نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۷، ص. ۱۴۲-۱۲۷

Journal of Water and Soil
Vol. 32, No. 1, Mar.-Apr. 2018, p. 127-142

تثبیت سرب در یک خاک آهکی با استفاده از اصلاح‌کننده‌های آلی و معدنی

سمیه سفیدگر شاهکلایی[1*]- مجتبی بارانی مطلق[2]- فرهاد خرمالی[3]- اسماعیل دردی پور[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۰۴

چکیده

آلودگی خاک به فلزات سنگین به دلیل اثرات مخرب آن در محیط زیست مانند تهدید سلامتی انسان‌ها، مسمومیت گیاهان و اثرات طولانی مدتی که بر حاصلخیزی خاک می‌گذارند، تبدیل به یک نگرانی جهانی شده است. به منظور بررسی اثر اصلاح‌کننده‌های آلی (بیوچار ۴۲۰ و بیوچار ۶۴۰) و اصلاح‌کننده‌های معدنی (پومیس، لیکا، زئولیت و بنتونیت) در سه سطح صفر، ۱ و ۵ درصد وزنی بر تثبیت سرب در یک خاک آلوده، آزمایشی گلخانه‌ای با استفاده از گیاه ذرت به عنوان شاخص زیستی با سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن اصلاح‌کننده‌ها به خاک موجب کاهش غلظت سرب عصاره‌گیری شده با DTPA و EDTA شد. بیشترین کاهش غلظت سرب عصاره‌گیری شده با DTPA و EDTA در سطح ۵ درصد بیوچار ۶۴۰ و زئولیت مشاهده شد. بیشترین کاهش غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت به‌ترتیب در خاک تیمار شده با اصلاح‌کننده های آلی (بیوچار ۴۲۰ و بیوچار ۶۴۰) و تیمار سطح ۵ درصد زئولیت مشاهده شد. بیشترین افزایش در ویژگی‌های رویشی گیاه مانند شاخص سبزینگی (SPAD)، تعداد برگ، در تیمار سطح ۵ درصد بیوچار ۶۴۰ و ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه در تیمار سطح ۵ درصد بیوچار۴۲۰ نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در سطح ۵ درصد بنتونیت و پراکسیداز(PX) و آسکوربات پراکسیداز (ASP) در سطح ۱ درصد بیوچار ۴۲۰ مشاهده گردید که در مقایسه با شاهد، افزایشی معادل با ۱۴۷، ۱۰۱ ، ۱۹۷ و ۱۲۳ درصد داشته‌اند. اصلاح‌کننده های آلی (بیوچار ۴۲۰ و بیوچار ۶۴۰) و زئولیت بیشترین کاهش جذب سرب را نشان دادند که پتانسیل بالای این اصلاح‌کننده ها را در تثبیت سرب در خاک و کاهش تجمع سرب در گیاه را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پالایش، زیست فراهمی،ذرت، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

مقدمه

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های زیست محیطی هستند که در تمام نقاط جوامع صنعتی یافت می‌شوند (۳۵). سمیت فلزات سنگین و تجمع آن‌ها در زنجیره‌های غذایی یکی از اصلی‌ترین معضلات زیست محیطی و بهداشتی جوامع امروزی است (۴). معضل اصلی مربوط به فلزات سنگین آن است که این آلاینده‌های غیر آلی بر خلاف آلاینده‌های آلی تجزیه‌پذیر نمی‌باشند. این واقعیت، فلزات سنگین را به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست محیطی مبدل ساخته است (۲۹). گیاهان به برخی از فلزات سنگین در غلظت‌های بسیار پایین نیاز دارند، اما زمانی که غلظت این فلزات از حد نیاز گیاه بالاتر می‌رود منجر به بروز اختلالات متابولیکی و بازدارندگی رشد اغلب گونه‌های گیاهی می‌گردند(۲۹). آرسنیک، سرب، نیکل، کادمیوم، مس، کبالت، روی و جیوه شایع‌ترین فلزات سنگین در خاک هستند که از فعالیت‌های انسانی ناشی می‌شوند (۶۳). در میان فلزات سنگین، سرب دارای کارکرد زیستی مشخصی نمی‌باشد و از پتانسیل ایجاد مسمومیت برای گیاهان و سایر موجودات زنده برخوردار است. این فلز به دلیل پراکنش گسترده در جوامع شهری و صنعتی و خطر بالقوه‌ی آن برای محیط زیست، سلامت انسان‌ها و حیوانات، منشا نگرانی‌ها متعددی گردیده است (۶۳). سرب نه‌تنها فعالیت ریزجانداران خاک را تحت تاثیر قرار داده و سبب از دست رفتن حاصلخیزی خاک می‌شود، بلکه باعث بروز تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی رشد گیاهان و در نهایت کاهش عملکرد آن‌ها نیز می‌گردد (۳۹). تاکنون تحقیقات مختلفی بر روی فلزات سنگین در خاک‌های مناطق مختلف ایران صورت گرفته است (۹، ۲۱ و ۶۸). عباسپور و همکاران (۱) آلودگی

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری شیمی و حاصلخیزی خاک، دانشیار، استاد و دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: (Email: s.sefidgar16@gmail.com
DOI: 10.22067/jsw.v32i1.67489

برخی خاکهای کشاورزی ایران به کادمیم و سرب را بررسی کرده‌اند. نتایج این مطالعه نشان می دهد که خاک بسیاری از مزارع مورد مطالعه به سرب و کادمیم آلوده‌اند. از این رو، به منظور احیای مجدد اراضی و حداقل کردن خطر ورود عناصر سمی به زنجیره‌های غذایی، پاکسازی اغلب مکان‌های آلوده به فلزات سنگین امری ضروری است (۷۳). اخیرا روش‌های مختلفی برای پالایش و کاهش سطح این آلاینده‌های سمی پیشنهاد شده است. تثبیت شیمیایی به عنوان یک تکنیک امید بخش می‌تواند تحرک آلاینده‌های سمی در اکوسیستم را کاهش دهد. این تکنیک با استفاده از مواد طبیعی با سطح ویژه زیاد و تمایل شدید جذب برای فلزات سنگین انجام می‌گیرد. برای کاهش انحلال و فراهمی زیستی فلزات سنگین توسط جذب سطحی یا رسوب، مواد شیمیایی و مینرالوژیکی به خاک آلوده اضافه می‌شود (۲). از جمله این مواد بنتونیت، لیکا، زئولیت طبیعی، پومیس و بیوچار هستند. بنتونیت ماده‌ای معدنی است که مخلوط تعدادی زیادی از کانی‌های مختلف رسی و گاها غیر رسی است. مهم‌ترین و عمده‌ترین کانی رسی آن مونت موریلونیت است که خواص بنتونیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۷). پومیس سنگ آذرین آتشفشانی است و دارای ساختمانی متخلخل و سطح ویژه بالایی است. پومیس یک نوع کانی سیلیکاتی غیر کریستالی است و به دلیل آزاد بودن بخش زیادی از سایت‌های سیلیکاتی دارای بار منفی می‌باشد (۲). پومیس دارای ساختمان اسکلتی با کانال‌های باز است که یون‌ها و مولکول‌ها در آن قرار می‌گیرند، به همین دلیل از پومیس برای حذف فلزات سنگین در تصفیه خانه‌ها استفاده می‌شود (۲). واژه لیکا از عبارت Clay Light Expanded (LECA) Aggregate به معنی توده رس منبسط سبک شده گرفته شده است. این توده‌ها از انبساط رس مونت‌موریلونیت در کوره‌های گردان با حرارتی حدود ۱۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به دست می‌آیند. این عمل موجب می‌شود که رس همانند پاپ کورن از درون منبسط شده و خلل و فرج‌دار گردند. دانه‌های حاصل دارای شکل تقریبا گرد و سطح زبر و ناهموارند (۲۸). رنگ پوشش خارجی بستگی زیادی به ماده معدنی و روش کیفیت فرآوری دارد و اغلب نزدیک به رنگ قهوه‌ای است (۵۷). لیکا اسفنج مانند و سطح میکروسکوپی قابل توجهی دارد (۵۷). مکانیسم جذب در سطح کانی‌های رسی به‌شدت به بارهای منفی که در اثر جایگزینی همشکل به وجود آمده است، بستگی دارد (۴۵). کانی زئولیت در طبیعت ممکن است دارای منشا ماگمایی به همراه سنگ‌های آذرین بوده و یا به صورت کانی ثانویه در اثر فرایند دگرسانی تشکیل گردد. ظرفیت تبادل کاتیونی آن‌ها ۱۰۰ تا ۳۰۰ سانتی‌مول‌بار در کیلوگرم خاک گزارش شده است (۲۸). کانی‌های رسی درجه آلودگی‌ها را از طریق جذب و جذب سطحی کنترل می‌کنند. فراوانی کانی‌های رسی در رسوبات باعث تحرک کم فلزات سنگین در این محیط‌ها شده است (۲۴). کانی‌های رسی مونت موریلونیت، آلوفان، کائولینیت، بنتونیت و ایلایت به علت دارا بودن بار الکتریکی منفی و ظرفیت تبادل کاتیونی، به عنوان جاذب فلزات سنگین مورد استفاده قرار می‌گیرند و قادرند عناصر سنگین را جذب و از دسترس گیاه خارج سازند (۶۵). زئولیت‌ها و بنتونیت‌ها به علت سطح ویژه و ظرفیت تبادل کاتیونی زیاد، هزینه کم و دسترسی فراوان، به عنوان مواد موثر جهت کاهش جذب فلزات سنگین در خاک‌های آلوده شناسایی شده‌اند (۲۰). سبری و همکاران (۶۴) تثبیت فلزات سنگین و کاهش آلودگی خاک‌های آلوده توسط زئولیت و بنتونیت را گزارش کردند. کلر و همکاران (۳۱)، نشان دادند که افزایش ۱ درصد زئولیت به خاک، مقدار سرب در برگ‌های گیاه تنباکو را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. طبق نتایج پانوکیو و همکاران (۵۷)، کادمیم جذب شده توسط زئولیت عمدتا به صورت غیر تبادلی بوده، اما قسمت اعظم کادمیم و سرب جذب شده در سطح بنتونیت به شکل تبادلی بود. به عبارت دیگر کانی بنتونیت موثرترین کانی در کاهش جذب سرب توسط آفتابگردان تشخیص داده شد. آبدی و همکاران (۲)، اثر کاربرد پومیس به عنوان اصلاح‌کننده خاک بر روی جذب کادمیم توسط گیاه اسفناج را بررسی نمودند، نتایج ایشان نشان داد که افزودن پومیس به خاک سبب کاهش جذب کادمیم در گیاه شده است. ملکوتیان و همکاران(۴۲)، حذف فلزات سنگین توسط لیکا را بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که لیکا به عنوان یک ماده قابل دسترس، طبیعی و ارزان قیمت می‌تواند جایگزینی برای حذف فلزات سنگین باشد. بیوچار، زغال تهیه شده از زیست توده‌های گیاهی و ضایعات کشاورزی است که سوختن آن‌ها در حضور کم و یا عدم حضور اکسیژن انجام می‌شود (۱۶). بیوچار موادی با تخلخل بسیار بالا و گروه‌های عاملی مختلفی هستند که در جذب سطحی فلزات سنگین موثرند (۴۱). بیوچار سبب افزایش ظرفیت تبادلی کل خاک می‌شود، به‌علاوه باعث افزایش فراهمی عناصر غذایی ماکرو و نیز ظرفیت بالای نگهداشت آب و به دنبال آن بهبود رشد گیاه می‌شود (۳۰ و ۷۰). هوبن و همکاران (۲۵) اثر بیوچار بر فراهمی زیستی سرب، کادمیوم و روی و تولید بیوماس گیاه کلزا را در خاک آلوده بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که فراهمی زیستی غلظت فلزات سنگین سرب، کادمیوم و روی با افزایش مقدار بیوچار کاهش و بیوماس گیاه کلزا افزایش یافته است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که بیوچارها می‌تواند به طور قابل ملاحظه ای برخی از فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب و روی در خاک را تثبیت کنند (۶۰ و ۷۵). با توجه به مطالب گفته شده، در پژوهش حاضر، اثر بیوچار به عنوان یک اصلاح‌کننده آلی و اصلاح‌کننده‌های معدنی همانند لیکا، زئولیت، بنتونیت و پومیس بر جذب سرب در یک خاک آهکی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش

خاک مورد استفاده از منطقه‌ی عاری از آلاینده‌ها جمع‌آوری شد و

پس از هوا خشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی شامل pH و EC در نسبت ۱:۵ خاک به آب (۴۴)، نیتروژن کل به روش کجلدال (۱۱)، فسفر به روش اولسن (۵۴)، پتاسیم با روش فلیم فتومتری (۳۶)، کربن آلی با روش اکسیداسیون (۷۱)، بافت خاک به روش هیدرومتری (۱۷)، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش چاپمن (۱۳) و وزن مخصوص ظاهری به روش کلوخه (۲۶) اندازه‌گیری شد، که این خصوصیات در جدول ۱ آورده شده است. به منظور آلوده‌سازی نمونه‌های خاک با سرب (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مقادیر مناسبی از نمک نیترات سرب در آب مقطر معادل ۷۰ ٪ ظرفیت زراعی حل شد و به نمونه‌های خاک اضافه و به خوبی مخلوط گردید. پس از آلوده شدن خاک و گذشت ۳ ماه و حصول تعادل، به منظور تثبیت درجای سرب توسط اصلاح کننده‌های مختلف یک آزمایش انکوباسیون در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل انواع مختلف اصلاح کننده، بنتونیت، لیکا، پومیس، زئولیت طبیعی، بیوچار تهیه شده در دمای ۶۴۰ و زمان ۳۰ دقیقه از کاه و کلش برنج و بیوچار تهیه شده در دمای ۴۲۰ و زمان ۲ ساعت از کاه و کلش برنج بوده است. بنتونیت از شرکت زرین خاک قائن، لیکا از کارخانه لیکا کیلومتر ۱۰۵ جاده قدیم تهران – ساوه، ، پومیس از کارخانه پارس پومیس واقع در استان آذربایجان شرقی شهرستان اسکو و زئولیت طبیعی از شرکت افرند توسکا تهران تهیه شدند. بیوچارها نیز در آزمایشگاه در کوره الکتریکی و در حضور کم اکسیژن تهیه شدند.pH و EC بیوچار در نسبت خاک به آب ۱ به ۱۰ اندازه‌گیری شد. آنالیز بیوچار تولید شده در جدول ۱ آورده شده است. پس از فرایند پیرولیز، بیوچارها از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شدند. خاک آلوده به سرب با نسبت‌های ۱ درصد و ۵ درصد وزنی از هریک از اصلاح‌کننده‌ها به خوبی مخلوط گردید و همراه با خاک شاهد (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و بدون تیمار با اصلاح‌کننده) به مدت ۳ ماه در گلدان-های پلاستیکی در شرایط رطوبت معادل ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و تحت شرایط ثابت گلخانه‌ای نگه‌داری شد. پس از ۱۲ هفته از شروع انکوباسیون، از هر تیمار، نمونه‌های ۵۰ گرمی برداشته شد و زیست فراهمی سرب توسط عصاره‌گیرهای شیمیایی همانند DTPA (۳۷) و EDTA (۳۴) اندازه‌گیری شد. پس از برداشت ۵۰ گرم، در خاک باقیمانده ۵ عدد بذر ذرت (*Zea mays L*) قرار داده شد و پس از استقرار گیاهان، شمار بوته‌ها به ۳ عدد تنک گردید. گیاهان به مدت ۱۲ هفته در شرایط ثابت گلخانه‌ای و در رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نگه‌داری شدند. گیاهان پس از ۱۲۰ روز برداشت شدند. ریشه‌ها و اندام هوایی به طور جداگانه در پاکت قرار گرفتند. ویژگی‌های رویشی اندازه گرفته شده در این آزمایش، شامل سطح برگ و وزن خشک ریشه و اندام هوایی است. گیاهان پس از جدا شدن از ناحیه طوقه به دو قسمت ریشه و اندام هوایی تفکیک شدند. ریشه‌ها و اندام هوایی پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند تا وزن آن‌ها به حد ثابتی رسید. سپس نمومه‌ها توزین و به‌وسیله آسیاب پودر گردیدند و غلظت سرب در ریشه، برگ و ساقه اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است، قبل از برداشت گیاهان ارتفاع ساقه، تعداد برگ، شاخص سبزینگی برگ (SPAD) اندازه‌گیری شدند. به منظور اندازه‌گیری غلظت کلروفیل‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنویید) و فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپر اکسید دسموتاز(SOD)، پراکسیداز(PX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (ASP) نمونه‌گیری از برگ‌های جوان و توسعه یافته در پایان فصل رشد یعنی ۱۲۰ روز بعد از کشت صورت پذیرفت. غلظت کلروفیل‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) به روش پورا (۵۹)، کارتنوئید به روش رازمجو (۶۲) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپر اکسید دسموتاز(SOD) به روش مینامی و یوشیکاوا (۴۸)، کاتالاز (CAT) به روش ابی (۵)، پراکسیداز(PX) به روش گو و لنهوف (۵۲) و آسکوربات پراکسیداز (ASP) به روش ناکانو و آسادا (۵۰) اندازه‌گیری شد.

تعیین مقدار سرب در گیاه: برای اندازه‌گیری سرب در ریشه و برگ ذرت از روش هضم تر با استفاده از اسید نیتریک غلیظ، اسید پرکلریدریک و اسید سولفوریک استفاده گردید(۲۳).

نتایج آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار (۱ .۹) SAS انجام شد و برای رسم نمودارها و گراف‌ها از نرم‌افزار Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD (در سطح ۵ درصد) استفاده شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در این آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از آزمایش‌های خاک نشان داد که بافت خاک مورد مطالعه سیلتی لوم و مقادیر پتاسیم و فسفر قابل جذب به ترتیب۲۵۷ و ۱۴/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نیتروژن ۰/۱۳ درصد خاک را تشکیل می‌دهد. مقدار ماده آلی در خاک مورد مطالعه ۱/۸ درصد بود. همچنین مقدار آهک معادل خاک ۵/۲ درصد محاسبه شد.

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر زیست فراهمی سرب در خاک

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر سرب عصاره‌گیری شده با DTPA و EDTA در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کاربرد اصلاح‌کننده‌های آلی و معدنی غلظت سرب عصاره گیری شده با DTPA را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش دادند.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و اصلاح‌کننده‌های مورد مطالعه

Table 1- Selected physical and chemical properties of soil and amendments studied

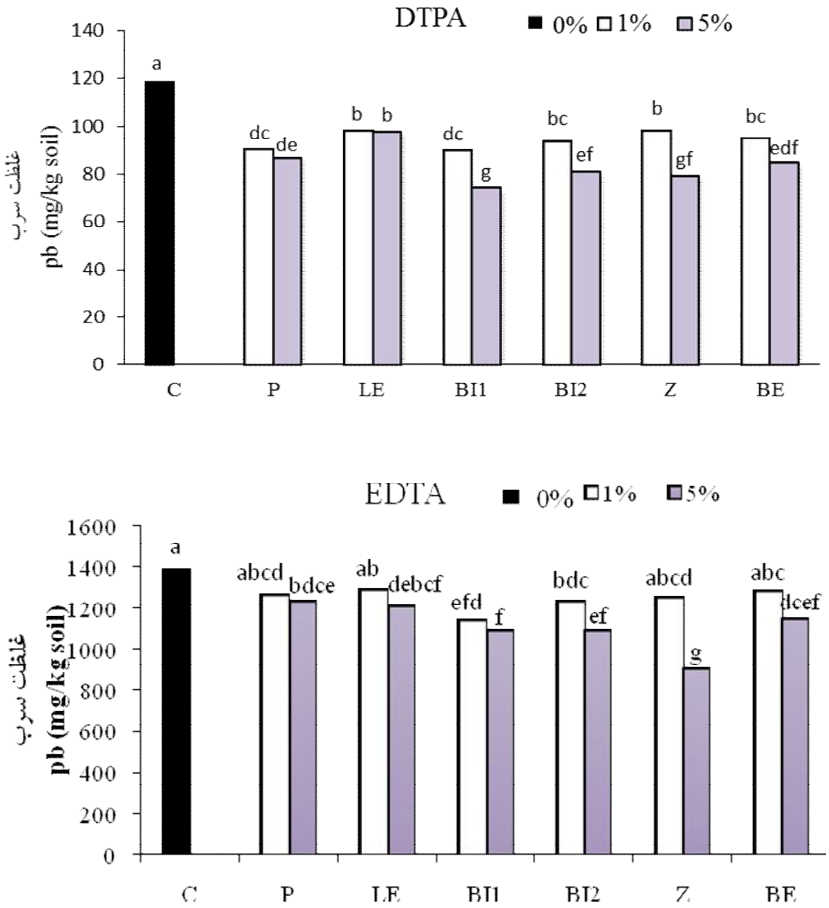
پارامتر Parameter	واحد Unit	خاک Soil	پومیس Pumice	لیکا Leca	زئولیت Zeolite	بنتونیت Bentonite	۴۲۰°C بیوچار Biochar 420°C	بیوچار۶۴۰°C Biochar 640°C
pH		7.2	7.2	11.5	8.2	8.1	7.4	8.3
EC	$dS\ m^{-1}$	0.68	2.6	4.7	0.8	4.5	7.9	9.3
Clay رس	%	27.5	-	-	-	-	-	-
Silt سیلت	%	57.5	-	-	-	-	-	-
Sand شن	%	15	-	-	-	-	-	-
Textural class کلاس بافت خاک	-	Silt loam	-	-	-	-	-	-
Bulk density چگالی	$g\ cm^{-3}$	1.47	-	-	-	-	-	-
CEC	$cmol_+\ kg^{-1}$	19.8	28	26.8	33.4	24.9	66.1	67.3
CCE	%	5.2	2.13	7.93	4.96	6.13	3.2	0.966
Organic carbon کربن آلی	%	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0	38.4	30.5
Total nitrogen نیتروژن کل	%	0.13	-	-	-	-	-	-
P فسفر	$mg\ kg^{-1}$	14.6	-	-	-	-	-	-
K پتاسیم	$mg\ kg^{-1}$	257	-	-	-	-	-	-
Pb سرب	$mg\ kg^{-1}$	1500[a]	4.6	4.1	5.2	4.3	2.1	1.3

CEC: ظرفیت تبادل کاتیونی، CCE: کربنات کلسیم معادل، ([a]) مقدار سرب کل خاک آلوده، (-): اندازه‌گیری نشده است

CEC: cation exchange capacity, CCE: calcium carbonates equivalent, [a] Total amount of lead contaminated soil, (-): not measured

بیشترین کاهش غلظت سرب عصاره‌گیری شده با DTPA مربوط به تیمار بیوچار ۶۴۰ در سطح ۵ درصد است که ۳۷/۷۱ درصد نسبت به شاهد کمتر بود. همچنین کاربرد اصلاح کننده‌های آلی (بیوچار ۴۲۰ و ۶۴۰) و سطح ۵ درصد اصلاح کننده‌های معدنی (پومیس، لیکا، زئولیت و بنتونیت) سبب کاهش معنی‌دار غلظت سرب عصاره گیری شده با EDTA در مقایسه با تیمار شاهد شدند. بیشترین کاهش غلظت سرب عصاره‌گیری شده باEDTA مربوط به سطح ۵ درصد تیمار زئولیت است که ۳۴/۴ درصد نسبت به شاهد کمتر بود. نتایج این مطالعه با نتایج مندز و همکاران (۴۷)، لو و همکاران (۴۰) و فلت و همکاران (۱۹) مطابقت داشت. زئولیت، لیکا، بنتونیت و پومیس ممکن است به علت pH بالا و کلسیم کربنات معادل بالا، سبب کاهش غلظت سرب عصاره‌گیری شده با DTPA شوند (جدول ۱). زئولیت، لیکا، بنتونیت و پومیس حلالیت فلزات را با افزایش جذب سطحی و یا رسوب کاهش می‌دهند که جذب سطحی به شدت وابسته به pH است (۶۴). کاربرد اصلاح کننده‌های آلی (بیوچار ۴۲۰ و ۶۴۰) و اصلاح کننده‌های معدنی (لیکا، زئولیت و بنتونیت) سبب افزایش معنی‌دار pH خاک در مقایسه با تیمار شاهد شدند جدول(۲). افزایش pH خاک توسط اصلاح‌کننده‌ها یکی از روش‌های اصلی تثبیت سرب در خاک‌ها است (۶، ۳۳ و ۴۳). تجزیه اصلاح‌کننده‌های آهکی سبب آزاد شدن یون‌های هیدروکسیل OH^-و افزایش pH خاک می‌شود و باعث کاهش حلالیت سرب می‌شود که احتمالا به علت تشکیل $Pb(OH)_2$ در pH ~ ۸ است (۳۸). گو و همکاران (۲۲) نشان دادند که بیوچارها می‌توانند از طریق جذب سطحی و رسوب، سرب را تثبیت و در نتیجه آن گونه‌های محلول سرب به شکل گونه-

های پایدارتر همانند هیدروکسی پایروموفایت تغییر شکل دهند. در طی تولید بیوچار، مواد آلی پیرولیز و مقدار کربنات افزایش می‌یابد و دامنه وسیعی از گروه‌های عاملی همانند $-COO^-$ و O^- در سطح بیوچار ایجاد می‌شود (۳۲)، بنابراین پس از پیرولیز، بیوچارها به مواد قلیایی تبدیل می‌شوند که با اضافه شدن به خاک، pH خاک را افزایش می‌دهند و بارهای سطحی منفی ایجاد می‌شود که کاتیون‌ها می‌توانند جذب شوند (۷۴). مطالعه حاضر نشان داد که اثر بیوچار روی تثبیت فلزات سنگین در خاک ممکن تحت تاثیر شرایط پیرولیز و مقادیر کاربرد بیوچار قرار گیرد. از آنجایی که بیشتر بیوچارها دارای سطح ویژه بالا، ساختار متخلل، pH بالا و برخی از نمک‌های محلول هستند، آن‌ها می‌توانند به طور قابل توجهی حلالیت فلزات سنگین در خاک را از طریق جذب سطحی و رسوب کاهش دهند (۷۴ و ۷۶). زانگ و همکاران (۷۶) از بیوچار برای تثبیت سرب و فلزات سنگین در خاک استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان حذف سرب در حضور بیوچار انجام گرفته است. لو و همکاران (۴۱) اثر دو نوع بیوچار که از کاه برنج و بامبو تولید شده بودند را بر جذب سرب در خاک آلوده بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بیوچار تهیه شده از کاه برنج در جذب سرب موثرتر بوده است. میزان سرب عصاره گیری شده با EDTA بیشتر از DTPA بود (شکل ۱). هردو عصاره گیر EDTA و DTPA دارای لیگاندهای آلی هستند که قارد به تشکیل کمپلکس های قوی با فلزات هستند (۶۱). برخلافDTPA ، عصاره گیر EDTAقادر به استخراج فلزات پیوندیافته با کربنات ها و مواد آلی نیز می باشد. بنابراین، توانایی بالاتری در استخراج نسبت به DTPA دارد(۵۱). مک گراث (۴۶) نیز بیان می کند که EDTA قادر به فلزات پیوند یافته با کربنات ها است لکن DTPA بدلیل بافر شدن با CaCl2 و تری اتانول آمین انحلال کربنات کلسیم به حداقل می‌رسد.



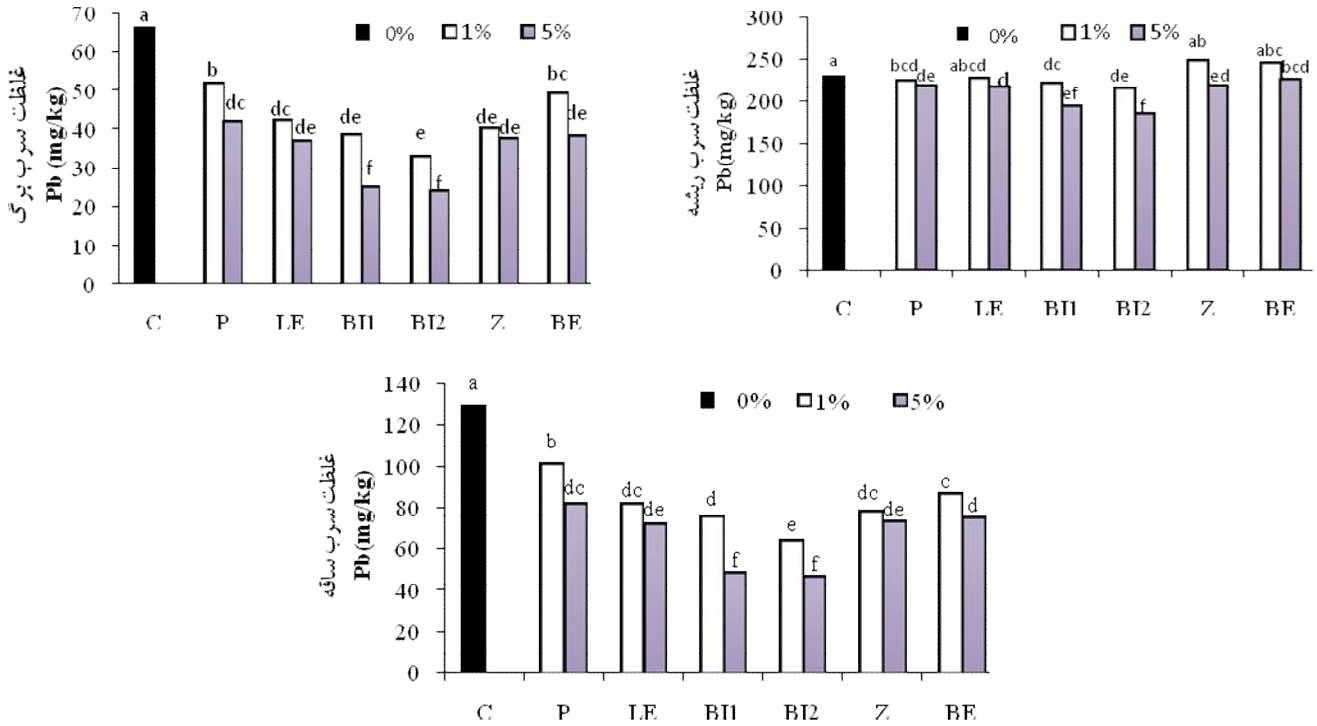
شکل ۱- پتانسیل زیست فراهمی سرب در خاک اصلاح نشده شاهد (C) و خاک‌های اصلاح شده با پومیس (P)، لیکا (LE)، بیوچار تهیه شده در دمای ٦٤٠ درجه سانتی‌گراد (BI1)، بیوچار تهیه شده در دمای ٤٢٠ درجه سانتی‌گراد (BI2)، زئولیت (Z) و بنتونیت(BE) اندازه‌گیری شده توسط دو عصاره‌گیر DTPA و EDTA

Figure 1- Pb potential bioavailability in non-amended (C) soil and soils amended with pumice (P), leca (LE), biochar 640°C (BI1), biochar 420°C (BI2), zeolite (Z), bentonite (BE) assessed by DTPA and EDTA extractions

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر غلظت سرب در گیاه

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که همه تیمارها بـه طـور معنی‌داری غلظت سرب را در برگ و ساقه گیاه ذرت نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۲). همچنین با افزایش مقدار اصلاح‌کننده‌هـا در خاک از ۱ درصد به ۵ درصد مقدار سرب در برگ و ساقه گیاه کاهش معنی‌داری یافت. سطح ۵ درصـد تیمـار بیوچـار ۴۲۰ و بیوچـار ۶۴۰ بیشترین تاثیر کاهشی را در غلظت سرب در برگ و ساقه گیـاه ذرت داشت. چنان که غلظت سرب در برگ گیاه با کاربرد این تیمارها بـه ترتیب با حدود۶۳ درصد و۶۲ درصد از ۶۶ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم در تیمار شاهد به ترتیب به ۲۴ و ۲۴/۹۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش به طور معنی‌داری یافت. همچنین کاربرد اصلاح کننده‌های آلی (بیوچار ۴۲۰ و ۶۴۰)، سطح ۵ درصد اصلاح کننده‌های معدنی (پومیس، لیکا، زئولیت و بنتونیت) و سطح ۱ درصد پومیس سـبب کـاهش معنـی‌دار غلظت سرب ریشه گیاه ذرت در مقایسه با تیمار شاهد شدند (شـکل ۲).

بیشترین کاهش غلظت سرب در ریشـه گیـاه مربـوط بـه تیمـار بیوچار ۴۲۰ در سطح ۵ درصد است که ۱۸/۸۶ درصد نسبت به شاهد کمتر است. سبری و همکاران (۶۴) کاربرد زئولیت، بنتونیت و بیوچار بر غلظت سرب در اندام هوایی گیاه کلزا را بررسی و گـزارش کردنـد که کاربرد بیوچار و بنتونیت غلظت سرب در گیاه را به ترتیب ۶۲/۷ و ۵۸/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. کاهش غلظـت سـرب در گیاهان در حضور اصلاح‌کننده‌ها ممکـن اسـت بـه دلیـل تثبیـت زیستی فلزات و اثر رقت ناشی از افزایش بیوماس گیاهی ایجاد شـود (۵۸). کیم و همکاران (۳۲) با بررسی اثر سطوح مختلـف بیوچـار بـر گیاه کاهو گزارش کردند که کاربرد این مواد غلظت سرب در بخـش هوایی گیاه را ۶۰ درصد نسبت به تیمار شـاهد کـاهش داد. زنـگ و همکاران (۷۷) گزارش کردند سطح ۵ درصد بیوچار تهیه شده از کـاه سبب بیشترین کاهش را در غلظت مس و سرب در ساقه گیـاه بـرنج داشت. غلظت سرب در ساقه ۲-۴ برابر کمتر از ریشه بود (شکل ۲)، که نشان دهنده میزان انتقال کم سرب است. سرب بـه دو دلیـل در ریشه نسبت به ساقه بیشتراست: ۱) سرب به جایگاه تبـادل یـونی در سطح ریشه متصل می‌شود ۲) در دیواره سلولی خارجی و عمومـا بـه صورت فسفات سرب رسوب می‌کند (۵۵). همچنین سرب همیشه به اندودرم ریشه نفوذ نمی‌کند تا وارد آوند شود زیرا اندودرم بـه عنـوان یک مانع برای جذب و نفوذ سرب به داخـل سـلول و انتقـال آن بـه بخش هـوایی گیاهـان عمـل مـی‌کنـد (۷۲). تغییـر در خصوصـیات ریزوسفری خـاک کـه توسـط ترشـحات ریشـه‌ای ایجـاد مـی‌شـود (آمینواسیدها، قندها، اسیدهای آلی، پپتیـدها، پـروتیین‌هـا و غیـره) و اصلاح‌کننده‌ها ممکن است به طور معنی‌داری بـر تحـرک، فراهمـی زیستی و انتقال فلزات سمی تاثیر بگذارد (۸).



شکل ۲- اثر کابرد اصلاح‌کننده‌های مختلف بر تجمع زیستی سرب در ساقه، برگ و ریشه گیاه ذرت

Figure 2- Effect application of different amendments on Pb bioaccumulation in the shoots, leaves and roots of maize plant

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر پارامترهای رشدی گیاه

اثر تیمارهای مورد مطالعه بر پارامترهای رشدی گیاه همانند ارتفاع گیاه، تعداد برگ، شاخص سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه در جدول ۲ نمایش داده شده است. همه تیمارها به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی و شاخص سطح برگ گیاه را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (جدول ۲). بیشترین افزایش در مقدار وزن خشک اندام هوایی و شاخص سطح برگ گیاه در سطح ۵ درصد تیمار بیوچار ۴۲۰ مشاهده شد که به ترتیب ۶۳۴ و ۳۶۶ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافتند. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد اصلاح‌کننده‌های آلی (بیوچار ۴۲۰ و بیوچار ۶۴۰)، اصلاح-کننده‌های معدنی (پومیس، لیکا، زئولیت) و سطح ۵ درصد بنتونیت وزن خشک ریشه، ارتفاع گیاه و تعداد برگ گیاه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۲). بیشترین افزایش در مقدار وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه مربوط به تیمار بیوچار ۴۲۰ در سطح ۵ درصد است که به ترتیب ۴۷۳ و ۱۶۸ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. سطح ۵ درصد تیمار بیوچار ۶۴۰ بیشترین اثر افزایشی را بر تعداد برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد نشان داد. افزایش در رشد و بیوماس گیاه ذرت در اثر کاربرد اصلاح‌کننده‌های مختلف می تواند به علت کاهش غلظت سرب و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ‌ها باشد (شکل ۲ و ۳). احمد و همکاران (۷) اثر کاربرد بیوچار بر بیوماس گیاه ذرت را بررسی و گزارش کردند که کاربرد این مواد بیوماس گیاه را به طور معنی‌داری نسبت به سطح شاهد افزایش داد.

جدول ۲- اثر کاربرد اصلاح‌کننده‌های مختلف بر pH و پارامترهای رشدی و وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ذرت

Table 2- Effect of different amendments on soil pH and plant growth parameters and biomass of maize plant

تیمار	سطح	pH	وزن خشک	(گرم بر گلدان)	ارتفاع ساقه	تعداد برگ	شاخص سطح برگ
	Level		Weight (g/pot)	Dry	Plant height	Number of leaf	Leave area index
treatment	%		biomass	Root	(cm)		(cm^2/pot)
شاهد control	0	7.25^{f}	3.28^{f}	0.923^{h}	46.54^{f}	4.33^{e}	810.8^{i}
بیوچار ۴۲۰ Biochar 420	1	7.31^{e}	17.89^{bc}	2.16^{e}	103.08^{b}	6^{dc}	1530^{h}
بیوچار ۴۲۰ Biochar 420	5	7.312^{e}	24.14^{a}	5.29^{a}	124.79^{a}	7.44^{b}	3783^{a}
بیوچار ۶۴۰ Biochar 640	1	7.53^{d}	13.12^{d}	1.62^{gf}	99.5^{bc}	6.94^{bc}	2535^{ef}
بیوچار ۶۴۰ Biochar 640	5	7.7^{c}	19.45^{b}	3.96^{b}	120^{a}	8.66^{a}	3435^{b}
زئولیت Zeolite	1	7.53^{d}	12.89^{d}	2.96^{d}	99.08^{bc}	7^{bc}	2977^{cd}
زئولیت Zeolite	5	7.69^{c}	19.68^{b}	3.55^{bc}	97.64^{bc}	7^{bc}	2453^{ef}
بنتونیت Bentonite	1	7.52^{d}	9.1^{e}	1.17^{gh}	59.154^{f}	5^{de}	1215^{h}
بنتونیت Bentonite	5	7.68^{c}	17.13^{c}	3.15^{dc}	92.154^{dbc}	7^{bc}	2415^{ef}
پومیس Pumice	1	7.27^{ef}	12.15^{d}	1.41^{gh}	77.77^{e}	6.66^{bc}	1908^{g}
پومیس Pumice	5	7.29^{ef}	16.73^{c}	2.05^{ef}	82.05^{de}	6.88^{bc}	2272^{f}
لیکا Leca	1	7.93^{b}	13.57^{d}	1.48^{g}	91.16^{dbce}	7^{bc}	2685^{ed}
لیکا Leca	5	8.24^{a}	16.9^{c}	2.74^{d}	89^{dec}	7.33^{b}	3021^{c}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbersfollowed by the same letter are not significantly differents ($P<0.05$)

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص سبزینگی (SPAD)

نتایج نشان داد، همه تیمارها (به جز سطح ۱ درصد تیمارهای پومیس و بنتونیت) اثر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بر رنگدانه‌های فتوسنتزی همانند کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنویید داشتند(جدول ۳). بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به تیمار بنتونیت در سطح ۵ درصد است که به ترتیب ۱۰۰، ۱۰۶ و ۱۰۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند. بیشترین غلظت کارتنویید در سطح ۱ درصد تیمار بیوچار ۴۲۰ مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار شاخص سبزینگی برگ مربوط به تیمار بیوچار ۶۴۰ در سطح ۵ درصد بود که ۱۲۹ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. افزایش در رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص سبزینگی ممکن است به دلیل افزایش عملکرد گیاه و کاهش غلظت سرب در برگ‌ها باشد (۳). چرا که افزایش غلظت سرب در گیاه مانع سنتز کلروفیل می‌شود. سرب با جلوگیری از جذب آهن و منیزیم مانع سنتز کلروفیل در گیاه می‌شود (۶۷). باروانا و همکاران (۱۰) کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی همانند کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنویید و شاخص سبزینگی را با افزایش غلظت سرب مشاهده کردند.

جدول ۳- اثر کاربرد اصلاح‌کننده‌های مختلف بر رنگدانه‌های فتوسنتزی [کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنویید] و شاخص سبزینگی گیاه ذرت

Table 3- Effect aplication of different amendments on photosynthetic pigments [Chl a, b, total Chl and carotenoids], and SPAD value of maize plant.

تیمار	سطح	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنویید	شاخص سبزینگی
		میلی‌گرم بر گرم ماده خشک	میلی‌گرم بر گرم ماده خشک	میلی‌گرم بر گرم ماده خشک	میلی‌گرم بر گرم ماده خشک	
treatment	Level	Chl a mg g−1 FW	Chl b mg g−1 FW	Total chl mg g−1 FW	carotenoids mg g−1 FW	SPAD value
شاهد Control	0	2.18^{g}	1.07^{g}	3.27^{h}	7.31^{i}	3.48^{h}
بیوچار ۴۲۰ Biochar 420	1	3.81^{b}	1.9^{b}	5.326^{b}	12.813^{a}	5.1^{ecdf}
بیوچار ۴۲۰ Biochar 420	5	3.39^{c}	1.73^{c}	5.14^{c}	12.126^{b}	6.64^{b}
بیوچار ۶۴۰ Biochar 640	1	3.02^{d}	1.49^{d}	4.52^{de}	9.74^{f}	4.64^{egf}
بیوچار ۶۴۰ Biochar 640	5	3.48^{c}	1.77^{c}	5.32^{c}	11.09^{d}	7.98^{a}
زئولیت Zeolite	1	2.98^{d}	1.49^{d}	4.53^{d}	10.49^{e}	4.75^{egf}
زئولیت Zeolite	5	3.36^{b}	1.91^{b}	5.75^{b}	10.51^{e}	5.195^{ecd}
بنتونیت Bentonite	1	2.26^{g}	1.11^{g}	3.4^{h}	8.29^{h}	3.59^{h}
بنتونیت Bentonite	5	4.37^{a}	2.21^{a}	6.61^{a}	11.49^{c}	5.341^{dc}
پومیس Pumice	1	2.21^{g}	1.1^{g}	3.34^{h}	8.12^{h}	4.52^{g}
پومیس Pumice	5	2.51^{f}	1.24^{f}	3.77^{g}	9.09^{g}	5.01^{egfd}
لیکا Leca	1	2.82^{e}	1.44^{de}	4.33^{ef}	9.76^{f}	4.6^{gf}
لیکا Leca	5	2.77^{e}	1.38^{e}	4.19^{f}	9.92^{f}	5.6^{c}

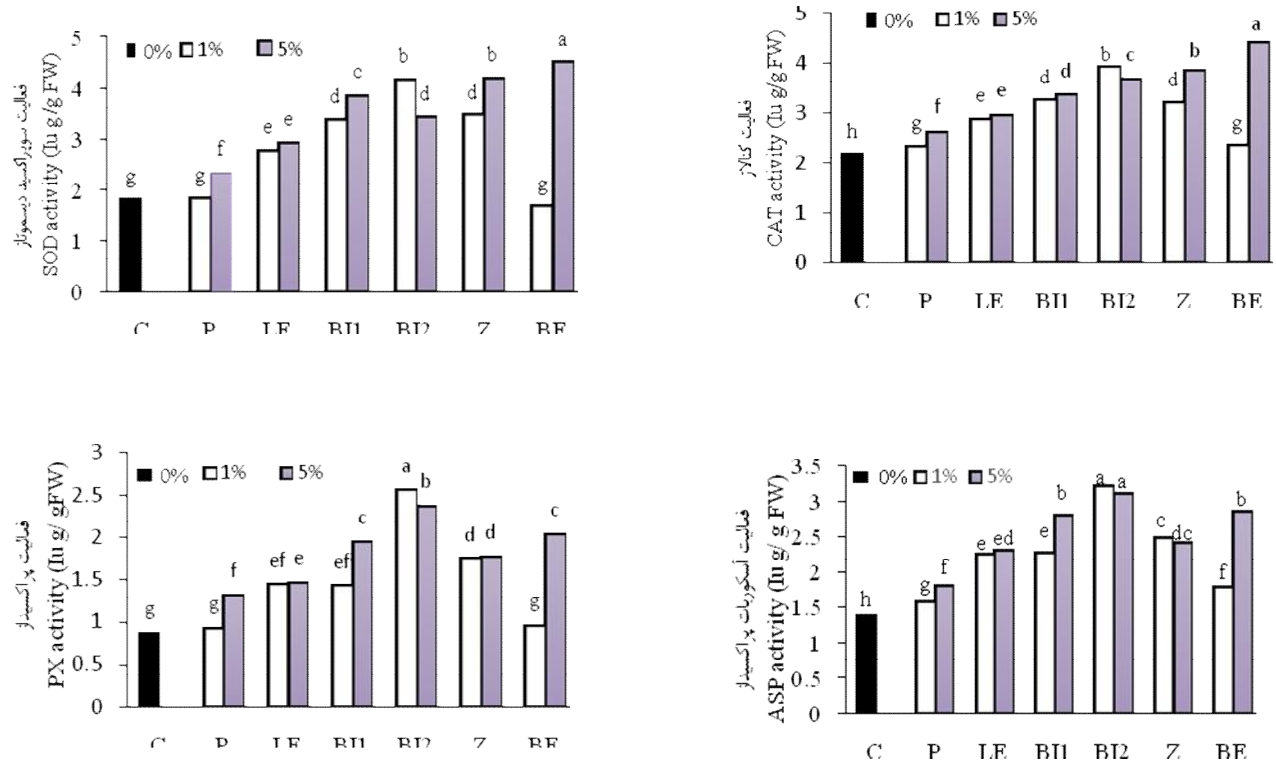
اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differents ($P<0.05$)

اثر اصلاح‌کننده‌ها بر فعالیت آنزیم‌ها

اثر تیمارهای مورد مطالعه بر فعالیت آنـزیم‌هـای SOD، CAT، PX و ASP در شکل ۳ نمایش داده شده است. نتایج حاصل از ایـن آزمایش نشان داد که همه تیمار (به جز سطح ۱ درصد تیمار پومیس و بنتونیت) اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و PX در برگ گیـاه ذرت نسـبت بـه تیمـار شـاهد دارنـد (شـکل ۳). بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در سطح ۵ درصـد بنتونیت مشاهده شد. چانکه با کاربرد این تیمـار فعالیـت آنـزیم‌هـای SOD و CAT به ترتیب ۱۴۷ و ۱۰۱ درصد نسبت بـه تیمـار شـاهد افزایش یافت. سطح ۱درصد بیوچار ۴۲۰ بیشترین فعالیت آنـزیم PX را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. چانکه فعالیت آنزیم PX با کـاربرد این تیمار حدود ۱۹۷ درصد نسبت بـه تیمـار شـاهد افـزایش یافـت. تمامی تیمارها به طورمعنی‌داری فعالیت آنزیم ASP را در برگ گیـاه نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (شکل ۳). بیشترین میزان فعالیت آنزیم ASP مربوط به تیمار بیوچار ۴۲۰ در سطح ۱ درصد است کـه ۱۲۳ درصد نسبت تیمار شاهد افزایش یافت.

افزایش فعالیت آنزیم‌ها در حضور اصلاح‌کننده‌ها ممکن است به دلیل کاهش غلظت سرب در برگ‌ها باشد چرا کـه افـزایش غلظـت فلزات سنگین سبب تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد و رادیکال سـوپر اکسید (ROS) می‌شود که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در گیاهـان می‌شود (۶۶). ROS می تواند لیپید ها، پـروتئین هـا، رنگدانـه هـا و اسیدهای نوکلئیک غشاء را از بـین ببـرد و گیـاه بـرای جلـوگیری از اثرات نامطلوب استرس اکسیداتیو یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در سلول ها ایجاد می کند (۱۲). گیاهانی که در معرض سـرب قـرار می‌گیرند به‌دلیل فعالیت نامناسب سیستم‌های آنتی‌اکسـیدانتی سـبب ایجاد آسـیب‌هـای اکسـیداتیو مـی‌شـوند (۴۹). سیسـتم آنـزیم‌هـای آنتی‌اکسیدانتی یکی از مکانیسم‌های مثبت در گیاهان است. افـزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در گیاهـان نشـان دهنـده تشـکیل ROS است.



شکل ۳- کاربرد اصلاح‌کننده‌های مختلف بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (PX) و آسکوربات پراکسیداز (ASP) در برگ گیاه ذرت

Figure 3- Application of different amendments on activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (PX) and ascorbate peroxidase (ASP) in leaves of maize plant

SOD اولین خط دفاعی سلول در برابر ROS است و سریعا رادیکال سوپر اکسید را به هیدروژن پراکسید و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و به دنبال آن هیدروژن پراکسید توسط پرکسیداز و کاتلاز و یا در کلروپلاست به وسیله آسکوربات پراکسیداز به مولکول آب و اکسیژن تبدیل می‌شود (۴۳). سیچو و همکاران (۶۹) با بررسی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گیاه Coronopus didymus با غلظت‌های ۵۰۰، ۹۰۰، ۱۸۰۰ و ۲۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در خاک نشان دادند که در همه تیمارها میزان فعالیت آنزیم افزایش، ولی با افزایش غلظت سرب میزان فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت آنزیم در غلظت‌های بالا احتمالا به‌دلیل افزایش تولید H_2O_2 در سلول، غیر فعال شدن آنزیم توسط H_2O_2 و یا اتصال سرب به جایگاه فعال آنزیم می‌باشد و در نتیجه فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد کاربرد اصلاح‌کننده آلی و معدنی در خاک آلوده به سرب مقدار سرب عصاره‌گیری شده با DTPA و EDTA را که شاخصی از زیست فراهمی عنصر می‌باشد، کاهش دادند. همینطور اصلاح‌کننده‌ها با تثبیت سرب، غلظت سرب را در برگ، ساقه و ریشه گیاه ذرت کاهش دادند. بنابر نتایج این مطالعه تیمارهای اعمال شده سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای رشدی گیاه همانند وزن خشک ریشه و اندام هوایی ، ارتفاع گیاه، تعداد برگ و شاخص سطح برگ شد. بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح ۵ درصد تیمار بنتونیت و بالاترین غلظت کارتنویید در بیوچار ۴۲۰ مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار شاخص سبزینگی برگ مربوط به تیمار بیوچار ۶۴۰ در سطح ۵ درصد بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه همانند SOD، CAT، PX و ASP در اصلاح‌کننده‌های آلی و معدنی (به استثنای سطح ۱درصد تیمارهای پومیس و بنتونیت) به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود.

منابع

1- Abbaspour A., Calabash M., Hajj Rassouli S., and Golchin A. 2005. Investigation of contamination of Iranian agricultural soils with Cd and Pb.10TH Iranian soil science congress, 1:543-545.
2- Abedi-Koupai J., Mollaei R., and Eslamian S. 2015. The effect of pumice on reduction of cadmium uptake by spinach irrigated with wastewater. Ecohydrology & Hydrobiology, 15: 208-214.
3- Adrees M., Ali S., Iqbal M., Bharwana A., Siddiqi Z., Farid M., Ali Q., Saeed R., and Rizwan M. 2015. Mannitol alleviates chromium toxicity in wheat plants in relation to growth, yield, stimulation of anti-oxidative enzymes, oxidative stress and Cr uptake in sand and soil media. Ecotoxicology and Environmental Safety, 122:1-8.
4- Adriano D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments; Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer-Verlag. New York.
5- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol, 105:121–126.
6- Ahmad M., Hashimoto Y., Moon D.H., Lee S.S., and Ok Y.S. 2012. Immobilization of lead in a Korean military shooting range soil using eggshell waste: an integrated mechanistic approach. Journal. Hazard. Mater, 209–210:392–401.
7- Ahmad M., Lee S.S., Lim J.E., Lee S.E., Cho J.S., Moon D.H., Hashimoto Y., and Ok Y. 2014. Speciation and phytoavailability of lead and antimony in a small arms range soil amended with mussel shell, cow bone and biochar: EXAFS spectroscopy and chemical extractions. Chemosphere, 95:433–441.
8- Arienzo M., Adamo P., and Cozzolino V. 2003. The potential of Lolium perenne for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. Science of the Total Environment, 319:13–25.
9- Barzin M., Kheirabadi H., and Ephiunei M. 2015. Investigation of contamination of some heavy metals in surface soils of Hamedan province using pollution indices Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources, 72: 69-79.
10- Bharwana S.A., Ali A., Farooq M.A., Iqbal N., Hameed A., Abbas F., and Ahmad M.S. 2014. Glycine betaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. Turkish Journal of Botany, 38:281-292.

11- Bremener J.M., and Mulvaney C.S. 1982. Nitrogen-area. Methods of soil analysis. Pt- 2. Chemical and microbiological properties. In: Page A.L., Miller R.H., Keeney D.R. (Eds.), Agronomy Monograph 9. Am. Soc. Agron., Madison, WI.
12- Briat J.F. 2002. Metal ion activated oxidative stress and its control. In: Inze, D., Montagu, M. (Eds.), Oxidative Stress in Plants. Taylor and Francis, London.
13- Chapman H.D. 1965. Cation exchange capacity. In: Methods of Soil Analysis. Part II. Black, C.A. (Ed). American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
14- Chen M., and Ma L. 2001. Comparison of three aqua regia digestion methods for twenty Florida soils. Soil Science Society of America Journal, 65:499–510.
15- Chirakkara R.A., and Reddy K.R. 2015. Biomass and chemical amendments for enhanced phytoremediationof mixed contaminated soils. Ecological Engineering, 85:265–274.
16- Cui L., Pan G., Li L., Bian R., Liu X., Yan J., Quan G., Ding C., Chen T., Liu Y., Yin C., Wei C., Yang Y., and Hussain Q. 2016. Continuous immobilization of cadmium and lead in biochar amended contaminated paddy soil: A five-year field experiment. Ecological Engineering, 93:1–8.
17- Day, P.R. 1955. Particle fractionation and particle-size analysis. In: Black, C.A. (Ed), Method of soil analysis. Part I. Agronomy 9, Soil Science Society. America. Madison, WI.
18- Dilek Demirezen Y., and Parlak K.U. 2011. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in Groenlandia densa under cadmium stress. Ecological Indicators, 11:417-423.
19- Fellet G., Marchiol L., Delle Vedove G., and Peressotti A. 2011. Application of biochar on mine tailings: effects and perspectives for land reclamation. Chemosphere, 83:1262–1267.
20- Garcia-Sanchez A., Alastuey A., and Querol X. 1999. Heavy metal adsorption by different minerals: Application to the remediation of polluted soils. Science of the Total Environment, 242:179-188.
21- Golchin A. 2003. Industrial activities and contamination of agricultural soils with heavy metals. 8TH Iranian soil science congress, 2:776-779.
22- Gu H.H., Zhan S.S., Wang S.Z., Tang Y.T., Chaney R.L., Fang X.H., Cai X.D., and Qiu R.L. 2012. Silicon-mediated amelioration of zinc toxicity in rice (Oryza sativaL.) seedlings. Plant Soil, 350: 193–204.
23- Gupta P.K. 2000. Soil, Plant, Water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi, India.
24- Hamzeh M. 2006. Geochemical and environmental markers in the urban area of Kerman. Thesis M.Sc. degree, Shahid Bahonar University of Kerman and the International Center for Advanced Technology and Science, pp 387.
25- Houben D., Evrard L., and Sonnet P.H. 2013. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (Brassica napus L.). Biomass & Bioenergy, 57:196- 204.
26- Jafari Haghighi M., 2003. Methods of soil analysis, sampling and analysis of important physiochemical properties with emphasis on theory and application principles. Nedaye Zoha Publication.
27- Jazayeri S.H., Hayati Ashtiani M., Ashrafizadeh S.N., Ghannadi Maragheh M., and Nozad Golikand A. 2010. Heavy Metal Removal from Synthetics Wastes by Natural and Acid-Activated Bentonites. Journal of Nuclear Science and Technology, 51:18-27. (in Persian with English abstract)
28- Judy Z., and Movahedi Naeini S.A.R. 2007. Effects of leca, zeolite and compost on soil moisture and evaporation. Journal Agriculture Science Natural Resource, 14 (2). (in Persian with English abstract)
29- Kabata-Pendias A. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
30- Karhu K., Mattila T., Bergström I., and Regina K. 2011. Biochar addition to agriculturalsoil increased CH 4 uptake and water holding capacity – results from a short-term pilot field study. Agriculture Ecosystem Environmental, 140 (1):309–313.
31- Keller C., Marchetti M., Rossi L., and Lugon-Moulin N. 2005. Reduction of cadmium availability to tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants using soil amendments in low cadmium contaminated agricultural soils: A pot experiment. Plant Soil, 276:69-84.
32- Kim H.S., Kim K.R., Kim H.J., Yoon J.H., Yang J.E., Ok Y.S., Owens G., and Kim K.H. 2015. Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (Lactuca sativa L.) in agricultural soil. Environmental Earth Science, 74:1249–1259.

33- Knudsen D., Peterson G.A., and Pratt P.F. 1982. Lithium, Sodium and Potassium. P. 225-246. In: Methods of soil analysis (part II) Chemical and microbiological properties, Page et al. (Ed.). American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Publisher. Madison, Wisconsin, USA.
34- Kosson D.S., Van der Sloot H.A., Sanchez F., and Garrabrants A.C. 2002. An integrated framework for evaluating leaching in waste management and utilization of secondary materials. Environmental engineering science, 19:159–204.
35- Lasat M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals – A review of biological mechanisms. Journal of Environmental Quality, 31:109–120.
36- Lim J.E., Ahmad M., Usman A.R.A., Lee S.S., Jeon W.T., Oh S.E., Yang J.E., and Ok Y.S. 2013. Effects of natural and calcined poultry waste on Cd, Pb and As mobility in contaminated soil. Environmental Earth Science, 69:11–20.
37- Lindsay W.L., and Norvell W. A.1978. Development of a DTPA soil test for Zn, Fe, Mn, and Cu. Soil Science Society of American Journal, 42:421-428.
38- Lindsay W.L. 1979. Chemical Equilibria in Soils. John Wiley & Sons Inc., USA.
39- Lone M.I., Zhen P.J., Stoffella E., and Yang X. 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. Journal of Zhejiang University Science B, 9: 210-220.
40- Lu H., Zhang W., Yang Y., Huang X., Wang S., and Qiu R. 2012. Relative distribution of Pb^{2+} sorption mechanisms by sludge-derived biochar. Water Research, 46:854–862.
41- Lu K., Yang X., Shen J., Robinson B., Huang H., Liu D., Bolan N., Pei J., and Wang H. 2014. Effect of bamboo and rice straw biochars on the bioavailability of Cd, Cu, Pb and Zn to Sedum plumbizincicola. Agriculture, Ecosystems and Environment, 191:124–132.
42- Malakootian M., Nouri J., and Hossaini H. 2009. Removal of heavy metals from paint industry's wastewater using Leca as an available adsorbent. International Journal of Environmental Science and Technology, 6 (2):183-190.
43- Marschner H. 1997. Mineral Nutrition of Higher Plants. University of Hohenheim, Germany.
44- Mc Lean E.O. 1982. Soil PH and lime requirement. P. 192-224. In: Methods of soil analysis (part II) Chemical and microbiological properties, Page et al. (Ed.). American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Publisher. Madison, Wisconsin, USA.
45- McBride M.B. 1994. Environmental Chemistry of Soils. Oxford University Press, Inc., New York.
46- McGrath D. 1996. Application of single and sequential extraction procedures to polluted and unpolluted soils. The Science of the Total Environment, 178:37-44.
47- Méndez A., Gómez A., Paz-Ferreiro J., and Gascó G. 2012. Effects of sewage sludge biochar on plant metal availability after application to a Mediterranean soil. Chemosphere, 89:1354–1359.
48- Minami M., and Yoshikawa H. 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. Clinica Chimica Acta, 92:337–342.
49- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science, 7: 405–410.
50- Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol, 22:867–880.
51- Menzies N.W., Donn M.J., and Kopittke P.K. 2007. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. Environmental Pollution, 145:121-130.
52- Ngo T., and Lenhoff M. 1980. A sensitive and versatile chromogenic assay for peroxidase and peroxidase-coupled reactions. Analytical Biochemistry, 105:389–397.
53- Ok Y.S., Lee S.S., Jeon W.T., Oh S.E., Usman A.R.A., and Moon D.H. 2011. Application of eggshell waste for the immobilization of cadmium and lead in a contaminated soil. Environmental Geochemistry Health, 33:31–39.
54- Olsen S.R., and Sommers L.E. 1982. Phosphorous. In: Page, A.L. (Ed.), Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties. Part 2, second Eds, Agron. Mongr. No. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
55- Padmavathiamma P.K., and Li L.Y. 2010. Phytoavailability and fractionation of lead and manganese in a contaminated soil after application of three amendments. Bioresource Technology, 101:5667–5676.

56- Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. 1982. Methods of Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological properties. 2nd ed. ASA. Madison, WI, USA.
57- Panuccio M.R., Sorgona A., Rizzo M., and Cacco G. 2009. Cadmium adsorption on vermiculite, zeolite and pumice: Batch experimental studies. Journal Environmental Management, 90:364-374.
58- Park J.H., Choppala G.K., Bolan N.S., Chung J.W., and Chuasavathi T. 2011. Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals. Plant Soil, 348:439–451.
59- 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. Biochimistry Biophys Acta, 975:384–94.
60- Puga A.P., Melo L.C., Abreu C.A., Coscione A.R., and Paz-Ferreiro J. 2016. Leaching and fractionation of heavy metals in mining soils amended with biochar. Soil & Tillage Research, 164:25–33.
61- Quevauviller P.H., Lachicab M., Barahonab E., Rauretc G., Ured A., Gomeze A., and Muntauf H. 1996. Interlaboratory comparison of EDTA and DTPA procedures prior to certification of extractable trace elements in calcareous soil. The Science of the Total Environment, 178:127-132.
62- Razmjoo S. 1997. Manual of analysis of fruit and vegetable products. 9th. ed. Tata MC Grow Hill, New Delhi.
63- Sabir M., Ozturk M., Hakeem K., and Memurt A. 2015. Soil remediation and plants. Prospects and Challenges, P, 752.
64- Sabry M., Shaheen M., and Rinklebe J. 2015. Impact of emerging and low cost alternative amendments on the immobilization and phytoavailability of Cd and Pb in a contaminated floodplain soil. Ecological Engineering, 74:319–326.
65- Sajidu S.M.I., Persson I., Masamba W.R.L., and Henry E.M.T. 2008. Mechanisms of heavy metal sorption on alkaline clays from Tundulu in Malawi as determined by EXAFS. Journal Hazard Material, 158:401-409.
66- Schutzendubel A., Nikolova P., Rudolf C., and Polle A. 2002. Cadmium and H_2O_2 induced oxidative stress in Populus canescens roots. Plant Physiol Biochemistry, 40:577–584.
67- Sharma P., and Dubey R.S. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal Plant Physiology, 17(1): 35-5.
68- Siamardi S.J., Rezaei Kahkha M.R., Moghaddam A.S., and Noori R. 2014. Survey of Heavy Metals Concentration (Fe ،Ni ،Cu ،Zn ،Pb) in Farmland Soils of Sistan Central Part. Journal of Environmental Health Engineering, 1: 46-53.
69- Sidhu G.P.S., Singh H.P., Batish D.R., and Kohli R.K. 2016. Effect of lead on oxidative status, antioxidative response and metal accumulation in Coronopus didymus. Plant Physiology and Biochemistry, 105:290-296.
70- Uchimiya M., Lima I.M., Klasson K.T., and Wartelle L.H. 2010. Contaminant immobi-lization and nutrient release by biochar soil amendment: roles of natural organicmatter. Chemosphere, 80 (8):935–940.
71- Walkley A., and Black I.A. 1934. An examination degtijarf method for determination for role organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 37:29–38.
72- Weis J.S., and Weis P. 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. Environmental International, 30:685–700.
73- Yang X.E., Long X.X., Calvert D.V., and Stofella P.J. 2004. Cadmium tolerance and hyper accumulation in a new Zn hyper accumulating plant species (Sedium alfredii Hance). Plant Soil, 259:181–189.
74- Yuan J.H., Xu R.K., and Zhang H. 2011. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. Bioresource Technology, 102:3488–3497.
75- Zhang R.H., Li Z.G., Liu X.D., Wang B.C., Zhou G.L., Huang X.X., Lin C.F., and Wang A.H. 2017. Immobilization and bioavailability of heavy metals in greenhouse soils amended with rice straw-derived biochar. Ecological Engineering, 98:183–188.

76- Zhang X., Wang H., He L., Lu K., Sarmah A., Li J., Bolan N.S., Pei J., and Huang H. 2013. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. Environmental Science Pollution Research, 20:8472–8483.
77- Zheng R.L., Cai C., Liang J.H., Huang Q., Chen Z., Huang Y.Z., Arp H.P.H., and Sun G.X. 2012. The effects of biochars from rice residue on the formation of iron plaque and the accumulation of Cd, Zn, Pb As in rice (Oryza sativa L.) seedlings. Chemosphere, 89:856–862.

Journal of Water and Soil
Vol. 32, No. 1, Mar.-Apr. 2018, p. 127-142

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، فروردین –اردیبهشت ۱۳۹۷، ص. ۱۴۲-۱۲۷

Immobilization of Lead in a Calcareous Contaminated Soil Using Organic and Inorganic Amendments

S. Sefidgar shahkolaie[1*]- M. Baranimotlagh [2]- F. Khormali [3]- E. Dordipour[4]

Received: 02-10-2017
Accepted: 24-01-2018

Introduction: Soil pollution with heavy metals have become a global concern because of its damaging effects on the environment, including human health, toxicity in plants and long-term effects on soil fertility. Heavy metals stress in plants is characterized by decrease in photosynthesis, nutrient uptake, damaging of roots and finally plant death. Lead (Pb) is found to be the most dangerous heavy metal, responsible for reduced soil fertility and elevated environmental pollution. Lead toxicity causes the inhibition of seed germination and exerts adverse effects on growth and metabolic processes of plants, which retards plant and crop production. The overproduction of reactive oxygen species (ROS) is the best indicator for secondary stress, which results in a number of toxic effects on biochemical processes in many plant cells. The overproduction of ROS due to Pb stress brings about changes in cellular membrane permeability, which in turn damages organelles such as nuclei, mitochondria, and chloroplasts in plant cells which decreased plant growth and yield. Chemical stabilization is an in situ remediation method that uses inexpensive amendments to reduce contaminant availability in polluted soil. The aim of this study was to investigate the immobilization of lead in a calcareous contaminated soil using two types of biochar as organic and Pumice, Leca, Zeolite and Bentonite as inorganic amendments.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of organic amendments (biochar 640°C, and biochar 420°C) and inorganic amendments (Pumice, Leca, Zeolite and Bentonite) on Pb stabilization in a contaminated soil (1500 mg/kg), a greenhouse experiment using maize plant was carried out. This experiment was conducted in a completely randomized design consisting of 6 types of amendments (Pumice, Leca, Zeolite, Bentonite, Biochar 420°C, and Biochar 640°C) and at 1% and 5% levels of each amendment (12 amendments plus 1 control). The experimental treatments were incubated for 3 months. At the end of incubation time, the potential bioavailability of Pb in non-amended and amended soils was assessed by chemical extractions, as: extraction with DTPA, with ammonium acetate and with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). After the end of incubation time, the pots were transferred to a greenhouse and in each pot five maize seeds were planted and then reduced to three seedlings in each pot after germination. After 3 months, all the plants were harvested. The Pb concentration in each plant, its biomass, its chlorophyll and its antioxidant enzyme activities levels were analyzed. All statistical analyses were performed using SAS software. Means of different treatments were compared using LSD ($P \leq 0.05$) test.

Results and Discussion: The results indicated that the addition of amendments to soils reduced the concentration of Pb extracted with DTPA and EDTA. The 5% biochar 640 had the greatest reduction effect on DTPA-extractable Pb. The smallest concentration of Pb in the leaves and root of maize plant was observed in treated soil with organic amendments (biochar 640°C, and biochar 420°C) and treated with 5% zeolite, respectively. The highest increase in plant growth parameters like SPAD value, leaf area, plant height, number of leaves per plant, dry biomass yield and dry matter of roots were observed in organic amendments compared to the control. The application of 5% amendments in soil caused a significant increase in plant height and number of leaves as compared to control. The increase in growth and biomass of zea mays L. under various amendments might be due to decreased bioavailable Pb concentrations in soil amended which may be attributed to reduced Pb toxicity through improvement of soil fertility. Also, the application of amendments resulted in a significant increase in antioxidant enzyme activities such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (PX), and ascorbate peroxidase (ASP) in maize plants compared to the control. The increase of leaves enzyme activities with addition amendments may be due to a lower Pb accumulation in leaves because excess Pb generates free radicals and reactive oxygen species (ROS) those causes oxidative stress in plants.

Conclusions: The results indicated that the application of amendments were successful in lowering the

1, 2, 3 and 4- PhD Student, Associate Professor, Professor and Associate Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Water and Soil Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan
(*- Corresponding Auther Email: S.sefidgar16@gmail.com)

potential bioavailability of Pb in the soils. The 5% biochar 640 treatment had the greatest reduction effect on extractable Pb. The application of amendments decreased the uptake and accumulation of Pb in maize plants, via the reduction of DTPA- extractable Pb. The amendments also significantly increased leaves antioxidant enzyme activities and photosynthetic pigments compared to the control.

Keywords: Antioxidant enzyme activities, Bioavailability, Lead, Maize, Remediation