

ارزیابی مقاومت گندمیان وحشی به سمیت آلومینیم در مرغزارهای اسیدی

وحید پوزش^{1*}، پابلو کروز² و جرج برتونی³

چکیده

در خاک‌های اسیدی، سمیت آلومینیم، نخستین عامل محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی و علوفه ای است. در $pH < 5$ ، حل پذیری آلومینیم افزایش یافته و به صورت فاکتور سمی در محیط ریشه هویدا می‌گردد. موضوع این کار مقایسه مقاومت به آلومینیم میان گندمیان وحشی مرغزارهای اسیدی و ارزیابی رابطه میان ویژگی کارکردی گیاه و مقاومت به سمیت آلومینیم در محلول غذایی بود. بعلاوه، یک وارینه حساس (*Lolium perenne*) به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود. با اندازه‌گیری طول نسبی ریشه و آستانه بحرانی آلومینیم (کاهش 50٪ درازای ریشه) تفاوت بزرگی میان گونه‌های گراس‌های تست شده دیده شد. آستانه بحرانی $\{Al^{3+}\}_{50}$ برای گونه‌های *Holcus lanatus*، *Danthonia decumbens* و *lanatus* بترتیب 3، 13، 14، 26 میکرومول بودند. هیچ گونه رابطه ای میان ویژگی میزان ماده خشک برگ (LDMC) و مقاومت به Al پیدا نشد. گونه *Holcus lanatus* مقاوم به سمیت Al و با یک LDMC کم، شایسته بررسی‌های بیشتری در مورد کیفیت خوراکی آن برای دام‌ها می‌باشد. گونه *D. Decumbens* با مقاومت بالا به سمیت آلومینیم و با LDMC بالا می‌تواند در زمینه مکانیزم‌های مقاومت به آلومینیم و کاربردهای دیگری مانند حفاظت از خاک‌های خیلی اسیدی در برابر فرسایش، مورد بررسی بیشتر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: گندمیان، خاک‌های اسیدی، آلومینیم، مرغزار، میزان ماده خشک برگ

مقدمه

1 تا 150 میکرومول افزایش می‌یابد (Kinraide, 1991, 2003). بنابراین، سمیت آلومینیم می‌تواند به عنوان عامل محدود کننده تولید گیاهان در خاک‌های اسیدی مطرح شود (Mengel et al., 2001). به تازگی جنبه‌های فیزیولوژی زیادی از سمیت آلومینیم مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Mengel et al., 2001; Kochian et al., 2005). غلظت‌های Ca و Mg و غلظت‌های لیگاند Al بویژه فسفات‌ها، سولفات‌ها و فرم‌های آنیونی اسیدهای آلی محلول، سمیت آلومینیم را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ritchie, 1995). ارزیابی فعالیت Al در محلول خاک و سمیت Al از طریق تعیین پارامترهای معمول اندازه گیری شده در آنالیز خاک، سخت و مشکل می‌باشد. در بیشتر حالت‌ها، سمیت آلومینیم از طریق اندازه گیری مقدار pH خاک، غلظت آلومینیم مبادله پذیر و نسبت Al/Ca در محلول خاک برآورد می‌شود (Houdijk et al., 1993; Roem and Berendse, 2000).

فعالیت Al در محلول خاک بندرت تعیین یا محاسبه می‌شوند (Kid and Proctor, 2001; Kinraide, 2003). مقاومت گیاهان به سمیت آلومینیم (Kochian et al., 2005) از طریق فعالیت آلومینیم $\{Al^{3+}\}_{50}$ اندازه گیری می‌شود که در آن بیومس بخش هوایی یا ریشه (Wheeler et al., 1992; Wheeler, 1995) و یا طول ریشه (Wright et al., 1987; Kinraide, 2003) تا 50٪ کاهش

در جهان بیشتر از پنجاه درصد خاک‌های دارای پتانسیل کشت، خاک‌های اسیدی هستند (Foy, 1992). این پدیده طبیعی باعث محدودیت رشد گیاه، کاهش تنوع گونه‌های مرغزاری و گسترش گونه‌هایی با عملکرد کم می‌گردد (Roem and Berendse, 2000; Austrheim et al., 2005). اسیدی شدن توسط لایه‌های زیرین خاک گسترانده شده و با باران‌های اسیدی و کودهای آمونوم گسترش می‌یابند. در خاک‌های اسیدی آلی، اسیدیته مرتبط با یونهای H^+ برای گیاهان زیان آور است (Kid and Proctor, 2001). به هر حال در خاک‌های اسیدی معدنی، اثرات نامطلوب غیر مستقیم اسیدیته بیشتر مربوط به سمیت آلومینیم، منگنز و آهن و کمبود فسفر، کلسیم، منیزیم و پتاسیم می‌باشد (Von Uexküll and Mutert, 1995). در میان این اثرات نامطلوب، اثر سمیت آلومینیم (اندازه گیری شده از طریق فعالیت شیمیایی اش $\{Al^{3+}\}$) اغلب از همه چشمگیر تر می‌باشد (Hocking, 2001). فعالیت Al در pH معادل 5/5 نزدیک صفر بوده و از pH معادل 0/5 تا 4/1 به طور چشمگیر از

1، 2 و 3- اعضاء هیأت علمی انستیتو ناسیونال پلی تکنیک تولوز - مرکز ملی پژوهش‌های زراعی، کستنه - تولوزان، فرانسه
* - نویسنده مسئول: (vahid.poozesh@gmail.com Email)

گروه‌های C و D (گونه‌هایی با راهبرد غیر اشغالی و سرعت رشد کم) می‌باشند (Poozesh et al., 2005). مقاومت به آلومینیم بر پایه اندازه گیری طول ریشه‌های جوان گیاهچه‌های کشت شده در یک محلول غذایی با غلظت کم² و با غلظت‌های 40.0، 80 و 160 میکرومول Al^{3+} با $AlCl_3$ سنجیده شدند (Wenzl et al., 2003). فعالیت Al^{3+} با علامت $\{Al^{3+}\}_{50}$ بهترین شاخص اندازه گیری غلظت سمیت آلومینیم است. فعالیت Al^{3+} با GEOCHEM 2.0 (Parker et al., 1987) با بکارگیری ثابت‌های پایدار (Nordstrom & May (1989) و ضریب‌های حل پذیری $Al(OH)_3$ معرفی شده توسط (Kinraide & Parker (1989) محاسبه شده است.

محلول‌ها بطور پیوسته تهیه شده و در $pH \pm 0.1$ با افزودن HCl نگه داشته شده بود. پس از گذر زائی سطحی، بذرها برای جوانه زنی در ظروف شیشه‌ای قرار داده شدند. برای هر گونه 3 تا 5 گیاهچه یکنواخت با ریشه اصلی توسعه یافته تا حدود آسانتیمتر در محلول‌های غذایی متفاوت و در اتاق رشد (دوره نوری، 14 ساعت روز و 10 ساعت شب، دما 25 درجه سانتیگراد در روز و 18 درجه سانتیگراد در شب) قرار داده شدند. برداشت گیاهچه‌ها پس از 14 (گونه‌هایی با سرعت رشد نسبی کم) یا 21 روز (گونه‌هایی با سرعت رشد نسبی زیاد) در غلظت‌های مختلف آلومینیم انجام گرفت و دو بخش ریشه و ساقه از هم جدا شدند.

ریشه‌ها برای رنگ ریزی و اسکن نمودن در میتلن بنفش رنگ قرار گرفته و سپس طول کل ریشه‌ها با کمک نرم افزار WinRhizo (Regent Instruments Inc., Quebec, Canada) اندازه گیری شدند. داده‌ها برای هر گونه و تیمار از ادغام سه تکرار مختلف بدست آمد.

طول نسبی ریشه گیاهان (RRE = Relative root elongation) تیمار شده با آلومینیم که بر اساس درصد طول ریشه‌های شاهد بیان می‌شود و آستانه فعالیت آلومینیم $\{Al^{3+}\}_{50}$ محاسبه شده بر پایه کاهش 50٪ طول نسبی ریشه گیاهان (RRE) نسبت به شاهد، همگی بر مبنای (Wenzl et al., 2001) محاسبه شده‌اند. بطور خلاصه RRE و $\{Al^{3+}\}_{50}$ به صورت زیر برآورد شده‌اند:

$$RRE = 100(RL_{Al} - RL_{\infty}) / (RL_0 - RL_{\infty})$$

که در آن RL_{Al} طول ریشه در تیمار آلومینیم، RL_{∞} میانگین طول ریشه در بالاترین سطح آلومینیم، RL_0 میانگین طول ریشه در محلول کنترل ($0 \mu M Al$). RRE گونه *L. Perenne* به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. واکنش RRE به Al^{3+} با معادله Weibull متناسب شده بود (Kinraide & Parker, 1989).

$$RRE = 100 / \exp[(a\{Al^{3+}\})^b]$$

می‌یابند. سریعترین و آسانترین شاخص در اندازه گیری سمیت آلومینیم و پایداری به سمیت در گیاهان، سنجش بازدارندگی رشد ریشه‌های است (Nawrot et al., 2000). این شاخص به گونه‌های گزینش شده و ارقام مختلف آنها مانند گندم بستگی دارد (Delhaize, 1993). تغییرپذیری در مقاومت Al میان گونه‌های علفی از 1 تا 50 میکرو مول $\{Al^{3+}\}_{50}$ گسترده می‌شوند.

به هر حال مقدار $\{Al^{3+}\}_{50}$ تنها برای تعداد کمی از گیاهان علفی مرغزارها منطقه معتدله شناخته شده است (Wheeler et al., 1995; Wheeler, 1992). بعلاوه در بعضی گونه‌ها (Rye grass, $\{Al^{3+}\}_{50}$ 1-5 μM) یک تغییرپذیری درون گونه‌ای در مقاومت به آلومینیم دیده شده است (Wheeler et al., 1992; Wheeler, 1995).

بهترین روش برای بهبود خاک‌های اسیدی استفاده از کود آهک بعنوان افزایش دهنده pH در دراز مدت می‌باشد. به هر حال آهک‌دهی روش گران قیمتی بوده و روش‌های جایگزین دیگری همچون کاربرد ارقام مقاوم به اسیدیته و سمیت آلومینیم وجود دارند (Bennet, 1995). به علاوه شناخت مقاومت به سمیت آلومینیم گیاهان علفی وحشی در خاک‌های اسیدی چراگاه‌ها و مرغزارهای پهناور برای ارزیابی درجه سمیت خاک و عملکرد کود آهک می‌تواند مفید واقع شود. در حال حاضر این شناخت به چندگونه وحشی و چند رقم زراعی از گندمیان علوفه‌ای گزینش شده محدود می‌شود (Wheeler et al., 1992). در این آزمایش، مقاومت به سمیت آلومینیم گندمیان وحشی، کشت شده در محلول‌های غذایی، مورد بررسی قرار گرفته و با رقم اصلاح شده ری گراس¹ به عنوان شاهد مقایسه شده‌اند. هدف از این پژوهش آنالیز مقاومت به آلومینیم گیاهان علفی مرغزارها و رابطه آن با صفات گیاهی بوده تا بتوان از طریق فراوانی گونه‌های علفی در خاک‌های اسیدی درجه سمیت آلومینیم را تشخیص داد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ری گراس (*Lolium perenne* L., CV) و گندمیان وحشی مختلف (*Danthonia decumbens* L., *Holcus lanatus* L., *Molinia coerulea* L.) در خاک‌های اسیدی مورد بررسی واقع شده‌اند. این گونه‌ها در گروه‌هایی با کارکردهای مختلف به لحاظ میزان ماده خشک طبقه بندی شده‌اند (Garnier et al., 2001). گونه‌های *L. perenne* و *H. lanatus* متعلق به گروه A (گونه‌هایی با راهبرد اشغال کننده و سرعت رشد زیاد) بوده و گونه‌های *M. coerulea* و *D. decumbens* وابسته به

H. Lanatus و *Perenne* (بترتیب 2 تا 5 و 10 تا 20 میکرومول $\{Al^{3+}\}_{50}$) قابل مقایسه می‌باشند. تا جایی که می‌دانیم، داده‌های روشن و دقیقی در منابع برای مقاومت به آلومینیم *M. Coerulea* و *D. Decumbens* وجود ندارد.

Decumbens از گروه C و *M. Coerulea* از گروه D بترتیب خیلی مقاوم و مقاوم به آلومینیم می‌باشند (جدول 1). در گروه A، *H. lanatus* مقاوم و *L. Perenne* حساس است. همچنین بیشتر گونه‌های مقاوم (*M. Coerulea* و *D. Decumbens*) ویژگی‌هایی با راهبرد غیر اشغالی یا حفظی نشان می‌دهند (مقدار ماده خشک برگ بالا و سرعت رشد نسبی پایین). معمولاً باردهی کم (N, P) خاک‌های اسیدی ممکن است چنین ویژگی را هبردی (حفظی) را برای این گونه‌های مقاوم توجیه پذیر کند.

رشد کم *L. Perenne* در حضور $22 \mu M$ Al با حساسیت بالای آن مطابقت دارد (Wheeler et al., 1992) $\{Al^{3+}\}_{50}$ $60 \mu M$). مقاومت *M. coerulea* همساز با حضورش در خاک‌های اسیدی با نسبت بالای Al/Ca است (Houdijk et al., 1993). مقاومت به آلومینیم *D. decumbens* (Antuna et al., 1980) با مشاهده‌های *Danthonia linkii* (Crawford & Wilkens, 1997) مطابقت دارد.

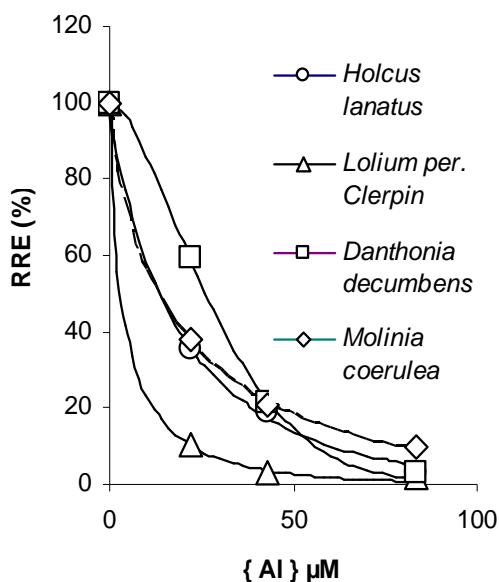
فعالیت $\{Al^{3+}\}_{50}$ بر پایه مقادیر تجربی a و b بر اساس فرمول زیر محاسبه شدند.

$$\{Al^{3+}\}_{50} = a^{-1} [\ln(2)]^{1/b}$$

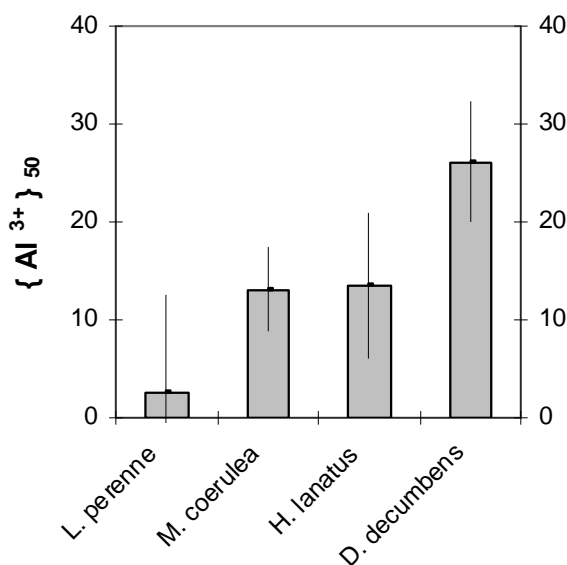
نتایج و بحث

در شکل 1، منحنی‌ها نمایانگر واکنش‌های مختلف مشاهده شده در رابطه با طول نسبی ریشه نسبت به سمیت آلومینیم می‌باشند. ری گراس اصلاح شده (*L. Perenne* 'Clerpin') رشد ضعیف و مقاومت کمی را نشان داده است (RRE برابر 11٪ در سطح $\{Al^{3+}\}_{22}$). گونه‌های وحشی مانند، *M. coerulea*، *H. lanatus* و *D. decumbens* یک مقاومت بالا و سرعت رشد نسبی قابل توجهی را در سطح 22 میکرومول آلومینیم به نمایش گذاشتند (RRE بترتیب 36٪، 38٪ و 59٪).

در سطح $\{Al^{3+}\}_{43}$ می‌توان دو گروه از گونه‌ها را شناسایی نمود: حساس (*L. Perenne*) و مقاوم (*M. Coerulea*، *H. lanatus* و *D. Decumbens*). آستانه فعالیت آلومینیم $\{Al^{3+}\}_{50}$ این تفاوت میان گونه‌ها را به طور مختصر بیان می‌کند که بترتیب با مقادیر میانگین 3، 13، 14 و 26 میکرومول $\{Al^{3+}\}_{50}$ برای *L. Perenne*، *D. Decumbens*، *M. Coerulea*، *H. Lanatus* و *H. Lanatus*، *M. Coerulea*، *Perenne* نشان داده است (شکل 2). مقادیر بدست آمده برای این ارقام با کارهای انجام گرفته توسط Wheeler et al. (1992) برای *L.*



شکل 1- واکنش طول نسبی ریشه به $\{Al^{3+}\}$
 Fig. 1- Relative root elongation response to $\{Al^{3+}\}$



شکل 2- مقایسه مقاومت به آلومینیم تعیین شده با میانگین ± خطای استاندارد
 Fig. 2- Comparison of Al resistance quantified with {Al³⁺}₅₀ (mean ± SE).

جدول 1- مقاومت به آلومینیم ($\{Al^{3+}\}_{50}$) در برابر رده بندی کارکردی گونه‌ها با گنجایش ماده خشک برگ (LDMC)
 Table 1- Al resistance versus species functional classification with leaf dry matter content LDMC. (growth chamber LDMC was measured after 60 days of growth; values are mean ± SE)

nom	LDMC (mg.g ⁻¹)	groupes fonctionnels	{Al ³⁺ } ₅₀
<i>H. lanatus</i>	147 ± 7	A	14 ± 8
<i>L. perenne</i>	143 ± 6	A	3 ± 10
<i>D. decumbens</i>	224 ± 3	C	26 ± 6
<i>M. coerulea</i>	287 ± 10	D	13 ± 4

آلومینیم و موارد دیگری همچون نگه داری خاک‌های خیلی اسیدی در برابر فرسایش می‌باشد.

سپاسگزاری

در اینجا از همه کسانی که به نوعی در این کار یار و یاور ما بودند، کمال سپاسگزاری را داریم. همچنین از آقای داوید پارکر از دانشگاه کالیفرنیا که به نحوی برای ما امکان استفاده از نرم افزار GEOCHEM 2.0 را فراهم نمود.

هیچ گونه رابطه ساده ای میان مقاومت به آلومینیم گونه‌ها و طبقه بندی آنها بر مبنای صفت میزان ماده خشک برگ (LDMC) وجود ندارد. نتیجه اینکه، نبود چنین رابطه ای ممکن است مربوط به دامنه محدود تغییر پذیری صفات در گونه‌های علفی C3 باشد. در نظر گرفتن گروه‌های گیاهی دیگر مانند گیاهان علفی C4، بوته‌ها و درختان ممکن است که چنین رابطه‌هایی را به اثبات برسد. از لحاظ زراعی، گونه *H. lanatus* مقاوم به آلومینیم و پربارده، شایسته بررسی‌های ژرف تر در مورد کیفیت‌های خوراکی مناسب برای دام‌های اهلی می‌باشد. *D. decumbens* گونه گندمی با باردهی کم تر و خیلی مقاوم به آلومینیم، نشان دهنده گونه ای مفید برای بررسی‌های بیشتر در زمینه‌هایی چون مکانیزم‌های مقاومت به

منابع

- 1- Antuna, A., Alvarez M.A., Morey M., 1980. Comportamiento de gramíneas pratenses frente al pH y los carbonatos del suelo en la Cuenca del Piguena – Narcea (Asturias). Pastos. 10 , 58-70.

- 2- Austrheim, G., Evju, M., Mysterud A., 2005. Herb abundance and life history traits in two contrasting alpine habitats in southern Norway. *Plant Ecology*. 179, 217-229.
- 3- Bennet, R.J., 1995. The use of hematoxylin in screening perennial ryegrass (*Lolium perenne*) for aluminium tolerance. *South African Journal of Plant and Soil*. 12, 65-72.
- 4- Crawford, S.A., Wilkens, S., 1997. Ultrastructural changes in root cap cells of two Australian native grass species following exposure to aluminium. *Australian Journal of Plant Physiology*. 24, 165-174.
- 5- Delhaize, E., Ryan, P.R., Randall, P.J., 1993. Aluminium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Aluminium stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol*. 103, 695-702.
- 6- Foy, C.D., 1992. Soil chemical factors limiting plant growth. *Adv. Soil Sci*. 19, 97-149.
- 7- Garnier, E., Shipley, B., Roumet, C., Laurent, G., 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology*. 15: 688 – 695.
- 8- Hocking, P.J., 2001. Organic acids exuded from roots in phosphorus uptake and aluminium tolerance of plants in acid soils. *Advances in Agronomy*. 74, 63-97.
- 9- Houdijk A.L.F.M., Verbeek P.J.M., Van Dijk H.F.G., Roelofs J.G.M., 1993. Distribution and decline of endangered herbaceous heathland species in relation to the chemical composition of the soil. *Plant and Soil*. 148, 137-143.
- 10- Kid, P.S., Proctor, J., 2001. Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? *Journal of Experimental Botany*. 52, 791-799.
- 11- Kinraide, T.B., 2003. Toxicity factors in acidic forest soils: attempts to evaluate separately the toxic effects of excessive Al³⁺ and H⁺ and insufficient Ca²⁺ and Mg²⁺ upon root elongation. *European Journal of Soil Science*. 54, 323-333.
- 12- Kinraide, T.B., 1991. Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant Soil*. 134, 167-178.
- 13- Kochian, L.V., Pineros, M.A., Hoekenga, O.A., 2005. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity. *Plant and Soil*. 274, 175-195.
- 14- Mengel, K., Kirkby, E.A., Kosegarten, H., Appel, T., 2001. Principles of plant nutrition. Kluwer, Dordrecht, pp. 849.
- 15- Nawrot, M., Szarejko, I., Maluszynski, M., 2001. Barley mutants with increased tolerance to aluminium toxicity. *Euphytica*. 120, 345-356.
- 16- Parker, D.R., Zelazny, L.W., Kinraide, T.B., 1987. Improvements to the program GEOCHEM. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51, 488-491.
- 17- Poozesh, V., Al Haj Khaled, R., Ansquer, P., Theau, G.P., Duru, M., Bertoni, G., Cruz P., 2005. Are leaf traits stable enough to rank native grasses in contrasting growth conditions. xx International Grassland Congress: Offered pp. 209.
- 18- Ritchie, G.S.P., 1995. Soluble aluminium in acidic soils: principles and practicalities. *Plant and Soil*. 171, 17-27.
- 19- Roem, W.J., Berendse, F., 2000. Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities. *Biological Conservation*. 92, 151-161.
- 20- von Uexküll, H.R., Mutert, E., 1995. Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and Soil*. 171, 1-15.
- 21- Wenzl, P., Patino, G.M., Chaves, A.L., Mayer, J.E., Rao, I., 2001. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external detoxification in root apices. *Plant Physiol*. 125, 1473-1484.
- 22- Wenzl, P., Mancilla, L.I., Mayer, J.E., Albert, R., Rao, I., 2003. Simulating infertile acid soils with nutrient solutions : the effects on brachiaria species. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1457-1469.
- 23- Wheeler, D.M., 1995. Relative aluminium tolerance of ten species of Gramineae. *Journal of Plant Nutrition*. 18, 2305-2312.
- 24- Wheeler, D.M., Edmeades, D.C, Christie, R.A, Gardner R., 1992. Effect of aluminium on the growth of 34 plant species : a summary of results obtained in low ionic strength solution culture. *Plant Soil*. 146, 61-66.
- 25- Wright, R.J., Baligar, V.C., Wright S.F., 1987. Estimation of phytotoxic aluminium in soil solution using three spectrophotometric methods. *Soil Science*. 144, 224-232.

Evaluation of resistance to Al toxicity in wild gramineae of acid meadows

V. Poozesh*, P. Kerooz and J. Yertoni¹

Abstract

In acid soils, aluminium toxicity is the primary factor limiting crop and forage production. At soil pH < 5.0, Al solubility increases and Al appears to be rhizotoxic. The objectives of the present study were to compare Al tolerance among wild gramineae of acid meadows and to evaluate the relation between a plant functional trait and the Al resistance, in nutrient solution. In addition, a sensitive *Lolium perenne* variety was included as a control. There was a great difference among the graminaceous species tested, when compared by relative root elongation and critical Al activity corresponding to 50% root elongation reduction. The {Al 3+}50 activities were 3, 13, 14 et 26 μM for *Lolium perenne*, *Molinia coerulea*, *Holcus lanatus* and *Danthonia decumbens*, respectively. No relation was found between the functional trait leaf dry matter content (LDMC) and Al resistance. *Holcus lanatus*, tolerant to Al toxicity, with a low LDMC, would deserve a further study of its nutritional qualities for cattle. The very tolerant *D. decumbens*, with a high LDMC, would present an interest for a later study of the mechanisms of tolerance to Al and possibly, for other applications like the protection of the very acid soils against erosion.

Keywords: Grass, Aluminium, Acid soils, Meadows, Leaf dry matter content (LDMC)

1- A Contribution from UMR 1248 Agir, INRA-ENSAT, BP 52627 Auzeville, 31326 Castanet-Toulousan, France
(* - Corresponding author Email: vahid.poozesh@gmail.com)