کاربرد شیب پخش درغشای نازک (DGT) برای برآورد فسفر قابل جذب ذرت در خاک

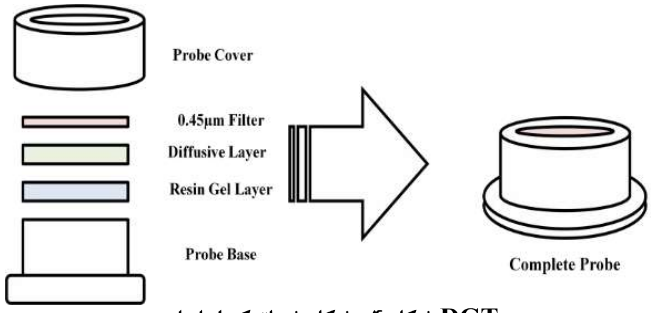
صابر حیدری [۱]، عادل ریحانی‌تبار [۲]، شاهین اوستان [۳]
۱- دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،۲- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۳- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

چکیده
فسفربعد از نیتروژن در بین عناصر ضروری مهمترین عامل محدود کننده تولیدات کشاورزی در جهان است. روش‌های مختلفی برای ارزیابی زیست فراهمی فسفر در خاک وجود دارد که در هر روش همبستگی بین فسفر استخراج شده و فسفر جذب شده توسط گیاه وابستگی بالایی به نوع خاک دارد و روشی که برای هر نوع خاکی مناسب باشد، تاکنون ارائه نشده است.یکی از تکنیک‌های جدید در این مورد روش شیب پخش در غشاء نازک(DGT) است. این روش بر پایه انتقال یون‌ها به صورت پخشیدگی از لایه پخش و جذب آنهادرلایه جاذب است. مواد مورد استفاده در این روشعموما دارای حق ثبت اختراع است. هدف از این تحقیق، بومی سازی ساخت DGTدر داخل کشور و ارزیابی آن در خاک جهت پیش بینی قابلیت جذب فسفر توسط گیاه ذرت بود. به همین منظور توانایی DGTو روش اولسن در ارزیابی زیست فراهمی فسفر در گیاه ذرت (سینگل کراس ۷۰۴) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که همبستگی آماری نزدیکی بین جذب فسفر توسط ذرت بافسفر استخراجی هر دو روش وجود داشت. ضریب تبیین (R^2) برای روش اولسن و DGTبه ترتیب ۸۶/۰ و ۷۶/۰ بود.

واژه های کلیدی: فسفر، شیب پخش در غشاء نازک، DGT، خاک، اولسن، ذرت

مقدمه
کمبود عناصر غذایی قابل جذب در خاک‌ها امروزه در حال تبدیل شدن به یکی از مشکلات مهم در کشاورزی بوده و یکی از این عناصر فسفرمی‌باشد. فسفر از عناصر پرمصرف برای گیاهان بوده و درصد کمتری از مقدار کل فسفر خاک برای گیاهان قابل استفاده است. . بنابراین افزایش بهره‌وری باید با کاربرد هرچه موثرتر کودها انجام گیرد که آن نیز با تشخیص دقیق کمبود عناصر امکان پذیر است (Loneragan, ۱۹۹۷). ارزیابی قابلیت جذب عناصر غذایی برای گیاهان به دلیل پیچیدگی محیط خاک و مکانیزم‌های جذب و واجذب عناصر بسیار مشکل است . روشی که برای پیش‌بینی قابلیت جذب عناصری مانند فسفر استفاده می‌شود، باید بهترین شبیه‌سازی را از ریزوسفرگیاه در خاک انجام دهد. تکنیک‌های متداول بر این اصل تمرکز ندارند چون این روش‌ها، غلظت فسفر محلول خاک یا اجزائی که مربوط به فاکتورهای کمیت و شدت است را اندازه‌گیری می‌کنند (Zhang et al., ۲۰۰۱). روش شیب پخشیدگی لایه نازک فیلم (DGT) که کمترین بهم خوردگی را در خاک ایجاد می‌کند در سال ۱۹۹۴ توسط دیویسون و ژانگ ارائه و به عنوان یک ابزار مفید در تشخیص و گونه‌بندی آنالیت‌ها، مطالعات سینتیکی و زیست فراهمی عناصر در آب و خاک به کار می‌رود. این روش بر پایه انتقال یون‌ها به صورت پخشیدگی در لایه نازک هیدروژل و جذب آن‌ها در لایه رزینی می‌باشد (Zhang and Davison, ۱۹۹۹). به دلیل اینکه پارامترهای خاکی کنترل‌کننده‌ی جریان به سمت DGT، می‌توانند به عنوان عوامل کنترل‌کننده در جذب عناصر توسط گیاه نیز نقش داشته باشند و چون DGT مثل ریشه گیاه عناصر را از محلول خاک جذب و بازفراهمی آنها از فاز جامد را سبب می‌شود لذا می‌توان از آن برای ارزیابی قابلیت فراهمی عناصر در خاک استفاده کرد (Lehto et al., ۲۰۰۶). در ساخت ژل‌های مورد نیاز در DGT از مواد انحصاری و دارای حق ثبت استفاده شده است. هدف از این تحقیق، ساخت ابزار DGT مشابه نمونه خارجی و ارزیابی کاربرد آن در برآورد قابلیت جذب فسفر در گیاه ذرت در ۱۰ خاک آهکی با مقادیر متفاوت فسفر است.

مواد و روش‌ها
ابزار DGT: همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود ، ابزار DGT شامل دو قسمت پلاستیکی است که لایه‌ها را به یکدیگر متصل و ساندویچ می‌کند. لایه پخش (ژل و فیلتر غشایی) بر روی لایه جاذب قرار گرفته است. فیلتر غشائی با محیط بیرون در تماس بوده و قطر قسمت پنجره‌ای ژل که با محیطبیرون در تماس می‌باشد، ۲۰ میلی‌متر است. ضخامت لایهجاذب ۶/۰، لایه پخش ۸/۰ و فیلتر غشایی ۱۳۵/۰ میلی‌متر است (Zhang and Davison ۱۹۹۵).



شکل ۴- شکل شماتیک از ابزار DGT

آماده‌سازی ژل‌ها: در تحقیق حاضر ژل‌ها از نوع آکریل آمید می‌باشد که مونومرهای آن با عامل پیوندی عرضی مشتق شده از آگاروز با پیوندهای الیلیبه یکدیگر متصل شده‌اند. بدین منظور، عامل پیوندی عرضی با افزودن ۳۳ میلی‌گرم سدیم بوروهیدرید و ۶/۱ میلی‌لیتر آلیل‌گلیسیدیل‌اتر به مخلوط آگاروز (۱ گرم) و سود (۳۳ میلی‌لیتر و ۳/۰ نرمال) و تکان دادن آن برای ۱۲ ساعت و سپس آبگیری آن با متانول و خشک کردن آن در آون به دست آمد. ژل پخش با انحلال آلیل آگاروز ۳/۰% (w/v) در آب ۹۵ درجه سلسیوس و افزایش آکریل آمید ۱۵% (w/v)، پرسولفات آمونیوم ۱۰% (w/v) به عنوان آغازگر و کاتالیزور TEMED و قالب‌گیری بین دو شیشه با فاصله مشخص تهیه شد (Roncada et al. ۲۰۰۵).ژل جاذب فسفر، اشباع از فریهیدراتیا اکسید آهن آمورف می‌باشد. بهمنظورتهیه لایه جاذب، لایه پخش با ضخامت ۶/۰ میلی‌متر و در اندازه‌های دایره‌ای شکل به قطر ۵/۲ سانتی‌متر طبق روش بالا تهیه شد. ۷/۲ گرم از $FeCl_3.6H_2O$ در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل و ۳ ژل پخش که در اندازه مناسب برش داده شده بود در آن قرار داده شد. سپس دوباره به آن آب اضافه کرده تا حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد. ژل‌هاحداقل ۲ ساعت در این محلول نگهداری شده تا Fe به‌صورت یکنواخت در داخل و بیرون ژل توزیع شود. در مرحله بعد ژل‌هابرداشتشدهوبعدازچندثانیه قرار دادن در آب دی‌یونیزه، در محلول MES (۰۵/۰ مولار) که یک بافر بوده و pH آن در ۷/۶ تنظیمشده است، قرار داده شد. فریهیدرات سریعاً رسوب می‌شوند. بعد از ۳۰ دقیقه، ژل‌هاازبافربرداشتهشدهوبهمدت ۲ ساعتدرآبدی‌یونیزه قرار داده شد. در طول این دو ساعت آب حداقل ۲ بار تعویض گردید تا کلیه مواد ناخواسته از ژل خارج شود. در پایان ژل‌هابرای تثبیت و شکل‌گیری نهایی، در محلول ۰۳/۰ مولار NaCl به مدت حداقل ۲۴ ساعت قرار داده شد(Santner et al. ۲۰۱۰). نمای کلی از ساخت، کاربرد و برداشت DGT در شکل ۲ ارائه شده است.

شکل ۵- نمای کلی از ساخت، کاربرد DGT در خاک

کاربرد DGT در خاک: در این تحقیق از ۱۰ نمونه خاک با مقادیر فسفر متفاوت استفاده شد. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تعدادی از ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک‌ها با روش‌های متداول اندازه‌گیری گردید. ۵۰ گرم از خاک‌هادرظروفجداگانهقراردادهشد. خاک‌هابااستفادهازآبدیونیزه اشباع گردید و به مدت ۲۴ ساعت در حالت اشباع نگهداری شد. بعد از این مدت، ابزارهای DGT در عمق ۱ تا ۲ سانتی متری در هر خاک و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد.بعد از ۲۴ ساعت، لایهجاذبیا اکسید آهن برداشت شده و در لوله سانتریفیوژ قرار داده شد. ۱۰ میلی لیتر اسید H_2SO_4 ۲۵/۰ مولار بر روی آن ریخته و به مدت ۲ ساعت شیک گردید. میزان فسفر موجود در این محلول با استفاده از روش Malachite Green (Rao et al., ۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد (Menzies et al., ۲۰۰۵).

اصول روش DGT: بعد از آنکه ابزار DGT در خاک قرار گرفت، فسفر از لایه پخش عبور کرده و در لایه جاذب جذب می‌شود. وجود لایه پخش سبب ایجاد شیب غلظت ماندگار از محلول خاک به سمت لایه جاذب می‌شود. اندازه‌گیری غلظت فسفر در نقطه تماس با محلول خاک (C_{DGT}) با استفاده از معادله ۱ و مقدار فسفر تجمع یافته در لایه جاذب بعد از زمان کاربرد، انجام می‌گیرد.

$$C_{DGT} = M \Delta g / (D A t) \quad (۱)$$

که M، فسفر جذب شده در لایه جاذب، Δg، ضخامت لایه پخش (ژل پخش و فیلتر)، D، ضریب پخشیدگی فسفر در لایه پخش، A، مساحت قسمت دایره‌ای شکل DGTکه در تماس با محلول خاک است و t، زمان کاربرد ابزار است. میزانفسفرجذب شده در لایه جاذب (M) از معادله ۲ قابل محاسبه است. که Ce غلظت در ژل رزینی شسته شده با اسید سولفوریک، Vg حجم ژل رزینی، Ve حجم اسید افزوده شده برای شستشوی ژل می‌باشد.

$$M = C_e (V_{gel} + V_{acid}) \quad (۲)$$

در روش DGT، مفهومی به نام غلظت موثر (C_E) ارائه شد که مجموع غلظت محلول خاک و یک مقدار اضافی است که نشان‌دهندهعناصرفراهمشدهازفازجامداست.غلظت موثر از معادله زیر می‌تواند به دست آید. که R، با استفاده از مدل DIFS (DGT Induced Fluxes in Sediments and Soils) و با پارامترهای ورودی به نرم‌افزار DIFSبدست می‌آید(Zhang et al. ۲۰۰۱).

$$C_E = C_{DGT} / R_{diff} \quad (۳)$$

آزمایشات گلدانی: این آزمایشات با استفاده از ۵ نمونه خاک و در سه تکرار انجام پذیرفت. هر گلدان شامل ۳ کیلوگرم خاک بود که از الک ۷۵/۴ میلی متر گذرانده شد. قبل از کاشت، رطوبت خاک در گلدان در ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. سپس ۶ دانه ذرت (سینگل کراس ۷۰۴) در هر گلدان کاشته شده و رطوبت آن با روش وزنی به ظرفیت مزرعه رسانده شد. عناصر مورد نیاز گیاه بجز فسفر با توجه به آزمون خاک به هر گلدان داده شد. بعد از ۸ هفته ذرت ها برداشت شده و به دقت با آب مقطر شسته شده و در آون قرار داده شده و پودر شد و با روش خشک سوزانی برای اندازه‌گیری فسفر آماده گردید. در نهایت مقدار فسفر جذب شده توسط گیاه با روش زرد اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

در جدول ۱ برخی ویژگی هایفیزیکی و شیمیایی خاکهای مورد مطالعه ارائه شدهاست. بر اساس نتایج ارائه شده، خاک‌ها pH بین ۸/۷ تا ۳۷/۸ و کربنات کلسیم معادل بین ۷۹/۴ تا ۲۹ داشته‌اند بنابراین می‌توان بیان داشت که خاك ها آهکی هستند.

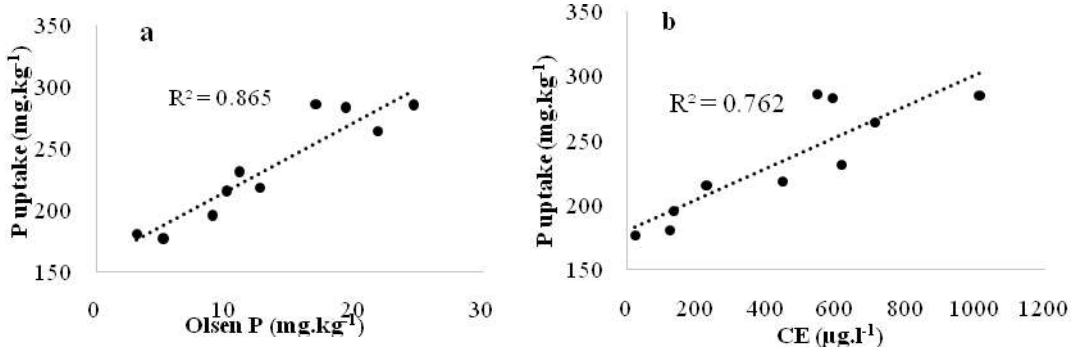
جدول ۴- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	pH	بافت خاک	رطوبت اشباع %	CCE	Olsen P mg kg^{-1}
۱	۱۷/۸	loamy sand	۳/۲۴	۷۹/۴	۷/۱۲
۲	۳۳/۸	sandy loam	۶۱/۳۸	۹۱/۱۷	۰۷/۱۰
۳	۲۸/۸	sandy loam	۲۳/۵۳	۴۶/۱۳	۱۷/۵
۴	۲۶/۸	loam	۰۵/۴۰	۷۱/۹	۱۲/۱۱
۵	۳۷/۸	clay loam	۵/۵۲	۶۶/۶	۸۱/۲۱
۶	۲۵/۸	clay	۲۴/۵۴	۹۶/۵	۰۲/۹
۷	۸/۷	loam	۰۳/۴۴	۷۳/۵	۲۱
۸	۲/۸	silty clay loam	۷۵/۵۰	۷۶/۲۳	۳۴/۱۷
۹	۰۳/۸	clay loam	۲۴/۴۴	۲۴	۱۵/۳
۱۰	۱۵/۸	silt loam	۰۵/۴۲	۱۲/۲۲	۶۱/۲۴

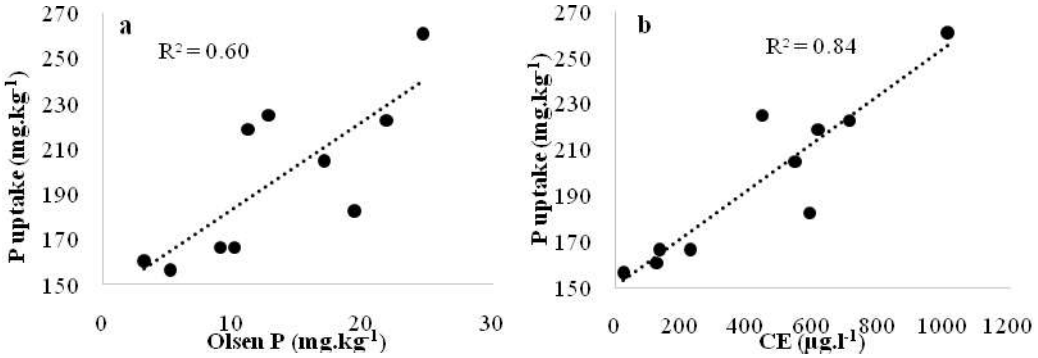
همبستگی فسفراستخراج شده توسط عصاره گیر اولسن و روش DGTبا جذب فسفر در اندام هوایی گیاه ذرت در شکل ۳ ارائه شده است. در ۱۰ خاك مورد مطالعه همبستگی بینفسفر استخراج شده با روش اولسن** ۸۶/۰ و روش DGT** ۷۶/۰ بود. تندی و همکاران (۲۰۱۲) همبستگی با R^2=۰.۷۲ بین DGT و فسفر جذب شده توسط گیاه جو بدست آوردند در حالی که این همبستگی با روش اولسن وجود نداشت. البته خاک‌های مورد مطالعه در تحقیق آنها از نوع آهکی نبود.

همچنین همبستگی فسفر استخراج شده توسط عصاره‌گیر اولسن و روش DGT با جذب فسفر در ریشه گیاه ذرت در شکل ۴ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در ۱۰ خاک مورد مطالعه این همبستگی بینفسفر استخراج شده با روش اولسن** ۶/۰ و روش DGT** ۸۴/۰ بود.به دلیل اینکه غلظت فسفر در ناحیه چسبیده به ریشه‌ی گیاه توسط واجذب فسفر از سطح خاک و پخشیدگی به سمت ریشه کنترل می‌شود، جذب فسفر توسط DGT شباهت بالایی به جذب توسط ریشه گیاه دارد .هنگامی که فراهمی یک عنصر برای ریشه گیاه توسط فرایند پخشیدگی کنترل می‌شود، سودمندی روش DGT نسبت به دیگری روش‌ها ای معمول افزایش می‌یابد. جذب فسفر توسط ریشه گیاه، غلظت آن را در نزدیکی ریشه کاهش داده و درنتیجه پخش فسفر به سمت ریشه و واجذب آن از فاز جامد را سبب می‌شود. روش DGT بر خلاف دیگر روش های معمول خصوصا روش‌های عصاره‌گیری، این شرایط را تقلید می‌کند (Degryse et al. ۲۰۰۹).

اکثر محققان همبستگی مناسبی بین فسفر استخراج شده با روش اولسن و میزان جذب آن توسط گیاه در خاک‌های آهکی پیدا کردند(Ahmad et al. ۲۰۰۶). در این بررسی نیز این همبستگی مناسب مشاهده می‌شود. البته باید به این موضوع توجه کرد که این همبستگی به شدت به نوع خاک و pH آن وابسته است ولی تحقیقات نشان داده که روش DGT بهتر می‌تواند فرایند جذب عناصر خصوصا فسفر را بدون توجه به نوع خاک پیش‌بینی کند .



فسفر استخراج شده با روش (b فسفر استخراج شده با روش اولسن (a شکل ۶- همبستگی بین فسفر جذب شده توسط اندام هوایی گیاه ذرت با DGT



فسفر استخراج شده با روش (b فسفر استخراج شده با روش اولسن (a شکل ۷- همبستگی بین فسفر جذب شده توسط اندام هوایی گیاه ذرت با DGT

در این مقاله از عامل پیوندی عرضی جایگزین برای ساخت ابزار DGTاستفاده شد و تمامی مراحل ساخت (از نگه‌دارنده تا ژل‌ها) با هزینه کمتر در ایران بومی سازی شد. همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، عملکرد DGTساخته شده در ایران در اندازه‌گیری فسفر خاکمناسب بوده و می‌تواند به منظور تحقیقات وسیعتری مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Ahmad W, Rahmatullah GMA, Aziz T (۲۰۰۶) Bioavailability ofinorganic phosphorus fractions in calcareous soils estimatedby Neubauer technique, iron-impregnated filter paper, andchemical tests. Commun Soil Sci Plan ۳۷(۹-۱۰):۱۱۸۵-۱۱۹۳.

Degryse F, Smolders E, Zhang H, Davison W (۲۰۰۹). Predictingavailability of mineral elements to plants with the DGTtechnique: a review of experimental data and interpretationby modelling. Environ Chem ۶:۱۹۸-۲۱۸.

Lehto, N. J., W. Davison, H. Zhang & W. Tych (۲۰۰۶). Analysis of micro-nutrient behaviour in the rhizosphere using a DGT parameteriseddynamic plant uptake model. Plant and soil, ۲۸۲, ۲۲۷-۲۳۸.

Loneragan, J. (۱۹۹۷). Plant nutrition in the ۲۰th and perspectives for the ۲۱st century. Plant and Soil, ۱۹۶, ۱۶۳-۱۷۴.

Mason, S., A. McNeill, M. J. McLaughlin & H. Zhang (۲۰۱۰) Prediction of wheat response to an application of phosphorus under field conditions using diffusive gradients in thin-films (DGT) and extraction methods. Plant and soil, ۳۳۷, ۲۴۳-۲۵۸.

Menzies, N. W., B. Kusumo & P. W. Moody (۲۰۰۵) Assessment of P availability in heavily fertilized soils using the diffusive gradient in thin films (DGT) technique. Plant and soil, ۲۶۹, ۱-۹.

Rao, A. S., Reddy, K. S., and Takkar, P. (۱۹۹۷). Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating smallamounts of phosphorus in water, ۰.۰۱ M calcium chloride, and Olsen soil extracts. Communications in Soil Science & Plant Analysis ۲۸, ۵۸۹-۶۰۱.

Roncada, P., Cretich, M., Fortin, R., Agosti, S., De Franceschi, L., Greppi, G. F., Turrini, F., Carta, F., Turri, S., and Levi, M. (۲۰۰۵). Acrylamide agarose copolymers: Improved resolution of high.

Santner, J., T. Prohaska, J. Luo & H. Zhang (۲۰۱۰) Ferrihydrite containing gel for chemical imaging of labile phosphate species in sediments and soils using diffusive gradients in thin films. Analytical chemistry, ۸۲, ۷۶۶۸-۷۶۷۴.

Tandy, S., S. Mundus, J. Yngvesson, T. C. de Bang, E. Lombi, J. K. Schj rring & S. Husted (۲۰۱۱) The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils. Plant and soil, ۳۴۶, ۱۶۷-۱۸۰.

Zhang, H. & W. Davison (۱۹۹۵). Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. Analytical Chemistry, ۶۷, ۳۳۹۱-۳۴۰۰.

Zhang, H. & W. Davison (۱۹۹۹).Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. Analytica Chimica Acta, ۳۹۸, ۳۲۹-۳۴۰.

Zhang, H., F.-J. Zhao, B. Sun, W. Davison & S. P. Mcgrath (۲۰۰۱). A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. Environmental science & technology, ۳۵, ۲۶۰۲-۲۶۰۷.

Abstract

After nitrogen the phosphorus is the most important limiting factor at agricultural products in the world between essential nutrients.Numerous soil tests are available to measure P availability in soils. Thecorrelation between extracted P and plantuptake with every extraction is relay on to soil types and there is no uniquestandard test which is universally applicable to all soil types. One of the new techniques in this regard is diffusive gradient in thin films (DGT) techniques.DGT is based on the diffusional characteristics of elements through a hydrogel and the sorption to the binding layer. The material used in this technique ispatentded.The aim of this study wasto make DGTwith our available materials and to examine it on our soils. The ability of DGT to assess plant-available P by corn(SC ۷۰۴)was tested in a wide rangeof soils along with Olsen method. The results showed that there is a close correlation between plant uptakeand the both of methods ($R^{۲}_{Olsen}$=۰.۸۶, $R^{۲}_{DGT}$ =۰.۷۶).