

TOXICIDAD DE ACIDEZ Y ALUMINIO SOBRE PLANTULAS DE TEBOL ROSADO Y TEBOL BLANCO, CRECIDOS EN SOLUCION NUTRITIVA¹

Toxicity of protons and aluminium on white and red clover seedlings grown in nutrient solution

Fernando Borie B.², Alfredo Morales L.² y Mario Pino B.²

S U M M A R Y

The inhibition effect of acidity and aluminium on root elongation of red and white clover was studied in nutrient solution experiments.

Treatments consisted of a factorial combination of four Al concentrations (0, 25, 50 and 75 μM) and four pH levels (4.0, 4.5, 5.0 and 6.0).

Results showed that H^+ *per se* produced severe root elongation inhibition in both clovers. Furthermore, aluminium toxicity produced by low concentrations of this element (25 μM) was higher for white clover than for red clover but the latter was more adversely affected by higher Al concentrations.

Finally, it was found that free Al as well as $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ and $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ions were toxic for both clovers.

Key words: aluminium toxicity, acidity, root elongation clover.

INTRODUCCION

Es de amplio conocimiento que la acidez de los suelos limita el crecimiento de las plantas. La inhibición del desarrollo vegetal es el producto de una combinación de variados factores que incluyen toxicidad por hidrógeno (H^+), aluminio (Al), manganeso (Mn) y deficiencia de elementos esenciales, particularmente calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P) y molibdeno (Mo). Sin embargo, se considera la toxicidad producida por Al como el principal factor limitante especialmente en suelos con $\text{pH} < 5$ como consecuencia de un aumento de su concentración en la solución del suelo (Wright, 1989; Ritchie, 1989).

El crecimiento radical, especialmente pelos radicales y raíces laterales, se ve seriamente reducido por la presencia de iones aluminio afectando la absorción de agua y nutrientes así como también inhibe, en ocasiones, el crecimiento y actividad de los microorganismos implicados en el aporte de

nutrientes al vegetal (Foy, 1988; Coventry y Evans, 1989; Robson y Abbott, 1989). 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 (Wright, 1989).

Diversos factores hacen difícil el estudio del comportamiento de las plantas frente a Al, especialmente cuando dichos estudios se llevan a cabo en suelos. Por tal motivo, se prefiere realizarlos en solución nutritiva en la cual se tienen controlados diversos parámetros. Se ha encontrado que las especies vegetales y genotipos dentro de éstos, exhiben diferente tolerancia a Al y aunque los mecanismos involucrados no están totalmente dilucidados se ha logrado, vía mejoramiento genético, la producción de cultivares Al-tolerantes de un número importante de cultivos (Devine y otros, 1976).

Los suelos volcánicos de Chile representan una gran área donde crecen variados cultivos, entre ellos, leguminosas forrajeras, especialmente trébol y alfalfa. Aunque se sabe que el efecto que deprime la productividad en algunos suelos ácidos del sur del país es fundamentalmente consecuencia de la toxicidad por Al (Bernier, 1977), no existe

¹Recepción de originales: 7 de octubre de 1991.

Financiado parcialmente por Proyectos FONDECYT 221/89 y DIUFRO 8808.

²Universidad de la Frontera de Temuco (UFRO), Casilla 54-D, Temuco, Chile.

información referente al efecto negativo de la acidez y Al sobre el crecimiento radical de las especies habituales que allí se cultivan. Por otra parte, el uso excesivo e indiscriminado de fertilizantes amoniacales, ha producido, paulatinamente, un descenso del pH de los suelos, lo que conlleva el peligro de la aparición de fitotoxicidad, principalmente de Al y Mn (Bernier, 1991).

El objetivo de nuestro trabajo es estudiar mediante experiencias en soluciones nutritivas la tolerancia o sensibilidad a H^+ y Al de diversas especies vegetales que habitualmente se cultivan en la zona sur del país. Los resultados aquí expuestos son parte de este estudio y se circunscriben a la respuesta de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.), crecido en solución, con distintos niveles crecientes de H^+ y Al.

MATERIALES Y METODOS

Semillas de trébol rosado (cv. Quiñequeli) y trébol blanco (cv. Huia) se esterilizaron con $HgCl_2$ al 2,5% por 3 a 4 minutos, se lavaron exhaustivamente y se dejaron toda una noche en una solución 200 μM de $CaSO_4$ a 20 °C. Las semillas embebidas se germinaron en placas de Petri con toalla de papel húmedo durante 3 días a 20 °C. Al cuarto día las plántulas se trasladaron a tubos de ensayos que contenían 15 ml de solución nutritiva estéril (Alva y otros, 1986), con diferentes concentraciones de Al

y H^+ . Las semillas se colocaron en láminas largas de papel filtro dentro de tubos de ensayo inclinados, se taparon con algodón hidrófilo y su base se envolvió en papel negro.

El experimento se realizó en un diseño de bloques al azar, con 5 repeticiones, consistiendo en cuatro niveles de pH (4,0; 4,5; 5,0 y 6,0) con 4 niveles de Al (0, 25, 50 y 75 μM).

El Al se adicionó como $KAl(SO_4)_2$. Cada día se aireaba estérilmente la solución, reemplazándola totalmente una vez por semana. Al cabo de 28 días se observaron las características de las plantas y se midió el largo de la raíz principal y la parte aérea.

Los resultados se procesaron estadísticamente por medio de un análisis de variancia y las diferencias entre las medias fueron estudiadas por la prueba de Duncan y la especiación química de las formas de Al se obtuvo mediante el programa computacional GEOCHEM el que permite cálculo de todas las especies químicas en equilibrio, en una solución (Sposito, 1986).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados señalan que existe una correlación negativa entre la acidez y el crecimiento radical en ambas especies de trébol creciendo en solución (Figura 1).

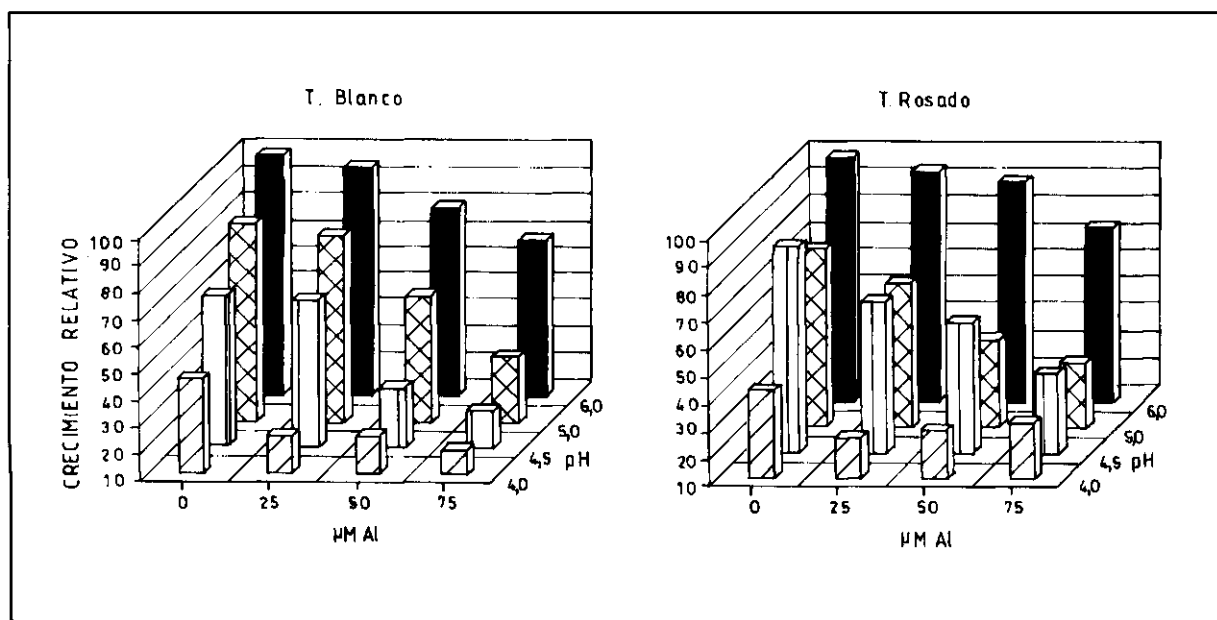


FIGURA 1. Crecimiento relativo de la raíz de plántulas de trébol rosado y blanco creciendo en solución nutritiva con niveles de (H^+) y (Al) crecientes.

FIGURE 1. Relative root elongation of red and white clover seedling growing in nutrient solution with increasing H^+ and Al levels.

A pH 4,5 se encontró diferencias significativas en la toxicidad, por H^+ en las dos variedades de trébol, siendo mayor en trébol rosado que en blanco ($P \leq 0,05$). A pH 5,0 la disminución del crecimiento radical para el trébol rosado y trébol blanco es del orden de 18% y 25%, respectivamente. Estos antecedentes pueden ser relevantes, ya que podrían afectar al establecimiento de praderas en suelos volcánicos donde es fácil alcanzar ese nivel de pH cuando se aplican fertilizantes en forma localizada.

Existen escasos antecedentes que señalan el efecto neto de los H^+ sobre el crecimiento radical y absorción de nutrientes por parte de tréboles, a excepción del trabajo de Moo-Key, Edwards y Asher 1985, quienes no encontraron diferencias significativas en el rendimiento de 11 cultivares de *Trifolium subterraneum* crecidos en solución nutritiva entre pH 4,0 y 6,5. Es importante señalar que el efecto negativo de los H^+ en el crecimiento de las raíces en general, radica en que éstos cambian el potencial eléctrico de la membrana celular, acidificando el citoplasma (Bertl y Felle, 1985) y afectando la actividad ATP-asa (Schubert, Schubert y Mengel, 1990). Tomando como referencia nuevamente el 100% de crecimiento radical, pero ahora a pH 6,0 y $0 \mu M$ en Al (Figura 1), es posible observar, en ese bloque, el efecto neto del Al sobre la elongación de la raíz, en ambas especies de trébol. Así, aunque ambas especies no presentan diferencias significativas frente a $25 \mu M$ de Al, a mayor concentración de éste la toxicidad es menor en trébol blanco. Estos resultados realizados en solución, confirman que el trébol blanco, cultivar Grassland Huia, cuyo país de origen es Nueva Zelanda, es más tolerante a Al, lo cual está en concordancia con lo informado recientemente por Mackay, Caradus y Pritchard (1990). Estos investigadores, ensayando en inver-

nadero la tolerancia de 14 cultivares provenientes de 11 países, e incluyendo algunos genotipos que se plantean como Al-tolerantes, no observaron diferencias significativas entre éstos y el cultivar Grassland Huia.

El Al posee una alta carga iónica y un radio pequeño por lo que es muy reactivo en solución. Las formas o especies químicas de Al y sus proporciones relativas son función del pH de la solución, existiendo controversia acerca de la relativa fitotoxicidad de cada especie de Al. Así, mientras los resultados de Pavan y Bingham (1982) y Parker, Kinraide y Zelazny (1988) sugirieron que Al^{3+} libre es la especie más tóxica, Alva y otros (1986) concluyen de sus resultados que $Al(OH)^{2+}$ y $Al(OH)_2^+$, ambos complejos mononucleares, son aún más tóxicos. Aunque la mayor parte de la información disponible sugiere que la toxicidad por Al decrece cuando se incrementa el pH, Wagatsuma y Ezoé (1985) y Grauer y Horst (1990) han presentado evidencias de una mayor toxicidad por Al a pH 5,5 que a pH 4,0, explicándose tal comportamiento por la aparición de un complejo de hidroxialuminio polinuclear, $AlO_4Al_{12}(OH)_{24}(H_2O)_{12}^{7+}$ llamado " Al_{13} ", extremadamente tóxico en soluciones artificiales.

La especiación química de Al puede realizarse mediante el uso del programa computacional GEOCHEM. De acuerdo a ello, el Cuadro 1 señala, para el caso de la solución nutritiva a pH 6,0 y tomando como referencia solo las formas de Al, que la mayor parte estaría complejado con OH^- y no más del 1% se encontraría como Al^{3+} libre. A ese pH la especie predominante es $Al(OH)_2^+$, con una proporción de aproximadamente 63% (Cuadro 1). A pH más bajos se incrementan las especies $Al(OH)^{2+}$ y Al^{3+} libre (Cuadro 1).

CUADRO 1. Aluminio libre y complejado en la solución nutritiva con adición de H^+ y Al, determinados por el programa GEOCHEM y expresados como % y pM, respectivamente

TABLE 1. Free and complexed aluminium in nutrient with acidified H^+ and Al as determined by GEOCHEM computational program and expressed as % and pM, respectively

	25 μM				50 μM				75 μM			
	pH				pH				pH			
	4,0	4,5	5,0	6,0	4,0	4,5	5,0	6,0	4,0	4,5	5,0	6,0
Al^{3+} libre, %	44,9	38,3	23,2	0,8	56,6	49,0	30,2	1,0	79,4	66,1	17,2	1,0
Complejado con $SO_4^{=}$, %	12,1	10,4	6,4	0,2	18,7	16,3	10,2	0,3	0,3	0,3	0,2	-
Complejado con OH^- , %	3,7	11,3	30,2	63,5	4,5	14,1	38,6	79,8	6,5	19,5	48,3	86,0
$Al(OH)^{2+}$, pM	6,1	5,6	5,3	5,8	5,7	5,2	4,9	5,4	5,3	4,9	4,7	5,0
$Al(OH)_2^+$, pM	7,2	6,3	5,5	5,0	6,8	5,9	5,1	4,6	6,5	5,6	4,8	4,4
$Al(OH)_3$, pM	9,9	8,5	7,3	5,7	9,5	8,1	6,8	5,3	9,2	7,8	6,6	5,1
$Al(OH)_4^-$, pM	11,8	9,9	8,1	5,6	11,4	9,5	7,7	5,2	11,1	9,2	7,4	5,0

Cuando se estudia directamente en suelos el efecto depresivo de los H^+ y Al 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.

En términos generales, es posible deducir que, en las condiciones experimentales el pH tiene un claro efecto detrimental en ambos tipos de trébol, asimismo, el trébol rosado es más sensible a la

toxicidad de Al que el trébol blanco, lo cual permite dar una primera orientación para investigaciones de invernadero y de campo donde es posible encontrar respuestas diferentes, dada la posibilidad de aminorar el efecto tóxico 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. En tal sentido se continúa en este laboratorio con experimentos tanto en solución, como en condiciones de invernadero, tendientes a la obtención de más antecedentes sobre la toxicidad de Al frente a otras especies vegetales habitualmente cultivadas en suelos volcánicos, conjuntamente con el estudio de las posibilidades de disminuir tales efectos.

RESUMEN

Se estudió, en solución nutritiva, el efecto de la acidez y del aluminio sobre el desarrollo de raíces de trébol blanco y rosado.

Los tratamientos consistieron en 4 concentraciones de Al (0, 25, 50 y 75 μM) y 4 niveles de pH (4,0; 4,5; 5,0 y 6,0). Los resultados demostraron que los H^+ *per se* inhiben en forma importante, el crecimiento radicular de ambos tréboles. Por otra parte, la toxicidad por Al a 25 μM fue mayor para trébol blanco, pero el trébol rosado se vio más afectado a mayores concentraciones de Al.

Finalmente, se encontró que las especies Al libre, $Al(OH)_2^+$ y $Al(OH)^{2+}$ resultaron tóxicas para ambas especies.

Palabras claves: trébol, toxicidad por Al, acidez, elongación radical.

LITERATURA CITADA

- ALVA, A.K., EDWARDS, D.C., ASHER, C.J. and BLAMEY, F.P.C. 1986. Effects of phosphorus/aluminium molar ratios and calcium concentration on plant response to aluminium toxicity. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 50: 133-137.
- BERNIER V., RENE. 1977. Efectos del encalado en la productividad de dos suelos volcánicos del sur de Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. 100 p. (Tesis Master Sciences).
- BERNIER V., RENE. 1991. Acidez y encalado de suelos en la región de Los Lagos. INIA. Serie Remehue N° 15. p.: 113-135.
- BERTL, A. and FELLE, H. 1985. Cytoplasmic pH of root hair cells of *Sinapis alba* recorded by a pH-sensitive micro-electrode. *J. Exp. Bot.* 36: 1142-1149.
- COVENTRY, A.D. and EVANS, J. 1989. The effect of soil acidity on microbial activity in soils. In: A.D. Robson (ed.). *Soil acidity and plant growth*. Academic Press (19-4) Cap. 3 p.: 103-137.
- DEVINE, T.E., FOY, C.D., FLEMING, A.L., HANSON, C.H., CAMPBELE, T.A., MCMURTREY III, J.E. and SCHWARTZ, J.W. 1976. Development of alfalfa strains with differential tolerance to aluminium toxicity. *Plant and Soil* 44: 73-79.
- FOY, C.D. 1988. Plant adaptation to acid, aluminium-toxic soils. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 19: 959-987.
- GRAUER, V.E. and HORST, W.J. 1990. Effect of pH and nitrogen source on aluminium tolerance of rye (*Secale cereale* L.) and yellow lupin (*Lupinus luteus* L.). *Plant and Soil* 127: 13-21.
- MACKAY, A.D., CARADUS, J.R. and PRITCHARD, M.W. 1990. Variation for aluminium tolerance in white clover. *Plant and Soil* 123: 101-105.
- MOO-KEY KIM, EDWARDS, D.G. and ASHER, C.J. 1985. Tolerance of *trifolium subterraneum* cultivars to low pH. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 569-578.

- PARKER, D.R., KINRAIDE, T.B. and ZELAZNY, L.W. 1988. Aluminium speciation and phytotoxicity in dilute hydroxy-aluminium solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 438-44.
- PAVAN, M.A. and BINGHAM, F.T. 1982. Toxicity of aluminium to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 993-97.
- RITCHIE, G.S.P. 1989. The chemical behaviour of aluminium, hydrogen and manganese in acids soils. In: A.D. Robson (ed.). *Soil acidity and plant growth*. Academic Press. Cap. 1 p.: 1-59.
- ROBSON, A.D. and ABBOTT, L.K. 1989. The effects of soil acidity on microbial activity in soils. In: A.D. Robson (ed.). *Soil acidity and plant growth*. Academic Press. Cap. 4 p.: 139-165.
- SCHUBERT, S., SCHUBERT, E. and MENGEL, K. 1990. Effect of low pH of the root medium on proton release, growth and nutrient uptake of field beans (*Vicia faba*). *Plant and Soil* 124: 239-244.
- SPOSITO, G. 1986. Corrections to the program GEOCHEM. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 270.
- WAGATSUMA, T. and EZOE, Y. 1985. Effect of pH on ionic species of aluminium in medium and on aluminium toxicity under solution culture. *Soil Sci. Plant Nutr.* 31(4): 547-61.
- WRIGTH, R.J. 1989. Soil aluminium toxicity and plant growth. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.* 20 (15, 16): 1479-97.