کارایی چند عصاره‌گیر شیمیایی در ارزیابی قابلیت استفاده‌ی آهن باقی مانده در خاک از منابع کودی مختلف

اسماعیل گری [۱] و محمد حشمتی رفسنجانی [۲]
۱-کارشناس ارشد گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ۲-استادیار گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان

چکیده
هدف از انجام این مطالعه بررسی توانایی سه عصاره‌گیر شیمیایی مهلیچ سه، DTPA-$CaCl_2$ و EDTA در ارزیابی قابلیت استفاده باقی مانده آهن از منابع کودی دورریزهای آهن و سکوسترین افزوده شده به خاک در فصل قبل بوده است. ۴۰ نمونه‌ی خاک در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت که قبلاً با منابع و سطوح مختلف آهن تیمار شده و زیر کشت ذرت بوده‌اند. عصاره‌گیرهای شیمیایی ذکر شده با روش زیستی نوی‌باور مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین عصاره‌گیر های DTPA-$CaCl_2$ و عصاره‌گیر EDTA همبستگی معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشته است و از بین عصاره‌گیرهای مورد مقایسه عصاره‌گیر DTPA-$CaCl_2$ بهترین همبستگی را با مقدار آهن قابل جذب استخراج شده با روش زیستی نوی باور در سطح پنج درصد داشته است.

کلمات کلیدی: روش زستی نوی باور، عصاره‌گیر مهلیچ سه، عصاره‌گیر DTPA-$CaCl_2$، عصاره‌گیر EDTA

مقدمه:
آهن یک عنصر غذایی ضروری برای گیاهان می‌باشد و کمبود آن باعث یک مشکل بزرگ در بسیاری از بخش‌های دنیا شده است. (Chaudly ۱۹۸۳). کمبود آهن مشکل اساسی در تغذیه‌ی گیاهان، محصولات کشاورزی و انسان می‌باشد. برخلاف وجود منابع عظیمی از ترکیبات آهن در خاک‌های مختلف، قابلیت حل شدن آن محدود است و تحریک اختلالات مختلف در سوخت و ساز گیاهی منجر به عدم جذب مناسب برای آهن می‌شود (پنج‌تن‌دوست و همکاران، ۱۳۸۹) بنابراین کمبود آهن در خاک‌های آهکی کشور باعث ایجاد کلروز در بسیاری از محصولات زراعی می‌شود (عشقی زاده و همکاران ۱۳۸۷). امروزه با مصرف خاکی یا تغذیه برگی کودهای معدنی و کلات‌های آهن و بهبود pH خاک با استفاده از اسیدهای آلی و غیر آلی تلاش می‌شود تا کمبود آهن بر طرف شود (Chen et al., ۲۰۰۴; and Olsen et al., ۱۹۸۱). از سوی دیگر خوش‌گفتار و حاجی‌مظفری(۲۰۰۶) و محمودی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده‌اند که کارایی روش‌های مختلف کوددهی در برطرف کردن کمبود آهن در گیاهان زراعی پایین می‌باشد. از این رو یافتن راهکارهای بهتر و اثر بخش، دارای توجیه اقتصادی و سازگار با محیط زیست برای مقابله با کمبود آهن مورد توجه می‌باشد. استفاده از عصاره‌گیرها برای ارزیابی آهن قابل دسترس گیاه در خاک بسیار متداول است. بر این اساس عصاره‌گیرهای مختلفی در آزمایشگاه های خاک استفاده می شود. برای انتخاب عصاره‌گیر مناسب جهت ارزیابی عناصر در خاک مقایسه‌ی آن عصاره‌گیر با برداشت های گیاه است که واقعیت درستی از وضعیت عناصر در خاک را نشان می‌دهد. همچنین توانایی عصاره‌گیر ها در ارزیابی آهن باقی مانده در فصل های بعدی ، با ارزیابی آهن قابل استفاده بومی خاک متفاوت باشد. بنابراین برای تعیین بهترین عصاره‌گیر، ارزیابی آن عصاره‌گیر با نتایج گیاه است. روش زیستی نوی‌باور روشی گلخانه‌ای به نسبت ارزان است که برای بررسی مقادیر واقعی عناصر پر مصرف موجود در خاک ابداع شده است. این روش همچنین در مواردی در بررسی عناصر سنگین خاک نیز استفاده شده است(Heshmati Rafsanjani et al,.۲۰۰۸). نتایج نشان داده است که مقدار محلول عناصر غذایی که با استفاده از عصاره‌گیری از خاک به دست آمده با آنچه که گیاه واقعا در دسترس دارد، تفاوت بسیار دارد. بنابراین برای تشخیص مطمئن که چه عنصر غذایی برای گیاه قابل دسترس است، نیازمند این است که به وسیله‌ی گیاه استخراج شود (Laura,. et al., ۱۹۳۲). این روش کاربرد وسیعی برای مطالعه‌ی وضعیت عناصر غذایی خاک (به ویژه فسفر و پتاسیم) دارد. به دلیل سرعت بالا، این روش در آزمایشگاه‌ها کاربرد زیادی دارد. این روش برای تشخیص پتانسیل جذب عناصر غذایی و عکس العمل محصول به کاربرد عناصر غذایی مورد نیاز، توصیه می‌شود. روش نوی‌باور بر اصل جذب سریع و شدید عناصرغذایی به وسیله تعداد زیادی از نشاهایی که در یک مقدار کم خاک رشد یافته‌اند بنا شده است. در این روش به دلیل تعداد زیاد نشاها، تشکیل سریع شبکه‌ی وسیعی از ریشه ها انجام می‌شود، که عناصر غذایی قابل دسترس را در یک دوره‌ی کوتاه جذب می‌کند (Kitchen., ۱۹۴۸). در روش نوی‌باور نسبت ریشه به خاک و نیز تراکم ریشه‌ها در خاک بسیار زیاد بوده و برای مطالعه‌ی عناصری که مقدار آن‌ها در خاک کم است نیز قابل استفاده می‌باشد (Nishita et al., ۱۹۷۳). در روش نوی‌باور گیاهچه‌ها قبل از اینکه علائم کمبود نمایان شود، شروع به استخراج عناصر غذایی از خاک می‌کنند، به طوری که ۱۰۰-۹۵ گیاهچه چاودار در ۱۴ روز همه‌ی مواد غذایی گیاهی قابل دسترس را در ۱۰۰ گرم خاک استخراج خواهند کرد (Laura. et al., ۱۹۳۲).

مواد و روش ها

نمونه‌های خاک مورد استفاده در فصل قبل طی یک آزمایش گلدانی تحت کشت گیاه ذرت بوده و با تیمارهای متفاوت آهن از منابع مختلف تیمار شده بودند. این تیمارها در سه سطح آهن شامل پنج، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم خاک و از سه منبع کودی شامل دور ریزهای آهن که شامل پیچ و براده هضم شده در اسید و منبع سکوسترین با یک نمونه شاهد (بدون اضافه کردن کود) در چهار تکرار، جمعاً به تعداد ۴۰ نمونه خاک بوده‌اند. در این تحقیق هر نمونه‌ی خاک به روش زیستی نوی‌باور و عصاره‌گیری شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. روش های عصاره‌گیری مورد استفاده در این مطالعه شامل عصاره‌گیر شیمیایی مهلیچ ۳، عصاره‌گیر شیمیایی $DTPA-CaCl_2$ و عصاره‌گیر شیمیایی EDTA بوده است که ترکیب و روش تهیه این عصاره‌گیرهای شیمیایی در جدول یک آمده است.

جدول ۱- روش های عصاره‌گیری شیمیایی استفاده شده جهت تعیین آهن قابل دسترس در نمونه‌های خاک

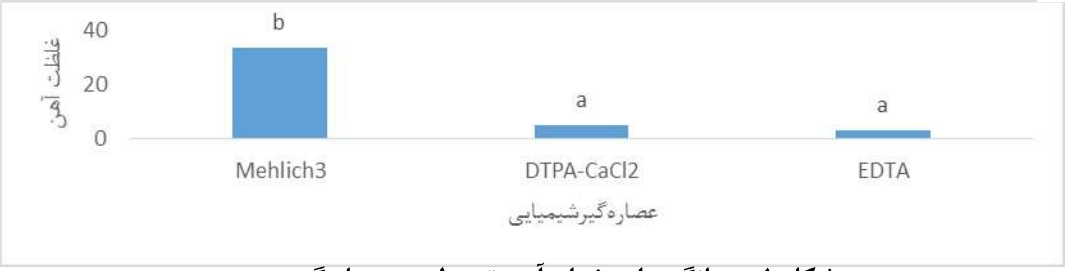
نام عصاره‌گیرشمیایی	ترکیب عصاره‌گیر	نسبت خاک به عصاره‌گیر	مدت زمان تکان دادن (دقیقه)	منبع
مهلیچ سه	۲/۰مولار CH_3COOH ، ۲۵/۰ +مولار، NH_4N ، ۰۱۳/۰مولار O_3 ، ۰۰۱/۰مولار HNO_3 ، ۰۱۵/۰ مولار EDTA + NH_4F	۳به ۲۵	۵	Mehlich,. ۱۹۸۴
$DTPA-CaCl_2$	۰۰۵/۰ مولار ، DTPA ، ۱/۰ مولار ، $CaCl_2$ ، ۱/۰ مولار ، TEA ، ۳/۷=pH	۱ به ۲	۱۲۰	Lindsay and Norvell,. ۱۹۷۸
EDTA	۰۵/۰ مولار ، EDTA pH=۷	۱ به ۵	۱۵	Viro ۱۹۵۵

کشت گلخانه‌ای با روش زیستی زیستی نوی‌باور انجام شد. در این روش کشت در گلدان‌های مخصوص روش نوی‌باور (ارتفاع ۸ سانتی متر و قطر ۱۲ سانتی متر) انجام شد. اساس این روش برداشت تمامی عناصر قابل استفاده خاک در حجم کم و در مدت زمان کم است. برای افزایش حجم گلدان ها در این مطالعه از ماسه عبور داده شده از الک یک میلیمتری استفاده شد. این ماسه ها ابتدا با اسید و سپس با آب مقطر شسته و شو و خشک شدند. در داخل همه‌ی گلدان‌ها یک لوله‌ی شیشه‌ای برای آبیاری در مرکز گلدان ها جایگذاری شد. در کف ظرف‌ها مخلوط ۱۰۰ گرم خاک مورد آزمایش هوا خشک شده زیر الک دو میلی‌متری و ۵۰ گرم شن درشت (۵/۰تا ۱ میلیمتر) ریخته شد. ۲۵۰ گرم شن ریز(میلیمتر ۵/۰) روی این لایه‌ی مخلوط شن ریز و شن درشت به صورت یکنواخت پخش شد. ۱۰۰عدد بذر چاودار(Secale montanum) توزین و شمارش شده و با پنس به صورت یکنواخت طوری که نوک آنها رو به پایین و تقریبا همسطح خاک بود روی این لایه‌ی مخلوط کشت وبا ۱۰۰ گرم شن ریز به صورت یکنواخت پوشانده شد. آبیاری تا ۷۰ درصد ظرفیت نگهداشت آب انجام و پس از ۲۷ روز و قبل از پدیدار شدن علائم کمبود، گیاهچه ها برداشت شده و قسمت های هوایی و ریشه از هم جدا و پس از وزن کردن در دمای ۶۸ درجه سانتی گراد طی ۷۲ ساعت درون آون خشک و توزین شدند. هضم نمونه ها به روش خشک سوزانی انجام و عصاره تهیه گردید. مقدار آهن در تمامی عصاره‌های حاصل از روش زیستی نوی باور و عصاره‌گیرهای شیمیایی به وسیله‌ی دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث:

نتایج نشان داد که میزان استخراج آهن به وسیله‌ی سه روش متفاوت بوده و مهلیچ سه بیشترین و EDTA کمترین مقدار آهن را استخراج کرده است(شکل یک). میانگین استخراج آهن توسط عصاره‌گیر شیمیایی مهلیچ سه ۸۲/۳۳ میلی گرم بر کیلو گرم خاک، میانگین استخراج آهن توسط عصاره‌گیر شیمیایی $DTPA-CaCl_2$ ۹۷/۴ میلی گرم بر کیلو گرم خاک، میانگین استخراج آهن توسط عصاره‌گیر شیمایی EDTA برابر ۰۷/۳ میلی گرم بر کیلو گرم خاک و مقدار برداشت آهن گیاهچه های چاودار ۵۵/۱۳ میلی گرم بر کیلو گرم خاک بوده است. در واقع میزان استخراج آهن توسط این سه عصاره‌گیر به صورت زیر بوده است.

مهلیچ ۳ $DTPA-CaCl_2$ EDTA



شکل ۱- میانگین استخراج آهن توسط سه عصاره‌گیر

نتایج شکل یک با انجام مقایسه میانگین به روش دانکن نشان می‌دهد که مهلیچ سه در مقایسه با دو عصاره‌گیر دیگر آهن بیشتری را استخراج کرده و تفاوت آن با دو عصاره‌گیر دیگر در سطح یک درصد معنی دار است. همچنین دو عصاره‌گیر شیمیایی DTPA-$CaCl_2$ و EDTA در یک سطح (هر دو a) آهن خاک را استخراج کرده‌اند. چیتزیستادیس و همکاران(۲۰۱۴) اعلام کردند که مهلیچ ۳ در مقایسه با DTPA-$CaCl_2$ برای استخراج آهن، آهن بیشتری را استخراج کرده است. همچنین آنان گزارش دادند که زیادی استخراج آهن به وسیله‌ی مهلیچ ۳ شاید به دلیل تفاوت درجه pH محلول عصاره‌گیر (pH ۵/۲ =) باشد. همبستگی بین آهن استخراج شده به وسیله‌ی عصاره‌گیرهای مختلف با استفاده از همبستگی ساده مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان دادکه آهن استخراج شده با روش عصاره‌گیر شیمیایی DTPA-$CaCl_2$ و EDTA همبستگی معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد دارند(جدول سه). همبستگی بین میزان آهن استخراج شده با این دو روش عصاره‌گیری بیان می‌کند که این دو عصاره‌گیر با مکانیزم های تقریبا مشابه‌ای آهن را از خاک استخراج می‌کنند. نتایج تجزیه واریانس(جدول دو) میزان آهن کل قابل دسترس نشان داد که اثرات تیمارهای مختلف آهن در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بوده است.

جدول۲- تجزیه واریانس میزان کل آهن قابل دسترس برداشت شده توسط گیاهچه‌های نوی باور

منبع تغییر	درجه ازادی	مجموع مربعات
تکرار	۳۰	۴۱۹/۳۱
تیمار	۹	۷۷۸/۱۰۴۴**
کل	۳۹	۷۷۸/۱۰۷۵

ایجاد ارتباط یک عنصر غذایی که به وسیله‌ی یک محلول عصاره‌گیر از خاک استخراج می‌شود، با مقدار جذب آن عنصر به وسیله‌ی گیاه، یکی از عوامل اصلی آزمون خاک بوده و همبستگی نامیده می‌شود(امامی و دردی پور ۱۳۹۱). در واقع غلظت آهن استخراج شده با محلول‌های عصاره‌گیرهای مختلف باید با برداشت آهن به وسیله‌ی گیاه ارزیابی شود. نتایج همبستگی در جدول سه آورده شده است. نتایج همبستگی در این پژوهش نشان داد که از میان این سه عصاره‌گیر، عصاره‌گیر DTPA-$CaCl_2$ با برداشت کل گیاه با روش نوی باور همبستگی معنی داری در سطح ۵ درصد داشته و به عنوان مناسب ترین عصاره‌گیر پیشنهاد می‌شود. آیدین عادل اوقلو (۲۰۰۳) جهت تعیین بهترین روش عصاره‌گیری برای مقدار آهن قابل دسترس خاک های ایدرنه پوننس ترکیه گزارش داده است که عصاره‌گیر DTPA-$CaCl_2$ همبستگی معنی دار بالایی با برداشت گیاه از خاک داشته است. نتایج مشابه توسط پژوهش گران مختلف از قبیل چتزیستادیس (۲۰۱۴)، لندزی و نورول(۱۹۷۸)، ابریو جوونیور و همکاران(۱۹۹۸) کانسیلا و ابریو (۲۰۰۲)و سارتو و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. از طرفی شان و همکاران(۲۰۰۴) گزارش دادند که با وجود همبستگی معنی دار نتایج استخراج آهن با ریشه‌های گیاه جو با DTPA-$CaCl_2$، این عصاره‌گیر تنها برای خاک های خنثی و نزدیک به آهکی با انتقال عناصر کافی، مناسب است.

جدول۳- همبستگی بین سه روش عصاره گیری با یکدیگر و روش نوی باور

	مهلیچ ۳	DTPA-$CaCl_2$	EDTA	روش زیستی نوی‌باور
مهلیچ ۳		-۰۳۳/۰	-۰۸۰/۰	-۰۴۱/۰
DTPA-$CaCl_2$			۴۷۳/۰**	۳۷۶/۰*
EDTA				۲۰۷/۰

نتیجه گیری کلی

با توجه به ضرایب همبستگی بین جذب آهن توسط گیاهچه های چاودار و آهن استخراجی به وسیله‌ی عصاره‌گیرها و با توجه به عوامل سادگی، سرعت و اقتصادی بودن، عصاره‌گیر $DTPA-CaCl_2$ به عنوان عصاره گیر مناسب جهت ارزیابی آهن باقی مانده قابل توصیه است.

منابع:

امامی، م.، دری پور، اسماعیل. ۱۳۹۱. انتخاب عصاره‌گیر مناسب برای استخراج آهن قابل جذب درختان هلو در خاک های استان گلستان. مجله مدیریت خاک وتولید پایدار. جلد دوم، شماره دوم، ۱۳۹۱.

پنج‌تن‌دوست، م.، سروش زاده، ع.،و قناتی، ف. ۱۳۸۹. تأثیر مصرف خاکی و محلول پاشی آهن بر روی برخی از خصوصیات کیفی دانه گیاه بادام زمینی (Arachis hypoenae L.) در خاک قلیایی. زیست شناسی گیاهی. جلد ۲ (شماره ۵)، صفحه ۳۷-۵۰.

خوشگفتار منش، الف، ح.، رضی زاده، الف.، عشقی زاده، ح.، شریفی، ح.، ثواقبی، غ.، افیونی، د.، و تدین نژاد، م. ۱۳۹۰مقایسه ارقام مختلف گندم بهاره از لحاظ پاسخ به کوددهی آهن در یک خاک آهکی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاك / سال پانزدهم / شماره پنجاه و هشتم .

عشقی زاده، ح. ر.، خوش گفتار منش، ا. ح.، اشرفی، ع.، معلم، ا. ح.، پور سخی، ن.، پور قاسمیان، ن.، گرجی، م.، و میلادی،ا.، ۱۳۸۷.آهن کارایی تعدادی از محصولات زراعی در محیط کشت محلول. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ویژه نامه علوم و فنون آب، خاک و منابع طبیعی، سال دوازدهم، شماره ۴۶، صفحه ۶۵۵ تا ۶۶۵.

Adiloglu. A., ۲۰۰۳. Determination of suitable chemical extraction methods for available iron content of the soils from edirne province in turkey. Pakistan Journal of Biological ۶(۵): ۵۰۵-۵۱۰,۲۰۰۳.

Cancela, R, C., de Abreu, C. A., Gonzalez, A. P., ۲۰۰۲. DTPA and Mehlich-۳ micronutrient extractability in natural soils. communications in soil science and plant analysis Vol. ۳۳, pp. ۲۸۷۹-۲۸۹۳.

Cassio H. A. J., Takashi. M., Maria. F. G. ۱۹۹۸. Evaluation of nutrients availability and metals toxicity by different universal extractants in Brazilian soils. ۱۶th world congress of soil science. ۲۰ - ۲۶ August ۱۹۹۸.

Chatzistathis. T., Alifragis. D.,Therios. I., and Dimassi. K. ۲۰۱۴. Comparison of three micronutrient soil-test extractants in three Greek soil types. Communications in Soil Science and Plant Analysis, ۴۵:۳۸۱-۳۹۱.

Chen, Y., Shi, J. Tian, G. Zheng, Sh. and Lin. Q. ۲۰۰۴.Fe deficiency induces Cu uptake and accumulation in Commelina communis. Plant Science. ۱۶۶: ۱۳۷۱-۱۳۷۷.

Heshmati Rafsanjani, M., S. Kratz, J. Fleckenstein, and E. Schnug. ۲۰۰۸. Solubility of uranium in fertilizers. Landbauforschung -vTI/Agriculture and Forestry Research, Vol. ۵۸(۳): ۱۹۵-۱۹۸.

Khoshgoftar, A. H., and Hajimozaffari. E. ۲۰۰۶. Approaches to enhance iron concentration in wheat grain produced in Qom province, IRAN. ۲nd Central Asian Cereal Conference.

Kitchen, H. B (Ed), ۱۹۴۸. Diagnostic techniques for soils and crops. American potash institute, Inc., Washington DC, ۲۱۰-۳۲.

Lindsay, W. L. and Norvell, W. A. ۱۹۷۸. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil science American Jornals.۴۲: ۴۲۱- ۴۲۸.

Mahmoudi, H., Labidi, N. Ksouri, R. Gharsalli, M. and Abdelly. C. ۲۰۰۷. Differential tolerance to iron deficiency of chickpea varieties and Fe resupply effects. Comptes Rendus Biologies.۳۳۰ (۳): ۲۳۷-۲۴۶۰.

Mehlich, A. ۱۹۸۴. Mehlich ۳ Soil test extractant:a modification of mehlich ۲ extractant. commun.Soil Science. plant Analyse.۱۵:۱۴۰۹-۱۴۱۶.

Nishita, H., Haung, M. and Alexander, G.V.۱۹۷۳.Influence of organic matter on the availability of certain element to barely seedlings grown by a modified Neobauer method. Plant and soil, ۳۹:۱۶۱-۱۷۶.

Olsen. R. A., Clark, R. B. and Bennett. J. H. ۱۹۸۱. The enhancement of soil fertility by plant roots. American Scientist. ۶۹: ۳۷۸-۳۸۴.

Sarto. M. V. M., Steiner. F., and Lana. M. D. C. ۲۰۱۰. Assessment of micronutrient extractants from soils of Parana, Brazel. ۱۶th world congress of science.۲۰- ۲۶ august ۱۹۹۸. Montpllier france.

Shan. M-H. F. X-Q., Wen. S. Z. B. ۲۰۰۵. A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl۲, and NaNO۳ extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. Environmental Pollution ۱۳۷, ۲۳۱-۲۴۰.

Stewart. L. C., Sackett. W. G., Robertson. D. W., and Kezer. A. ۱۹۳۲ A comparison of the soil-plaque method with the neubauer and hoffer cornstalk deficiencies methods for determining mineral soil deficiencies. Colorado agricultural college; Colorado experiment station fort Collins.

Takrattanasaran, N., Chanchareonsook, J Thongpae, S and Sarobol, E. ۲۰۱۰. Evaluation of Mehlich ۳ and Ammonium Bicarbonate-DTPA Extractants for Prediction of Available Zinc in Calcareous Soils in Central Thailand. Kasetsart Jornals. ۴۴ : ۸۲۴ - ۸۲۹.

Viro, P. J. ۱۹۵۵. Use of the ethylenediammine tetra-acetic acid in soil analysis. ۱. Experimental. Soil Science. ۷۹:۴۵۹-۴۶۹.

Abstract

this study was conducted to evaluate the ability of mehlich۳, DTPA-CaCl۲, and EDTA extractants for assessment bioavailability of residual Fe derived from applied different Fe-fertilizers in last season. Forty soil samples were tested in this study which had been already treated with different sources and levels of Fe in the last season, and had been under maize culture. The three mentioned chemical extractants were compared and assessed with Neubauer bioassay method. The results showed a significant correlation between DTPA-CaCl۲ andEDTA extractants at the ۰.۰۱ level. The best and significant correlation between Fe uptake by plant seedlings in the Neubauer method and extracted Fe by chemical extractans was found for DTPA-CaCl۲ at the ۰.۰۵ level.

.,