOTO, S. RIKIISHIS, A. NACHIYA, Y. YAMAGUCHI and H. MATSUMOTO. 1996. Aluminum tolerance acquired during phosphate starvation. *Cultured Tobacco Cells. Plant Physiology*. 112: 217-227.
- ZYSSET, M., P. BLASER, J. LUSTER y A. GEHRING. 1999. Aluminium Solubility in Different Horizons of a Podzol. *Soil Science American Journal*. 63:1106-1115.

ANEXOS

Anexo 1. Composición de la solución nutritiva

Nutrientes	μ m/l
N-NO ₃	3710
N-NH ₄	300
H ₂ PO ₄	100
K	750
Ca	1380
B	13
Na	85,8
Cl	85,8
Mo	1,5
Mg	270
Mn	5,5
Zn	1,2
Cu	0,3
Fe	18
SO ₄	277

FUENTE: ROBINSON Y RENGEL (1989).

Anexo 2. Detalle del ordenamiento efectuado de las accesiones de acuerdo a disminución del porcentaje de evaluación respecto al testigo sin AI en solución.

Lugar	100 µM; 33-33-33		200 µM; 33-33-33		100 µM 30-30-10		200 µM 30-30-10		100 µM 40-10-10		200 µM 40-10-10	
	Accesión %	Disminución	Accesión %	Disminución	Accesión %	Disminución	Accesión %	Disminución	Accesión %	Disminución	Accesión %	Disminución
	1	86	8,6658	41	6,9993	8	9,1	41	10,5	41	8,8	41
2	8	8,9991	12	9,6657	86	10,5	12	11,8	86	10,6	12	13,2
3	41	10,3323	96	15,3318	120	10,6	96	14,3	8	11,6	100	14,9
4	120	11,3322	20	15,6651	39	13,5	20	14,5	120	13,8	20	18,4
5	39	13,6653	100	16,9983	41	14,5	71	18,9	20	14,1	96	18,8
6	12	14,9985	45	17,3316	12	16,1	46	21,3	6	16,1	56	21
7	45	17,3316	71	20,3313	20	18,4	100	22,6	39	16,8	85	23,1
8	20	18,3315	46	22,3311	22	20,6	38	22,8	45	17,3	71	23,5
9	6	20,9979	38	24,3309	45	21,0	90	23,3	12	19	45	24,3
10	22	21,6645	85	24,9975	6	21,7	45	24,3	22	24,9	46	24,6
11	124	24,6642	56	25,3308	124	22,7	85	24,5	46	235,1	38	28
12	46	25,3308	90	25,6641	46	25,1	2	27,7	23	28,1	63	29,1
13	23	25,6641	2	27,9972	23	27,1	56	28,9	124	29,1	2	31,6
14	48	29,6637	63	27,9972	60	29,5	54	32,7	21	29,3	64	32,2
15	102	31,9968	54	31,3302	71	30,6	47	33,1	100	30,1	72	32,2
16	99	32,3301	66	33,6633	99	30,6	23	33,9	26	33,4	9	32,4
17	60	32,6634	23	33,9966	48	32,7	64	35,3	48	33,5	90	32,4
18	71	33,33	64	34,6632	3	24,2	63	35,8	91	36	80	33,3
19	26	34,3299	29	35,9964	28	36,2	8	36,2	99	37,6	61	33,4
20	49	34,3299	47	35,9964	96	36,2	66	36,7	28	38	14	33,8
21	116	34,9965	61	36,3297	47	36,3	29	37,1	25	38,4	54	34,4

22	3	35,3298	120	38,6628	116	36,8	89	37,2	60	38,8	29	35,6
23	28	36,663	8	38,9961	49	37,5	120	37,2	119	39,2	66	37,4
24	100	36,663	14	39,3294	102	37,9	24	37,6	71	40,4	82	39,3
25	47	38,3295	9	39,6627	26	38,4	94	39,2	102	40,7	23	39,5
26	96	38,6628	94	39,996	18	39,7	61	39,5	116	41	110	41
27	16	41,3292	24	40,3293	100	42,4	19	39,8	3	41,2	83	42
28	91	41,3292	19	40,9959	16	42,8	53	40,3	16	41,5	120	42,1
29	7	41,9958	89	40,9959	15	44,4	62	42,7	49	43,4	21	42,7
30	18	42,6624	62	42,9957	119	45,9	72	42,8	18	44,1	30	42,9
31	122	43,329	53	43,6623	4	47,1	14	43	10	44,7	47	43,8
32	15	44,9955	72	44,6622	91	47,1	9	43,4	47	46,3	84	43,8
33	25	46,6621	82	45,6621	29	47,5	30	45,1	98	46,3	74	44,9
34	4	47,6619	76	45,9954	21	47,9	77	46,4	15	46,6	32	45,2
35	119	47,6619	83	45,9954	69	49	83	47,1	96	46,7	8	45,4
36	69	48,3285	86	46,3287	7	49,7	3	47,3	1	49,1	53	45,9
37	63	50,3283	30	46,9953	122	50,1	76	47,7	66	49,7	77	46,5
38	106	51,6615	3	47,6619	25	52,8	87	48,4	63	50,9	94	47,6
39	29	51,9948	80	47,9952	1	54,2	60	48,7	7	52,6	24	47,9
40	21	52,3281	87	48,3285	101	54,2	86	48,9	126	52,6	89	48
41	42	53,9946	74	48,9951	81	54,8	78	50,5	107	52,9	19	48,9
42	10	55,3278	5	49,3284	63	54,9	109	50,5	11	53,1,	62	49
43	1	55,6611	77	49,995	76	55,6	82	50,6	61	53,2	113	49,7
44	81	55,9944	78	50,3283	43	56,1	80	51,2	9	53,3	28	50,6
45	126	55,9944	49	52,6614	10	56,3	5	51,8	106	54,6	3	51
46	9	56,3277	110	53,328	106	56,6	110	53,1	42	54,9	1	51,5
47	66	56,3277	109	53,6613	36	56,8	28	53,2	74	54,9	76	52,2
48	43	58,3275	60	53,9946	88	57,2	88	53,3	4	55,2	86	53
49	76	58,3275	84	53,9946	42	57,3	49	54,1	69	56,7	87	53,9
50	101	58,3275	7	54,3279	126	60,1	74	55,3	81	58	88	55,4
51	88	59,6607	28	54,9945	9	60,2	113	55,7	80	58,2	109	57,1

52	44	59,6607	88	55,3278	5	60,9	32	57,2	29	58,5	15	58,6
53	5	59,994	4	55,6611	98	61,5	84	57,9	36	58,5	26	59,7
54	61	59,994	26	57,3276	103	61,6	48	58,3	122	58,8	49	60,2
55	36	60,3273	91	57,9942	57	61,8	39	59	44	59	39	60,4
56	74	61,6605	32	57,9942	24	61,9	1	59,5	73	60,5	93	60,5
57	107	62,3271	39	58,3275	95	62,2	125	59,6	31	60,9	78	61,2
58		62,3271	125	58,3275	70	62,4	7	60,3	88	61,1	119	61,2
59	24	63,327	48	59,6607	44	62,6	21	60,3	43	61,9	4	61,8
60	98	63,327	113	59,994	66	62,7	4	60,5	103	62,1	104	62
61	103	63,6603	21	60,3273	62	63,7	91	60,7	62	62,4	91	62,4
62	70	63,9936	1	61,3272	74	63,9	117	61,4	65	62,6	7	62,7
63	95	63,9936	104	61,9938	92	64,2	93	62,9	90	65,8	5	62,8
64	11	64,3296	40	63,6603	65	64,4	26	63,4	76	66,5	40	63,8
65	57	64,9935	93	63,9936	61	65	15	63,6	56	67	48	64,1
66	65	64,9935	118	64,9935	73	65,8	81	64,2	95	67,1	55	64,3
67	73	64,9935	15	65,3268	107	66,3	101	64,2	38	68,2	60	65
68	80	64,9935	18	66,66	68	66,5	104	64,2	55	68,2	81	65,7
69	90	65,6601	117	67,3266	113	66,5	57	65,2	113	68,2	25	66,4
70	92	65,6601	59	67,9932	121	67,2	6	65,7	57	68,4	50	68,2
71	68	68,3265	101	69,3264	90	67,9	40	65,9	27	69,1	18	68,6
72	67	69,6597	81	69,6597	80	68,5	55	67,1	101	69,1	125	70,1
73	2	69,993	35	69,6597	87	69,1	59	67,1	70	69,2	65	70,5
74	87	69,993	55	70,3263	11	69,4	118	67,4	24	70,1	73	70,9
75	59	70,9929	57	70,3263	67	69,7	67	70	52	70,5	33	71,8
76	38	70,9929	119	70,3263	2	70,7	69	70,2	32	71,7	10	72
77	35	72,6594	6	70,6596	38	71,7	18	71,6	105	71,7	112	72,1
78	31	73,6593	115	71,6595	55	72,3	35	71,8	92	71,8	117	72,3
79	113	73,6593	69	71,9928	31	74,5	92	72,3	67	72	57	73,1
80	79	74,3259	92	72,6594	59	74,5	115	73,5	87	74,4	115	73,4
81	121	74,3259	73	72,9927	35	74,7	116	73,6	5	74,8	35	73,5

82	56	47,9925	25	73,6593	108	75,2	119	74,2	68	75,5	6	74,3
83	27	75,3258	67	73,9926	123	75,5	50	75,2	35	76,1	11	74,9
84	19	77,3256	65	75,3258	27	75,8	112	75,3	64	76,5	75	75,2
85	105	77,3256	50	77,3256	115	76,3	97	76,2	40	77	118	75,4
86	55	77,9922	37	77,3256	19	76,8	25	76,3	115	77	95	76,3
87	64	79,3254	106	78,3255	85	77,4	73	76,8	30	77,9	69	76,7
88	108	79,3254	10	78,9921	125	77,8	65	77,9	37	78,1	67	77,1
89	52	79,6587	95	78,9921	56	78	95	78,9	108	78,4	37	79,1
90	85	79,6587	112	79,3254	79	78,1	37	79,9	121	78,8	27	79,5
91		79,992	116	79,992	105	78,2	75	80,1	114	79	92	80,8
92	125	79,992	11	80,6586	112	78,2	106	81,2	13	79,2	101	81
93	34	81,6585	75	80,6586	30	79,6	10	82,8	75	79,3	44	82,1
94	123	81,6585	97	80,6586	64	79,9	11	83,1	34	80,1	97	83,2
95	115	82,3251	33	80,9919	34	80,9	126	83,2	2	80,6	59	83,5
96	97	82,9917	126	85,9914	32	81	33	84,8	112	80,7	105	83,9
97	40	82,9917	27	86,3247	97	81	36,	87,4	14	81,4	107	84
98	112	83,6583	36	88,3245	117	82,9	27	90	19	82,2	111	85,3
99	13	83,9916	44	88,9911	52	84	108	90,5	111	83,2	114	86,5
100	37	84,3249	122	89,6577	40	85,6	105	91,2	85	83,3	126	86,8
101	75	84,3249	105	89,991	104	86	103	91,7	59	84,9	106	87,9
102	30	84,6582	107	90,3243	75	86,2	43	92,1	110	84,9	103	88,5
103	14	86,658	103	90,9909	13	86,3	44	92,5	97	85	13	89,4
104	114	87,3246	111	93,324	114	86,5	107	92,6	82	86,7	42	89,6
105	104	88,6578	42	93,9906	89	86,7	122	92,8	125	88,5	36	90,2
106	109	88,6578	68	93,9906	37	87,6	111	93,2	50	88,8	116	90,8
107	117	90,3243	43	94,9905	14	89,3	70	93,9	79	88,9	31	90,9
108	111	90,6576	114	95,6571	94	89,6	114	94,4	123,	89,1	98	91,4
109	82	91,3242	13	96,3237	111	89,7	31	95,2	77	92,8	34	93,6
110	94	91,6575	31	96,657	54	91,1	68	95,6	109	96,3	122	94,6
111	54	93,6573	79	97,3236	110	91,7	42	96,1	53	96,6	108	94,9

112	89	95,3238	108	97,9902	109	91,9	16	97	94	97,5	52	95,1
113	77	95,3238	34	98,9901	82	94,4	22	97,8	93	97,9	68	96
114	110	96,657	22	99,6567	77	95	98	98,5	117	98,5	79	96,6
115	50	96,657	16	99,99	50	95,3	34	98,7	104	98,9	43	97,4
116	78	96,9903	52	100,3233	53	97	13	99,4	54	99,7	22	98,4
117	53	100,3233	70	100,9899	78	97,7	124	99,6	93	100,2	17	98,8
118	93	102,3231	51	101,3232	83	100,6	79	99,8	78	100,3	51	102
119	83	104,6562	99	102,9897	58	104,5	51	102	89	102,5	16	103,5
120	118	100,3225	17	102,9897	93	104,7	99	102,6	58	103,7	70	107,6
121	51	109,3224	98	103,323	17	109,1	52	102,8	33	108,9	99	108,2
122	17	110,3223	123	105,9894	118	109,9	17	104,7	51	109	121	109,1
123	58	111,9888	124	107,6559	51	110	123	104,8	118	110,6	123	110,5
124	33	112,3221	121	112,6554	33	112,9	121	107,6	17	111,1	124	110,9
125	127	114,9885	102	115,9884	72	115,2	102	114,1	127	111,3	58	114,5
126	72	115,3218	58	117,6549	127	116,2	58	114,7	72	112,9	102	117,5
127	84	117,3216	127	121,9878	84	118,1	127	122,4	84	115,7	127	119,1

Anexo 3: Análisis de varianza para variable dependiente concentración de Al radical

FV	GL	SC	CM	F	Pr > F
NA	3	1358212168	452737389	235.84	0.0001
BL	3	3351222	1117074	0.58	0.6278
EC	11	39912355	3628396	1.89	0.0453
NA*EC	33	65679763	1990296	1.04	0.4251

Anexo 4: Análisis de varianza para variable dependiente peso radical

FV	GL	SC	CM	F	Pr > F
NA	3	0.09829394	0.03276465	47.76	0.0001
BL	3	0.02516210	0.00838737	12.22	0.0001
EC	11	0.07893906	0.00717628	10.46	0.0001
NA*EC	33	0.03103431	0.00094043	1.37	0.1070

Anexo 5: Análisis de varianza para variable dependiente concentración de Al aéreo

FV	GL	SC	CM	F	Pr > F
NA	3	1542902.775	514300.925	120.22	0.0001
BL	3	65872.480	21957.493	5.13	0.0021
EC	11	168001.450	15272.859	3.57	0.0002
NA*EC	33	493969.386	14968.769	3.50	0.0001

Anexo 6: Análisis de varianza para variable dependiente peso aéreo

FV	GL	SC	CM	F	Pr > F
NA	3	7.72954529	2.57651510	275.93	0.0001
BL	3	0.11866704	0.03955568	4.24	0.0067
EC	11	1.10380804	0.10034619	10.75	0.0001
NA*EC	33	1.71050508	0.05183349	5.55	0.0001

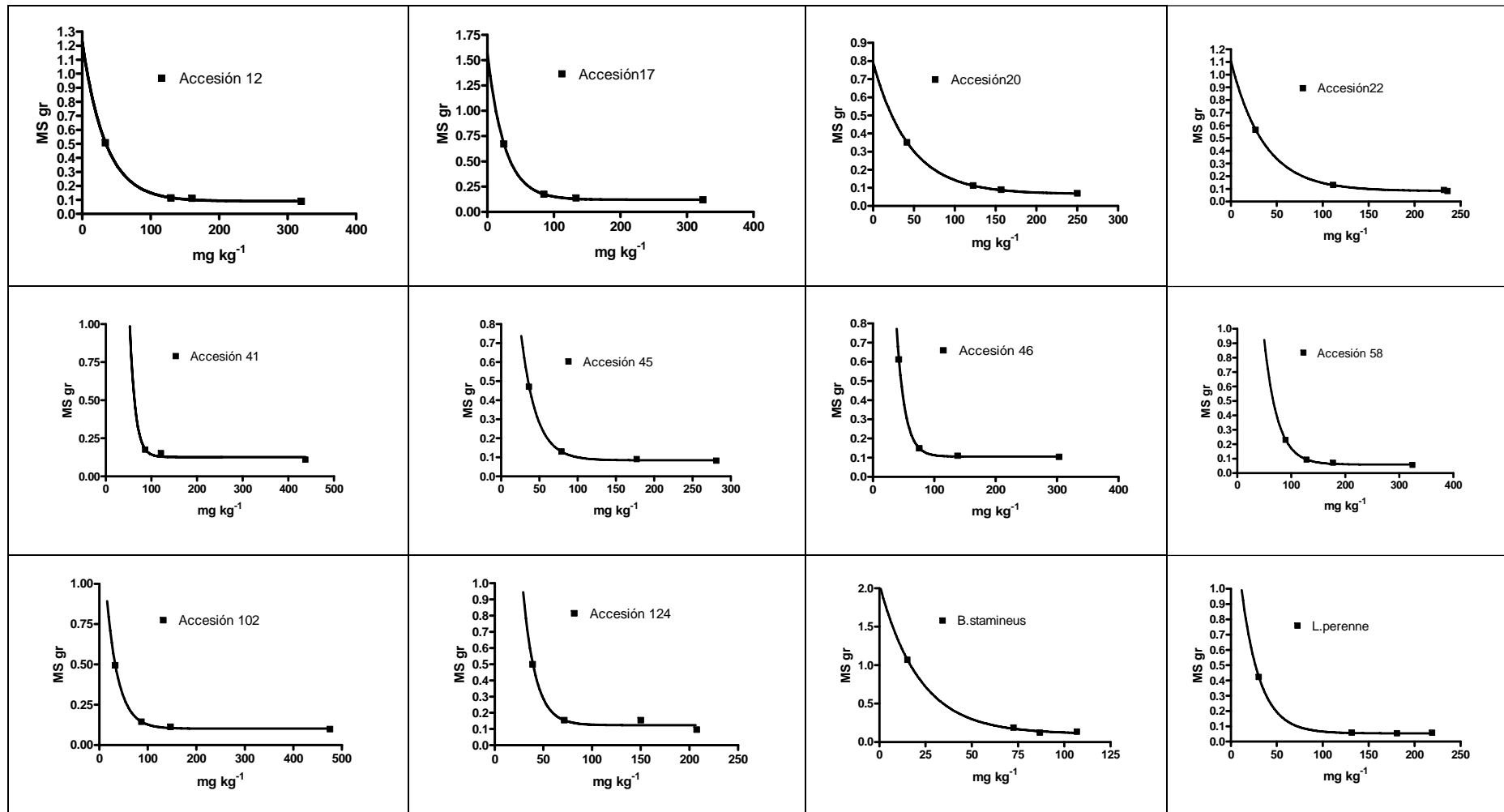
Anexo 7. Parámetros de la ecuación de regresión concentración de AI radical-
rendimiento aéreo.

Accesión	A	K	B	R ²
12	1,12300	0,0086170	0,10220	0,97
17	0,08030	0,0007244	0,02756	0,91
20	4,16400	0,0183300	0,09494	0,88
22	0,74850	0,0037620	0,09370	0,90
41	2,13000	0,0096740	0,14430	0,99
45	32,48000	0,0324600	0,12440	0,82
46	0,61900	0,0016360	0,11420	0,92
58	0,41910	0,0067070	0,07159	0,61
102	4,08700	0,0241200	0,11970	0,83
124	0,63330	0,0035760	0,13330	0,93
<i>B. stamineus</i>	1,11600	0,0016620	0,12490	0,85
<i>L. perenne</i>	0,73350	0,0031900	0,05227	0,85

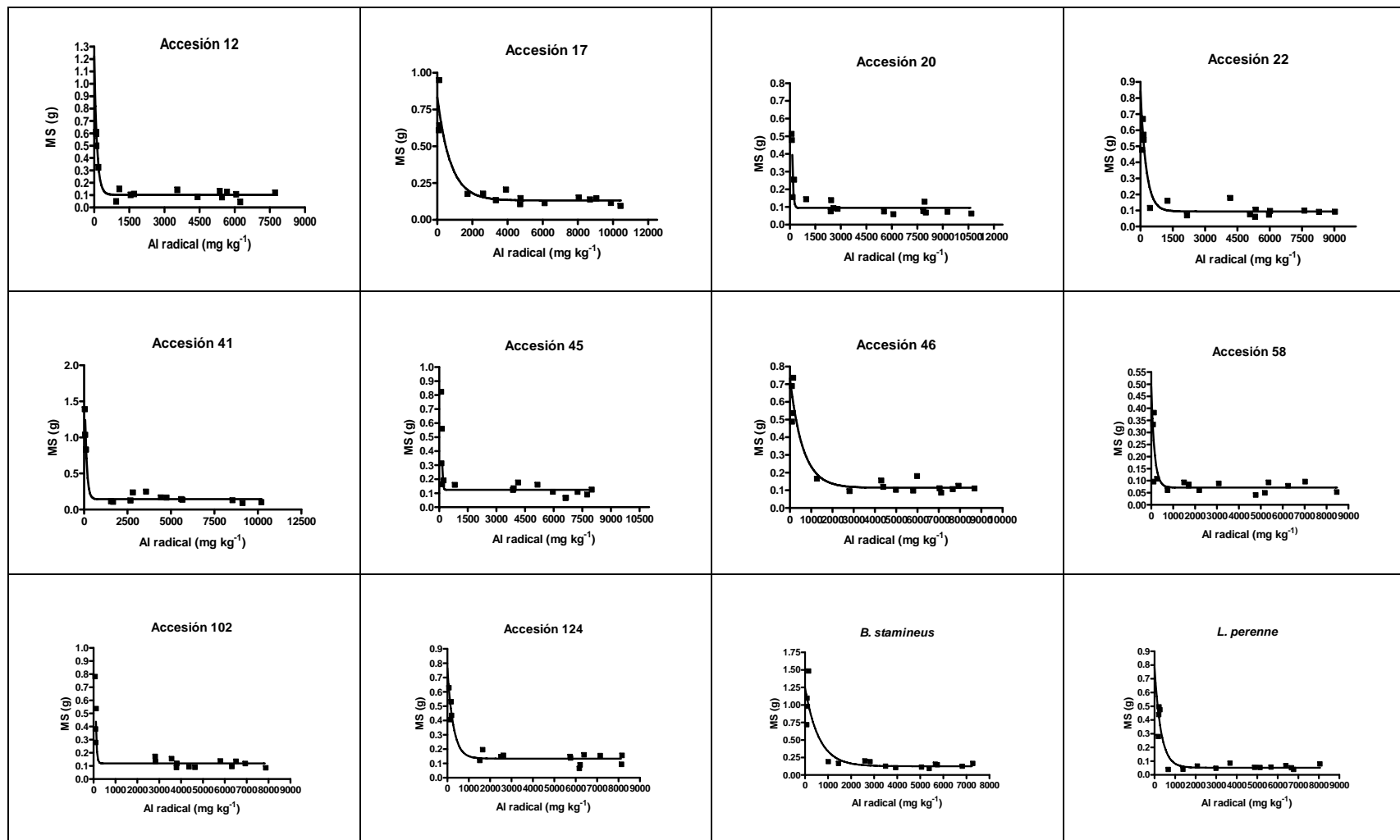
Anexo 8. Parámetros de la ecuación promedio de regresión concentración Al aéreo-rendimiento aéreo.

Accesión	A	K	B	R²	Sy.x
12	1,140	0,02952	0,09088	0,99	0,01015
17	1,449	0,03871	0,12060	0,99	0,007972
20	0,8752	0,02178	0,06376	0,99	0,00568
22	1,024	0,02789	0,08349	0,99	0,00554
41	2,41	0,04228	0,1190	0,99	0,02102
45	2,518	0,05102	0,08481	0,99	0,00545
46	2,090	0,05097	0,10500	0,99	0,00298
58	6,699	0,04081	0,05932	0,99	0,00758
102	1,522	0,04104	0,10170	0,99	0,00745
124	1,281	0,05176	0,12310	0,98	0,04068
<i>B. stamineus</i>	1,950	0,04635	0,10640	0,99	0,02722
<i>L. perenne</i>	1,685	0,04985	0,05447	0,99	0,00225

Anexo 9. Gráficas para los promedios de ecuaciones de regresión para concentración de Al aéreo y rendimiento aéreo de accesiones y especies.



Anexo 10. Gráficas para las de ecuaciones de regresión para concentración de Al radical y rendimiento radical de accesiones y especies.



CURRICULUM VITAE

Marcelo José Nobile Toneatti Bastidas, Chileno, RUT: 9.086.633-8, nació el 24 de Octubre de 1961; hijo de Nobile y Alicia. Casado con Ludy Delgado Catalán, tres hijas, Patricia, Macarena y Marcela del Pilar.

Licenciado en Agronomía y titulado como Ingeniero Agrónomo de la Universidad Austral de Chile en 1988. Posteriormente ha realizado varios cursos de especialización en el área de la producción animal, visitado diversos centros de investigación, universidades como también participado en cursos de metodologías de la enseñanza universitaria y de tecnologías de la información.

Profesionalmente se ha desempeñado como jefe técnico en programas de transferencia tecnológica y consultor privado. Desde 1990 a la fecha cumple funciones como académico en las cátedras de manejo praderas y forrajeras, Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

Ha publicado trabajos científicos y de extensión, y ha participado en congresos y seminarios en el ámbito de la especialidad.

En gestión administrativa, ha asumido cargos de responsabilidad como Director del Departamento de Ciencias Agropecuarias y Decano de la Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Católica de Temuco.

Durante su permanencia en la Universidad ha integrado equipos de trabajo en procesos de auto evaluación y acreditación. Ha participado en el desarrollo de proyectos de investigación con diferentes fuentes de financiamiento, en el área de su especialidad.