نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 2، خرداد – تیر 1396، ص. 521-509

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 2, May.-Jun. 2017, p. 509-521

تغییر در قابلیت‌استفاده و اجزاء مس در ریزوسفر آفتابگردان در خاک آلوده تیمارشده با کلات‌کننده‌ها

محمد رحمانیان[1*] - علیرضا حسین پور[2] - ابراهیم ادهمی[3] - حمیدرضا متقیان[4]

تاریخ دریافت: 1394/11/21
تاریخ پذیرش: 1395/08/18

چکیده

ویژگی‌های زیستی و شیمیایی محیط ریزوسفر از جمله فراهمی و اجزاء شیمیایی فلزات در آن با توده خاک متفاوت است. این پژوهش به منظور بررسی تغییر در قابلیت‌استفاده و اجزاء مس در ریزوسفر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در یک خاک شنی آلوده به مس تیمارشده با کلات-کننده‌ها (EDTA، اسید سیتریک و عصاره کود مرغی) در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.EDTA و اسید سیتریک در سطوح غلظتی صفر، 0/5 و 1 میلی-مول بر کیلوگرم خاک و عصاره کود مرغی در سطوح غلظتی صفر، 0/5 و 1 گرم بر کیلوگرم خاک استفاده شدند. تعداد سه بذر آفتابگردان در هر ریزوباکس کاشته شد. بعد از 10 هفته گیاهان برداشت شدند و خاک‌های ریزوسفری و توده جدا شدند. مس قابل‌استفاده با استفاده از 7 روش عصاره-گیری شیمیایی و جزءبندی مس در خاک‌های ریزوسفری و توده اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های خاک ریزوسفری با خاک توده متفاوت بود. مقدار مس عصاره‌گیری شده به روش‌های مختلف در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های توده بود. دامنه تغییرات مس عصاره‌گیری شده با عصاره‌گیرها از 0/023 تا 1/83 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در خاک‌های ریزوسفری و توده تیمارشده با کلات‌کننده‌ها، بیشترین مقادیر مس به ترتیب در اجزاء باقیمانده، پیوندشده با ماده آلی، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز، پیوندشده با کربنات‌ها و تبادلی بود. میانگین اجزاء مس پیوندشده با کربنات‌ها، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و جزء باقیمانده در شرایط ریزوسفری بیشتر از توده خاک بود. میانگین جزء پیوندشده با ماده آلی در شرایط ریزوسفری کمتر از توده خاک بود. دامنه تغییرات اجزاء مس از 2/81 تا 12/95 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

واژه‌های کلیدی: جزءبندی، توده خاک، EDTA، اسید سیتریک، عصاره کود مرغی

مقدمه

ریزوسفر حجمی از خاک اطراف ریشه‌هاست که تحت تأثیر فعالیت ریشه‌های گیاه قرار می‌گیرد (18). در ریزوسفر، ریشه و فعالیت‌های میکروبی می‌توانند فاز مایع و جامد اجزاء و در نهایت تحرک فلزات را در نتیجه تغییرات خواص شیمیایی مانند pH خاک و یا غلظت کربن آلی محلول تغییر دهند (19). در خاک ریزوسفری ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متفاوت از توده خاک هستند. این ویژگی‌های متفاوت بر جذب عناصر بوسیله گیاهان مؤثر هستند و به دلیل مجاورت خاک در این ناحیه با ریشه پدید آمده‌اند (31).

مس از عناصر غذایی ضروری برای انسان و حیوانات است اما در غلظت بالا سمیت ایجاد می‌کند (34). به عنوان یک عنصر معدنی، مس در گیاهان توسط خاک تامین می‌شود، با این حال، پتانسیل رفتار، زیست فراهمی و دینامیک انتقال مس در سیستم خاک- گیاه توسط مقدار کل آن به طور ضعیفی پیش بینی می‌شود (2 و 17). از عصاره‌گیرهای شیمیایی جهت تخمین قابلیت‌استفاده عناصر غذایی گیاه استفاده می‌شود. عصاره‌گیرهایی که جهت تعیین مس قابل دسترس خاک به کار می‌روند، عمدتاً شامل عوامل کلات کننده، اسیدهای غیرآلی یا ترکیبی از یک عامل کلات کننده با اسیدها و نمک‌ها می‌باشند (47). روش‌های عصاره‌گیری یک مرحله‌ای مانند عصاره‌گیرهای حاوی کلات‌کننده DTPA برای ارزیابی قابلیت استفاده مس برای گیاه مورد استفاده قرار گرفته‌اند (45). مس در خاک، می‌تواند اجزاء مختلفی داشته باشد و در اجزاء مختلف شیمیایی شامل جزء محلول و تبادلی، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و یا کربناتها، کمپلکس‌شده و یا جذب‌شده توسط مواد آلی و به همراه

1- دانشجوی سابق دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد و استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
(*- نویسنده مسئول: (Email: M.rahmanian10@yahoo.com
2، 4- استاد و استادیارگروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
3- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
DOI: 10.22067/jsw.v31i2.53346

کانی‌های رس در خاک وجود داشته باشد (3). این اجزاء دارای توانایی‌های مختلف برای حفظ و یا آزاد کردن مس، در نتیجه تأثیر قابل توجهی بر تحرک و زیست فراهمی مس دارند (25). روش عصاره‌گیری متوالی اطلاعات بیشتری در مورد جزءبندی مس و همچنین انتقال بالقوه و بالفعل بین اجزاء مختلف شیمیایی را فراهم می‌کند (11 و 38). جزء پیوندشده با ماده آلی مس و قابل استخراج با اسید برای پیش‌بینی جذب گیاه استفاده شده است (3 و 17) در حالی که جزء پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز به منظور کنترل حرکت و زیست فراهمی مس در شرایط احیا (غرقابی) شناخته شده است (5).

در شرایط طبیعی بیشتر فلزات، در خاک دارای تحرک کمی بوده و قابلیت‌استفاده آنها برای گیاه کم است. بنابراین استفاده از موادی مانند کلاتها در خاک به میزان چشمگیری قابلیت‌استفاده فلز را افزایش داده و در نتیجه تجمع فلزات را توسط گیاهان تا حد زیادی بیشتر می‌کند (55). در مورد تأثیر کلات کننده‌ها بر قابلیت‌استفاده و جذب فلزات سنگین بررسی‌های بسیاری توسط محققان انجام شده و نتایج متفاوتی گزارش شده است. برخی از محققان به بررسی اثر ریزوسفر بر قابلیت استفاده مس پرداختند (50، 36 و 54). تائو و همکاران (2003) به بررسی اجزاء مس در ریزوسفر ذرت با استفاده از ریزوباکس پرداختند. نتایج آنها نشان داد که اجزاء مس در ریزوسفر نسبت به توده خاک تغییر کرده بود (50).

رستمی زاده و همکاران (2011) گزارش کردند کاربرد کلات EDTA باعث افزایش معنی‌دار غلظت مس در اندام هوایی ذرت شد. به طوری که غلظت مس با کاربرد 3 میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA در خاک به میزان 3/04 برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین استفاده از کلات EDTA باعث افزایش معنی‌دار غلظت مس در ریشه ذرت نیز شد، به طوری که غلظت مس در سطوح 3 و 6 میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA نسبت به تیمار شاهد به ترتیب 1/89 و 2/64 برابر افزایش پیدا کرد. با توجه به نتایج این تحقیق، کاربرد EDTA باعث افزایش راندمان مس استخراج شده توسط ذرت در خاک‌های آلوده به این عنصر شد (42).

صفری سنجانی و خلیلی خواه (2010) اثر EDTA، عصاره کود گوسفندی و زمان کاربرد آنها بر جذب کادمیم توسط *Helianthus annuus* L. از یک خاک معدن آهکی را مطالعه کردند. EDTA و عصاره کود گوسفندی با غلظت صفر، 0/5 و 2 گرم بر کیلوگرم 10 و 30 روز قبل از کاشت و 10 و 30 روز بعد از کاشت به گلدانها اضافه شد. کاربرد EDTA قبل از جوانه زنی بذر، سبزشدن آفتابگردان و ماده خشک را کاهش داد. غلظت کادمیم در اندام هوایی برداشت‌شده و با افزایش غلظت EDTA افزایش یافت، اما مقدار واقعی کادمیم استخراج شده در غلظت‌های زیادEDTA با توجه به کاهش شدید رشد کاهش یافت. نتایج نشان داد که کارآمدترین تیمار برای استخراج کادمیم توسط آفتابگردان کاربرد عصاره کود گوسفندی به میزان 0/5 گرم بر کیلوگرم 30 روز پس از کاشت بود (43). صفری سنجانی و احمدی (2012) تأثیر عصاره کود گاوی و کود مرغی و کشت شاهدانه بر جزءبندی سرب و کادمیم به وسیله روش عصاره‌گیری متوالی انتخابی را بررسی کردند. عصاره کود گاوی و کود مرغی به میزان 2 گرم بر کیلوگرم به گلدان‌ها اضافه شد. مقدار کادمیم و سرب در بخش محلول خاک با استفاده از عصاره کود گاوی و کود مرغی افزایش یافت. همچنین، استفاده از عصاره کود گاوی و کود مرغی مقدار سرب و کادمیم پیوند شده با ماده آلی را افزایش داد (44).

علیرغم اهمیت جزء یا اجزاء فلزات در خاک‌های آلوده، در رابطه با تعیین قابلیت‌استفاده اجزاء معدنی فلزات در این خاک‌ها مطالعات زیادی انجام نشده است. با توجه به اینکه عوامل کمپلکس‌کننده از مهمترین و کارآمدترین روشها در افزایش قابلیت‌استفاده و آلودگی‌زدایی فلزات سنگین از خاک شناخته شده است، همچنین، تراوشات و فعالیت ریشه و ریز جانداران می‌تواند بر اجزاء فلزات و قابلیت‌استفاده و جذب آنها به وسیله گیاهان مؤثر باشد. نظر به اهمیت این عنصر، بررسی و مطالعه اثر ریزوسفر بر قابلیت‌استفاده و جزءبندی مس بومی خاک آلوده تیمارشده با کلات‌کننده‌ها در کشت گیاه آفتابگردان جهت درک وضعیت مس در نزدیک‌ترین قسمت خاک به ریشه‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. این تحقیق با هدف بررسی تغییر در قابلیت‌استفاده و اجزاء مس در ریزوسفر آفتابگردان در یک خاک شنی آلوده تیمار شده با کلات‌کننده‌ها (EDTA، اسید سیتریک و عصاره کود مرغی) انجام شد.

مواد و روش‌ها

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

به منظور انجام این پژوهش، یک نمونه خاک از لایه 30-0 سانتی‌متری خاک‌های واقع در نزدیکی معدن سرب و روی (معدن باما) در جنوب شهر اصفهان جمع‌آوری شد. نمونه خاک هوا خشک شده و پس از عبور از الک 2 میلی‌متری، به منظور بررسی‌های آزمایشگاهی آماده شد. بافت خاک در سوسپانسون دو به یک آب به خاک به روش هیدرومتر (14)، pH خاک، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره دو به یک آب به خاک، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی (30)، ماده آلی به روش اکسیداسیون مرطوب (34)، مس قابل استفاده در خاک با استفاده از روش DTPA-TEA (29) و مقدار کل مس، سرب و روی با استفاده از هضم با اسید نیتریک 4 مولار (48) تعیین شد.

کشت گلخانه‌ای

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد به صورت

کشت در ریزوباکس (35 و 54) انجام شد. مقدار 4 کیلوگرم خاک در سه تکرار به ریزوباکس‌ها منتقل شد. بر اساس نتایج تجزیه خاک به هر ریزوباکس 100 میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن از منبع اوره، 150 میلی‌گرم در کیلوگرم پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم در ابتدای کشت اضافه شد. بذرهای آفتابگردان با استفاده از هیپوکلریت سدیم 3٪ استریل و به مدت 24 ساعت در آب مقطر قرار گرفتند. سپس 6 بذر در هر ریزوباکس کاشته شد که پس از مرحله استقرار 3 بوته حذف گردید. در طول مدت رشد مراقبت‌های لازم انجام و سعی شد رطوبت خاک‌ها در حد ظرفیت مزرعه‌ای ثابت بماند.

کلاتهای مورد استفاده شامل سه کلات EDTA و اسید سیتریک در سطوح غلظتی صفر، 0/5 و 1 میلی‌مول بر کیلوگرم خاک (26)، و عصاره کود مرغی در سطوح غلظتی صفر، 0/5 و 1 گرم بر کیلوگرم خاک (49) استفاده شدند. برای تهیه عصاره کود مرغی، نسبت 1 به 5 کود مرغی به آب مقطر همراه با 2 ساعت تکان دادن و سپس 20 دقیقه سانتریفوژ و بعد از صاف شدن با کاغذ صافی واتمن 42 استفاده شد. مقدار عصاره کود مرغی مورد نیاز بر اساس مقدار عصاره حاصل از حجم مشخصی از عصاره 1 به 5 (کود مرغی به آب) محاسبه و به همراه آب آبیاری به طور منظم در چهار مرحله (43) در طول دوره کشت به ریزوباکس‌ها اضافه شد. در عصاره کود مرغی EC، pH، در عصاره پنج به یک آب مقطر به کود مرغی، کربن آلی محلول (DOC) به اکسیداسیون مرطوب (37) و غلظت مس اندازه‌گیری شد. کلات‌های EDTA و اسید سیتریک نیز در همین دوره زمانی و به همراه آب آبیاری به ریزوباکس‌ها افزوده شدند.

بخش هوایی گیاهان 10 هفته پس از کاشت برداشته‌شد و ریزوباکس‌ها باز و خاک بخش مرکزی (خاک ریزوسفری) با استفاده از الک کردن از ریشه‌ها جدا و در نهایت ریشه‌های باقیمانده در خاک ریزوسفری با استفاده از انبرک برداشته شد. همچنین دو ناحیه غیرریزوسفری با هم مخلوط شده و هر دو نمونه (خاک ریزوسفری و توده) برای آزمایش‌های بعدی آماده شد. بخش‌های هوایی و ریشه‌ها با آب مقطر شسته و به‌مدت 48 ساعت در دمای 70 درجه سلسیوس در آون تهویه‌دار خشک و سپس عملکرد اندام هوایی تعیین، نمونه‌ها با استفاده از آسیاب برقی خرد شدند. غلظت مس در اندام‌های هوایی و ریشه با روش خشک سوزانی هضم شده (6) و سپس غلظت مس در آنها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل جی بی سی، 932) اندازه‌گیری شد و سپس مس جذب‌شده با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

(1)

جذب مس (میلی‌گرم در گلدان) =
عملکرد خشک (گرم در گلدان) × غلظت مس (میلی‌گرم در کیلوگرم) ×0/001

در پایان پژوهش از تمامی تیمارهای آزمایشی نمونه‌های خاک تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه برای عصاره‌گیری مقدار مس قابل دسترس خاک‌های ریزوسفری و توده از روش‌های DTPA-TEA (29)، AB-DTPA (46)، مهلیچ 1 (32)، مهلیچ 3 (33)، کلرید کلسیم 0/01 مولار (22)، روش بر پایه ریزوسفر (12) و آب مقطر (1) استفاده شد. همچنین برای تعیین اجزاء محلول و تبادلی، پیوندشده با کربنات‌ها، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و پیوندشده با ماده‌آلی از روش عصاره‌گیری مرحله‌ای تسیر و همکاران (1979)، و جزء باقیمانده با استفاده از روش عصاره‌گیری اسپوزیتو و همکاران (1982) اندازه‌گیری شد (48 و 52).

کربن زیست‌توده میکروبی (MBC) در خاک‌های ریزوسفری و توده با استفاده از روش تدخین با کلروفرم و خواباندن (26) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار کربن آلی محلول (DOC) از عصاره 1 به 2 خاک تازه به آب مقطر استفاده شد (9). سپس سوسپانسیون در دمای اتاق به مدت 2 ساعت تکان داده شده و سپس 5 دقیقه سانتریفیوژ و محلول صاف رویی با استفاده از فیلتر پلاستیکی دارای قطر 0/45 میکرومتر جدا شد. سپس مقدار کربن آلی محلول با استفاده از روش اکسیداسیون تر (37) تعیین شد. ضرایب همبستگی بین شکل‌های مس و مقادیر مس عصاره‌گیری شده، بین مقدار مس عصاره‌گیری شده با استفاده از روش‌های شیمیایی و پاسخ‌های آفتابگردان و بین شکل‌های مس و پاسخ‌های گیاه در سطح احتمال 5 درصد تعیین شدند. همچنین بررسی تفاوت بین تیمارهای مختلف مورد استفاده با تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول 1 نشان داده شده است. بر اساس نتایج جدول 1، خاک بکار رفته در این پژوهش، خاکی با کلاس بافتی لوم شنی، غیرشور، آهکی و با واکنش قلیایی بود.

مقدار قابل استفاده عناصر فسفر (عصاره‌گیری شده با بی کربنات سدیم 0/5 مولار)، پتاسیم (عصاره‌گیری شده با استات آمونیوم 1 مولار) در این خاک، به ترتیب 22 و 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. سازمان سلامت جهانی (WHO) بر اساس غلظت کل فلز در خاک محدوده هشدار را برای سرب، روی، مس و کادمیم به ترتیب 35، 90، 30 و 0/35 میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین کرد (51). مقدار مس قابل استفاده در خاک 0/1 میلی‌گرم در کیلوگرم بود. مقادیر کل سرب، روی و مس در خاک به‌ترتیب 250، 850 و 32 میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

pH عصاره کود مرغی استفاده‌شده در پژوهش 7/9، ماده آلی 0/92 درصد، قابلیت هدایت الکتریکی 7/75 دسی زیمنس بر متر و مقدار کل مس 2/23 میلی گرم در کیلوگرم بود.

مقادیر pH، کربن بیوماس میکروبی (MBC) و کربن آلی محلول (DOC) در خاک‌های ریزوسفری و توده در جدول 2 نشان داده شده است. ویژگی‌های خاک ریزوسفر با خاک توده متفاوت بود. با کاربرد کلات‌کننده‌ها مقدار pH نسبت به شاهد افزایش یافت. با کاربرد کلات‌کننده‌ها مقادیر MBC و DOC نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول 2). دلیل کاهش مقادیر MBC و DOC با افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها، افزایش قابلیت استفاده فلزات و در نتیجه کاهش جمعیت میکروبی بود. در خاک ریزوسفری میانگین MBC و DOC نسبت به خاک توده به‌صورت معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیشتر بود. میانگین pH در خاک ریزوسفری نسبت به خاک توده به‌صورت معنی‌داری ($p\leq0/05$) کمتر بود. با توجه به اینکه خاک مورد استفاده در پژوهش یک خاک آلوده بود و غلظت کل عناصر سمی سنگین (سرب و روی) در این خاک زیاد، این انتظار وجود دارد که در نتیجه‌ی کاربرد کلات‌کننده‌ها قابلیت استفاده این عناصر زیاد و سمیت میکروبی اتفاق افتد و در نتیجه منجر به کاهش آزاد شدن DOC شود.

جدول1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک سبک بافت مورد استفاده در پژوهش

Table 1- Physical and chemical characteristics of soil used in this study

نیتروژن کل خاک (٪) Total N	0.03	رس (٪) Clay	18
فسفر قابل استفاده ($mg\ kg^{-1}$) Available P	22	سیلت (٪) Silt	25
پتاسیم قابل استفاده ($mg\ kg^{-1}$) Available K	150	شن (٪) Sand	57
سرب کل ($mg\ kg^{-1}$) Total Pb	250	کربنات کلسیم معادل (٪) $CaCO_3$	32
روی کل ($mg\ kg^{-1}$) Total Zn	850	ماده آلی (٪) Organic matter	0.82
مس کل ($mg\ kg^{-1}$) Total Cu	32	قابلیت هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$) Electrical conductivity	0.44
مس قابل استفاده ($mg\ kg^{-1}$) Available Cu	0.1	واکنش خاک pH	8.2

در خاک‌های ریزوسفری pH در دامنه 7/31 تا 7/48، کربن آلی محلول در دامنه 40 تا 99 میلی‌گرم کربن بر لیتر و کربن بیوماس میکروبی در دامنه 55 تا 161 میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم متغیر بود. درحالی‌که در خاک‌های توده pH در دامنه 7/42 تا 7/57، کربن آلی محلول در دامنه 27 تا 72 میلی‌گرم کربن بر لیتر و کربن بیوماس میکروبی در دامنه 49 تا 148 میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم متغیر بود.

کاهش مقدار pH ریزوسفر آفتابگردان در خاک‌های تیمارنشده می‌تواند به‌دلیل خنثی‌کردن بار بر اثر جذب عناصر غذایی توسط گیاه باشد. در این تحقیق از کود اوره که یک کود آمونیومی است استفاده شد. بنابراین گیاه برای خنثی کردن بار، پروتون را به محیط ریزوسفر ترشح می‌کند. به‌علاوه تنفس میکروبی و ریشه منجر به افزایش فشار دی‌اکسید کربن و کاهش pH ریزوسفر می‌شود. همچنین، اسیدهای آلی نیز می‌توانند در کاهش pH ریزوسفر مؤثر باشند (21).

در خاک‌های توده در کشت آفتابگردان، همبستگی معنی‌داری ($p\leq0/05$) بین کربن آلی محلول و کربن بیوماس میکروبی بدست آمد ($r=0/79$). بین کربن آلی محلول با pH همبستگی معنی‌دار ($r=0/70$) وجود داشت. در خاک‌های ریزوسفری، همبستگی کربن آلی محلول با کربن بیوماس میکروبی معنی‌دار ($r=0/77$) بود. همچنین بین کربن آلی محلول با pH همبستگی معنی‌داری ($r=0/53$) بدست آمد. با کاهش مقدار DOC در نتیجه‌ی کاربرد کلات کننده‌ها جمعیت میکروبی کاهش یافت.

متقیان و همکاران (2013) در تحقیقی به بررسی اثر ریزوسفر گندم بر DOC، کربن آلی کل (TOC) و MBC پرداختند. نتایج آنها نشان داد که میانگین DOC، TOC و MBC در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک‌های توده افزایش معنی‌داری ($p<0/01$) داشتند. افزایش کربن آلی در ریزوسفر به دلیل وجود ترشحات ریشه در این ناحیه می‌باشد و بر همین اساس کربن بیوماس میکروبی نیز افزایش می‌یابد (36). افزایش کربن بیوماس میکروبی در ریزوسفر در نتیجه تأمین مقادیر زیاد کربن آلی بوسیله ریشه گیاه و خاک اتفاق می‌افتد (28). هینسینگر و همکاران (2003) گزارش کردند که لگوم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن اغلب به‌دلیل جذب بیشتر کاتیون نسبت به آنیون محیط ریزوسفر خود را اسیدی می‌کنند (21). کیم و

همکاران (2010) همبستگی معنی‌داری بین کربن آلی محلول و جمعیت باکتریایی در خاک‌های ریزوسفری گزارش کردند. همچنین مشاهده کردند جمعیت باکتریایی در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های توده بود. آنها نتیجه گرفتند که افزایش کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری به دلیل ترشحات ریشه گیاه و جمعیت میکروبی بود (27).

جدول2- برخی از ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های ریزوسفری و توده تیمارشده با کلات‌کننده‌ها

Table 2- Some chemical and biological characteristics of rhizosphere and bulk soils treated with chelators

نوع کلات	غلظت	pH		کربن آلی محلول ($mg\ C\ L^{-1}$) DOC		کربن بیوماس محلول ($mg\ C\ kg^{-1}$) MBC	
Chelate type	Con.	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B
	0	7.31^{g}	7.42^{ef}	99^{a}	72^{bc}	161^{a}	148^{a}
EDTA (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	7.48^{de}	7.57^{a}	43^{efg}	32^{fg}	61^{de}	52^{e}
($mmol\ kg^{-1}$)	1	7.42^{ef}	7.54^{abc}	40^{efg}	27^{g}	55^{e}	49^{e}
اسید سیتریک (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	7.47^{de}	7.55^{abc}	80^{ab}	61^{bcde}	70^{de}	67^{de}
Citric acid ($mmol\ kg^{-1}$)	1	7.42^{ef}	7.52^{abcd}	53^{cdef}	40^{efg}	64^{de}	58^{e}
عصاره کود مرغی (گرم بر کیلوگرم)	0.5	7.37^{fg}	7.47^{de}	67^{bcd}	51^{cdef}	141^{ab}	122^{b}
Poultry manure extract ($g\ kg^{-1}$)	1	7.42^{ef}	7.52^{abcd}	48^{defg}	43^{efg}	101^{c}	81^{cd}

حروف متفاوت برای هر ویژگی نشانه تفاوت معنی دار میانگین‌ها در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد. R: ریزوسفر، B: توده، .Con: غلظت

different letters show significant differences at the 0.05 probability level for each treatment. R: rhizospher; B: bulk; Co: Concentration.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کلات کننده‌ها و محیط و اثرات متقابل آنها بر مس عصاره‌گیری شده با عصاره‌گیرهای مختلف معنی‌دار است (نتایج نشان داده نشده است). اثر کلات‌کننده‌ها بر مقادیر مس قابل استفاده در خاک‌های ریزوسفری و توده در جدول 3 نشان داده شده است. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مس عصاره‌گیری شده به روشهای مختلف در خاک تغییرات زیادی داشت که نشان دهنده مکانیسم متفاوت عصاره‌گیرها در استخراج این عنصر است (جدول 3). مقادیر متفاوتی از مس توسط عصاره‌گیرها از خاک استخراج شد (جدول 3). اثر کلات‌کننده‌ها بر مقادیر مس قابل استفاده نسبت به شاهد معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. نتایج این جدول نشان می‌دهد که مس عصاره‌گیری شده با عصاره‌گیرهای شیمیایی در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های توده بود (جدول 3). مس در خاک دارای اجزای متفاوتی است که بر قابلیت استفاده آن در ناحیه ریزوسفر تأثیر می‌گذارند. علاوه بر این، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی متفاوت ریزوسفر در مقایسه با توده خاک به طور قابل ملاحظه‌ای بر اجزاء مس و در نتیجه بر حلالیت و قابلیت استفاده آن تأثیر می‌گذارند (54). کاهش مقدار مس در شرایط ریزوسفری نسبت به توده خاک می‌تواند به‌دلیل جذب گیاه باشد.

دامنه تغییرات مس عصاره‌گیری شده به روش DTPA-TEA، 0/202 تا 0/326، AB-DTPA، 0/404 تا 0/91، مهلیچ 3، 1/14 تا 1/83 و مهلیچ 1، 0/087 تا 0/124 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مس عصاره‌گیری شده با روشهای آب مقطر، روش بر پایه ریزوسفر و کلرید کلسیم 0/01 مولار کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بودند.

در خاک‌های تیمارشده با کلات‌کننده‌ها، مقدار مس عصاره‌گیری شده به ترتیب مهلیچ 3> AB-DTPA >DTPA-TEA>> مهلیچ 1 بود. مس عصاره‌گیری شده به روش مهلیچ 1 فقط زمانی که کلات‌کننده EDTA به خاک اضافه شده بود قرائت شد و در عصاره‌هایی که کلات‌کننده‌های اسید سیتریک و عصاره کود مرغی به خاک اضافه شده بود کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود. بیشترین مقدار مس عصاره‌گیری شده مربوط به زمانی بود که کلات‌کننده EDTA (1 میلی‌مول بر کیلوگرم) به خاک اضافه شده و کمترین مقدار زمانی بود که کلات‌کننده‌ای به خاک اضافه نشده (شاهد) است.

اثر EDTA و اسید سیتریک بر مقادیر مس عصاره‌گیری شده با مهلیچ 3 نسبت به شاهد معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. هر سه کلات‌کننده بر مقادیر مس عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA و AB-DTPA و عصاره کود مرغی بر مقادیر مس عصاره‌گیری شده با مهلیچ 3 نسبت به شاهد تأثیر معنی‌داری نداشتند. مقادیر مس استخراج شده با مهلیچ 3 در خاک‌های تیمارشده با EDTA و اسید سیتریک در مقایسه با خاک شاهد افزایش یافت (جدول 3). نتایج نشان می‌دهند که با افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها قابلیت استفاده مس بیشتر شده ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. علت تغییر در قابلیت استفاده مس در خاک به تغییر در اجزاء فلز در خاک برمی‌گردد. با تغییر اجزاء فلز در خاک قابلیت استفاده مس تغییر کرده و برایند تغییر اجزاء منجر به عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها شده است. در نتیجه‌ی کاربرد

کلات‌کننده‌ها مس پیوندشده با ماده آلی در خاک‌های ریزوسفری نسبت به توده خاک کاهش و در مقابل مس پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و مس پیوندشده با کربنات‌ها افزایش یافتند.

چری و همکاران (1999) گزارش کردند مس عصاره‌گیری شده با EDTA، DTPA و کلرید کلسیم در خاک ریزوسفری کاهش پیدا کرد (8). تائو و همکاران (2003) گزارش کردند که تغییر مقدار DOC درریزوسفر ذرت در دوره رشد شبیه به تغییر جزء تبادلی مس بود. گروه‌های عامل و هیدروکسیل و کربوکسیل ترکیبات DOC با مس پیوند داده و منجر به تبدیل آن به شکل غیر قابل استفاده می‌شوند (50). کاتانی و همکاران (2006) گزارش کردند که DOC در خاک ریزوسفر ذرت سه برابر خاک توده بود. طبق نتایج تحقیقات آنها مس با DOC تشکیل کمپلکس قوی می‌دهد. بنابراین با ایجاد کمپلکس‌های آلی مس با DOC قابلیت استفاده آن برای گیاه کاهش می‌یابد (7). همچنین محققان دیگری (10 و 50) شرایط بیولوژیکی و شیمیایی متفاوت ریزوسفر نسبت به توده خاک را باعث تغییر در اجزاء در خاک و در نتیجه کاهش در قابلیت استفاده عناصر برای گیاه گزارش کرده‌اند.

جدول 3- اثر کلات‌کننده‌ها بر مس عصاره‌گیری شده (میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط عصاره‌گیرهای مختلف در خاک‌های ریزوسفری و توده
Table 3- The effect of chelators on extracted Cu (mg kg^{-1}) by varous exteractants in the bulk and the rhizosphere soils

نوع کلات	غلظت	DTPA-TEA		AB-DTPA		مهلیچ 3		مهلیچ 1	
Chelate type	Con.	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B
	0	0.208^{e}	0.202^{e}	0.404^{b}	0.476^{b}	1.14^{e}	1.17^{de}	-	-
EDTA (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	0.207^{bcd}	0.288^{abcd}	0.461^{b}	0.492^{b}	1.38^{bcde}	1.63^{ab}	0.107^{b}	0.087^{c}
(mmol kg^{-1})	1	0.310^{ab}	0.326^{a}	0.480^{b}	0.527^{b}	1.43^{bcd}	1.83^{a}	0.124^{a}	0.105^{b}
اسید سیتریک (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	0.295^{abc}	0.288^{abcd}	0.440^{b}	0.466^{b}	1.30^{cde}	1.61^{ab}	-	-
Citric acid (mmol kg^{-1})	1	0.314^{ab}	0.300^{abc}	0.463^{b}	0.776^{a}	1.52^{bc}	1.58^{abc}	-	-
عصاره کود مرغی (گرم بر کیلوگرم)	0.5	0.260^{cd}	0.243^{de}	0.426^{b}	0.452^{b}	1.45^{bcd}	1.49^{bcd}	-	-
Poultry manure extract (g kg^{-1})	1	0.243^{de}	0.279^{bcd}	0.468^{b}	0.489^{b}	1.38^{bcde}	1.46^{bcd}	-	-

حروف متفاوت برای هر تیمار نشانه تفاوت معنی دار میانگین‌ها در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد. -، کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود. R: ریزوسفر، B: توده، Con: غلظت

different letters show significant differences at the 0.05 probability level for each treatment. not detected by Atomic Absorption Spectrophotometer. R: rhizospher; B: bulk; Co: Concentration.

مقادیر شکل‌های شیمیایی مس در خاک‌های ریزوسفری و توده تیمارشده با کلات‌کننده‌ها در جدول 4 نشان داده شده است. دامنه تغییرات اجزاء مس در خاک ریزوسفری، 3/20 تا 4/78 در جزء پیوندشده با کربنات‌ها، 5/00 تا 9/02 در جزء پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز، 5/35 تا 9/09 در جزء پیوندشده با ماده آلی و 8/53 تا 12/95 میلی‌گرم بر کیلوگرم در جزء باقیمانده بود، در حالی‌که در خاک توده 2/81 تا 4/54 در جزء پیوندشده با کربنات‌ها، 4/48 تا 8/08 در جزء پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز، 5/90 تا 9/75 در جزء پیوندشده با ماده آلی و 7/65 تا 11/75 میلی‌گرم بر کیلوگرم در جزء باقیمانده بود. جزء تبادلی مس در خاک ریزوسفری و توده کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود.

در خاک‌های ریزوسفری تیمارشده و تیمارنشده در کشت آفتابگردان، میانگین مس پیوندشده با کربنات‌ها 11/6 درصد از مس کل بود. درحالی‌که میانگین این اجزاء در خاک‌های توده تیمارشده و تیمارنشده 11/2 درصد از مس کل بود. همچنین میانگین مس پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و مس پیوندشده با ماده آلی خاک‌های ریزوسفری تیمارشده و تیمارنشده 24/5 درصد و 28/2 درصد از مس کل بود درحالی‌که میانگین این اجزاء در خاک‌های توده تیمارشده و تیمارنشده 23/6 درصد و 29/3 درصد از مس کل بود. میانگین مس باقیمانده 34/1 درصد در خاک‌های ریزوسفری تیمارشده و تیمارنشده و 33/2 درصد در خاک‌های توده تیمارشده و تیمارنشده بود.

با کاربرد EDTA و اسید سیتریک مقادیر اجزاء مس (به استثناء جزء باقیمانده) نسبت به شاهد افزایش یافت. کاربرد EDTA (غلظت 1 میلی‌مول بر کیلوگرم) منجر به کاهش مس باقیمانده نسبت به شاهد شد (جدول 4). افزایش یا کاهش مقدار در نتیجه‌ی تغییر در اجزاء مس و باز توزیع آن است. ترشحات و متابولیت‌های آزاد شده توسط ریشه‌ها و ریزجانداران خاک در خاک‌های ریزوسفری ممکن است باعث آزادشدن و تغییر وضعیت فلز موجود در خاک با فازهای پیوند قوی به فازهای پیوند ضعیف شود. با کاربرد عصاره کود مرغی مقادیر اجزاء مس (به استثناء جزء باقیمانده) نسبت به شاهد تغییری نکرد (جدول 4). بیشترین غلظت مس تحت تأثیر تیمار 1 گرم عصاره

کود مرغی بر کیلوگرم در جزء باقیمانده بود.

نتایج نشان داد که در خاک‌های ریزوسفری و توده، مس به ترتیب در اجزاء باقیمانده، پیوندشده با ماده آلی، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز، پیوندشده با کربنات‌ها و تبادلی قرار داشت. بر اساس این نتایج مس قرار گرفته در ساختار سیلیکات‌ها که به عنوان جزء باقیمانده شناخته می‌شود بیشترین جزء مس در خاک‌های ریزوسفری و توده تیمارشده و تیمارنشده با کلات‌کننده‌ها بود. نتایج مشابهی به وسیله آچیبا و همکاران (2010) و زمبریووا و همکاران (2006) گزارش شده است (2 و 57). کیان و همکاران (2003) با بررسی تأثیر کود دامی بر توزیع اجزاء روی و مس در یک خاک آلوده در کانادا دریافتند که بیشترین مقدار مس به ترتیب در جزء باقیمانده و جزء پیوندشده با ماده آلی و بیشترین مقدار روی در جزء باقیمانده قرار داشت (40). فورمنتینی و همکاران (2015) استفاده طولانی مدت لجن خوک را بر جزءبندی مس در یک خاک رسی در برزیل را مطالعه کردند. نتایج نشان داد بیشترین مقدار مس در جزء پیوندشده با ماده آلی قرار داشت (13). رودریگوئز- ویلا و همکاران (2015) اثر کودهای آلی (کمپوست و بیوچار) را روی جزءبندی مس در ریزوسفر خردل (*Brassica juncea* L.) در یک خاک معدن مس را بررسی کردند. برای جزءبندی فلزات از روش تسیر و همکاران (1979) استفاده کردند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار مس به ترتیب در اجزاء باقیمانده و پیوندشده با ماده آلی قرار داشت (41).

جدول 4- اثر کلات‌کننده‌ها بر مقادیر اجزاء مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک‌های ریزوسفری و توده

Table 4-The effect of chelators on Cu fractions (mg kg^{-1}) in the bulk and the rhizosphere soils

نوع کلات	غلظت	تبادلی Exchangeable		پیوند شده با کربنات‌ها Carbonate bounded		پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز Iron-manganese oxides bounded		پیوند شده با ماده آلی Organic matter bounded		باقیمانده Residual	
Chelate type	Con.	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B	ریزوسفر R	توده B
	0	-	-	3.32^{ef}	2.81^{h}	6.01^{f}	5.50^{g}	5.89^{ef}	5.99^{ef}	9.46^{cde}	8.25^{de}
EDTA (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	-	-	4.61^{ab}	4.38^{bc}	6.84^{de}	5.96^{f}	7.90^{d}	6.42^{e}	11.40^{abc}	10.20^{bcd}
(mmol kg^{-1})	1	-	-	4.78^{a}	4.54^{ab}	9.02^{a}	8.08^{c}	9.09^{abc}	9.20^{abc}	12.95^{a}	11.75^{abc}
اسید سیتریک (میلی‌مول بر کیلوگرم)	0.5	-	-	4.15^{c}	3.75^{d}	7.02^{d}	5.93^{fg}	8.32^{cd}	9.37^{ab}	11.20^{abc}	10.15^{bcd}
Citric acid (mmol kg^{-1})	1	-	-	4.61^{ab}	4.41^{bc}	8.53^{b}	7.74^{c}	8.69^{bcd}	9.75^{a}	12.53^{ab}	11.08^{abc}
عصاره کود مرغی (گرم بر کیلوگرم)	0.5	-	-	3.20^{efg}	2.95^{gh}	6.50^{e}	4.48^{i}	6.16^{ef}	6.75^{e}	8.53^{de}	7.65^{e}
Poultry manure extract (g kg^{-1})	1	-	-	3.51^{de}	3.05^{fgh}	5.00^{h}	4.79^{hi}	5.35^{f}	5.90^{ef}	9.43^{cde}	9.28^{cde}

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد، -، کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود. R: ریزوسفر، B: توده، .Con: غلظت

different letters show significant differences at the 0.05 probability level for each treatment. not detected by Atomic Absorption Spectrophotometer. R: rhizospher; B: bulk; Co: Concentration.

جدول 4 نشان می‌دهد که تفاوت میانگین اجزاء مس در خاک ریزوسفری نسبت به خاک توده در برخی تیمارها معنی‌دار ($p<0/05$) بود. به طور کلی میانگین اجزاء مس پیوندشده با کربنات‌ها، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و جزء باقیمانده مس در شرایط ریزوسفری بیشتر از توده خاک بود. میانگین جزء مس پیوندشده با ماده آلی در شرایط ریزوسفری کمتر از توده خاک بود. خواص فیزیکوشیمیایی و بیوشیمیایی خاک ریزوسفری ممکن است به دلیل فعالیت بیولوژیکی و تغییرات در ریزمحیط ریزوسفر کاملاً متفاوت از توده خاک باشد (39 و 56). احتمالاً ترشحات و متابولیت‌های آزاد شده توسط ریشه‌ها و ریزجانداران خاک در خاک‌های ریزوسفری باعث انتقال مس به اجزاء غیر قابل استفاده در خاک شده است. جمعیت ریزجانداران در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های توده بود که منجر به اکسیداسیون مواد آلی و ترکیبات آلی شده، مس پیوندشده با ماده آلی آزاد شده و در نتیجه مس پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز در ریزوسفر افزایش پیدا کرد.

کلات کننده‌ها و ترشحات ریشه می‌توانند باعث تغییر pH، ارائه لیگاند برای کمپلکس‌کردن مس و تسهیل فعالیت‌های میکروبی شوند. هر یک از این فرآیندها ممکن است باعث افزایش قابلیت-استفاده یا تثبیت مس در خاک شود. برخی از ترشحات ریشه میل قوی برای پیوند با فلزات از خود نشان می‌دهند (20). مطالعات قبلی نشان داده است که فلزات خاص در ریزوسفر عمدتاً به شکل کمپلکس‌شده وجود دارند (15). جفری و اورن (1983) دریافتند که مس در خاک ریزوسفری و توده به طور عمده در پیوند با ماده آلی بود (23).

ضرایب همبستگی (r) بین شکل‌های مس و مقادیر مس عصاره-گیری شده با استفاده از روش‌های مختلف و شاخص‌های آفتابگردان

در خاک ریزوسفری و توده در جدول 5 نشان داده شده است. بین مس عصاره‌گیری شده با روش‌های مهلیچ 1 و مهلیچ 3 با جزء پیوندشده مس با کربنات‌ها در خاک ریزوسفری همبستگی (r=0/99) معنی‌دار (p<0/05) وجود داشت. همچنین، در خاک‌های ریزوسفری بین عملکرد شاخساره با جزء پیوندشده مس با کربنات‌ها همبستگی (r=-0/99) معنی‌دار (p<0/05) وجود داشت. نتایج مشابهی توسط متقیان و همکاران (2013) گزارش شده است (34). در خاک‌های توده بین عملکرد ریشه و جزء پیوندشده مس با اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی (r=-0/99) معنی‌دار (p<0/05) وجود داشت.

جدول 5- ضرایب همبستگی (r) بین مس عصاره‌گیری شده با استفاده از عصاره‌گیرهای مختلف با اجزاء مس و شاخص‌های آفتابگردان در خاک‌های ریزوسفری و توده

Table 5- Correlation coefficient (r) between extracted Cu by varous exteractants with Cu fractions and Sunflower properties in the bulk and the rhizosphere soils

	جزء پیوند شده با کربنات‌ها Carbonate bounded	جزء پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز Iron-manganese oxides bounded	جزء پیوند شده با ماده آلی Organic matter bounded	جزء باقیمانده Residual
		خاک‌های ریزوسفری		
DTPA-TEA	0.58^{ns}	0.66^{ns}	0.67^{ns}	0.52^{ns}
AB-DTPA	0.69^{ns}	0.56^{ns}	0.49^{ns}	0.67^{ns}
مهلیچ 1 Mehlich 1	0.99^{*}	0.61^{ns}	0.41^{ns}	0.65^{ns}
مهلیچ 3 Mehlich 3	0.99^{*}	0.61^{ns}	0.42^{ns}	0.65^{ns}
غلظت مس شاخساره Cu shoot concentration	0.56^{ns}	0.37^{ns}	-0.14^{ns}	0.64^{ns}
عملکرد شاخساره Shoot yeild	-0.99^{*}	-0.61^{ns}	-0.41^{ns}	-0.65^{ns}
جذب Uptake	0.69^{ns}	0.10^{ns}	-0.40^{ns}	0.40^{ns}
		خاک‌های توده		
DTPA-TEA	0.68^{ns}	0.53^{ns}	0.67^{ns}	0.68^{ns}
AB-DTPA	0.51^{ns}	0.68^{ns}	0.59^{ns}	0.66^{ns}
مهلیچ 1 Mehlich 1	0.68^{ns}	0.55^{ns}	0.66^{ns}	0.69^{ns}
مهلیچ 3 Mehlich 3	0.67^{ns}	0.53^{ns}	0.67^{ns}	0.68^{ns}
غلظت مس ریشه Cu root concentration	0.60^{ns}	-0.11^{ns}	0.63^{ns}	0.29^{ns}
عملکرد ریشه Root yeild	-0.71^{ns}	-0.99^{*}	-0.67^{ns}	-0.60^{ns}
جذب Uptake	0.40^{ns}	-0.34^{ns}	0.43^{ns}	0.06^{ns}

مطالعه اجزاء مس در خاک امکان تعیین جزء یا اجزاء قابل‌استفاده و متحرک این عنصر را نشان می‌دهد (53). در تحقیقات انجام شده جزءهای مختلفی به عنوان جزء یا اجزاء قابل‌استفاده گیاه گزارش شده است. در حالی که در برخی تحقیقات مقدار کل و جزء باقیمانده قابل استفاده گیاه نیست. عناصر در محلول خاک و جزء تبادلی قابلیت استفاده زیادی برای گیاه دارند و همچنین اجزاء پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز، پیوندشده با کربنات‌ها و پیوندشده با ماده آلی نیز می‌توانند برای گیاه قابل‌استفاده باشند (16). در برخی مطالعات مس پیوندشده با ماده آلی به عنوان جزء قابل‌استفاده و در پژوهش‌های دیگر به عنوان جزء غیر قابل‌استفاده گزارش شده است (4).

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق، در خاک‌های ریزوسفری میانگین MBC وDOC نسبت به خاک‌های توده بیشتر بود اما این اختلاف در

برخی تیمارها معنی‌دار بود. با کاربرد کلات‌کننده‌ها مقدار MBC و DOC نسبت به شاهد کاهش یافت. در خاک‌های ریزوسفری میانگین pH به‌صورت معنی‌داری کمتر از خاک‌های توده بود. نتایج نشان داد که مس عصاره‌گیری شده با استفاده از عصاره‌گیرهای شیمیایی در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های توده بود. با افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها قابلیت استفاده مس بیشتر شد ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. علت تغییر در قابلیت استفاده مس در خاک تغییر در اجزاء مس در خاک بود. با کاربرد کلات‌کننده‌ها مس پیوندشده با ماده آلی در خاک‌های ریزوسفری نسبت به توده خاک کاهش و در مقابل مس پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و مس پیوندشده با کربنات‌ها افزایش یافتند. بیشترین مقدار مس زمانی عصاره‌گیری شد که کلات کننده EDTA(1 میلی‌مول بر کیلوگرم) به خاک اضافه شد و کمترین مقدار آن زمانی به دست آمد که کلات کننده‌ای به خاک اضافه نشد (شاهد). همچنین، در خاک‌های ریزوسفری و توده تیمارشده و تیمارنشده با کلات کننده‌ها در بین اجزاء مس، جزء تبادلی حداقل و جزء باقیمانده حداکثر مقدار را به طور مطلق داشتند. بعد از جزء باقیمانده جزء پیوندشده با ماده آلی قرار داشت. تفاوت میانگین اجزاء مس در خاک ریزوسفری نسبت به خاک توده معنی‌دار ($p<0/05$) بود. به طور کلی میانگین اجزاء مس پیوندشده با کربنات‌ها، پیوندشده با اکسیدهای آهن و منگنز و جزء باقیمانده در شرایط ریزوسفری بیشتر از توده خاک بود. میانگین جزء پیوندشده با ماده آلی در شرایط ریزوسفری کمتر از توده خاک بود. بین مس عصاره‌گیری شده با روش‌های مهلیچ 1و مهلیچ 3 با جزء پیوندشده مس با کربنات‌ها در خاک ریزوسفری همبستگی ($r=0/99$) معنی‌دار ($p<0/05$) وجود داشت. همچنین، در خاک‌های ریزوسفری بین عملکرد شاخساره با جزء پیوندشده مس با کربنات‌ها همبستگی ($r=-0/99$) معنی‌دار ($p<0/05$) وجود داشت. در خاک‌های توده بین عملکرد ریشه و جزء پیوندشده مس با اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی ($r=-0/99$) معنی‌دار ($p<0/05$) وجود داشت. نتایج این پژوهش نشان داد که تغییرات فیزیکی، شیمیایی، و بیولوژیکی شرایط خاک ناشی از ریشه آفتابگردان نه تنها منجر به کاهش اجزاء متحرک مس شده است، بلکه منجر به تغییر در اجزاء با ثبات مس در خاک نیز شده است. از آنجایی که استفاده زیاد از حد کلات کننده‌ها می‌تواند باعث قابلیت‌استفاده بیشتر مس در خاک شود بدون این که جذب گیاه را افزایش دهد، لذا استفاده از سطوح غلظتی بالاتر توصیه نمی‌شود.

منابع

1- Abreu C.A., Angela A.M., Furlani C., Furlani P.R., Abreu M.F., and Bataglia O.C. 2006. Quest of water extract analysis of micronutrients in soilless organic substrates. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 37: 2327-2338.

2- Achiba W.B., Lakhdar A., Gabteni N., Du Laing G., Verloo M., Boeckx P., Van Cleemput O., Jedidi N., and Gallali T. 2010. Accumulation and fractionation of trace metals in a Tunisian calcareous soil amended with farmyard manure and municipal solid waste compost. Journal of Hazardous Materials, 176: 99–108.

3- Ahumada I., Gudenschwager O., Carrasco M.A., Castillo G., Ascar L., and Richter P. 2009. Copper and zinc bioavailabilities to ryegrass (*Lolium perenne* L.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) grown in biosolid treated Chilean soils. Journal of Environmental Management, 90: 2665–2671.

4- Bakircioglu D., Bakircioglu Kurtulus Y., and Ibar H. 2011.·Investigation of trace elements in agricultural soils by BCR sequential extraction method and its transfer to wheat plants. Environmental Monitoring and Assessment, 175: 303–314.

5- Bhattacharyya P., Chakraborty A., Chakrabarti K., Tripathy S., and Powell M.A. 2006. Copper and zinc uptake by rice and accumulation in soil amended with municipal solid waste compost. Environmental Geology, 49: 1064–1070.

6- Campbell C.R., and Plank C.O. 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. p. 37-50. In Y.P. Kalra (ed.) Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group.

7- Cattani I., Fragoulis G., Boccelli R., and Capri E. 2006. Copper bioavailability in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in two Italian soils. Chemosphere, 64: 1972–1979.

8- Cherrey A., Chaignon V., and Hinsinger P. 1999. Bioavailability of copper in the rhizosphere of rape and ryegrass cropped in vineyard soils. p. 196-197. In W.W. Wenzel et al. (ed.) Proceedings of Extended Abstracts of 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Vienna, Austria.

9- Corre M.D., Schnabel R.R., and Shaffer J.A. 1999. Evaluation of soil organic carbon under forests, cool-season and warm-season grasses in the northeastern US. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1531–1539.

10- Dessureault-Rompre J., Nowack B., Schulin R., Tercier-Waeber M.L., and Luster J. 2008. Metal solubility and speciation in the rhizosphere of *Lupinus albus* cluster roots. Environmental Science and Technology, 42: 7146–7151.

11- Doelsch E., Moussard G., and Saint Macary H. 2008. Fractionation of tropical soilborne heavy metals –

comparison of two sequential extraction procedures. Geoderma, 143: 168–179.
12- Feng M.H., Shan X.Q., Zhang S., and Wen B. 2005. Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat. Chemosphere, 59: 939-949.
13- Formentini T.A., Mallmann F.J.K., Pinheiro A., Fernandes C.V.S., Bender M.A., da Veiga M., dos Santos D.R., and Doelsch E. 2015. Copper and zinc accumulation and fractionation in a clayey Hapludox soil subject to long-term pig slurry application. Science of the Total Environment, 536: 831-839.
14- Gee G.W., and Bauder J.W. 1986. Particle size analysis. p. 404-407. In: A. Klute (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
15- Hamon R.E., Lorenz S.E., Holm P.E., Christensen T.H., and McGrath S.P. 1995. Changes in trace metal species and other components of the rhizosphere during growth of radish. Plant, Cell and Environment, 18: 749–756.
16- He Z.L.L., Yang X.E., and Stoffella P.J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 19: 125-140.
17- He M.M., Tian G.M., and Liang X.Q. 2009. Phytotoxicity and speciation of copper, zinc and lead during the aerobic composting of sewage sludge. Journal of Hazardous Materials, 163: 671–677.
18- Hinsinger P., Gobran G.R., Gregory P.J., and Wenzel W.W. 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. New Phytologist, 168: 293–303.
19- Hinsinger P., and Courchesne F. 2007. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids at soil–root interface. In A. Violante et al. (ed.) Biophysicochemical processes of metals and metalloids in soil environments. John Wiley & sons, NewYork.
20- Hinsinger P. 1999. Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. p. 152-153. In W.W. Wenzel et al. (ed.) Proceedings of Extended Abstracts of 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. Vienna, Austria.
21- Hinsinger P., Plassard C., Tang C., and Jaillard B. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: a-review. Plant and Soil, 248: 43-59.
22- Hoyt P.B., and Nyborg M. 1971. Toxic metals in acid soil: 2. Estimation of plant available manganese. Soil Science Society of America Journal, 35: 141-144.
23- Jefferey J.J., and Uren N.C. 1983. Copper and zinc species in the soil solution and the effects of soil pH. Australian Journal of Soil Research, 21: 479–488.
24- Jenkinson D.S., and Powlson D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. Soil Biology and Biochemistry, 8: 209-213.
25- Kabala C., and Singh R.R. 2001. Fractionation and mobility of Copper, lead, and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. Journal of Environmental Quality, 30: 485–492.
26- Karczewska A., Orlow K., Kabala C., Szopka K., and Galka B. 2011. Effects of chelating compounds on mobilization and phytoextraction of copper and lead in contaminated soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 42: 1379–1389.
27- Kim K.R., Owens G., and Kwon S.I. 2010. Influence of Indian mustard (*Brassica juncea*) on rhizosphere soil solution chemistry in long-term contaminated soils: A rhizobox study. Journal of Environmental Sciences, 22(1): 98–105.
28- Lynch J.M., and Whipps J.M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. Plant and Soil, 129: 1-10.
29- 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.
30- Loeppert R.H., and Suarez D.L. 1996. Carbonate and gypsum. p. 437-474. In D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, WI.
31- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. (2nd ed.). Academic Press, London, UK.
32- Mehlich A. 1953. Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH_4. North Carolina Soil Testing Div. Mimeo, Raleigh.
33- Mehlich A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 15: 1409-1416.
34- Michaud A.M., Bravin M.N., Galleguillos M., and Hinsinger P. 2007. Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. Plant and Soil, 298: 99–111.
35- Motaghian H.R., and Hosseinpur A.R. 2013. Zinc desorption kinetics in bean (Phaseolus vulgaris L.) rhizosphere in sewage sludge-amended calcareous soils. Environmental Earth Sciences, 1–9.
36- Motaghian H.R., Hosseinpur A.R., Mohamadi J., and Raeisi F. 2013. Change in Bioavailability and Fractions of Copper in the Rhizosphere of Wheat (*Triticum aestivum* L.) in Some Calcareous Soils. Journal of Water and Soil. 26 (6): 1492-1504. (in Persian with English abstract).

37- Nelson D.W., and Sommers L.E. 1996. Carbon, organic carbon, and organic matter. p. 961-1010. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, WI.
38- Nemati K., Abu Bakar N.K., Sobhanzadeh E., and Abas M.R. 2009. A modification of the BCR sequential extraction procedure to investigate the potential mobility of copper and zinc in shrimp aquaculture sludge. Microchemical Journal, 92: 165–169.
39- Pinel F., Leclerc-Cessac E., and Staunton S. 2003. Relative contributions of soil chemistry, plant physiology and rhizosphere induced changes in speciation on Ni accumulation in plant shoots. Plant and Soil, 255: 619–629.
40- Qian P., Schoenau J.J., Wu T., and Mooleki S.P. 2003. Copper and zinc amounts and distribution in soil as influenced by application of animal manure in east-central Saskatchewan. Canadian Journal of Soil Science, 83: 197-202.
41- Rodríguez-Vila A., Asensio V., Forján R., and Coveloa E.F. 2015. Chemical fractionation of Cu, Ni, Pb and Zn in a mine soil amended with compost and biochar and vegetated with *Brassica juncea* L. Journal of Geochemical Exploration, 158: 74–81.
42- Rostamizadeh A., Fekri M., Sarcheshmehpour M., and Baghizadeh A. 2011. Effect of EDTA on hevay metal uptake Cu and Zn by corn. p. 60. The first phytoremediation national congress. 17 Feb. 2011. Center of international science and advanse technology and Kerman environmental science, (In Persian).
43- Safari Sinegani A.A., and Khalilikhah F. 2010. Effects of EDTA, sheep manure extract and their application time on Cd uptake by Helianthus annuus from a calcareous mine soil. Soil and Sediment Contamination, 19: 378–390.
44- Safari Singani A.A., and Ahmadi P. 2012. Manure application and cannabis cultivation influence on speciation of lead and cadmium by selective sequential extraction. Soil and Sediment Contamination, 21: 305–321.
45- Singh S.P., Tack F.M., and Verloo M.G. 1998. Heavy metal fractionation and extractability in dredged sediment derived surface soils. Water, Air and Soil Pollution, 102: 313–328.
46- Soltanpour P.N., and Schwab A.P. 1977. A new soil test for simultaneous extraction of macro- and micro-nutrients in alkaline soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 8: 195-207.
47- Soriano-Disla J.M., Gomez I., Navarro-Pedreno J., and Lag-Brotons A. 2010. Evaluation of single chemical extractants for the prediction of heavy metal uptake by barley in soils amended with polluted sewage sludge. Plant and Soil, 327: 303–314.
48- Sposito G.L., Lund 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: 260-265.
49- Tahmasbian I., and Safari Sinegani A.A. 2013. Monitoring the effects of chelating agents and electrical fields on active forms of Pb and Zn in contaminated soil. Environmental Monitoring and Assessment, 185: 8847–8860.
50- Tao S., Chen Y.J., Xu F.L., Cao J., and Li B.G. 2003. Changes of copper speciation in maize rhizosphere soil. Environmental Pollution, 122: 447–454.
51- Tembo B.D., Sichilongo K., and Cernak J. 2006. Distribution of copper, lead, cadmium and zinc concentrations in soils around Kabwe town in Zambia. Chemosphere, 63: 497–501.
52- Tessier A., Campbell P.G.C., and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry, 51: 844-851.
53- Tokalioglu S., Kartal S., and Birol G. 2003. Application of a three-stage sequential extraction procedure for the determination of extractable metal contents in highway soils. Turkish Journal of Chemistry, 27: 333-346.
54- Wang Z., Shan X.Q., and Zhang S. 2002. Comparison between fractionation and bioavailability of trace elements in rhizosphere and bulk soils. Chemosphere, 46(8): 1163-1171.
55- Way H., and Cunnighams S. 1999. Chelate assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation. Environmental Science and Technology, 33: 1898-1904.
56- Xing B.S., Liu J.D., Liu X.B., and Han X.Z. 2005. Extraction and characterization of humic acids and humin fractions from a black soil of China. Pedosphere, 15: 1–8.
57- Zemberyova M., Bartekova J., and Hagarova I. 2006. The utilization of modified BCR three-step sequential extraction procedure for the fractionation of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in soil reference materials of different origins. Talanta, 70: 973–978.

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 2, May.-Jun. 2017, p. 509-521

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 2، خرداد – تیر 1396، ص. 521-509

Change in Availability and Fractions of Copper in the Rhizosphere of Sunflower in a Contaminated Soil Treated With Chelators

M. Rahmanian[1*]- A.R. Hosseinpour[2] -E. Adhami[3]- H.R. Motaghian[4]

Received: 10-02-2016
Accepted: 08-11-2016

Introduction: Rhizosphere is commonly defined as the zone where root activity significantly influences the biological and chemical properties of the soil. Biological, physical and chemical characteristics of rhizosphere, especially metal availability and metal chemical forms are different than the bulk soil. Plant roots continuously release compounds such as sugars, amino acids, and carboxylic acids. Plant roots have the ability to transform metal fractions for easier uptake through root exudation in the rhizosphere. This study was conducted to investigate change in availability and fractions of Copper in the rhizosphere of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in a sandy contaminated soil treated with chelators (EDTA, citric acid and poultry manure extract (PME)) in greenhouse condition.

Materials and Methods: In this study, EDTA and citric acid were used at concentrations of 0, 0.5 and 1 mmol kg^{-1} soil and PME was used at concentrations of0, 0.5 and 1 g kg^{-1} soil. Three seeds of sunflower were planted in the rhizobox. After 10 weeks, plants were harvested and rhizosphere and bulk soils were separated. Dissolved organic carbon (DOC), microbial biomass carbon (MBC), available Cu (by using 7 chemical procedures including DTPA-TEA,AB-DTPA, Mehlich1, Mehlich3, $CaCl_2$ 0.01 M, rhizosphere-based method and distilled water) and Cu-fractions were determined in the rhizosphere and bulk soils.

Results and Discussion: Rhizosphere soils properties were different with bulk soils. The results showed that the mean of DOC and MBC in the rhizosphere soils were higher than the bulk soils, but this difference was significant in some treatments. The mean value of pH in the rhizosphere soils was significantly ($p<0.05$) smaller than one in the bulk soils. The amounts of extracted Cu by different methods in the rhizosphere were lower than ones in the bulk soils. The amounts of exteracted Cu with extractants ranged from 0.023 to 1.83mg kg^{-1}. The amounts of extracted Cu by distilled water, rhizosphere-based method and $CaCl_2$ 0.01 M were not detected by an atomic absorption spectrophotometer. The maximum and minimum amounts of Cu were exteracted by mehlich3 and mehlich1 methods, respectively. As chelators added to soil, increased the amount of available Cu. Cu extracted by mehlich1 was read only by an atomic absorption spectrophotometer when EDTA added to the soil. In the rhizosphere and bulk soils treated with chelators, the greatest amounts of copper were observed in the residual, bounded to organic matter, bounded to iron and manganese oxides, bounded to carbonates and exchangeable fractions, respectively. The exchangeable Cu fraction was not detected by an atomic absorption spectrophotometer. The mean values of Cu bounded to carbonates, bounded to iron and manganese oxides and residual fractions in the rhizosphere were higher than ones in the bulk soils. The mean value of Cu bounded to organic matter fraction in the rhizosphere was smaller than one in the bulk soil. The amounts of Cu fractions ranged from 2.81 to 12.95mg kg^{-1}. In the rhizosphere soils, Cu exteracted by Mehlich 1 and Mehlich 3 were significantly correlated with Cu bounded to organic matter fraction ($r = 0.99$), and shoot dry mass was significantly correlated with Cu bounded to carbonates ($r = -0.99$). In the bulk soils, Root dry mass was significantly correlated with Cu bounded to iron and manganese oxides ($r =- 0.99$).

Conclusions: In the present study, the effects of EDTA, citric acid and PME on bioavailability and fractions of Cu in the rhizosphere of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plant grown on a sandy contaminated soil were investigated. The chelators and environment had significant impacts ($P<0.05$) on Cu extracted by different extractants. The maximum and minimum amounts of Cu were exteracted when the EDTA (1 mmol kg^{-1}) was added to the soil and no chelators were added to the soil (control condition), respectively. The results of this research illustrated that availability of Cu in the rhizosphere soils are different from the bulk soils. Also, the present studyshowed that the Cu values extracted with seven different chemical extractants from the rhizosphere

1-Former Ph.D student College of Agriculture, Shahrekord University, and Assistant Professor Department of Soil Science College of Agriculture, Yasouj University
(*- Corresponding Author Email: M.rahmanian10@yahoo.com)
2 and 4- Professor and Assistant Professor Department of Soil Science, College of Agriculture, Shahrekord University
3- Associate Professor Department of Soil Science, College of Agriculture, Yasouj University

soils were significantly lower than ones in the bulk soils. Furthermore, Cu concentrations in various chemical soil fractions differed between rhizosphere and bulk soils. This shows that the sunflower root-that induced modifications of soil physical, chemical, and biological conditions not only leads to depletion in mobile fractions of soil Cu, but also modifies the soil Cu fractions which are commonly considered as more stable. Therefore, using the rhizosphere soil would be recommended in the study of available Cu.

Keywords: Chelator, Copper, Fractionation, Rhizosphere, Sunflower