

مقاله پژوهشی

تأثیر سرباره مس مواد آلی بر شاخص‌های فیزیولوژیک کمبود آهن گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*)

الهام میرپاریزی^۱ - مجتبی بارانی مطلق^{۲*} - سید علیرضا موحدی نائینی^۳ - رضا قربانی نصرآبادی^۴ - سمیه بختیاری^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷

چکیده

حدود ۵۳/۸ درصد سرباره مس را اکسیدهای آهن به خود اختصاص می‌دهند، لذا در این مطالعه تأثیر سرباره مس به همراه ترکیبات آلی بر میزان آهن کل برگ، رنگدانه‌های فتوسنتزی، شاخص SPAD، فعالیت آنزیم‌های گیاهی (گایاکول پراکسیداز و گلوکاتایون پراکسیداز) و میزان آهن فعال در گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*) رقم اسپید فید به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار ارزیابی شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ سطح ماده آلی (پوست پسته و کود گاوی در دو سطح ۲ و ۴ درصد وزنی و نمونه شاهد بدون ماده آلی) و ۱۱ سطح آهن (شاهد یعنی بدون کاربرد مواد حاوی آهن (S)، سکوسترین (Seq) FeEDDHA^۶ به میزان ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S₂)، سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S₄)، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد (S₂S^۷)، سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد (S₄S^۷)، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک اسیدی شده مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S_{2a})، سرباره اسیدی شده مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S_{4a}) و محلول‌پاشی برگ‌های آهن از منبع کود کلات (Fe-EDTA^۸) با غلظت ۵ در هزار) بودند. نتایج نشان داد تیمار ۴ درصد وزنی کود گاوی با سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (C₄S₄) و تیمار ۴ درصد وزنی کود گاوی با سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس (C₄S₄S^۹) بیشترین تأثیر را در افزایش شاخص‌های مد نظر داشتند، به طوری که بیشترین میزان آهن فعال برگ‌های جوان توسعه یافته (۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار (C₄S₄S^۹) مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد (۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) افزایش معناداری نشان داد. بررسی ضرایب همبستگی نشان داد که آهن فعال برگ‌های جوان توسعه یافته گیاه سورگوم در مقایسه با غلظت آهن کل برگ‌ها همبستگی بیشتری با شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه سورگوم نشان داد. لذا می‌توان استفاده از غلظت آهن فعال برگ‌های جوان توسعه یافته گیاه به‌عنوان شاخص تشخیص کمبود آهن در گیاه به جای آهن کل گیاه را توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های گیاهی، آهن فعال، رنگدانه‌های فتوسنتزی، سرباره مس

مقدمه

آهن به عنوان یکی از عناصر فراوان خاک شناخته شده ولی به دلیل خصوصیات شیمیایی این عنصر و همچنین شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک، حلالیت آن عموماً ناچیز و کمتر از حد مورد نیاز گیاهان می‌باشد (۲۷). عنصر آهن در خاک به صورت یون Fe³⁺ در کانی‌هایی مثل هماتیت (Fe₂O₃) و

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، دانشجویان و استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*) نویسنده مسئول: (Email: mbarani@gau.ac.ir)
۵- استادیار گروه مهندسی عمران، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی سیرجان

۶- اتیلن دی آمین دی هیدروکسی فنیل استیک اسید
۷- اتیلن دی آمین تترا استیک اسید

مواد آلی نیز روش مؤثری برای مبارزه با این عارضه می‌باشد (۳۹). بنابراین شناسایی و معرفی روشی ارزان و کارآ، برای رفع کمبود آهن ضروری است. از ترکیبات دیگر مورد استفاده، مواد زائد حاصل از معادن و محصولات جنبی و ضایعات فرایندهای صنعتی هستند که حاوی مقدار توجهی آهن می‌باشد. سیکا و کانسال (۵۹) گزارش کردند تیمار ۸ درصد خاکستر بادی^۱ سبب افزایش معنادار غلظت آهن گیاه گندم از ۱۳۸ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۱۶۱ میلی‌گرم در کیلوگرم شد. فابریزو و همکاران (۱۳) تأثیر سرباره کوره پاتیلی^۲ را بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه *Amaranthus paniculatus* مورد بررسی قرار دادند. بررسی‌های آنان نشان داد که کاهش مقدار کلروفیل کل با افزایش نسبت کلروفیل a به کلروفیل b قابل جبران است. از طرف دیگر ترکیبات آلی علاوه بر بهبود خواص فیزیکی خاک می‌توانند قابلیت جذب عناصر فلزی از قبیل آهن را افزایش دهند. مختاری و همکاران (۳۳) در مطالعات خود سطح مختلف سرباره و لجن کنورتور را بر میزان آهن در اندام‌های هوایی گیاه ذرت بررسی کردند. سطح ۵ درصد سرباره بیش‌ترین تأثیر را در مقدار آهن گیاه داشت. بنابراین با توجه به حجم عظیم ضایعات آلی مانند کود دامی، زباله شهری، لجن فاضلاب، بقایای گیاهی و هم‌چنین تولید مقادیر فراوان ضایعات معدنی حاوی آهن از قبیل سرباره حاصل از ذوب مس می‌توان مشکل کمبود آهن را برطرف نمود. لذا هدف از این مطالعه تأثیر سرباره مس و ترکیبات آلی بر میزان آهن، رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت آهن فعال در برگ‌های جوان توسعه‌یافته گیاه سورگوم بود. انتخاب گیاه سورگوم بر مبنای حساسیت زیاد این گیاه به کمبود عنصر آهن و استفاده در مطالعات پیشین مربوط به بررسی کمبود آهن بود (۲۴).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سرباره مس (از محصولات جانبی حاصل از ذوب کنسانتره مس در مجتمع مس سرچشمه استان کرمان) و ترکیبات آلی (کود گاوی و پوست پسته) بر میزان آهن کل، رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت آهن فعال برگ‌های بالایی گیاه سورگوم، نمونه خاکی با آهن قابل استفاده و ماده آلی کم از روستای دوچاهی تحت کشت پسته استان کرمان (N ۵۳/۸ ' ۴۹ ° ۲۹ و E ۱/۴ ' ۳۵ ° ۵۵) برداشت شد. بخشی از نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه و خشک‌شدن در مجاورت هوا از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد.

پیریت (FeS₂) وجود دارد. اما در خاک‌های خنثی یا قلیایی، آهن به قدری نامحلول است که گیاه به مقدار کافی نمی‌تواند آن را جذب کند (۵۱). آهن نقش مهمی در فعالیت آنزیم‌ها، متابولیسم اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های هم (سیتوکروم، لگ‌هموگلوبین، پروتئین‌های Fe-S و فردوکسین)، فتوسنتز، تنفس گیاه، احیای نیترات، سوخت و ساز اسیدهای آلی و تکامل کلروپلاست دارد (۲۷ و ۵۸). در شرایط کمبود آهن، رادیکال‌های آزاد اکسیژن تجمع می‌یابند. یکی از سامانه‌های دفاعی گیاهان در مقابل این رادیکال‌ها، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد که در ساختار آن‌ها عنصر آهن وجود دارد. لذا در شرایط کمبود آهن فعالیت این آنزیم‌ها مختل می‌شود (۱، ۳ و ۳۱). رانیری و همکاران (۴۶) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز در برگ‌های گیاه سویا در محلول غذایی فاقد آهن برای حذف پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد. لومباردی و همکاران (۲۵) نیز نشان دادند در شرایط کمبود آهن، بسیاری از آنزیم‌هایی که فعالیت آن‌ها وابسته به آهن است، غیرفعال می‌شوند. مطالعات آنان نشان داد که فعالیت پراکسیداز یک شاخص خوب برای تعیین وضعیت تغذیه‌ای آهن است. بیش‌تر انواع کلروز آهن نه ناشی از جذب کم آهن به‌وسیله درختان است و نه ناشی از کمبود آهن در برگ‌ها، بلکه یک اختلال فیزیولوژیکی است که به وسیله افزایش pH در آپوپلاست سلول‌های گیاهان ایجاد شده است، افزایش pH شیره سلولی و رسوب عناصر غذایی به ویژه آهن، روی، منگنز و مس در آن‌ها شده و تحت چنین شرایطی نشانه‌های ظاهری کمبود آن‌ها دیده می‌شود. به نحوی که احیای آهن II در pH بالا آپوپلاست متوقف می‌شود (۱۵). محمد و همکاران (۳۲) اظهار داشتند که با اندازه‌گیری غلظت آهن کل نمی‌توان تفاوت بین گیاهانی که کمبود آهن دارند با گیاهان سالم تشخیص داد در حالی که نسبت آهن فعال به آهن کل رابطه نزدیکی با درجه کلروز در گیاه داشت. پیرسون و کلارک (۴۲) مقدار آهن فعال را در برگ‌های تازه، منجمد خشک شده و خشک گیاه سورگوم (برگ‌های توسعه یافته انتهای) به ترتیب ۲۷/۴، ۱۲/۱ و ۱۱/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش کردند. این محققان گزارش کردند که مقدار آهن فعال در برگ‌های تازه در مقایسه با دو روش دیگر بیش‌تر بوده و از نمونه‌های خشک می‌توان برای تعیین مقدار آهن فعال در گیاهانی که کمبود آهن ندارند استفاده کرد. از روش‌های مهم درمان عارضه کلروز آهن استفاده از کودهای مختلف حاوی آهن و مواد اصلاحی می‌باشد. از جمله ترکیباتی که به این منظور استفاده می‌شود، می‌توان به نمک‌های معدنی آهن، اصلاح اسیدزا، ضایعات و تولیدات جنبی صنایع و کلات‌های آهن اشاره کرد. این در حالی است که کلات‌های مصنوعی آهن موثرترین آن‌ها بوده است. کاهش pH کود نیز می‌تواند اثر خوبی بر افزایش حلالیت آهن داشته باشد (۲۶). جایگذاری موضعی نمک‌های معدنی آهن به همراه

1- fly-ash

2- ladle furnace slag

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Some soil physical and chemical properties

ویژگی Property	مقدار Value	ویژگی Property	مقدار Value	ویژگی Property	مقدار Value
بافت خاک Texture	Loamy Sand	پتاسیم K (mg.kg ⁻¹)	309.33	نسبت جذب سدیم SAR	6.73
واکنش خاک pH	7.44	آهن Fe (mg.kg ⁻¹)	1.3	درصد رطوبت اشباع SP %	33.5
هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)	3.39	مس Cu (mg.kg ⁻¹)	0.91	درصد رطوبت ظرفیت مزرعه FC %	11.3
کربن آلی OC %	0.35	روی Zn (mg.kg ⁻¹)	0.78		
آهک T.N.V %	14	منگنز Mn (mg.kg ⁻¹)	3.15		
درصد نیتروژن N %	0.029	کلسیم Ca (meq.L ⁻¹)	13.5		
فسفر P (mg.kg ⁻¹)	18.6	منیزیم Mg (meq.L ⁻¹)	1.75		

جدول ۲- برخی خصوصیات شیمیایی مواد آلی مورد استفاده

Table 2- Selected chemical properties of organic matters used

ویژگی Property	کود گاوی Cow manure	پوست پسته Pistachio shell	ویژگی Property	کود گاوی Cow manure	پوست پسته Pistachio shell
آهن کل Total Fe (mg kg ⁻¹)	4150	910	واکنش خاک pH	8.1	4.9
مس کل Total Cu (mg kg ⁻¹)	39.2	11.06	هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)	5.34	6.26
روی کل Total Zn (mg kg ⁻¹)	148.5	24	درصد کربن OC %	29.22	54.7
منگنز کل Total Mn (mg kg ⁻¹)	357	34	درصد نیتروژن کل Total N %	1.4	2.5
درصد سدیم Na %	0.59	0.11	درصد فسفر کل Total P %	0.42	0.12
درصد کلسیم Ca %	7.56	0.84	درصد پتاسیم کل Total K %	1.63	5.02
درصد منیزیم Mg %	1.58	0.58			

وزنی و رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) با استفاده از دستگاه صفحه فشار اندازه‌گیری شدند (۱۶). برای تعیین غلظت کل فلزات در ترکیبات آلی (کود گاوی و پوست پسته) از روش اکسایش تر (اسید نیتریک ۷۰ درصد، اسید کلریدریک غلیظ و آب اکسیژنه ۳۰ درصد) استفاده شد (۶۰). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل منابع مختلف آهن و ترکیبات آلی با سه تکرار انجام شد. منابع مختلف آهن شامل شاهد یعنی بدون کاربرد مواد حاوی آهن در (S)، سکوسترین^۱ (Seq) FeEDDHA به میزان ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S₂)، سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S₄)، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد (S₂S^o)، سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد (S₄S^o)، سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس (S₂S^oT)، سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد (S₄S^oT)، سرباره اسیدی شده مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (S_{2a})، سرباره اسیدی شده مس به

کود گاوی از واحد دامپروری اطراف سیرجان و پوست پسته مورد استفاده از باغات پسته اطراف سیرجان تهیه شد. ترکیبات آلی پس از خشک کردن در مجاورت هوا، از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شدند. برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه خاک مورد استفاده و ترکیبات آلی به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است. بافت خاک به روش هیدرومتر (۱۴)، pH و EC نمونه خاک در گل و عصاره اشباع و در ترکیبات آلی در نسبت ۵:۱ ترکیب آلی به آب تعیین شد (۲۹)، درصد کربن آلی در نمونه خاک و ترکیبات آلی با استفاده از روش واکلی بلک اندازه‌گیری شد (۳۴)، مقدار کربنات کلسیم معادل خاک به روش خنثی‌سازی با اسید و تیتراسیون با سود ۱ نرمال تعیین شد (۲۹). نیتروژن کل خاک و ترکیبات آلی به روش کجلدال (۶)، فسفر قابل جذب خاک به روش اولسن (۳۷) و پتاسیم قابل جذب خاک با استفاده از استات آمونیوم عصاره‌گیری شده و با دستگاه فلیم فوتومتر قرائت شد (۲۳).

عناصر قابل جذب خاک (آهن، مس، روی و منگنز) بعد از عصاره‌گیری با DTPA با دستگاه جذب اتمی پراکین المر-مدل ۳۰۳۰ اندازه‌گیری شدند (۲۴). سدیم، کلسیم و منیزیم محلول در عصاره اشباع به ترتیب با استفاده از فلیم فوتومتر و روش کمپلکسومتری تعیین شدند (۱۶). رطوبت اشباع (SP) خاک به روش

۱- اتیلن دی آمین دی هیدروکسی فنیل استیک اسید

خاک و محلول پاشی عناصر غذایی کم مصرف (مس و منگنز) به میزان ۳ در هزار از منبع سولفات انجام گرفت (۲۷). جهت ایجاد شرایط یکسان برای گلدانها، هر هفته یکبار تمام گلدانها به طور تصادفی در گلخانه جابجا شدند. قبل از برداشت گیاهان، شاخص سبزیگی برگهای جوان (SPAD) با دستگاه کلروفیل متر دستی SPAD مدل Konica Minolta ساخت ژاپن اندازه گیری شد. بعد از دوره کشت، نمونه های گیاهی از ۱ سانتی متری محل طوقه برداشت شدند. برداشت بوته های گیاه سورگوم ۱۲۰ روز پس از کاشت انجام شد. برگ های گیاه سورگوم ابتدا با آب شهری، سپس با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و در نهایت با آب مقطر شسته شدند. نمونه های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند، پس از هضم نمونه های گیاهی به روش اکسیداسیون تر (۵)، غلظت آهن کل برگ با استفاده از دستگاه جذب اتمی پراکین الم مدل ۳۰۳۰ اندازه گیری شد. در برگ های بالغ و جوان، غلظت رنگدانه های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب با روش پورا (۴۳) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شدند. جهت سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، در پایان دوره کشت، نمونه هایی از برگ های تازه انتهایی گیاه تهیه و در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام آنالیزهای شیمیایی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. فعالیت آنزیم های گایاکول پراکسیداز^۲ (GO) به روش چنس و مهلی (۷)، گلوکاتایون پراکسیداز^۳ (GPX) به روش هوپکین (۱۸) اندازه گیری شدند. به منظور اندازه گیری غلظت آهن فعال از محلول ۱/۵ درصد ۱۰،۱ فنانتروپین در بافت تازه گیاه (برگ های جوان توسعه یافته) استفاده شد (۲۲). تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها به کمک آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج کانی شناسی سربراره نشان داد که این ترکیب حاوی کانی های اولیوین، اوژیت، فایالیت، هماتیت، مگنتیت و فاز آمورف می باشد. آنالیز فلورسانس اشعه ایکس نتایج نشان داد که حدود ۵۳/۸ درصد سربراره را اکسیدهای آهن به خود اختصاص می دهند (جدول ۳). علاوه بر این عناصر سیلیسیم، کلسیم، پتاسیم، مس، منیزیم و مقداری روی در سربراره وجود دارند. ترکیب این ماده حاکی از وجود تعدادی از عناصر کم مصرف و پرمصرف در غلظت بالاست.

میزان ۲۰ میلی گرم آهن در کیلوگرم خاک (S_{4a}) و محلول پاشی برگی آهن از منبع کود کلات (Fe-EDTA^۱) با غلظت ۵ در هزار و سطوح مختلف ماده آلی: بدون ماده آلی (C)، کود گاوی ۲ درصد (C₂)، کود گاوی ۴ درصد (C₄)، پوست پسته ۲ درصد (P₂)، پوست پسته ۴ درصد (P₄)، تیمارهای سربراره بر اساس میزان آهن قابل جذب خاک و سربراره و نیز حد توصیه آهن قابل جذب (آهن قابل استخراج با DTPA) محصولات زراعی بیان شده توسط لیندزی و نورول (۱۹۷۸) یعنی ۵ میلی گرم آهن در کیلوگرم خاک محاسبه و به گلدانها اضافه شدند. بدین منظور، با توجه به میزان آهن اولیه قابل عصاره گیری خاک (۱/۳ میلی گرم در کیلوگرم، جدول ۱) و میزان آهن قابل جذب سربراره (۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم، جدول ۵)، مقادیر سربراره هر تیمار که به میزان ۲ برابر (۱۰ میلی گرم آهن در کیلوگرم خاک) و ۴ برابر (۲۰ میلی گرم آهن در کیلوگرم خاک) مقدار توصیه آزمون خاک آهن بودند محاسبه و به گلدانها اضافه شد. اعمال این تیمار در طی دوره کشت قبل از گلدهی صورت گرفت. گوگرد عنصری استفاده شده از شرکت مرک آلمان و باکتری تیوباسیلوس از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور خریداری گردید. مایه تلقیح های یک کیلوگرمی با تراکم جمعیت حدود ۱۰^۷ سلول در گرم مایه تلقیح تهیه شد. برای تعیین مقدار گوگرد، ابتدا مقدار اسیدی که لازم است تا pH سربراره را به ۳ تنزل دهد، محاسبه گردید. آنگاه از لحاظ توازن شیمیایی (استیوکیومتری)، گوگرد معادل اسید محاسبه شده، تعیین شد و مقدار مایه تلقیح باکتری تیوباسیلوس به میزان ۲ درصد گوگرد بود. برای اسیدی کردن سربراره مس در حدود pH=۳ از اسید سولفوریک غلیظ استفاده شد. تیمارهای آزمایشی به صورت یکنواخت در گلدان های ۳ کیلوگرمی مخلوط و به مدت ۳ ماه انکوباسیون شدند. در طی دوره انکوباسیون، نمونه ها در رطوبت ۷۵٪ ظرفیت مزرعه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به حالت تعادل رسیدند. بعد از اتمام دوره انکوباسیون داخل هر گلدان ۱۰ عدد بذر سورگوم *Sorghum bicolor* رقم اسپید فید کاشته شده و بعد از استقرار گیاهان، شمار بوته ها به چهار عدد کاهش یافت. در طول مدت زمان کشت رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. (آب آبیاری دارای pH برابر با ۶/۹۸ و هدایت الکتریکی ۴۳/۲ میکروزیمنس بر سانتی متر بود). همچنین برای جلوگیری از بروز نشانه های کمبود سایر عناصر در گیاه و براساس نتایج آزمون خاک، کوددهی به گلدانها به صورت زیر انجام شد. فسفر از منبع دی آمونیوم فسفات به میزان ۴۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک، پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم به میزان ۲۰۰ میلی گرم پتاسیم در کیلوگرم خاک، نیتروژن از منبع اوره طی دو مرحله قبل از گلدهی و بعد از گلدهی به میزان ۳۰ میلی گرم نیتروژن در کیلوگرم

2- Guaiacol peroxidase
3- Glutathione peroxidase

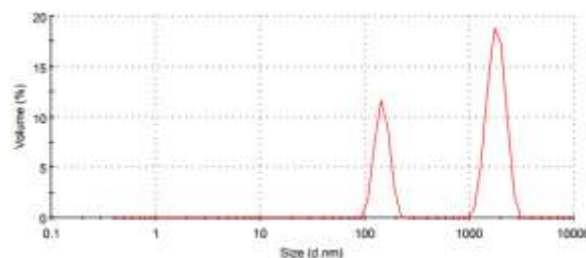
۱- اتیلن دی آمین تترا استیک اسید

جدول ۳- تجزیه شیمیایی سرباره با استفاده از تکنیک XRF
Table 3- Chemical analysis of slag by XRF technique

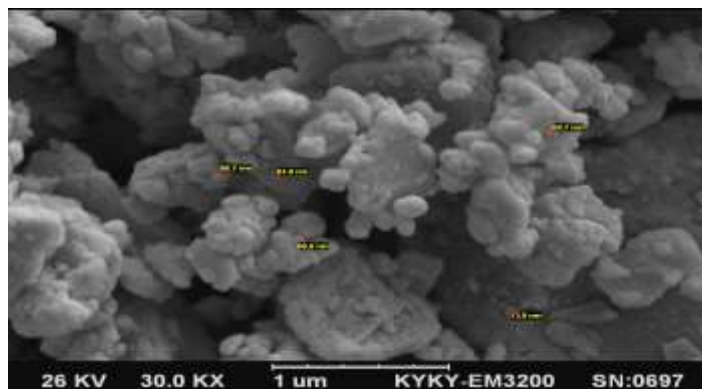
ترکیب Composition	مقدار % Value	ترکیب Composition	مقدار % Value
K ₂ O	1.41	Fe ₂ O ₃	44.54
Cu	1.21	Fe ₃ O ₄	9.24
MgO	1.02	SiO ₂	31.47
ZnO	0.72	CaO	5.63
TiO ₂	0.42	Al ₂ O ₃	4.05

جدول ۴- توزیع اندازه ذرات بر حسب درصد حجمی آنها
Table 4- Size distribution by percentage of volume

	قطر Diam (nm)	حجم Volume (%)	پهنای Width (nm)
Peak 1	146.6	32.8	22.79
Peak 2	1810	67.2	346.8



شکل ۱- توزیع اندازه ذرات بر حسب درصد حجمی آنها
Figure 1- Size distribution by percentage of volume



شکل ۲- آنالیز SEM نمونه سرباره مورد استفاده
Figure 2- SEM analysis of slag used

جدول ۵- عناصر قابل جذب سرباره (قابل عصاره‌گیری با DTPA)
Table 5- Elemental analysis of slag (extracted with DTPA)

ویژگی Property	مقدار Value	عنصر Element	مقدار Value (ppm)	عنصر Element	مقدار Value (ppm)	عنصر Element	مقدار Value (ppm)	عنصر Element	مقدار Value (ppm)	عنصر Element	مقدار Value (ppm)
pH	7.5	آهن Fe	250	منگنز Mn	14.67	کبالت Co	513.3	سرب Pb	ND	مولیبدن Mo	ND
EC (dS.m ⁻¹)	0.42	مس Cu	266.7	کادمیم Cd	80.67	نقره Ag	24	آرسنیک As	ND	سلنیم Se	ND
		روی Zn	33166.7	نیکل Ni	2220	کرم Cr	ND	بیسموت Bi	ND		

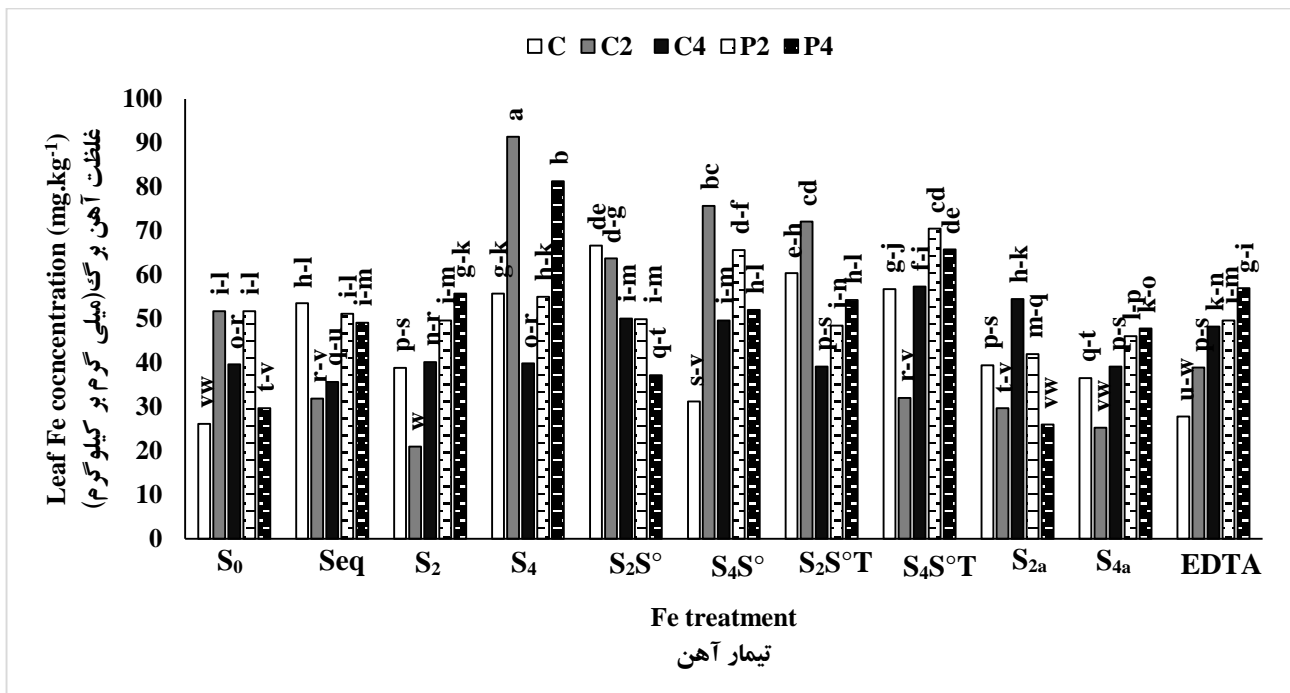
ND: زیر حد تشخیص دستگاه
ND: Under Detection Limit

داده نشده‌اند). حد بحرانی غلظت آهن در گیاه سورگوم ۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (۲۷). شریعتمداری و همکاران (۵۷) نیز نشان داد که بیش‌ترین غلظت آهن در گیاهانی که تحت تأثیر تیمارهای سرباره و لجن کنورتور بوده‌اند مربوط به سطوح بالای این دو ترکیب بود. بعد از تیمار (S₄) بیش‌ترین مقدار آهن گیاه به تیمارهای S₂S[°]T و S₄S[°]T تعلق داشت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). کاپلان و اورمان (۲۰) در آزمایش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در خاک‌های آهکی پی بردند که مصرف گوگرد، عملکرد محصول و نیز مقدار آهن، روی، منگنز گیاه سورگوم را افزایش داد. سامر و شهپایان (۵۳) دریافتند با مصرف توأم گوگرد و سولفات آهن، غلظت آهن برگ افزایش یافت. نتایج مقایسات میانگین مربوط به اثرات متقابل تیمارهای مختلف بر غلظت آهن در گیاه سورگوم در شکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج آنالیز زیتا ساینر نشان داد، در نمونه سرباره مورد استفاده ۳۲ درصد حجمی ذرات، قطری در حد ۱۴۰ نانومتر داشته و ۶۷ درصد حجمی، قطر ۱۸۱۰ نانومتر را دارند (جدول ۴ و شکل ۱). آنالیز (SEM) انجام شده نیز تأیید کننده این نتایج است (شکل ۲). همچنین pH، EC در نسبت ۲/۵:۱ سرباره به آب و عناصر قابل عصاره‌گیری با DTPA در نمونه سرباره در جدول ۵ آمده است (۲۴).

تأثیر تیمارهای مختلف بر آهن کل برگ گیاه سورگوم

بررسی اثر اصلی سطوح مختلف تیمارهای سرباره بر مقدار آهن گیاه نشان داد کاربرد سرباره سبب افزایش معنادار غلظت آهن در گیاه سورگوم نسبت به شاهد شد. بیش‌ترین مقدار آهن گیاه برابر با ۶۴/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم، مربوط به تیمار (S₄) بود که با شاهد در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معناداری داشت (داده‌ها نشان



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های غلظت آهن (mg.kg⁻¹) برگ در تیمارهای مختلف

Figure 3- Means comparison of Fe (mg.kg⁻¹) concentration of leaves in various treatments

S₀: شاهد بدون کاربرد مواد حاوی آهن؛ Seq: سکوسترین آهن به میزان ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک؛ S₂: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S₄: سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S₂S[°]: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد؛ S₄S[°]: سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد؛ S₂S[°]T: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس؛ S₄S[°]T: سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس؛ S_{2a}: سرباره اسیدی شده مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S_{4a}: سرباره اسیدی شده مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ EDTA: محلول پاشی فتریلون با غلظت ۵ در هزار.

S₀: Control, Seq: Fe Sequestrine (5 mg kg⁻¹), S₂: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil), S₄: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil), S₂S[°]: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S, S₄S[°]: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S, S₂S[°]T: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S and *Thiobacillus*, S₄S[°]T: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S and *Thiobacillus*, S_{2a}: acidic Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil), S_{4a}: acidic Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil), EDTA: foliar application of EDTA

رحمانی و همکاران (۴۴) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند، عناصر ریزمغذی مخصوصاً آهن با افزایش میزان کلروفیل، منجر به افزایش فتوسنتز گیاه شده و رشد و توسعه بیش‌تر اندام هوایی گیاه را به‌دنبال دارد که با نتایج این مطالعه تطبیق دارد. ساندر و همکاران (۵۴) در یک آزمایش گلخانه‌ای تأثیر سرباره کوره الکتریکی (۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم) را در مقایسه با منبع کودی مایع Fe+NPK بر رشد گیاه ذرت و رنگدانه‌های فتوسنتزی مورد مطالعه قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد، استفاده از ۲۰ گرم در کیلوگرم سرباره در مقایسه با منابع کودی دیگر افزایش قابل ملاحظه‌ای را در مقدار کلروفیل a ایجاد کرد.

استفاده از ترکیبات آلی سبب افزایش مقدار پارامترهای مذکور در مقایسه با تیمار شاهد شد که این افزایش متناسب با مقدار ترکیبات آلی مصرفی بود، به طوری که بیش‌ترین مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهانی که تحت تأثیر تیمارهای کود گاوی و پوست پسته بوده‌اند مربوط به سطوح بالای این دو ترکیب است. سطوح ۴ درصد وزنی کود گاوی و پوست پسته به ترتیب بیش‌ترین تأثیر را بر مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی داشتند (جدول‌های ۶ تا ۸). بیش‌ترین مقدار کلروفیل a، در تیمار ۴ درصد وزنی پوست پسته (P₄) با میانگین ۴/۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود. هرچند که با تیمار ۴ درصد وزنی کود گاوی (C₄) با میانگین ۴/۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر از لحاظ آماری اختلاف معناداری نداشت و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (C) با میانگین ۳/۲۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود. استفاده از تیمار ۴ درصد وزنی کود گاوی (C₄)، به ترتیب منجر به افزایش ۳۱/۹۰ و ۳۰/۶۷ درصد در میزان کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد (بدون کاربرد مواد آلی) (C) شد. چوکانو و همکاران (۹) به این نتیجه رسیدند، استفاده از ترکیبات آلی، منجر به انتقال بهتر مواد غذایی از ریشه به سمت اندام هوایی شده و در نهایت با افزایش شاخص‌های مورفولوژیکی، سبب بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک در گیاه می‌شوند. اثر بر هم کنش تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی نشان داد تیمار (C₄S₄) بیش‌ترین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی را دارا بود که با تیمار (C₄S₄S^oT) تفاوت معناداری نداشت. بیش‌ترین مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در تیمار (C₄S₄) به ترتیب با میانگین ۶/۱۳، ۳/۰۶، ۹/۱۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (CS₀) به ترتیب با میانگین ۲/۱۵، ۰/۹۷، ۳/۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر مشاهده شد (جدول‌های ۶ تا ۸).

تأثیر تیمارهای مختلف بر شاخص سبزی‌نگی برگ (SPAD)

نتایج حاصل از مقایسات میانگین مربوط به تأثیر این تیمارها بر شاخص سبزی‌نگی برگ در جدول ۹ نشان داده شده است.

مطابق شکل ۳، بیش‌ترین غلظت آهن در تیمار (C₂S₄) با مقدار ۹۱/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مشاهده شد که دلیل آن را می‌توان به افزایش آهن قابل جذب خاک در این تیمار ارتباط داد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). از آنجا که غلظت یک عنصر ویژه در گیاه زمانی افزایش می‌یابد که در خاک نیز افزایش پیدا کرده باشد، برخی پژوهشگران بر این باور هستند که برای بیش‌تر عناصر رابطه مثبت معناداری بین غلظت عناصر در بافت گیاهی و غلظت قابل استفاده آن‌ها در خاک وجود دارد (۲۱). از طرفی با توجه به نتایج جدول ۲، افزایش مقدار آهن در این تیمار (C₂S₄) را می‌توان به آهن بیش‌تر در کود گاوی در مقایسه با پوست پسته ارتباط داد.

استفاده از ترکیبات آلی با افزایش ترکیبات کلات کننده موجبات افزایش فراهمی آهن را فراهم می‌کنند. مواد هیومیکی موجود در این ترکیبات، موجب ایجاد کمپلکس با عناصر کم مصرف شده و در نتیجه عناصر مؤثر در دستگاه فتوسنتزی، خصوصاً آهن بیش‌تر در دسترس گیاه قرار می‌گیرند. چن و آونیملیچ (۸) گزارش کردند که استفاده از کودهای حیوانی همراه با سولفات آهن مشکل کمبود آهن را در سورگوم رفع خواهد کرد. ونگ و همکاران (۶۷) اظهار داشتند که غلظت آهن، منگنز، روی، مس در بافت گیاهی ذرت کاشته شده در خاک‌های تحت تیمار کمپوست و لجن فاضلاب به مقدار معناداری افزایش پیدا کرد.

تأثیر تیمارهای مختلف بر رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه سورگوم

جدول‌های ۶ تا ۸ نشان دهنده تأثیر اثرات اصلی و متقابل تیمارهای مختلف بر مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) نمونه‌های تازه برگ گیاه سورگوم می‌باشند. مقایسه اثرات اصلی تیمارهای سرباره نشان داد، تیمار (S₄) بیش‌ترین مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل را دارا می‌باشد که با تیمار (S₄S^oT) تفاوت معناداری نداشت (جدول‌های ۶ تا ۸). حداکثر مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه، در تیمار (S₄) به‌دست آمد. به‌نحوی که به ترتیب منجر به افزایش مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل از ۲/۲۴، ۱/۲۰ و ۳/۶۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر در خاک بدون کاربرد سرباره (S₀) به ۵/۵۴، ۲/۷۷ و ۸/۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر شد. اورمان و کاپلان (۳۸) در آزمایشی مشاهده کردند مصرف کودهای گوگرد باعث افزایش محتوی کلروفیل کل در گیاه گوجه فرنگی می‌شود. آهن جزء متابولیک آنزیم کاپروپورفینوزن اکسیداز است این آنزیم در بیوسنتز آلفا-آمینولیوونولنیک (ALA) که پیش‌نیاز کلروفیل است تأثیر دارد. به نظر می‌رسد در شرایطی که کمبود آهن در خاک کم‌تر از حد بهینه باشد، مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد (۲۷).

با دستگاه‌های کلروفیل سنج قابل اندازه‌گیری است. افزایش شاخص میزان کلروفیل برگ در نتیجه افزایش میزان آهن برگ به دلیل نقش آهن در ساخت کلروفیل است. ماده مشترک برای ساخت کلروفیل و هیم، اسید دلتا-آمینولولینیک است که میزان تشکیل آن به وسیله آهن مهار می‌شود.

استفاده از تیمارهای سرباره اثر معناداری بر افزایش شاخص سبزیگی برگ‌ها داشت. به طوری که بیشترین شاخص سبزیگی برگ (۳۷/۲۸) در تیمار (S₄) مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد (۱۰/۴۳) افزایش چشمگیری را نشان داد. (جدول ۹). شاخص SPAD، که تابعی از میزان کلروفیل برگ است، به راحتی

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر غلظت کلروفیل a برگ (mg g⁻¹Fw)

Table 6- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on Leaf chlorophyll a concentration

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	2.15 ^s	2.19 ^{rs}	2.40 ^{o-s}	2.32 ^{p-s}	3.17 ^{l-r}	2.44 ^G
Seq	2.36 ^{p-s}	2.57 ^{n-s}	3.15 ^{l-r}	3.21 ^{l-q}	3.42 ^{j-n}	2.94 ^{EF}
S ₂	3.60 ^{i-m}	4.04 ^{g-l}	4.27 ^{f-k}	4.35 ^{f-j}	4.56 ^{d-i}	4.16 ^{BC}
S ₄	5.52 ^{a-d}	5.88 ^{ab}	6.13 ^a	5.08 ^{b-f}	5.10 ^{b-f}	5.54 ^A
S ₂ S ^o	3.22 ^{l-p}	4.01 ^{g-l}	4.30 ^{f-k}	3.66 ^{h-m}	4.34 ^{f-k}	3.90 ^C
S ₄ S ^o	2.23 ^{q-s}	5.21 ^{a-f}	5.69 ^{a-c}	4.47 ^{e-i}	4.86 ^{e-g}	4.49 ^B
S ₂ S ^o T	3.98 ^{g-l}	4.50 ^{e-i}	4.59 ^{d-h}	4.25 ^{f-k}	4.51 ^{e-i}	4.36 ^B
S ₄ S ^o T	4.88 ^{c-g}	5.40 ^{a-e}	5.91 ^{ab}	5.19 ^{a-f}	5.73 ^{a-c}	5.42 ^A
S _{2a}	2.55 ^{n-s}	2.61 ^{n-s}	2.84 ^{m-s}	2.92 ^{m-s}	3.15 ^{l-r}	2.81 ^{FG}
S _{4a}	2.88 ^{m-s}	3.12 ^{l-s}	3.70 ^{h-m}	3.39 ^{j-n}	3.96 ^{g-l}	3.41 ^D
EDTA	2.86 ^{m-s}	2.90 ^{m-s}	3.63 ^{h-m}	3.36 ^{k-o}	3.91 ^{g-l}	3.33 ^{DE}
میانگین (Average)	3.29 ^C	3.85 ^B	4.23 ^A	3.83 ^B	4.24 ^A	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

S₀: شاهد بدون کاربرد مواد حاوی آهن؛ Seq: سکوسترین آهن به میزان ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک؛ S₂: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S₄:

سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S₂S^o: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد؛ S₄S^o: سرباره مس به میزان ۲۰

میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد؛ S₂S^oT: سرباره مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس؛ S₄S^oT: سرباره مس به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس؛ S_{2a}: سرباره اسیدی شده مس به میزان ۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ S_{4a}: سرباره اسیدی شده مس به

میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک؛ EDTA: محلول پاشی فتریلون با غلظت ۵ در هزار.

S₀: Control, Seq: Fe Sequestrine (5 mg kg⁻¹), S₂: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil), S₄: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil), S₂S^o: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S, S₄S^o: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S, S₂S^oT: Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S and *Thiobacillus*, S₄S^oT: Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil) with elemental S and *Thiobacillus*, S_{2a}: acidic Copper slag (10 mg Fe kg⁻¹ soil), S_{4a}: acidic Copper slag (20 mg Fe kg⁻¹ soil), EDTA: foliar application of EDTA

جدول ۷- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر غلظت کلروفیل b برگ (mg g⁻¹Fw)

Table 7- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on Leaf chlorophyll b concentration

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	0.97 ^{xy}	1.09 ^{w-y}	1.20 ^{v-x}	1.16 ^{v-x}	1.59 ^{q-t}	1.20 ^G
Seq	1.15 ^{v-x}	1.27 ^{u-w}	1.58 ^{q-t}	1.61 ^{q-s}	1.73 ^{o-r}	1.47 ^F
S ₂	1.81 ^{n-p}	2.00 ^{k-n}	2.11 ^{j-m}	2.18 ^{i-k}	2.27 ^{g-j}	2.07 ^C
S ₄	2.74 ^{cd}	2.95 ^{ab}	3.06 ^a	2.52 ^{ef}	2.57 ^{de}	2.77 ^A
S ₂ S ^o	1.61 ^{q-s}	2.00 ^{k-n}	2.14 ^{j-l}	1.82 ^{n-p}	2.16 ^{j-l}	1.94 ^D
S ₄ S ^o	0.95 ^y	2.62 ^{de}	2.84 ^{bc}	2.36 ^{f-i}	2.45 ^{e-g}	2.24 ^B
S ₂ S ^o T	1.99 ^{l-n}	2.24 ^{ij}	2.29 ^{g-j}	2.14 ^{j-l}	2.26 ^{h-j}	2.18 ^B
S ₄ S ^o T	2.44 ^{e-h}	2.71 ^{cd}	2.96 ^{ab}	2.58 ^{de}	2.88 ^{a-c}	2.71 ^A
S _{2a}	1.28 ^{uv}	1.30 ^{uv}	1.75 ^{o-q}	1.46 ^{s-u}	1.57 ^{q-t}	1.47 ^F
S _{4a}	1.45 ^{s-u}	1.56 ^{r-t}	1.88 ^{no}	1.68 ^{p-r}	1.97 ^{l-n}	1.71 ^E
EDTA	1.41 ^{tu}	1.45 ^{s-u}	1.82 ^{n-p}	1.68 ^{p-r}	1.95 ^{mn}	1.66 ^E
میانگین (Average)	1.63 ^C	1.92 ^B	2.15 ^A	1.92 ^B	2.12 ^A	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

جدول ۸- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر غلظت کلروفیل کل برگ ($\text{mg g}^{-1}\text{Fw}$)

Table 8- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on Leaf total chlorophyll concentration.

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	3.24 ^x	3.29 ^{wx}	3.61 ^{t-x}	3.49 ^{u-x}	4.77 ^{p-s}	3.68 ^G
Seq	3.53 ^{u-x}	3.85 ^{s-x}	4.70 ^{p-s}	4.82 ^{p-s}	5.15 ^{o-r}	4.41 ^F
S ₂	5.44 ^{n-q}	6.09 ^{k-o}	6.43 ^{j-n}	6.58 ^{j-l}	6.89 ^{h-l}	6.29 ^C
S ₄	8.30 ^{a-e}	8.80 ^{a-c}	9.19 ^a	7.26 ^{f-j}	7.63 ^{d-i}	8.24 ^A
S ₂ S ^o	4.50 ^{q-u}	6.05 ^{k-o}	6.44 ^{j-n}	5.49 ^{m-q}	6.50 ^{j-m}	5.80 ^D
S ₄ S ^o	3.36 ^{v-x}	7.94 ^{b-g}	8.54 ^{a-d}	7.41 ^{e-j}	7.30 ^{e-j}	6.91 ^B
S ₂ S ^o T	6.01 ^{k-o}	6.74 ^{i-l}	6.91 ^{g-k}	6.42 ^{j-n}	6.80 ^{h-l}	6.57 ^{BC}
S ₄ S ^o T	7.32 ^{e-j}	8.11 ^{b-f}	8.91 ^{ab}	7.80 ^{c-h}	8.63 ^{a-d}	8.15 ^A
S _{2a}	3.83 ^{s-x}	3.93 ^{s-x}	4.62 ^{p-t}	4.38 ^{r-v}	4.75 ^{p-s}	4.30 ^F
S _{4a}	4.35 ^{r-v}	4.68 ^{p-s}	5.54 ^{m-p}	5.10 ^{o-r}	5.92 ^{k-o}	5.12 ^E
EDTA	3.94 ^{s-x}	4.33 ^{r-w}	5.46 ^{n-q}	5.07 ^{o-r}	5.86 ^{l-o}	4.93 ^E
میانگین (Average)	4.89 ^C	5.80 ^B	6.39 ^A	5.80 ^B	6.38 ^A	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

جدول ۹- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر شاخص سبزیگی برگ (SPAD)

Table 9- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on SPAD value.

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	4.37 ^u	5.90 ^u	17.83 ^{o-q}	8.36 ^{tu}	15.33 ^{p-s}	10.43 ^F
Seq	13.43 ^{q-s}	11.96 st	25.23 ^{i-l}	11.10 st	20.86 ^{l-o}	16.52 ^E
S ₂	29.10 ^{e-i}	31.06 ^{e-h}	31.86 ^{d-g}	30.03 ^{e-h}	31.93 ^{c-g}	30.80 ^{BC}
S ₄	36.13 ^{b-d}	36.40 ^{bc}	41.23 ^a	36.56 ^b	36.06 ^{b-d}	37.28 ^A
S ₂ S ^o	27.16 ^{h-k}	33.26 ^{b-f}	31.13 ^{e-h}	28.16 ^{g-k}	29.86 ^{e-h}	29.92 ^{BC}
S ₄ S ^o	33.53 ^{b-e}	29.56 ^{e-i}	29.16 ^{e-i}	28.36 ^{g-k}	30.73 ^{e-h}	30.27 ^{BC}
S ₂ S ^o T	30.23 ^{e-h}	27.76 ^{g-k}	28.16 ^{g-k}	29.00 ^{f-i}	30.86 ^{e-h}	29.20 ^C
S ₄ S ^o T	30.13 ^{e-h}	31.06 ^{e-h}	37.53 ^{ab}	28.80 ^{f-j}	31.36 ^{e-h}	31.78 ^B
S _{2a}	13.20 ^{rs}	15.40 ^{p-s}	21.43 ^{l-o}	15.60 ^{p-s}	20.83 ^{l-o}	17.29 ^E
S _{4a}	17.66 ^{o-r}	18.86 ^{op}	24.10 ^{k-n}	20.23 ^{m-o}	25.13 ^{i-l}	21.20 ^D
EDTA	11.93 st	17.56 ^{o-r}	29.30 ^{e-i}	19.66 ^{n-p}	24.46 ^{j-m}	20.58 ^D
میانگین (Average)	22.44 ^B	23.53 ^B	28.81 ^A	23.26 ^B	27.04 ^A	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

به طوری که میزان کلروفیل درختان تیمار شده در مقایسه با شاهد تفاوت معناداری نشان داد.

کاربرد ترکیبات آلی (کود گاوی و پوست پسته)، منجر به افزایش معنادار شاخص سبزیگی برگ‌ها (SPAD) شدند. بیش‌ترین مقدار شاخص سبزیگی برگ‌ها مربوط به سطوح بالای این دو ترکیب (۴ درصد وزنی کود گاوی (C₄) و ۴ درصد وزنی پوست پسته (P₄)) بود که از نظر آماری اختلاف معناداری نداشتند. استفاده از این تیمارها (C₄) و (P₄)، به ترتیب منجر به افزایش ۲۸/۳۸ و ۲۰/۴۹ درصدی در میزان شاخص سبزیگی برگ‌ها نسبت به تیمار شاهد (بدون کاربرد مواد آلی) (C) شدند (جدول ۹). وجود مواد آلی در خاک بر احیای آهن مؤثر است زیرا مواد آلی در حال تجزیه با انتقال الکترون به آهن سه

افزایش شاخص میزان کلروفیل برگ در نتیجه افزایش میزان آهن مصرفی در تحقیقات انجام شده توسط بانولز و همکاران (۴) در پرتقال، هیرایی و همکاران (۱۷) در جو نیز گزارش شده است. نتایج تحقیقات هیرایی و همکاران (۱۷) نشان داد مقدار آهن کل و شاخص میزان کلروفیل برگ به طور معناداری با افزایش میزان آهن کاربردی افزایش یافت. دلاگواردیا و آکانترا (۱۱) بیان داشتند که بروز کلروز برگی به افت میزان کلروفیل و توان تولیدی گیاه و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌انجامد. رامبول و همکاران (۵۰) اعلام کردند که کمبود آهن موجب کاهش میزان کلروفیل در برگ گیاهان می‌گردد. ایگلسیاس و همکاران (۱۹) از کلروز درختان در خاک‌های آهنکی به وسیله تزریق سولفات آهن II در خاک به طور مؤثری جلوگیری کردند،

هم نداشتند. به نحوی که اعمال تیمار (S₄) منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسید و گلوکاتایون پراکسیداز به ترتیب از ۰/۹۲ و ۱/۲۳ (Iu/ gr. Fw) در خاک بدون کاربرد سرباره (S₀) به ۳/۶۸ و ۴/۲۵ (Iu/ gr. Fw) شد (جدول‌های ۱۰ و ۱۱). پراکسیدازها از سیستم‌های فتوسنتزی گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند، محافظت می‌کنند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکسید تولید شده به وسیله زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها را با تولید پراکسید هیدروژن از بین می‌برد. پراکسید هیدروژن به وسیله آنزیم پراکسیداز در بخش‌های مختلف سلولی از بین می‌رود. این آنزیم‌ها حاوی آهن هستند و فعالیت آن‌ها در شرایط کمبود آن کم خواهد شد (۳۰ و ۶۲). محققین در مطالعات خود تأکید کردند استفاده از مقادیر کافی کلات EDDHA می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های گیاهی به طور موثری کلروز را کاهش دهد (۴۰ و ۶۶). رحیم زاده و همکاران (۴۵) اظهار داشتند کمبود آهن در گیاهان نه تنها موجب کلروز می‌شود، بلکه فعالیت آنزیم‌های مشخصی مانند پراکسیدازها را نیز کاهش می‌دهد. مکرسی و همکاران (۲۸) در آزمایشی مشاهده کردند که با مصرف ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آهن فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز به ترتیب ۸۹، ۶۹ و ۴۸ درصد افزایش نشان داد. کم‌ترین فعالیت این آنزیم‌ها نیز مربوط به تیمار شاهد بود که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. بنابراین فراوانی آهن در سلول‌های گیاهی تعیین‌کننده فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت است.

ظرفیتی و احیای آن، غلظت آهن را در محلول خاک افزایش می‌دهد، مولکول‌های آلی با آهن یا برخی دیگر از کاتیون‌ها تشکیل کمپلکس‌های آلی فلزی را می‌دهند، که قابلیت جذب عناصر را افزایش می‌دهند. هم‌چنین اثرات مفید ماده آلی همراه با ترکیبات معدنی آهن موجب حفظ قابلیت جذب (ممانعت و یا تأخیر در رسوب) آهن موجود در ترکیبات معدنی شده، در نتیجه امکان جذب برای گیاه به میزان بیش‌تری فراهم خواهد بود. با افزایش فراهمی آهن، فتوسنتز زیاد شده در نتیجه سنتز کلروفیل افزایش خواهد یافت.

اثر برهم کنش تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی نشان داد میزان شاخص سبزیگی برگ از ۴/۷۳ در تیمار شاهد CS^o به مقدار ۴۱/۲۳ در تیمار (C₄S₄) رسید که تفاوت معناداری نسبت به تیمار (C₄S₄T) نداشت (جدول ۹). تزیوریسیس و همکاران (۶۵) نیز نشان دادند که کاربرد EDDHA و FeSO₄.7H₂O همراه با مواد آلی به صورت تزریق مایع در خاک به طور معناداری شاخص سبزیگی برگ‌ها را حتی تا بعد از ۱۲۰ روز پس از کاربرد افزایش می‌دهند.

تأثیر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز

جدول‌های ۱۰ و ۱۱ نشان دهنده تأثیر اثرات اصلی و متقابل تیمارهای مختلف بر مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت می‌باشند. مقایسه اثرات اصلی تیمارهای سرباره نشان داد، بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسید و گلوکاتایون پراکسیداز به ترتیب در تیمارهای (S₄) و (S₄S^oT) بود که از نظر آماری اختلاف معناداری با

جدول ۱۰- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (IU/grFw) GO
Table 10- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on Guaiacol Peroxidase activity (IU/grFw)

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	0.65 ^{qr}	1.07 ^{op}	1.54 ⁿ	0.60 ^{qr}	0.75 ^q	0.92 ^G
Seq	0.71 ^{qr}	0.69 ^{qr}	2.96 ^{de}	2.47 ^{jk}	2.49 ^{jk}	1.86 ^D
S ₂	1.94 ^m	3.07 ^d	3.10 ^d	2.80 ^{e-g}	2.95 ^{d-f}	2.77 ^B
S ₄	3.81 ^b	3.85 ^b	4.20 ^a	3.12 ^d	3.45 ^c	3.68 ^A
S ₂ S ^o	1.47 ⁿ	2.21 ^l	2.75 ^{f-h}	2.73 ^{gh}	3.03 ^d	2.43 ^C
S ₄ S ^o	0.51 ^r	3.46 ^c	3.73 ^b	2.63 ^{g-j}	3.09 ^d	2.68 ^B
S ₂ S ^o T	1.90 ^m	2.52 ^{ij}	2.71 ^{g-i}	2.55 ^{h-j}	2.76 ^{e-g}	2.49 ^C
S ₄ S ^o T	2.77 ^{e-g}	3.76 ^b	4.27 ^a	3.50 ^c	3.90 ^b	3.64 ^A
S _{2a}	1.23 ^{op}	1.51 ⁿ	2.50 ^{jk}	1.48 ⁿ	2.19 ^l	1.76 ^E
S _{4a}	0.98 ^p	2.31 ^{kl}	1.88 ^m	1.05 ^{op}	1.58 ⁿ	1.56 ^F
EDTA	0.63 ^{qr}	1.79 ^m	2.24 ^l	1.25 ^o	1.86 ^m	1.55 ^F
میانگین (Average)	1.50 ^E	2.38 ^C	2.89 ^A	2.19 ^D	2.55 ^B	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

جدول ۱۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر میزان فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) (IU/grFw)
Table 11- Means comparison of the effects of slag and organic compounds treatments on Glutathione peroxidase activity

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	0.86 ^{yz}	1.40 ^{tu}	1.86 ^{qr}	0.91 ^{x-z}	1.23 ^{v-x}	1.23 ^G
Seq	0.80 ^z	1.10 ^{w-y}	3.52 ^f	2.76 ^k	2.70 ^k	2.17 ^D
S ₂	2.15 ^{m-o}	3.46 ^{fg}	3.54 ^f	3.04 ^{h-j}	3.57 ^f	3.15 ^B
S ₄	4.35 ^{cd}	4.57 ^{bc}	4.88 ^a	3.58 ^f	3.89 ^e	4.25 ^A
S ₂ S ^o	1.92 ^{o-q}	2.40 ^l	3.08 ^{hi}	3.14 ^h	3.50 ^f	2.81 ^C
S ₄ S ^o	0.71 ^z	3.96 ^e	4.38 ^{cd}	3.18 ^h	3.51 ^f	3.14 ^B
S ₂ S ^o T	2.11 ^{n-p}	2.85 ^{i-k}	3.06 ^{hi}	2.81 ^{jk}	3.11 ^h	2.78 ^C
S ₄ S ^o T	3.22 ^{gh}	4.27 ^d	4.81 ^{ab}	4.00 ^e	4.52 ^c	4.16 ^A
S _{2a}	1.59 st	1.80 ^{q-s}	2.75 ^k	1.82 ^{q-s}	2.30 ^{l-n}	2.05 ^E
S _{4a}	1.36 ^{t-v}	2.33 ^{l-n}	2.12 ^{n-p}	1.32 ^{u-w}	1.89 ^{p-r}	1.80 ^F
EDTA	1.04 ^{xy}	2.16 ^{m-o}	2.38 ^{lm}	1.65 ^{rs}	2.19 ^{l-n}	1.88 ^F
میانگین (Average)	1.82 ^E	2.75 ^C	3.30 ^A	2.56 ^D	2.93 ^B	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.
Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

مطالعات یوفا و همکاران (۶۸) نشان داد استفاده از لاشبرگ‌های ۴ گونه گیاهی^۱ (TR)،^۲ (RA)،^۳ (BD) و^۴ (NR) به همراه سرباره حاصل از ذوب روی نشان داد، به جز لاشبرگ حاصل از گونه گیاهی (NR)، استفاده از بقیه ترکیبات آلی به همراه سرباره روی منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. نتایج مطالعات حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که مصرف هم‌زمان گوگرد و کودهای عناصر کم صرف، منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. تأثیر استفاده از سرباره فولاد بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در جلبک سبز آبی در یک دوره ۳۰ روزه توسط نوگامی و همکاران (۳۵) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد، با اعمال سرباره به میزان ۵ گرم در لیتر، pH محیط افزایش پیدا کرده و با کاهش غلظت آهن، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کم شد. یافته‌های ساندر و همکاران (۵۴) نشان داد، استفاده از ۲۰ گرم در کیلوگرم سرباره، افزایشی را در مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با منابع کودی دیگر ایجاد کرد.

تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن فعال برگ‌های جوان توسعه یافته

در شرایط کمبود آهن فراهمی Fe²⁺ در اندام‌های گیاه کاهش می‌یابد. لذا Fe²⁺ که جزئی از آهن کل گیاه است، مسئول زردی و سبز رنگ بودن برگ‌هاست. کاتیال و شارما (۲۲) روشی را با استفاده

ادیجا و همکاران (۱۲) تأثیر استفاده از سرباره چدن را بر خصوصیات فیزیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های موجود در خاک بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد سرباره با افزایش شوری و آلوده کردن خاک به عناصر فسفر و پتاسیم، منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، پروتئاز می‌شود.

استفاده از ترکیبات آلی سبب افزایش مقدار فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، گلوکوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیش‌ترین میزان فعالیت این دو آنزیم در تیمار ۴ درصد وزنی کود گاو (C₄) با مقادیر ۲/۸۹ و ۳/۳۰ (Iu/ gr. Fw) مشاهده گردید (به ترتیب جدول‌های ۱۰ و ۱۱). مطالعات وین تراب و همکاران (۲۰۱۳) اثبات کرد استفاده از ترکیبات آلی منجر به تحرک عناصر غذایی، افزایش جامعه میکروبی خاک شده و سلامت اکوسیستم را در پی خواهد داشت. شاه و همکاران (۵۶) اثر مثبت اضافه کردن ترکیبات آلی را در افزایش میزان جذب عناصر غذایی، میزان فتوسنتز و فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز گزارش کردند.

اثر متقابل تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی نشان داد، بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز ۴/۲۷ (Iu/ gr. Fw) مربوط به تیمار (C₄S₄S^oT) بود (جدول ۱۰). این در حالی بود که تیمار (C₄S₄) نسبت به بقیه تیمارها در افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز ۴/۸۸ (Iu/ gr. Fw) حداکثر تأثیر را داشت (جدول ۱۱). محققان در مطالعه‌ای اثر استفاده از گوگرد و ترکیبات آلی را بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت ذرت، بررسی کردند. کاربرد ۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، رشد ریشه، تشکیل کلروفیل و در نتیجه افزایش فتوسنتز در ذرت گردید (۴۹).

- 1- Trifolium repens
- 2- Rumex acetosa
- 3- Buddleia davidii
- 4- Neyraudia reynaudiana

استفاده از ترکیبات آلی سبب افزایش معنادار غلظت آهن فعال شد. بیشترین غلظت آهن فعال در برگ‌های جوان توسعه یافته سورگوم، با میانگین (۴۲/۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) مربوط به تیمار ۴ درصد وزنی کود گاوی (C₄) بود که در مقایسه با تیمار شاهد (C) با میانگین (۲۸/۷۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) افزایش ۴۸/۷۸ درصدی را نشان داد (جدول ۱۲).

بررسی برهم کنش تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی نشان داد، بیشترین میزان غلظت آهن فعال گیاه سورگوم به‌ترتیب با اضافه‌شدن ۴ درصد وزنی کود گاوی با تیمار سرباره به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس (C₄S₄S^oT) با میانگین (۵۴/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و ۴ درصد وزنی کود گاوی با تیمار سرباره به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (C₄S₄) با میانگین (۵۳/۱۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (CS₀) با میانگین (۱۷/۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) حاصل شد (جدول ۱۲).

مطالعات کاتیال و شارما (۲۲) بر روی گیاه برنج نشان داد، مقدار آهن فعال از ۲۸/۱ تا ۶۴ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌ترتیب در گیاهان کلروز و سبز متغیر است. پیرسون و کلارک (۴۲) در مطالعه‌ای دیگر مقدار آهن فعال اندازه‌گیری شده در گیاه به روش ۱۰،۱ فنانترولین (C₁₂H₈N₂) را ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش کردند (۴۱). اولسن (۳۶) بیان داشت، یکی از موارد مهم در رابطه با عصاره‌گیری با ۱۰،۱ فنانترولین این است که این عصاره‌گیر به‌عنوان یک عامل کلات‌کننده برای استخراج آهن در عصاره‌های خاک و بافت‌های گیاهی استفاده می‌شود.

از ۱۰،۱ فنانترولین برای اندازه‌گیری Fe²⁺ در نظر گرفتند. این پژوهشگران تفاوت قابل ملاحظه‌ای را در میزان آهن اندازه‌گیری شده در برگ‌های سبز و برگ‌های کلروز مشاهده کردند. آهن فعال جزئی از آهن بوده که در فرایندهای متابولیسمی شرکت داشته و در ساختمان مولکول‌ها به کار گرفته می‌شود. مقدار باقی مانده آهن احتمالاً رسوب کرده و برای گیاه قابل استفاده نیست. راثو (۴۷) متوجه شد که غلظت آهن فعال اندازه‌گیری شده با استفاده از اسیدکلریدریک میزان کمبود آهن را به‌خوبی نشان نمی‌دهد. این محقق گزارش کرد، برای تشخیص کمبود آهن، روش ۱۰،۱ فنانترولین ۱/۵٪ در برگ تازه بهتر از HCl یک نرمال در برگ‌های تازه و یا خشک بود. اما در مطالعات خلخال و همکاران (۱۳۹۵) مقدار آهن فعال اندازه‌گیری شده با HCl یک نرمال در گیاه ذرت، ۵ برابر (۶۴/۸۳ - ۴۱/۶) آهن عصاره‌گیری شده با ۱۰،۱ فنانترولین ۱/۵٪ (۱۷/۵۹ - ۸/۵۴) گزارش شد.

همان‌طور که در جدول ۱۲ ملاحظه می‌گردد، تیمارهای سرباره، منجر به افزایش معنادار غلظت آهن فعال اندازه‌گیری شده در برگ‌های تازه نسبت به تیمار شاهد شده‌اند. بیشترین مقدار آهن فعال مربوط به تیمار (S₄S^oT) بود که تفاوت معناداری با تیمار (S₄) نداشت. به‌گونه‌ای که مقدار آهن فعال از ۲۲/۷۳ میلی‌گرم در کیلوگرم در تیمار شاهد (S₀) به ۴۹/۸۱ و ۴۹/۵۷ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌ترتیب در تیمارهای (S₄S^oT) و (S₄) افزایش یافت که نشانگر افزایش ۱۱۹/۱۳، ۱۱۸/۰۸ درصدی در مقدار آهن فعال است (جدول ۱۲). نتایج مطالعات سچنکول و همکاران (۵۵) نیز نشان داد، بیشترین مقدار آهن فعال در تیمار ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار به-دست آمد. همچنین کمترین مقدار آهن فعال در شاهد مشاهده شد.

جدول ۱۲ - مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سرباره و ترکیبات آلی بر میزان آهن فعال (mg.kg⁻¹)

	C	C ₂ %	C ₄ %	P ₂ %	P ₄ %	میانگین (Average)
S ₀	17.14 ^{xy}	25.11 ^{s-u}	29.66 ^{rs}	19.27 ^{v-y}	22.51 ^{u-w}	22.73 ^E
Seq	28.16 ^{r-t}	30.36 ^r	39.45 ^{l-o}	31.04 ^{qr}	38.59 ^{l-o}	33.52 ^C
S ₂	31.14 ^{qr}	45.37 ^{d-g}	46.16 ^{d-f}	43.51 ^{f-k}	45.09 ^{d-h}	42.25 ^B
S ₄	43.90 ^{f-j}	49.76 ^{a-d}	53.19 ^{ab}	49.37 ^{a-d}	51.66 ^{a-c}	49.57 ^A
S ₂ S ^o	32.03 ^{p-r}	39.07 ^{k-o}	43.11 ^{f-l}	42.96 ^{f-l}	44.40 ^{e-i}	40.31 ^B
S ₄ S ^o	16.83 ^y	47.41 ^{c-f}	49.30 ^{b-d}	44.28 ^{e-i}	46.38 ^{d-f}	40.84 ^B
S ₂ S ^o T	35.52 ^{o-q}	41.20 ^{g-m}	42.79 ^{f-l}	40.19 ^{i-o}	43.67 ^{f-k}	40.67 ^B
S ₄ S ^o T	46.77 ^{d-f}	52.27 ^{ab}	54.06 ^a	47.11 ^{c-f}	48.82 ^{b-e}	49.81 ^A
S _{2a}	21.69 ^{u-x}	35.57 ^{o-q}	37.40 ^{m-o}	27.76 ^{r-t}	36.18 ^{n-p}	31.72 ^{CD}
S _{4a}	24.70 ^{tu}	37.21 ^{m-o}	31.68 ^{p-r}	23.95 ^{t-v}	32.03 ^{p-r}	29.91 ^D
EDTA	18.26 ^{w-y}	22.10 ^{u-w}	43.60 ^{f-k}	40.46 ^{h-n}	40.60 ^{h-n}	33.00 ^C
(Average) میانگین	28.74 ^D	38.67 ^C	42.76 ^A	37.26 ^C	40.90 ^B	

میانگین‌هایی با حروف مشابه، در هر ستون یا ردیف، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

Means followed by the same letters are insignificant at the 0.05 probability within each column or row.

تیمارها در جدول ۶ توصیف شده‌اند.

See the Table 6 for description of the treatments

آهن جذب شده به فرم ترکیبات نامحلول در می‌آید. هم‌چنین نتایج گزارش‌های تریوس و همکاران (۶۴) نشان داد که همبستگی چندانی بین غلظت آهن کل و درجه زردی ناشی از کمبود آهن (کاهش میزان کلروفیل) وجود ندارد و در بیش‌تر موارد برگ‌های زرد شده، آهن کل بیش‌تر از برگ‌های سالم دارند که به تضاد آهن مشهور می‌باشد، اما در مقابل این برگ‌های زرد شده آهن فعال کم‌تری از برگ‌های سالم داشتند. محمد و همکاران (۳۲) نیز در مطالعات خود گزارش کردند، ارتباط ضعیفی بین آهن کل و کلروفیل وجود دارد و همبستگی به دست آمده بین آهن فعال و کلروفیل زیاد می‌باشد، لذا می‌توان از آهن عصاره‌گیری شده با ارتوفنان ترولین یا نسبت بین آهن فعال به آهن کل، به‌عنوان شاخصی برای تفاوت بین گیاهان دچار کمبود و گیاهان سالم استفاده کرد. سوداهنو (۶۱) در مطالعه‌ای در محیط کشت شنی نشان داد، آهن فعال در مقایسه با آهن کل ارتباط بیش‌تری با مقدار کلروفیل داشته و نشان‌دهنده میزان واقعی کلروز در نهال‌های مرکبات است. بر اساس نتایج این مطالعه، با توجه به ضریب همبستگی ($r = 0.75^{***}$) به‌دست آمده بین شاخص سبزیگی و آهن فعال در گیاه، می‌توان از این شاخص برای تخمین میزان آهن فعال در گیاه استفاده کرد (جدول ۱۳). میزان آهن برگ‌های جوان توسعه یافته با فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز ($r = 0.9^{***}$) و گلوکاتینون پراکسیداز ($r = 0.89^{***}$) همبستگی معناداری را نشان داد، این در حالی است آهن دو ظرفیتی برگ‌های جوان توسعه یافته همبستگی بیش‌تری را با این آنزیم‌ها نشان داد (جدول ۱۳). بین آهن فعال و آهن گیاه همبستگی معناداری ($r = 0.45^*$) مشاهده شد (جدول ۱۳). نتایج مطالعات اسپنکولد و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد بیش‌ترین مقدار آهن گیاه و آهن فعال در تیمار ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار به دست آمد. نتایج مطالعات این افراد نشان داد به‌طور متوسط کم‌تر از ۳۰ درصد از غلظت آهن کل برگ، به شکل آهن فعال بود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با افزایش سطح سرباره مصرفی و به تبع آن افزایش غلظت آهن در برگ منجر به افزایش معنادار مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ و فعال شدن آنزیم‌های گیاهی شد.

تیمارهای ۴ درصد وزنی کود گاوی با سرباره به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک (C_4S_4) و ۴ درصد وزنی کود گاوی با سرباره به میزان ۲۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک همراه با گوگرد و تیوباسیلوس $C_4S_4S^{\circ}T$ بیش‌ترین تأثیر را در افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، شاخص SPAD، فعالیت آنزیم‌های گیاهی و آهن فعال در سطح احتمال ۵ درصد داشتند.

محمد و همکاران (۳۲) با افزایش زمان عصاره‌گیری از ۲۰ به ۴۵ ساعت در نهال‌های مرکبات که درجه متفاوتی از کلروز را نشان می‌دادند (کم، متوسط و زیاد)، مقدار آهن فعال را به‌ترتیب از ۱۵/۲۳، ۲۳/۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۲۵/۶، ۱۶/۴ و ۱۲/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش دادند. این محققین محدوده آهن فعال را از ۱۵/۸ تا ۳۶/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌ترتیب در نهال‌های کلروز و سبز مرکبات گزارش کردند. یافته‌های پیرسون و کلارک (۴۱) نشان دادند که مقدار Fe^{2+} اندازه‌گیری شده با استفاده از روش ۱۰،۱ فنانترویلین ($C_{12}H_8N_2$) در مقایسه با روش PDTS ۳، ۲، پیریدیل-۵، ۶ بیس-۴، فیل سولفونیک اسید-۱،۲،۴-تریازین بیش‌تر است. هم‌چنین با مقایسه میزان آهن فرو در برگ‌های خشک و تازه به این نتیجه رسیدند، میزان آهن فعال اندازه‌گیری شده در برگ‌های تازه در مقایسه با برگ‌های خشک بیش‌تر است. دیوید و ساندر (۱۰) با افزایش غلظت آهن در محیط‌های آبی، افزایش غلظت آهن فعال را در گونه‌های آبی مشاهده کردند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد به‌نحوی که با افزایش غلظت آهن تا ۸ میلی‌گرم در لیتر در ۴ گونه آبی، افزایش در میزان آهن فعال را تا ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نشان دادند. بر اساس مقادیر به‌دست آمده در جدول ۱۲ افزایش غلظت آهن فعال ناشی از کاربرد تیمارهای (سرباره، ترکیبات آلی و اثر متقابل استفاده از این تیمارها) در برگ‌های جوان توسعه یافته گیاه سورگوم بیشتر از حد کفایت آهن فعال (۲۷/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) گیاه سورگوم بود (۴۲).

همبستگی ساده بین آهن برگ با رنگدانه‌های فتوسنتزی،

آنزیم‌های گیاهی و آهن فعال

نتایج این مطالعه نشان داد میزان آهن برگ با کلروفیل a ($r = 0.45^{***}$)، کلروفیل b ($r = 0.51^{***}$)، کلروفیل کل ($r = 0.47^{***}$) (=) و شاخص SPAD ($r = 0.39^{***}$)، ضرایب همبستگی معناداری را نشان داد، این در حالی است آهن دو ظرفیتی برگ (آهن عصاره‌گیری شده با ارتوفنان ترولین) با میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، کلروفیل a ($r = 0.79^{***}$)، کلروفیل b ($r = 0.87^{***}$)، کلروفیل کل ($r = 0.83^{***}$) (=) و شاخص SPAD ($r = 0.75^{***}$)، همبستگی بیش‌تری را نشان داد (جدول ۱۳). همبستگی مثبت و معناداری بین میزان آهن کل برگ و شاخص میزان کلروفیل برگ در تحقیقات هیرایی و همکاران (۱۷) در جو نیز مشاهده شده است. در تحقیقات تری (۶۳) نیز میزان کلروفیل برگ‌های چغندر قند تحت شرایط تنش آهن، همبستگی مثبتی با غلظت آهن برگ داشت. رابطه مستقیم بین کمبود آهن برگ و میزان کلروفیل به‌عنوان شاخص این کمبود اثبات شده است (۵۲). بررسی‌های انجام شده توسط کاتیل و شارما (۲۲) نشان داد، تمامی آهن جذب شده توسط گیاهان مورد استفاده قرار نگرفته و بخشی از

جدول ۱۳- ضریب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه

Table 13- Simple correlations coefficients for traits

	Cha	Chb	Cht	SPAD	GO	GPX	FeA	FeP
Cha	1							
Chb	0.9***	1						
Cht	0.98***	0.95***	1					
SPAD	0.70***	0.78***	0.75***	1				
GO	0.82***	0.89***	0.86***	0.75***	1			
GPX	0.82***	0.90***	0.87***	0.74***	0.98***	1		
FeA	0.79***	0.87***	0.83***	0.75***	0.90***	0.89***	1	
FeP	0.45***	0.51***	0.47***	0.39***	0.40***	0.41***	0.45***	1

*** بیانگر معنادار بودن در سطح آماری ۰/۰۰۱ است.

*** significant at %0.1 level of probability

Cha: کلروفیل a، Chb: کلروفیل b، Cht: کلروفیل کل، SPAD: شاخص سبزیگی برگ، GO: آنزیم گایاکول پراکسیداز، GPX: آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز، FeA: آهن فعال گیاه، FeP: آهن کل برگ‌های گیاه.

Cha: chlorophyll a, Chb: chlorophyll b, Cht: Total chlorophyll, SPAD: Leaf chlorophyll Index, GO: Guaiacol Peroxidase, GPX: Glutathione Peroxidase, FeA: Active Fe, FeP: Total Leaf Fe.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تحقیقات آب و محیط زیست مس منطقه کرمان که در تأمین بخشی از مواد و هزینه‌های مورد نیاز اجرای این تحقیق با کد پروژه ۹۴/د/۲۵۵/آ همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود. هم‌چنین از سرکار خانم مهندس اسماعیل‌زاده، رییس تحقیقات آب و محیط زیست و جناب آقای مهندس اسپهبدی کارشناس ارشد تحقیقات آب و محیط زیست که با همکاری صمیمانه خود شرایط لازم را برای انجام این کار تحقیقاتی فراهم کردند، سپاسگزاری می‌گردد.

از آنجایی که میزان آهن فعال برگ‌های جوان توسعه یافته در مقایسه با غلظت آهن کل برگ‌ها ارتباط بیش‌تری با شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه سورگوم داشت لذا می‌توان از این پارامتر به‌عنوان شاخصی برای تشخیص کمبود آهن استفاده کرد. یافته‌های این پژوهش همچنین نشان داد که سرباره حاصل از ذوب مس دارای قابلیت استفاده به‌عنوان یک پسماند برای رفع مشکل کمبود آهن در گیاهان در خاک‌های آهکی است لکن باتوجه به وجود برخی فلزات سنگین در این ترکیب، تحقیقات بیشتر در مورد اثرات زیست محیطی آن ضروری بنظر می‌رسد.

منابع

- 1- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- 2- Allison L.E., and Modie C.D. 1965. Carbonate. p. 1379-1396. In C.A. Black (ed.), *Method of Soil Analysis Part 2*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- 3- Amal A.M., and Aly A.A. 2008. Alteration of some secondary metabolites and enzymes activity by using exogenous antioxidant compound in onion plants growth under seawater salt stress. *American Journal of Scientific Research* 3: 139-146.
- 4- Banuls J.A., Quinones B., Martin E., Primo-Millo E., and Legaz F. 2003. Effects of frequency of iron chelate supply by fertigation on chlorosis in citrus. *Journal of Plant Nutrition* 26: 1985-1996.
- 5- Benton J., Jones J.R., and Case V.W. 1990. Sampling, handling and analyzing plant tissue sample. p. 389-429. In: R.L. Westerman (ed.), *Soil Testing and Plant Analysis*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- 6- Bremner J.M. 1996. Nitrogen-total. p. 1-89. In: D.L. Sparks, *Methods of Soil Analysis, Part 3*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- 7- Chance B., and Maehly A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 11: 764-755.
- 8- Chen Y., and Avnimelech Y. 1986. The role of organic mater in modern agriculture. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht Netherland.
- 9- Chocano C., Garcia C., Gonzalez D., de Aguilar J.M., and Hernandez T. 2016. Organic plum cultivation in the Mediterranean region: The medium-term effect of five different organic soil management practices on crop

- production and microbiological soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 221: 60-70.
- 10- Daived F., and Ksander G. 1989. Influence of external iron concentration on active iron for four species of aquatic macrophytes. *Journal of Aquatic Plant Management* 27: 65-69.
 - 11- De La Guardia M.D., and Alcantara E. 2002. A comparison of ferric-chelate reductase and chlorophyll and growth ratios as indices of selection of quince, pear and olive genotypes under iron deficiency stress. *Plant Soil* 241: 49-56.
 - 12- Ediga A., Ramgopal M., Narasimha G., and Balaji M. 2010. Effect of Pig Iron Slag Particles on Soil Microbial and Enzyme Activities. *European Journal of Applied Sciences* 2(3): 122-126.
 - 13- Fabrizio P., Iori V., Beone T., Mirabile D., and Zacchini M. 2017. Effects of a ladle furnace slag added to soil on morpho-physiological and biochemical parameters of *Amaranthus paniculatus* L. plants. *Journal of Hazardous Materials* 329: 339-347.
 - 14- Gee G.W., and Bauder J.W. 1986. Particle-size analysis. p. 383-411. In A. Klute (ed.), *Methods of Soil Analysis Part 1: Physical and Mineralogical Methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
 - 15- Havlin J., Beaton J.D., Tisdale S.L., and Nelson W.L. 2005. *Soil fertility and fertilizers*, 7th edition. Pearson Prentice Hall.
 - 16- Hesse P.R. 1971. *A text book of soil chemical analysis*. John Murray. London
 - 17- Hirai M.K. Higuchi K., Sasaki H., Suzuki T., Maruyama T., and Tadano T. 2007. Contribution of iron associated with high molecular weight substances to the maintenance of the SPAD value of young leaves of barley under iron deficient conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 53: 612-620.
 - 18- Hopkins J., and Tudhope G.R. 1973. Glutathione peroxidase in human red cells in health and disease. *British Journal of Haematology* 25: 563-575.
 - 19- Iglesias I.R., Dalmau X., Marce M.C., Delcampillo V., and Torrent J. 2003. Fertilization with iron(II)-phosphate effectively prevents iron chlorosis in pear trees *pyrus communis*. *Acta Horticulturae* 511:65-72.
 - 20- Kaplan M., and Orman S. 1998. Effect of elemental sulfur and sulfur containing waste in a calcareous soil in Turkey. *Journal of Plant Nutrition* 21:1655-1665.
 - 21- Karla Y.P. 1998. *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. CRC Press, Washington D.C. USA.
 - 22- Katyal J.C., and Sharma B.D. 1984. Some modification in the assay of Fe²⁺ in 1-10, o-phenanthroline extracts of fresh plant tissues. *Plant Soil* 79: 449-450.
 - 23- Knudsen D., Peterson G.A., and Pratt P.F. 1982. Lithium, Sodium and Potassium. p. 225-246. In: A.L. Page et al. (ed.). *Methods of soil analysis (part II), Chemical and microbiological properties*, American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
 - 24- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 421-428.
 - 25- Lombardi L., Sebastiani L., and Vitagliano C. 2003. Physiological, Biochemical and Molecular Effects of in vitro induced iron deficiency in peach rootstock. *Journal of Plant Nutrition* 26: 2149-216.
 - 26- Majidi A. 2013. Assessing the nutritional status of apple orchards in western Azerbaijan, and guidelines to improve the quantity and quality of product. *The First Scientific Conference on Agricultural and Rural Development with a Focus on National Production, Piranshahr, Iran. (In Persian)*
 - 27- Marshner H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic press. New York.
 - 28- McKersie B.D., Murnaghan J., Jones K.S., and Bowley S.R. 2000. Iron superoxidase dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance. *Plant Physiology* 122: 1427-1437.
 - 29- Miller R.H., and Keeney D.R. 1982. *Methods of Soil Analysis Part 2: Chemical and Microbiological properties*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
 - 30- Minami M., and Yoshikawa H. 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clinica Chimica Acta* 92: 337-342.
 - 31- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410
 - 32- Mohammad M.J., Najim H., and Khresat S. 1998. Nitric acid-and O-Phenanthrolineextractable iron for diagnosis of iron chlorosis in citrus lemon trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29: 1035-1043.
 - 33- Mokhtari S., Hodaji M., and Kalbasi M. 2014. The effect of steel converter slag application along with sewage sludge in iron nutrition and corn plant yield. *Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research* 3: 96-104.
 - 34- Nelson D.W., and Sommers L.P. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. p. 539-579. In A.L. Page et al. (ed.), *Methods of Soil Analysis Part 2*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
 - 35- Nogami R., Tam L.T., Anh H.T.L., and Quynh H.T.H. 2016. Growth promotion effect of steelmaking slag on *Spirulina platensis*. *Journal of Physics. Conference Series* 704: 12-19.
 - 36- Olsen R.A., Brown J.C., Bennett J. H., and Blum D. 1982. Reduction of Fe³⁺ as it relates to Fe chlorosis. *Journal of Plant Nutrition* 5: 433-445.

- 37- Olsen S.R., Close V., Watnebe F.S., and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture 939: 1-19.
- 38- Orman S., and Kaplan M. 2007. Effects of elemental sulphur and organic manure on sulphur, zinc, and total chlorophyll contents of tomato in a calcareous sandy loam soil. *Soil Science Society of America Journal* 55: 85-90.
- 39- Pestana M., Varennes A., and Faria E.A. 2003. Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees. *Food, Agriculture and Environment* 1: 46-51.
- 40- Peyvandi M., Kamali Jamakani Z., and Mirza M. 2011. Comparison of nano Fe chelat with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Satureja hortensis*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2(5): 25-32.
- 41- Pierson E., and Clark R.B. 1984a. Chelanting agent differences in ferrous iron determination. *Journal of Plant Nutrition* 7(1-5): 91-106 .
- 42- Pierson E., and Clark R.B. 1984b. Ferrous Iron determination in plant tissue. *Journal of Plant Nutrition* 7(1-5): 107-116.
- 43- Porra R.J., Thompson W.A., and Kriedemann P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biophysica Acta* 975: 384-94.
- 44- Rahmani A., Mirza M., and Tabaei Aghdai S.R. 2013. Effects of different fertilizers (macro and micro element) on quantity and quality of essential oil and other byproducts of *Rosa damascena* Mill. *Iranian Journal of Medical Sciences* 29(4): 747-759.
- 45- Rahimizadeh M., Habibi D., Madani H., Mohammadi G.N., Mehraban A., and Sabet A.M. 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Helia* 30: 167-174.
- 46- Ranieri A., Castagna A., Baldan B., and Soldatini G.F. 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *Journal of Experimental Botany* 52: 25-35.
- 47- Rao A.C.S. 1993. Diagnosis of nutrient deficiencies of citrus orange orchards in Jiroft Valley of Iran. *Agrochimica* 37(1-2): 41-54.
- 48- Razmjoo S. 1997. Manual of analysis of fruit and vegetable products. 9th. ed. Tata MC Grow Hill, New Delhi.
- 49- Reddappa Reddy M. 2006. Effect of calcium, sulphur and boron on the yield and composition of corn (*Zea mays* L.) under water deficit stress. *Plant Growth Regulation* 54: 205-209.
- 50- Rombola A.D., Bruggemann A.F., LopezMillan M., Tagliavini J., Abadia B., Marangoni B., and Moog. P.R. 2002. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology* 22: 869-875.
- 51- Roosta H.R., and Karimi H.R. 2012. Effects of alkali-stress on ungrafted and grafted cucumber plants: using two types of local squash as rootstock. *Journal of Plant Nutrition* 35(12): 1843-1852.
- 52- Rosado R., del Campillo M.C., Martinez M.A., Barron V., and Torrent J. 2002. Longterm effectiveness of vivianite in reduce iron chlorosis in olive trees. *Plant Soil* 241: 139-144.
- 53- Samar S.M., and Shahabian M. 2003. Effect of organic manure enrichment with sulfur and sulfate on increasing availability of iron in a calcareous soil. National Seminar of production and application of sulfur in the country. Mashhad, Iran. (In Persian)
- 54- Sandra R., Crnojevic H., and Sandev D. 2013. Effect of electric arc furnace slag on growth and physiology of maize (*Zea mays* L.). *Acta Biologica Hungarica* 64(4): 490-499.
- 55- Schenkeveld W.D.C., Dijcker R., Reichwein A.M., Temminghoff E.J.M. and Riemsdijk W.H. 2008. The effectiveness of soil- applied FeEDDHA treatments in preventing iron chlorosis in soybean as a function of the o, o- FeEDDHA content. *Plant and Soil* 303: 161-176
- 56- Shah B., Sulaimana S., Jamal P., and Alam M.S. 2014. Production of heterogenous catalysts for biodiesel synthesis. *Environmental Chemical Engineering* 5(2): 73-75.
- 57- Shariatmadari H., Rezainejad Y., Abdi A., Mahmoudabadi A., and Karam M. 2009. Effect of Converter Sludge and Slag of Isfahan Iron Melting Factory on Corn Yield and Some Heavy Metal Uptake in a Calcareous Soil. *Journal of Water and Soil Science* 12(46): 667-680. (In Persian with English abstract)
- 58- Sharma P.K., and Hall D.O. 1991. Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. *Journal of Plant Physiology* 138(5): 614-619.
- 59- Sikka R., Kansal B.D. 1994. Effect of fly-ash application on yield and nutrient composition of rice, wheat and on pH and available nutrition status of soils. *Bioresource Technology* 51: 199-203.
- 60- Sposito G., Lund L.J., and Chang A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge, I.: Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in solid phases. *Soil Science Society of America Journal* 46: 260-264.
- 61- Sudahono D., Byrne H., and Rouse R.E. 1994. Greenhouse screening of citrus rootstocks for tolerance to bicarbonate induced iron chlorosis. *Horticultural Science* 29: 113-116.
- 62- Sun B., Jing Y., Chen K., Song L., Chen F., and Zhang L. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). *Journal of Plant Physiology* 164: 536-543.

- 63- Terry N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. I. Use of iron stress to control photochemical capacity in vivo. *Plant Physiology* 65: 114-120.
- 64- Therios I., Chouliaras V., Bizas D., Boukouvalas S., Palioura E., Hatzidimitriou E., Basioukas D., Gioldasis V. and Stavrou N. 2005. Changes in leaf biochemical and physiological indices due to iron deficiency in citrus. *AgroThesis* 1: 18-25.
- 65- Tsipouridis C., Almaliotis D., Thomidis T., and Isaakidis A. 2006. Effects of different sources of iron, hormones and *Agrobacterium tumefaciens* on chlorophyll and iron concentration in the leaves of peach trees. *Horticultural Science* 33(4): 140-147.
- 66- Wiersma J.V. 2005. High rates of Fe-EDDHA and seed iron concentration suggest partial solutions to iron deficiency in soybean. *Agronomy Journal* 97: 924-934.
- 67- Wonge J.W.C., Lik L., Zhoul X., and Selvam A. 2007. The sorption of Cd and Zn by different soils in the presence of dissolved organic matter from sludge. *Geoderma* 137: 310-317.
- 68- Youfa L., Yonggui W., Rongrong X., and Cong Y. 2018. Effects of plant litter decomposition on chemical and microbiological characteristics of artisanal zinc smelting slag using indigenous methods. *Journal of Geochemical Exploration* 292-301.

Effects of Copper Slag and Organic Matters on Physiological Indices of Iron Deficiency in Sorghum (*Sorghum bicolor*)

E. Mirparizi¹- M. Barani Motlagh^{2*}- S.A. Movahedi Naeni³- R. Ghorbani Nasrabadi⁴- S. Bakhtiary⁵

Received: 09-12-2019

Accepted: 28-11-2021

Introduction: Iron deficiency is one of the most common nutritional problems of plants in arid and semi-arid soils especially in calcareous soils. Iron is essential to many cellular activities, required for optimum growth and development, however it is insoluble in aerated soils at neutral or basic pH, therefore, iron deficiency is common in these soils. The problem is usually solved by using iron synthetic chelates which is a very expensive option. There is, therefore, a need for cheaper and more effective alternatives to traditional Fe fertilizers. Several reports have shown that application of Fe factory by-product to soil tends to raise the availability of Fe and reduce Fe deficiency in plants. Application of organic compounds to soil may improve the solubility of the minerals containing micronutrients and correct their deficiencies in alkaline and calcareous soils. A large amount of slag is produced annually at the Sarcheshmeh Copper Complex, Kerman Province, Iran. So far, the copper slag, however, has not been tested as an Fe fertilizer in calcareous soils. Since about 53.8% of slag obtained from copper concentrate melting is composed of iron oxides, we, thus, examined the effect of copper slag along with organic compounds on the level of upper leaf iron, photosynthetic pigments, SPAD index, the activity of plant enzymes and the level of active iron in the upper leaves of sorghum by performing a factorial experiment in a completely randomized design.

Materials and Methods: In order to study the effect of copper slag (one of by-products of melting copper concentrate in Sarcheshmeh Copper Complex, Kerman Province) and organic compounds (cow manure and pistachio skin) on total leaf iron content, photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll), antioxidant enzymes activity (Guaiacol Peroxidase, Glutathione peroxidase) and concentration of active iron of young leaves developed of sorghum, a pot experiment was conducted in the greenhouse with three replicates per treatment. We applied experimental treatments including 5 levels of organic matter (pistachio skin, cow manure at 2 and 4 wt. % and control sample), and 11 levels of iron (copper slag, copper slag with sulfur, copper slag with sulfur and thiobacillus, acidic slag (each 2 levels each), sequesterine, foliar application of EDTA, and control sample) to a soil sample with low iron content. At the end of the incubation period, *sorghum bicolor* was cultured in the above treatments. Ten seeds were sown in each pot. Seedlings were thinned to 4 when they were about 10 cm high. During the growth period, pots were irrigated with distilled water as needed. Before harvesting, SPAD, the concentration of photosynthetic pigments, level of active iron and activity of plant enzymes were also measured in fresh plant samples. Furthermore, the concentration of Fe in the leaves was measured. Analysis of variance was performed using software SAS and significant differences were determined based on LSD (Least Significant Difference Test) at $p < 0.05$ level.

Results and Discussion: The interaction between slag treatments and organic compounds showed that treatments of 4 wt. % of cow manure with slag of 4 times of recommended soil test value (C_4S_4 , and 4 wt. % of cow manure with slag of 4 times of recommended soil test value with sulfur and thiobacillus ($C_4S_4S^OT$), had significant effects on increasing photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll), SPAD index, activity of plant enzymes (Guaiacol peroxidase, Glutathione peroxidase) and active iron. The highest active iron level in the young leaves developed (54.06 mg / kg) was observed in ($C_4S_4S^OT$) treatment which showed a significant increase compared to the control treatment (17.14). Increased concentration of active iron was also observed due to application of treatments (slag, organic compounds and the interaction between treatments) in sorghum young leaves. The photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll), SPAD index and activity of plant enzymes (Guaiacol peroxidase, Glutathione

1, 2, 3 and 4- Ph.D. Graduate, Associate Professors and Assistant Professor, Faculty of Water and Soil Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, respectively.

(* - Corresponding Author Email: mbarani@gau.ac.ir)

5- Assistant Professor, Department of Civil Engineering, Sirjan University of Technology, Sirjan

DOI: 10.22067/JSW.2021.14923.0

peroxidase) were more correlated with active iron in young leaves developed compared to total iron concentration in these leaves. This indicates that active iron can be used as an index to detect iron deficiency.

Conclusion: The higher level of active iron in the young leaves developed was more associated with physiological indices of sorghum as compared with total Fe concentration in these leaves. Therefore, this parameter can be used as an index to detect iron deficiency. In this study, increasing the level of slag consumed and consequently increasing Fe concentration in the leaf resulted in a significant increase in chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids and activation of the plant enzymes.

Keywords: Active iron, Copper slag, Photosynthetic pigments, Plant enzymes