

اثر کود سبز بر تغییرات شکل‌های شیمیایی برخی فلزات سنگین خاک با فاصله از ریزوسفر ذرت

یاسر عظیم زاده^{۱*}، مهران شیروانی^۲ و حسین شریعتمداری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استادیار خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- استاد خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

* نویسنده مسئول: yaser.azimzadeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱

چکیده

میزان خطرآفرینی فلزات سنگین خاک برای گیاهان و سایر موجودات زنده در ارتباط با تغییرات اشکال شیمیایی و زیست‌فراهمی آنها در خاک می‌باشد. بنابراین درک بهتر توزیع فلزات در اشکال مختلف شیمیایی خاک نیازمند تحقیقات بیشتری است. به منظور بررسی اثر فعالیت ریشه و کود سبز یونجه (۲٪ جرمی) بر تغییرات اشکال شیمیایی سرب، روی، مس و نیکل در خاک، آزمایشی گلخانه‌ای با استفاده از سیستم رایزوباکس بر روی یک خاک آلوده به سرب و روی انجام گرفت. آزمایش با دو سطح کود سبز (صفر و ۲٪) و ۴ ناحیه با فاصله از ریشه، در سه تکرار و در قالب طرح اسپلیت پلات انجام شد. برای تعیین اشکال شیمیایی فلزات سنگین از روش عصاره‌گیری متوالی تسیر استفاده شد. نتایج نشان داد کود سبز به طور معنی‌دار pH خاک را ۰/۲ واحد کاهش و کربن آلی محلول خاک را در ریزوسفر ذرت به مقدار بیش از دو برابر افزایش داد و بخش‌های تبادلی و وابسته به مواد آلی و همچنین زیست‌فراهمی فلزات سنگین را در خاک به طور معنی‌دار افزایش داد. کربن آلی محلول خاک در ریزوسفر دارای بیشترین و در توده خاک دارای کمترین مقدار بود و مقدار pH در ریزوسفر ۰/۴ واحد کمتر از توده خاک اندازه‌گیری شد. بخش اکسیدی فلزات با فاصله از ریشه روند افزایشی را نشان داد که احتمالاً به علت تبدیل بخش اکسیدی به شکل‌های دیگر می‌باشد. افزودن کود سبز به خاک باعث کاهش سرب اکسیدی و افزایش زیست‌فراهمی سرب در ریزوسفر شد که ممکن است تبدیل بخش اکسیدی به بخش‌های زیست‌فراهم را تأیید کند. نتایج تجزیه گیاه نشان داد که افزودن کود سبز به خاک باعث کاهش غلظت سرب، روی و مس و همچنین کاهش جذب سرب و مس در شاخساره ذرت شد.

کلمات کلیدی: فلزات سنگین، عصاره‌گیری متوالی، کود سبز، ریزوسفر، رایزوباکس

مقدمه

مواد آلی، پتانسیل ریداکس، ظرفیت تبادل کاتیونی، نوع و مقدار رس، اکسیدهای آهن، آلومینیوم و منگنز و همچنین ترکیبات آلی ترشح شده از ریشه بستگی دارد (Chairidchai & Ritchie, 1992, Iyengar et al., 1981 and Zhang et al., 1989). ریشه از طریق ترشح انواع ترکیبات آلی، تحریک فعالیت میکروبی و همچنین جذب فلزات سنگین، توزیع شکل‌های مختلف فلزات سنگین در اجزاء مختلف خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ksoury et

امروزه فلزات سنگین در بین انواع آلاینده‌های محیط زیست توجه محققان را بیش از پیش به خود جلب کرده است. تحرک، زیست‌فراهمی و پتانسیل خطرآفرینی فلزات سنگین علاوه بر مقدار کل، به تغییرات اشکال شیمیایی آنها در خاک نیز بستگی دارد (Sposito et al., 1983). توزیع شکل‌های مختلف فلزات سنگین در خاک به pH،

وابسته به مواد آلی خاک و باقیمانده در ساختمان شبکه‌ای کانی‌ها در نظر گرفته می‌شود (Tessier *et al.*, 1979). ذرت از جمله گیاهانی است که با تولید زیستی توده زیاد، توانایی قابل توجهی در استخراج فلزات سنگین از خاک دارد (McGrath *et al.*, 2001). فتاحی و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی پالایش سرب توسط سه گیاه ذرت، آفتابگردان و پنبه نشان دادند که ذرت در بین سه گیاه مذکور توان بیشتری در جذب سرب دارا می‌باشد. بررسی شکل‌های شیمیایی و رفتار فلزات سنگین در ریزوسفر این گیاه، جهت بهبود روش‌های گیاه‌پالایی و همچنین غنی‌سازی زیستی ضروری به نظر می‌رسد (Turan & Esring 2007, Marchiol *et al.*, 2004 and Park *et al.*, 2012) بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی تغییرات شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین با فاصله از ریشه ذرت و اثر کود سبز بر این تغییرات بود.

مواد و روش‌ها

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

یک نمونه مرکب از خاک آلوده به سرب و روی از فاصله یک کیلومتری معدن سرب و روی باما، واقع در جنوب غرب شهر اصفهان جمع‌آوری شدند. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به شرح زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند: نیتروژن کل به روش کلدال (Bremner & Keeney 1966)، پتاسیم قابل جذب خاک به روش استات آمونیوم و فسفر به روش عصاره‌گیری آلسن (Kuo 1996) پ-هاش خاک با دستگاه pH متر در سوسپانسیون یک به دو و نیم خاک و آب مقطر، ماده آلی خاک به روش اکسیداسیون تر والکلی- بلک (Nelson & Sommers 1982)، کربن آلی محلول خاک در سوسپانسیون ۱ به ۴ خاک و آب مقطر و با استفاده از دستگاه کربن آنالایزر مدل Skalar Primacs^{SLC} carbon analyzer اندازه‌گیری شد. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک به روش استات آمونیوم در pH برابر ۷ (Chapman 1965) بافت خاک به روش پیپیت (Gee & Bauder 1986) و درصد کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون با اسید (Allison & Moodie 1965). مقدار کل هر کدام از فلزات در خاک با استفاده از مخلوط اسید نیتریک و اسید کلریدریک به نسبت حجمی ۱ به ۳ اندازه‌گیری شد (McGrath & Cunliffe 1985).

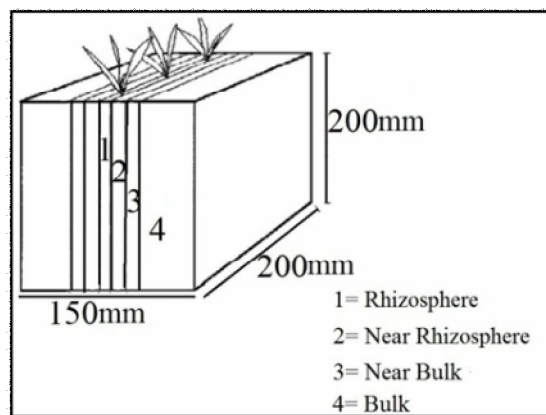
(Wang *et al.*, 1995 and *al.* به عنوان مثال، وانگ و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین در محیط ریزوسفر متفاوت از محیط غیر ریزوسفری بوده و توزیع این شکل‌ها در اجزاء مختلف شیمیایی خاک با فاصله از ریشه تغییر می‌کند (Wang *et al.*, 2002). علت این تغییرات ممکن است به تغییرات pH، کربن آلی محلول (DOC) و فعالیت میکروبی (Tao *et al.*, 2003) و همچنین تشکیل کمپلکس با اسیدهای آلی و سایدروفورهای ترشح شده از ریشه مربوط باشد (Krishnamuriti *et al.*, 1997). منچ و فارگر (۱۹۹۴) نیز گزارش کردند که ترشحات ریشه گیاه جو (*Avena sativa*) زیست‌فراهمی فلزات روی، مس و نیکل را از طریق انحلال اکسیدهای آهن افزایش داد (Mench & Fargues, 1994). مک‌گراث و همکاران (۱۹۹۷) بیان نمودند گیاه تلاسپی (*Thlaspi caerulescens*) قادر است با استفاده از ترشحات ریشه خود، قابلیت جذب روی خاک را افزایش داده و مقادیر بسیار زیادی از این عنصر را در اندام‌های خود ذخیره کند (McGrath *et al.*, 1997). با این حال، فرایندهای مربوط به تغییرات اشکال فلزات سنگین در ریزوسفر به خوبی شناخته شده نیست (Puschenreiter *et al.* 2005). مواد آلی خاک با تغییر برخی خصوصیات خاک توزیع شکل‌های شیمیایی فلزات را در خاک تحت تأثیر قرار می‌دهد (Tu *et al.*, 2000). آلماس و همکاران نشان دادند افزودن مواد آلی به خاک موجب تشکیل کمپلکس فلز-ماده آلی شده و ممکن است حلالیت و تحرک فلزات را افزایش دهد (Almas *et al.*, 2000).

برای تعیین اشکال شیمیایی فلزات سنگین در خاک و قابلیت زیست‌فراهمی آن‌ها برای گیاه، از روش عصاره‌گیری متوالی استفاده می‌شود. در این روش از ترکیبات شیمیایی مختلف نظیر برخی نمک‌ها و اسیدها برای خارج کردن فلز از مکان‌های نگهدارنده استفاده می‌شود و قدرت این عصاره‌گیرها در مراحل مختلف، رفته رفته افزایش پیدا می‌کند. در این میان، روش عصاره‌گیری متوالی تیسر و همکاران (۱۹۷۹) که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، برای خاک‌های آهکی روش مناسبی ارزیابی شده است. در این روش برای هر فلز پنج جزء مختلف شامل اجزاء محلول و قابل تبادل، پیوندی با کربنات‌های خاک، متصل به اکسیدهای آهن و مگنز،

جعبه ریزوسفر

در این تحقیق برای کاشت گیاه از جعبه ریزوسفر استفاده شد (شکل ۱). جعبه ریزوسفر مطابق سیستم یوسف و چاینو (Youssef & Chino 1987) در ابعاد $20 \times 15 \times 20$ سانتی متر (طول \times عرض \times ارتفاع) ساخته شدند. فضای درون هر جعبه ریزوسفر با استفاده از صفحات مشبک نایلونی 325 مش به 4 ناحیه تقسیم شد: (۱) ناحیه

ریزوسفری (R) به ضخامت 1 سانتی متر، (۲) ناحیه نزدیک ریزوسفر (NR) به ضخامت 0.8 سانتی متر، (۳) ناحیه نزدیک توده خاک (NB) به ضخامت 0.8 سانتی متر و (۴) ناحیه توده خاک (B) به ضخامت 5 سانتی متر. غیر از ناحیه مرکزی، نواحی ۲، ۳ و ۴، با همان ضخامت در طرف دیگر ناحیه مرکزی متناظراً تکرار شد (شکل ۱).



شکل (۱). طرح شماتیک سیستم جعبه ریزوسفر مورد استفاده

Fig. 1. Schematic diagram of used rhizobox system

آزمایش گلخانه‌ای

نمونه خاک مورد مطالعه هواخشک شده و از الک 4 میلی متر عبور داده شد. تیمار کود سبز شامل دو سطح صفر و 2 درصد کود سبز بود که با مخلوط کردن 2 درصد (جرمی) پودر یونجه با خاک اعمال شد. سپس در داخل هر کدام از نواحی R، NR، NB، B به ترتیب 400 ، 300 ، 300 و 2000 گرم (در مجموع $5/6$ کیلوگرم) خاک ریخته شد. بذره‌های ذرت، رقم سینگل گراس 704 در ناحیه مرکزی (R) هر جعبه به تعداد 8 عدد بذر کشت و پس از جوانه زنی در مرحله دو برگگی به 4 گیاه تنک شد. آبیاری گیاهان با استفاده از آب مقطر، به روش وزنی انجام شد. بعد از 85 روز، هر کدام از جعبه‌ها باز، نمونه خاک هر ناحیه جداگانه برداشت و با ناحیه متناظر مخلوط شد. جهت انجام عصاره گیری متوالی فلزات سنگین، یک گرم از هر نمونه خاک هوا خشک توزین و در داخل لوله‌های سانتریفوژ 50 میلی لیتری ریخته شد. با استفاده از روش عصاره گیری متوالی تسیر 5 جزء فلز شامل: تبادل، کربناته، وابسته به مواد آلی، متصل به اکسیدهای آهن و

منگنز و باقی مانده در شبکه کانی‌ها هضم و عصاره گیری شد (Tessier *et al.*, 1979). برای اندازه گیری بخش باقی مانده، از مخلوط اسیدنیتریک و اسیدکلریدریک با نسبت 1 به 3 (حجمی) استفاده شد (McGrath & Cunliffe 1985). برای عصاره گیری بخش زیست‌فراهم فلزات نیز از روش DTPA-TEA استفاده شد (DTPA 0.05 مولار + 0.10 مولار $CaCl_2$ + 0.1 مولار TEA در $pH=7.3$) (Lindsay & Norvell, 1978). عصاره گیری DTPA یک کمپلکس آلی است که برای ارزیابی زیست‌فراهمی فلزات سنگین در خاک‌های با سطوح مختلف فلزات (به ویژه در خاک‌های با پ-هش خنثی تا قلیایی) بکار برده می‌شود (Lindsay & Norvell, 1978, Hseu ZY, 2006). نمونه‌های گیاهی پس از شستشو با آب مقطر، با استفاده از آسیاب برقی به صورت پودر درآمده و یک گرم از آن در کوره الکتریکی به مدت چهار ساعت در دمای 500 درجه سانتیگراد خاکستر شد. سپس خاکستر بدست آمده بوسیله 10 میلی لیتر اسیدکلریدریک دو مولار عصاره گیری شد و جهت اندازه گیری غلظت فلزات سنگین

افزایش DOC و همچنین کاهش pH شود. با تشدید تنفس میکروبی در خاک، فشار گاز CO₂ افزایش می‌یابد و ممکن است باعث کاهش pH خاک شود. از طرف دیگر، ترشح ترکیبات آلی توسط میکروارگانیسم‌ها و همچنین آزاد شدن ترکیبات آلی در نتیجه تجزیه و تخریب کود سبز و زیتوده میکروبی، ممکن است باعث افزایش DOC و کاهش pH خاک شود. کربن آلی محلول و pH خاک با فاصله از ریشه به ترتیب دارای روند تقریباً کاهشی و افزایشی بود به طوری که pH ریزوسفر ۰/۴ واحد کمتر از pH توده خاک بود و بیشترین و کمترین مقدار DOC به ترتیب در ریزوسفر و توده خاک اندازه‌گیری شد (جدول ۳). کربن آلی محلول خاک، شامل انواع ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم و اسیدهای آمینه می‌باشد که عمدتاً توسط ریشه و میکروارگانیسم‌ها ترشح می‌شود (Wei-*et al.*, 2007)، لذا قابل انتظار است که مقدار کربن آلی محلول خاک با فاصله از ریشه کاهش پیدا کند.

بخش تبادلی و محلول فلزات سنگین

کاربرد کود سبز باعث افزایش جزئی بخش تبادلی فلزات در خاک شد (جدول ۳). کود سبز با کاهش ۰/۲ واحدی pH خاک باعث افزایش تحرک فلزات شد چرا که با کاهش pH، بارهای منفی وابسته به pH سطوح اکسیدها و مواد آلی کاهش یافته و فلزات به داخل محلول خاک آزاد می‌شوند (Alloway, 1997). علاوه بر آن، فلز متصل به بخش‌هایی نظیر کربنات‌ها ممکن است در شرایط اسیدی انحلال یافته و وارد محلول خاک شود. رقابت پروتون با فلزات پیوند شده با گروه‌های عامل سطوح کانی-های خاک نیز در شرایط اسیدی افزایش یافته و فلزات آزاد شده ممکن است به شکل تبادلی در خاک جذب شوند. اثر کود سبز و فعالیت ریشه بر بخش تبادلی سرب و نیکل معنی‌دار نشد که احتمالاً به این علت می‌باشد که افزایش بخش تبادلی فلزات در اثر فعالیت ریشه متناسب با جذب فلزات توسط گیاه بوده است. مس تبادلی در ریزوسفر بیشترین مقدار را داشت و ممکن است به جذب کمتر آن توسط گیاه مربوط باشد.

روی در ناحیه NB بیشترین مقدار را داشت. ممکن است با افزایش DOC و کاهش pH، روی تبادلی در خاک افزایش پیدا کرده ولی جذب و برداشت آن توسط گیاه باعث کاهش روی تبادلی در نواحی R و NR نسبت به دو

مورد استفاده قرار گرفت (Westerman, 1990). غلظت فلزات سنگین موجود در عصاره‌های خاک و گیاه به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی (AAS) با دستگاه جذب اتمی پرکین المر مدل ۲۰۰ AA اندازه‌گیری شد. تیمارهای آزمایش شامل ۲ تیمار کود سبز (سطح صفر و ۲ درصد) و ۴ ناحیه با فاصله از ریشه (نواحی R، NR، NB و B) و در ۳ تکرار بودند. آنالیز تیمارها در قالب طرح اسپلیت پلات انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

تعدادی از خصوصیات اندازه‌گیری شده خاک مورد مطالعه در جدول (۱) نشان داده شده است. خاک مورد مطالعه با دارا بودن ۴۱ درصد آهک جزء خاک‌های آهکی بوده و pH آن برابر با ۷/۹ بود. غلظت سرب و روی در خاک مورد مطالعه، قبل از کاشت به ترتیب برابر با ۳۰۰/۲ و ۲۴۴۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد و خاک مورد مطالعه با توجه به حداکثر غلظت مجاز سرب (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روی (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک، آلوده به سرب و روی می‌باشد (Kabata-Pendias & Pendias, 2000). توزیع فلزات سرب، روی، مس و نیکل در شکل‌های شیمیایی مختلف در خاک مورد مطالعه قبل از کشت، در جدول ۲ آمده است. بخش زیادی از فلزات مورد مطالعه در بخش‌های باقی‌مانده و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و درصد کمی از آنها در بخش-های تبادلی، کربناته و وابسته به مواد آلی اندازه‌گیری شد، به طوری که در مورد روی، سرب، مس و نیکل به ترتیب ۸۵، ۷۴، ۷۷ و ۷۸ درصد از کل فلز را مجموع بخش اکسیدی و باقی‌مانده تشکیل می‌داد و احتمالاً این درصد‌های نسبتاً زیاد به مواد مادری فلزات مذکور در خاک مورد مطالعه مربوط باشد.

افزودن کود سبز به خاک باعث کاهش pH در هر ۴ ناحیه و افزایش DOC در ناحیه ریزوسفر ذرت شد (جدول ۳). فعالیت میکروارگانیسم‌ها در ناحیه R و NR به علت تأمین مداوم ترکیبات آلی سهل‌الوصولی که از ریشه ترشح می‌شود، بیشتر از سایر نواحی است (Tejada *et al.*, 2006)، بنابراین با افزودن کود سبز به خاک تجزیه و تخریب میکروبی مواد آلی در نواحی نزدیک به ریشه بیشتر از سایر ناحیه‌ها صورت گرفته که می‌تواند موجب

مقدار روی تبادلی در آن کمتر از ناحیه NB بود. اینگر و همکاران (۱۹۸۱) نیز گزارش کردند که بخش محلول و تبادلی روی با کاهش pH خاک، افزایش یافت ولی به عقیده آنان جذب فلز توسط گیاه ممکن است مانع از افزایش غلظت بخش محلول و تبادلی در نزدیکی ریشه گیاه شود (Iyengar *et al.*, 1981).

ناحیه NB و B شده باشد. در ناحیه NB با این که حلالیت و تحرک روی در اثر ترشحات ریشه و میکروارگانسیم‌ها افزایش یافته است ولی به علت فاصله از ریشه، احتمالاً چندان تحت تأثیر جذب توسط ریشه قرار نگرفته و لذا بیشترین مقدار روی تبادلی در ناحیه NB تجمع یافته است. ناحیه B، کمتر از ۳ ناحیه دیگر تحت تأثیر فعالیت و همچنین جذب ریشه قرار گرفته و لذا

جدول (۱) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش قبل از کشت

Table 1. physicochemical properties of tested soil

لومی رسی	بافت
Typic Haplocambids	طبقه بندی
7.9	پ-هش (۲/۵ : ۱)
13.7	ظرفیت تبادل کاتیونی ($\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$)
56.1	فسفر قابل جذب (mg kg^{-1})
109.1	پتاسیم قابل جذب (mg kg^{-1})
0.1	نیترژن کل (%)
41	آهک (درصد)
25.5	کربن آلی محلول (mg l^{-1})
1.1	ماده آلی (%)
2442.5	روی کل (mg kg^{-1})
382.5	روی قابل عصاره‌گیری با DTPA (mg kg^{-1})
300.2	سرب کل (mg kg^{-1})
68.9	سرب قابل عصاره‌گیری با DTPA (mg kg^{-1})
33.9	مس کل (mg kg^{-1})
4.4	مس قابل عصاره‌گیری با DTPA (mg kg^{-1})
88.5	نیکل کل (mg kg^{-1})
1.0	نیکل قابل عصاره‌گیری با DTPA (mg kg^{-1})

جدول (۲) شکل‌های شیمیایی فلزات در خاک مورد آزمایش قبل از کشت

Table 2. Chemical forms of metals in studied soil, (Before experiment)

فلز	تبادلی و محلول	کربناته	متصل به اکسیدها	وابسته به مواد آلی	باقی مانده
	mg kg^{-1}				
روی	10.8	267.5	1593.8	80.0	490.5
سرب	24.4	48.5	124.8	8.0	64.6
مس	1.6	2.5	3.6	3.6	22.5
نیکل	5.0	8.8	19.5	5.3	50.0

CO_2 در این ناحیه مربوط باشد. بخش کربناته مس و نیکل در ریزوسفر تفاوت معنی‌دار با ناحیه NR نداشت. به عقیده تاو و همکاران (۲۰۰۳)، در مورد تبدیل مس کربناته به بخش با قابلیت جذب زیاد که در ریزوسفر ذرت اتفاق می‌افتد، کمی شک و تردید وجود دارد (Tao *et al.*,

بخش کربناته فلزات سنگین

کود سبز باعث افزایش سرب و روی کربناته در ریزوسفر و کاهش مس کربناته در ناحیه NB شد (جدول ۴). علت احتمالی افزایش سرب و روی کربناته در ریزوسفر ممکن است به افزایش بیکربنات در نتیجه افزایش گاز

2003). با توجه به این که عوامل مختلفی نظیر pH، DOC، فشار گاز CO₂ و تهویه خاک بر تغییرات بخش کربناته فلزات در خاک موثر است، به نظر می‌رسد تغییرات بخش کربناته فلزات در خاک از پیچیدگی بیشتری برخوردار باشد.

جدول ۳) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر pH، غلظت کربن آلی محلول و بخش تبادلی فلزات سنگین خاک در نواحی مختلف ریزوباکس

Table 3. mean comparison of the effect of distance from root and green manure on soil pH, DOC and exchangeable fraction of metals in different rhizobox zones

pH	DOC (mg l ⁻¹)	غلظت بخش تبادلی (mg kg ⁻¹)				ناحیه	کود سبز
		نیکل	مس	سرب	روی		
7.4 ^d	51.6 ^b	6.2 ^{ns}	2.1 ^a	26.3 ^{ns}	16.1 ^c	ریزوسفر	بدون کود سبز
7.7 ^{bc}	46.9 ^{bc}	6.3 ^{ns}	1.6 ^{bc}	22.8 ^{ns}	17.4 ^{bc}	نزدیک ریزوسفر	
7.8 ^{ab}	36.7 ^{bc}	6.3 ^{ns}	1.5 ^{bc}	23.2 ^{ns}	18.3 ^{bc}	نزدیک توده خاک	
7.8 ^a	27.8 ^c	6.0 ^{ns}	1.5 ^c	24.7 ^{ns}	15.7 ^c	توده خاک	
7.2 ^e	119.6 ^a	7.1 ^{ns}	2.1 ^a	28.3 ^{ns}	19.9 ^{abc}	ریزوسفر	با کود سبز
7.5 ^d	52.0 ^b	7.5 ^{ns}	1.7 ^{bc}	27.1 ^{ns}	20.9 ^{ab}	نزدیک ریزوسفر	
7.5 ^d	52.7 ^b	7.7 ^{ns}	1.8 ^{ab}	27.8 ^{ns}	23.3 ^a	نزدیک توده خاک	
7.6 ^c	41.7 ^{bc}	5.9 ^{ns}	1.6 ^{bc}	23.3 ^{ns}	16.2 ^c	توده خاک	

جدول ۴) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر بخش کربناته فلزات

Table 4. mean comparison of the effect of distance from root and green manure on carbonate fraction of metals

غلظت بخش کربناته (mg kg ⁻¹)				ناحیه	کود سبز
نیکل	مس	سرب	روی		
9.8 ^{ns}	2.5 ^{ab}	51.9 ^{bc}	273.8 ^c	ریزوسفر	بدون کود سبز
11.1 ^{ns}	2.4 ^b	55.9 ^{abc}	271.8 ^{ab}	نزدیک ریزوسفر	
10.4 ^{ns}	2.8 ^a	54.1 ^{bc}	263.3 ^{abc}	نزدیک توده خاک	
10.1 ^{ns}	2.3 ^{bc}	49.2 ^c	253.3 ^{bc}	توده خاک	
11.1 ^{ns}	2.6 ^{ab}	64.3 ^a	290.3 ^a	ریزوسفر	با کود سبز
11.2 ^{ns}	2.4 ^b	60.8 ^{ab}	291.8 ^a	نزدیک ریزوسفر	
9.3 ^{ns}	2.0 ^c	50.4 ^c	252.5 ^{bc}	نزدیک توده خاک	
10.0 ^{ns}	2.3 ^{bc}	56.1 ^{abc}	270.0 ^{abc}	توده خاک	

بخش اکسیدی فلزات سنگین

به شکل‌های دیگر نظیر محلول و تبادلی و یا کربناته در فواصل نزدیک به ریشه باشد. وانگ و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند بخش اکسیدی فلزات سنگین با فاصله از ریشه گندم افزایش یافت (Wang et al., 2002). در تیمار بدون کود سبز، سرب پیوندی با اکسیدها در ناحیه NR کمترین مقدار را داشت که احتمالاً به فعالیت بیشتر میکروارگانیزم‌ها در آن ناحیه مربوط باشد. به نظر می‌رسد ناحیه B (فاصله بیش از ۱۶ میلی‌متری ریشه) به علت فاصله نسبی زیادی که از ریشه دارد، کمترین اثرپذیری را از فعالیت ریشه داشته است. به عقیده وانگ و

کود سبز باعث کاهش سرب متصل به اکسیدها در ریزوسفر شد (جدول ۵). ممکن است افزودن کود سبز به خاک و تشدید فعالیت میکروارگانیزم‌ها در ناحیه R باعث خارج شدن سرب از حالت اکسیدی و تبدیل آن به اشکال دیگر بویژه تبادلی و محلول شده و مقداری نیز به شکل کربناته رسوب یافته و باعث افزایش سرب کربناته در آن ناحیه نسبت به ناحیه B شده است. تغییرات بخش اکسیدی فلزات با فاصله از ریشه تقریباً دارای روند افزایشی بود که ممکن است بیانگر تبدیل بخش اکسیدی

همکاران (۲۰۰۲) فعالیت میکروارگانیزمها در ناحیه NR ریشه گیاه کمترین اثرپذیری را از تأثیرات ریشه دارا بیشتر از سه ناحیه دیگر بوده و ناحیه B به علت دوری از می باشد (Wang *et al.*, 2002).

جدول ۵) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر بخش اکسیدی فلزات

Table 5. Mean comparison of the effect of distance from root and green manure on oxid fraction of metals

غلظت بخش اکسیدی (mg kg ⁻¹)				ناحیه	کود سبز
نیکل	مس	سرب	روی		
18.3 ^b	4.3 ^{ns}	159.1 ^a	1514.6 ^{ab}	ریزوسفر	بدون کود سبز
19.7 ^{ab}	3.9 ^{ns}	146.2 ^b	1520.8 ^{ab}	نزدیک ریزوسفر	
19.5 ^{ab}	4.0 ^{ns}	152.3 ^{abc}	1577.1 ^{ab}	نزدیک توده خاک	
19.9 ^a	4.3 ^{ns}	153.0 ^a	1600.1 ^a	توده خاک	
18.8 ^b	3.9 ^{ns}	141.4 ^c	1462.1 ^b	ریزوسفر	با کود سبز
20.7 ^a	4.1 ^{ns}	143.7 ^b	1544.2 ^{ab}	نزدیک ریزوسفر	
19.5 ^{ab}	4.0 ^{ns}	150.0 ^{abc}	1554.6 ^{ab}	نزدیک توده خاک	
19.9 ^a	4.2 ^{ns}	152.3 ^{abc}	1602.6 ^a	توده خاک	

واکنش آنیون‌های آلی ترشح شده از ریشه با فلزات در خاک نه تنها به توانایی کمپلکس‌کنندگی این ترکیبات بلکه به واکنش‌های جذب و واجذب و قابلیت تخریب شدن این ترکیبات توسط میکروارگانیزمها نیز بستگی دارد (Jones & Darrah, 1994). بخش وابسته به مواد آلی سرب و نیکل در ریزوسفر کمتر از ناحیه NR بود ولی بخش وابسته به مواد آلی روی و مس در ریزوسفر مقدار بیشتری نسبت به ناحیه NR داشت. به عقیده جانگ و همکاران (۲۰۰۳) فنول‌های با وزن مولکولی زیاد که توسط ریشه ترشح می‌شود، می‌تواند با مس کمپلکس تشکیل داده و از سمیت مس برای گیاه بکاهد (Jung *et al.*, 2003).

بخش باقی‌مانده فلزات سنگین

با توجه به اینکه برای برآورد بخش باقی‌مانده فلزات، از مخلوط اسید نیتریک و اسیدکلریدریک استفاده شد، این بخش از فلزات شامل تمام بخش باقی‌مانده نبوده و بخش قابل توجهی از فلزات باقی‌مانده در ساختار کانی‌ها را شامل می‌شود. لذا در بخش باقی‌مانده فلزات (شبه‌کل) تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۷) که احتمالاً به غلظت زیاد فلزات در بخش باقی‌مانده مربوط می‌باشد.

بخش وابسته به مواد آلی فلزات سنگین

افزودن کود سبز به خاک باعث افزایش بخش پیوند شده با مواد آلی فلزات سنگین شد (جدول ۶). کود سبز مواد آلی خاک را افزایش داده و تمایل فلزات به تشکیل کمپلکس با مواد آلی، بخش وابسته به مواد آلی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد. البته مقدار بخش وابسته به مواد آلی فلزات ممکن است با توجه به قدرت کمپلکس‌فلز- ماده آلی و مقدار جذب فلز توسط گیاه مقادیر متفاوتی را داشته باشد. اینگر و همکاران (۱۹۸۱) گزارش کردند که بخش متصل به مواد آلی روی با افزایش کربن آلی خاک افزایش یافت (Iyengar *et al.*, 1981). البته درباره اثر مواد آلی بر نگهداری (ابقاً) فلزات سنگین بوسیله خاک توافق عمومی و قطعی وجود نداشته و گزارش‌های متفاوتی در این رابطه ارائه شده است. نظر هارتر (۱۹۹۱) در رابطه با علت گزارش‌های متفاوت درباره اثر مواد آلی بر جذب فلزات بوسیله خاک، عدم توجه به اندازه‌گیری اجزاء مواد آلی می‌باشد. زیرا درصد ترکیبات موجود در مواد آلی خاک‌های مختلف، متفاوت است. بنابراین، نقش مواد آلی در نگهداری فلزات در خاک، برحسب این که ماده آلی خاک دارای جزء محلول یا نامحلول بیشتری باشد، می‌تواند متفاوت باشد (Harter, 1991). علاوه بر آن،

جدول ۶) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر بخش وابسته به مواد آلی فلزات

Table 6. Mean comparison of the effect of distance from root and green manure on organic fraction of metals

غلظت بخش وابسته به مواد آلی (mg kg ⁻¹)				ناحیه	کود سبز
نیکل	مس	سرب	روی		
1.7 ^c	4.7 ^{abc}	6.2 ^{cd}	74.0 ^b	ریزوسفر	بدون کود سبز
5.5 ^a	4.2 ^{bc}	6.9 ^c	80.6 ^b	نزدیک ریزوسفر	
5.5 ^a	4.4 ^{bc}	4.4 ^d	77.7 ^b	نزدیک توده خاک	
2.6 ^b	3.7 ^{bc}	6.3 ^c	77.3 ^b	توده خاک	
6.2 ^a	6.6 ^a	6.9 ^c	96.8 ^a	ریزوسفر	با کود سبز
6.0 ^a	5.7 ^{ab}	11.3 ^a	82.9 ^b	نزدیک ریزوسفر	
5.9 ^a	5.2 ^{abc}	8.8 ^b	98.7 ^a	نزدیک توده خاک	
2.0 ^{bc}	4.7 ^{abc}	8.9 ^b	78.3 ^b	توده خاک	

حروف متفاوت روی میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آنها در سطح ۵٪ آماری می‌باشد. ns = نشانه عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

جدول ۷) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر بخش باقی‌مانده فلزات

Table 7. Mean comparison of the effect of distance from root and green manure on residual fraction of metals

غلظت بخش باقی‌مانده (mg kg ⁻¹)				ناحیه	کود سبز
نیکل	مس	سرب	روی		
48.2 ^{ns}	23.5 ^a	66.1 ^{ns}	247.6 ^{ns}	ریزوسفر	بدون کود سبز
42.7 ^{ns}	20.3 ^{ab}	57.9 ^{ns}	248.5 ^{ns}	نزدیک ریزوسفر	
44.7 ^{ns}	21.5 ^{ab}	58.0 ^{ns}	263.4 ^{ns}	نزدیک توده خاک	
40.5 ^{ns}	18.0 ^b	46.9 ^{ns}	149.6 ^{ns}	توده خاک	
42.2 ^{ns}	19.0 ^{ab}	54.6 ^{ns}	230.8 ^{ns}	ریزوسفر	با کود سبز
47.2 ^{ns}	22.2 ^{ab}	64.8 ^{ns}	264.8 ^{ns}	نزدیک ریزوسفر	
44.7 ^{ns}	21.7 ^{ab}	63.2 ^{ns}	266.5 ^{ns}	نزدیک توده خاک	
41.3 ^{ns}	18.0 ^b	47.9 ^{ns}	245.8 ^{ns}	توده خاک	

حروف متفاوت روی میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آنها در سطح ۵٪ آماری می‌باشد. ns = نشانه عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

زیست‌فراهمی فلزات سنگین

بطور کلی کاربرد کود سبز باعث افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین در خاک شد (جدول ۸) که این افزایش بویژه در مورد مس بارزتر بود. این امر احتمالاً به تمایل زیاد مس به تشکیل کمپلکس با مواد آلی محلول مربوط می‌باشد. بیشترین مقادیر قابل جذب فلزات مس، نیکل و سرب پس از افزودن کود سبز به خاک در ناحیه ریزوسفر مشاهده شد. همچنین کاربرد کود سبز زیست‌فراهمی روی را افزایش داده و بیشترین غلظت روی قابل جذب در ناحیه NR اندازه‌گیری شد. فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها در نواحی نزدیک ریشه که با افزودن کود سبز به خاک تشدید می‌شود ممکن است عامل اصلی

تبدیل فلزات از شکل‌های نامحلول به شکل قابل جذب برای گیاه باشد (Wang et al., 2002). زیست‌فراهمی فلزات با فاصله از ریشه تغییرات معنی‌دار نشان نداد که احتمالاً به علت برداشت اشکال با قابلیت جذب زیاد توسط گیاه باشد. مواد آلی محلول خاک از یک طرف می‌تواند باعث افزایش قابلیت استفاده فلزاتی شود که به راحتی برای گیاه قابل استفاده نیستند و از طرف دیگر ممکن است باعث کاهش قابلیت استفاده فلزاتی شود که به راحتی برای گیاه قابل استفاده هستند (Vaughan et al., 1993). البته کاهش pH خاک نیز می‌تواند در قابلیت زیست‌فراهمی فلزات نقش مؤثری داشته باشد. به عقیده نیلسن و همکاران (۱۹۸۶) با اسیدی شدن خاک، روی از

غلظت سرب، روی و مس را در شاخساره ذرت کاهش داد. کود سبز با بهبود خصوصیات فیزیکی خاک از جمله ساختمان و تهویه خاک و خصوصیات شیمیایی خاک از جمله عرضه عناصر غذایی، کاهش pH و افزایش DOC خاک (Narayan & Lal, 2006 and Benjawan *et al.*, 2007)، باعث افزایش عملکرد گیاه گردید به طوری که وزن خشک شاخساره ذرت را از ۱۴/۶ به ۱۵/۶ گرم افزایش داد. بنابراین کاهش غلظت فلزات در بافت‌های گیاهی در نتیجه افزودن کود سبز به خاک احتمالاً به اثر رقت در اثر افزایش عملکرد مربوط باشد. در صورت کشت ذرت در خاک‌های آلوده، جهت کاهش غلظت فلزات سنگین در ذرت، ممکن است افزودن کود سبز به خاک مؤثر باشد.

شکل‌های با قابلیت جذب کمتر تبدیل به شکل‌های با قابلیت جذب بیشتر می‌شود (Neilsen *et al.*, 1986)، البته جذب بخش‌های زیست‌فراهم فلزات توسط گیاه انباشتگری مانند ذرت ممکن است مانع از افزایش بیش از اندازه مقدار بخش زیست‌فراهم فلزات در ریزوسفر شود.

نتایج تجزیه گیاه

غلظت روی، سرب، مس و نیکل کل در خاک به ترتیب برابر با ۲۴۴۲/۵، ۳۰۰/۲، ۳۳/۹ و ۸۸/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود (جدول ۱). علی‌رغم غلظت بیشتر نیکل نسبت به مس در خاک، غلظت مس در شاخساره نسبت به نیکل بیشتر بود (جدول ۹) که احتمالاً به تمایل ذرت به جذب بیشتر مس نسبت به نیکل مربوط باشد. افزودن کود سبز به خاک غلظت روی و مس را در ریشه و

جدول ۸) مقایسه میانگین اثر متقابل کود سبز و فاصله از ریشه بر زیست‌فراهمی فلزات

Table 8. Mean comparison of the effect of distance from root and green manure on bioavailability of metals

زیست‌فراهمی فلزات در خاک (mg kg^{-1})				ناحیه	کود سبز
نیکل	مس	سرب	روی		
1.2 ^{bcd}	3.9 ^b	66.4 ^b	372.6 ^b	ریزوسفر	بدون کود سبز
1.2 ^{bcd}	3.9 ^b	70.9 ^{ab}	393.9 ^b	نزدیک ریزوسفر	
1.2 ^{cd}	4.2 ^b	70.8 ^{ab}	422.7 ^a	نزدیک توده خاک	
1.0 ^e	4.9 ^b	67.0 ^b	370.8 ^b	توده خاک	
1.8 ^a	5.1 ^a	73.6 ^a	416.3 ^{ab}	ریزوسفر	با کود سبز
1.5 ^b	4.8 ^a	70.3 ^{ab}	435.5 ^a	نزدیک ریزوسفر	
1.4 ^{bc}	4.9 ^a	71.0 ^{ab}	430.8 ^a	نزدیک توده خاک	
1.1 ^{de}	5.2 ^a	68.3 ^{ab}	384.1 ^b	توده خاک	

حروف متفاوت روی میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آنها در سطح ۵٪ آماری می‌باشد. ns=نشانه عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

جدول ۹) مقایسه میانگین اثر کود سبز بر غلظت فلزات سنگین در ریشه و شاخساره ذرت

Table 9. Mean comparison of the effect of green manure on concentration of heavy metals in root and shoot of corn

غلظت فلزات در شاخساره (mg kg^{-1})				غلظت فلزات در ریشه (mg kg^{-1})				کود سبز
نیکل	مس	روی	سرب	نیکل	مس	روی	سرب	
4.0 ^{ns}	5.0 ^b	460.6 ^b	17.6 ^b	24.5 ^{ns}	16.3 ^b	788.6 ^b	84.6 ^{ns}	با کود سبز
3.3 ^{ns}	10.5 ^a	496.3 ^a	29.3 ^a	21.5 ^{ns}	25.2 ^a	859.8 ^a	80.5 ^{ns}	بدون کود سبز

حروف متفاوت روی میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آنها در سطح ۵٪ آماری می‌باشد. ns=نشانه عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

سرب و مس در شاخساره شد (جدول ۱۰). به نظر می‌رسد علاوه بر اثر رقت، با افزوده شدن کود سبز به خاک جذب

افزودن کود سبز به خاک همچنین باعث کاهش جذب روی، مس و نیکل در ریشه و همچنین باعث کاهش جذب

در رابطه با نقش مواد آلی خاک در ابقای فلزات در خاک گزارش‌های متفاوتی ارائه شده است و علت این امر به عقیده هارتر (1991) عدم توجه به اندازه‌گیری اجزاء مواد آلی خاک می‌باشد (Harter, 1991). علاوه بر آن، نقش ترکیبات آلی ترشح شده از ریشه با فلزات در خاک علاوه بر توانایی کمپلکس‌کنندگی این ترکیبات به واکنش‌های جذب و واجذب و قابلیت تخریب شدن این ترکیبات توسط میکروارگانیزم‌ها نیز بستگی دارد (Jones & Darrah, 1994) و مواد آلی خاک ممکن است برحسب این که چه میزان کمپلکس‌های محلول یا نامحلول تولید نماید، باعث افزایش و یا کاهش زیست‌فراهمی فلزات برای گیاه شود (Vaughan et al., 1993 and Harter, 1991).

فلزات از خاک نیز کاهش یافته است و علت احتمالی آن ممکن است به درصد زیاد کود سبز افزوده شده به خاک (۲ درصد) و جذب و نگهداشت فلزات در خاک مربوط باشد بطوریکه ترشحات و فعالیت ریشه ذرت قادر نبوده فلزات را از کمپلکس‌های فلز-ماده آلی آزاد کند. البته افزودن کود سبز به خاک باعث افزایش زیست‌فراهمی فلزات در خاک شد هرچند که اثر قابل توجهی بر بخش تبدیلی فلزات در خاک نداشت. به نظر می‌رسد اندازه‌گیری زیست‌فراهمی فلزات برای ذرت در شرایط آزمایشی تحقیق حاضر، با روش DTPA-TEA روش مناسبی نباشد. چون از یک طرف کود سبز باعث افزایش زیست‌فراهمی فلزات (بخش قابل عصاره‌گیری با DTPA-TEA) در خاک شده است و از طرف دیگر غلظت و جذب فلزات توسط گیاه کاهش پیدا کرده است.

جدول ۱۰) مقایسه میانگین اثر کود سبز بر جذب فلزات سنگین توسط ریشه و شاخساره ذرت

Table 10. Mean comparison of the effect of green manure on uptake of heavy metals by root and shoot of corn

کود سبز	جذب فلزات در ریشه ($\mu\text{g Box}^{-1}$)				جذب فلزات در شاخساره ($\mu\text{g Box}^{-1}$)			
	سرب	روی	مس	نیکل	سرب	روی	مس	نیکل
با کود سبز	331 ^{ns}	3202 ^b	63 ^b	93 ^b	274 ^b	7169 ^{ns}	78 ^b	62 ^{ns}
بدون کود سبز	419 ^{ns}	4470 ^a	130 ^a	112 ^a	428 ^a	7245 ^{ns}	153 ^a	44 ^{ns}

حروف متفاوت روی میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آنها در سطح ۵٪ آماری می‌باشد. ns=نشانه عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است

نتیجه گیری

که ممکن است تبدیل بخش اکسیدی به بخش‌های زیست‌فراهم را تأیید کند. نواحی R، NR و NB (سطح تا ۱۶ میلی‌متری ریشه) تحت تأثیر فعالیت ریشه قرار گرفته ولی ناحیه توده خاک (B) به علت فاصله زیاد از ریشه، کمترین تأثیرپذیری را از فعالیت و جذب ریشه داشت. نتایج تجزیه گیاه نشان داد که افزودن کود سبز به خاک غلظت روی و مس را در ریشه و غلظت سرب، روی و مس را در شاخساره ذرت کاهش داد که علت احتمالی آن اثر رقت می‌باشد. همچنین افزودن کود سبز به خاک باعث کاهش جذب روی، مس و نیکل در ریشه و کاهش جذب سرب و مس در شاخساره شد و احتمالاً علت آن به پیچیده بودن ترکیبات آلی خاک و ارتباط ترکیبات آلی مختلف با فلزات سنگین در خاک مربوط باشد.

تغییرات pH و DOC خاک به ترتیب با فاصله از ریشه دارای روند $R < NR < NB < B$ و $R \geq NR \geq NB \geq B$ بود. کود سبز با کاهش pH و افزایش DOC خاک باعث افزایش بخش‌های تبدیلی و وابسته به مواد آلی و همچنین زیست‌فراهمی فلزات سنگین در خاک شد. کربن آلی محلول و pH خاک با فاصله از ریشه به ترتیب دارای روند تقریباً افزایشی و کاهشی بود که احتمالاً به فعالیت و ترشحات آلی ریشه مربوط می‌باشد. بخش اکسیدی فلزات با فاصله از ریشه تقریباً روند افزایشی را نشان داد که احتمالاً به علت تبدیل بخش اکسیدی به شکل‌های دیگر می‌باشد. افزودن کود سبز به خاک باعث کاهش سرب اکسیدی و افزایش زیست‌فراهمی سرب در ریزوسفر شد

References

- Fatahi KE, Fotovvat A, Astarai A and Haghnia G. 2010. Lead phytoextraction from soil by corn, sunflower, and cotton applying EDTA and sulfuric acid. J. Water Soil Sci, Isfahan Uni. Tech. 14 (51): 57-69
- Allison LE and Moodie CD. 1965. Carbonate. In: Black CA. (Ed). Methods of soil analysis. Part 2. Agron. 9. Am. Soc. Agron. Madison, WI. PP. 1379- 1396.
- Alloway BJ. 1995. Soil processes and the behavior of metals. In: Alloway BJ (Eds.). Metals in soils. Blackie Academic and Professional, London. pp. 38-57.
- Almas AR, Singh BR and McBride MB. 2000. Solubility and lability of cadmium and zinc in two soils treated with organic matter. Soil Sci. 165:250-259.
- Benjawan C, Chutichudet P and Kaewsit S. 2007. Effect of green manures on growth, yield and quality of green Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) har Lium cultivar. Pakistan J. Biol. Sci. 10 (7):1028-1035.
- Bremner JM and Keeney DR. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction distillation methods. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 30:577-582.
- Chairidchai P and Ritchie GSP. 1992. The effect of pH on zinc adsorption by a lateritic soil in the presence of citrate and oxalate. Soil Sci. 43:723-728.
- Chapman HD. 1965. Cation Exchange Capacity. In: Black CA. (Ed.), Methods of soil analysis. Part 2. Agron. 9. Am. Soc. Agron., Madison, WI. PP. 891-901.
- Gee GW and Bauder JW. 1986. Particle-size analysis. In: Klute A (ed.). Methods of Soil Analysis, part 1. Vol 9. ASA and SSSA. Madison, WI. pp. 383-412.
- Harter RD. 1991. Micronutrient adsorption-desorption reactions in soils. In: Mortvedt JJ *et al.* (Ed.). Micronutrients in Agriculture. 2nd ed., SSSA, Madison, WI. pp. 59-87
- Hseu ZY. 2006. Extractability and bioavailability of zinc over time in three tropical soils incubated with biosolids. Chemosphere, 63:762-771.
- Iyengar SS, Martens DC and Miller WP. 1981. Distribution and plant availability of soil zinc fractions. Soil Sci. Soc. Ame. J. 45:735-739.
- Jones DL And Darrah PR. 1994. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. Plant and Soil, 166: 247-257.
- Jung C, Maeder V, Funk F, Frey B, Sticher H and Frossard E. 2003. Release of phenols from *Lupinus albus* L. roots exposed to Cu and their possible role in Cu detoxification. Plant Soil, 252: 301-312.
- Kabata-Pendias A and Pendias H. 2000. Trace elements in soil and plants. Third ed, CRC press, Bokarton, London, New York. Washington, D.C.
- Krishnamuriti GSR, Cieslinski G, Huang PM and Vanrees KCJ. 1997. Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acid: Implication in cadmium availability. Environ. 26: 271-277.
- Ksouri R, Debez A, Mahmoudi H, Ouerghi Z, Gharsalli M, Kozak M and Rostad HPW. 1995. Speciation of particulate-bound cadmium of soils and its bioavailability. Analyst. 120(3): 659-665.
- Kuo S. 1996. Phosphorus. In: Sparks DL. (Ed.) Methods of soil analysis, Part 3, SSSA Book Series, no. 5. Agronomy Society of America and Soil Sci. Soc. Am. Madi. WI.
- Lindsay WL and Norvell WA. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Sci. Soc. Am. J. 42:421-428.
- Marchiol L, Assolari S, Sacco P and Zerbi G. 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multi contaminated soil. Environ Pollut. 132: 21-27.
- McGrath SP and Cunliffe CH. 1985. A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. J Sci Food Agric. 36:794-798.
- McGrath SP, Shen ZG, and Zhao FJ. 1997. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. Plant and Soil, 188:153-159.
- McGrath SP, Zhao FJ and Lombi E. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. Plant and Soil, 232: 207-214.

- Mench M and Fargues S. 1994. Metal uptake by iron-efficient and inefficient oats. *Plant and Soil*, 165: 227-233.
- Narayan D and Lal B. 2006. Effect of green manuring on soil properties and yield of wheat under different soil depths in alfisols under semi-arid conditions in central India. *Bulletin of the National Institute of Ecology*, 17:31-36.
- Neilsen D, Horty PB and MacKenzie AF. 1986. Distribution of soil Zn fractions in British Columbia Interior orchard soils. *Can. J. Soil Sci.* 66:445-454.
- Nelson DW and Sommers LE. 1982. Total carbon, OC and organic matter. *In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds.). Methods of soil analysis, Part 2, second Ed, Vol. 9. ASA and SSSA. Madison, WI. pp. 539-577.*
- Park J, Kim JY. and Kim KW. 2012. Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals using *Brassica napus*. *Geosyst. Eng.* 15:10-18.
- Puschenreiter M, Schnepf A, Millan IM, Fitz WJ, Horak O, Klepp J, Schrefl T, Lombi E and Wenzel WW. 2005. Changes of Ni biogeochemistry in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Plant and Soil*, 271: 205-218.
- Sposito G, Levesque GS, LeClaire JP and Chang AC. 1983. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: III, Effect of time on the extraction of trace metals. *SSSA. J.* 47: 898-902.
- Tao S, Chen YJ, Xu FL, Cao J and Li BG. 2003. Chang of copper speciation in maize rhizosphere soil. *Environ. Pollut.* 122:447-454.
- Tejada M, Hernandez MT, Garcia C and 2006. Application of two organic amendments on soil restoration: effects on the soil biological properties. *Environ. Qual.* 35: 1010-1017.
- Tessier A, Campbell PGC and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metal. *Anal. Chem.* 51:844-851.
- Tu C, Gheng CR and Chen HM. 2000. Effect of applying chemical fertilizers on forms of lead and cadmium in red soil. *Chemosphere*, 41: 133-138.
- Turan M and Esring A. 2007. Phytoremediation based on canola (*Brassica napus L.*) and Indian mustard (*Brassica juncea L.*) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb, and Zn. *Plant Soil Environ*, 53(1):7-15.
- Vaughan D, Lumsdom DG and Linehan DJ. 1993. Influence of dissolved organic matter on the bioavailability and toxicity of metals in soils and aquatic systems. *Chem. Ecol.* 8:185-201.
- Wang ZG, Shan XQ and Zhang SZ. 2002. Comparison between fractionation and bioavailability of trace elements in rhizosphere and bulk soils. *Chemosphere*, 46:1163-1171.
- Wei-Hong X, Huai L, Qi-Fu M and Zhi-Ting X. 2007. Root exudates, rhizosphere Zn fractions, and Zn accumulation of ryegrass at different soil Zn levels. *Pedosphere*, 17(3): 389-396.
- Westerman REL. 1990. *Soil Testing and Plant Analysis*. SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Youssef RA and Chino M. 1987. Studies on the behavior of nutrients in the rhizosphere. Establishment of a new rhizobox system to study nutrient status in the rhizosphere. *Plant Nutr.* 10:1185-1195.
- Zhang F, Romheld V and Marschner H. 1989. Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilization root exudates. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 152:205-210.

Effect of Green Manure on Chemical Forms of Some Heavy Metals in Soil by Distance from Rhizosphere of Corn

Yaser Azimzadeh^{1*}, Mehran Shirvani², Hossein Shariatmadari³

1-MSc Student of Soil Science College of Agriculture Isfahan University of Technology

2- Assistant Professor of Soil Science College of Agriculture Isfahan University of Technology

3- Professor of Soil Science College of Agriculture Isfahan University of Technology

*Corresponding author: yaser.azimzadeh@gmail.com

Received: 01.07.2013

Accepted: 22.12.2013

Abstract

Environmental risk of heavy metals is associated with the changes of their chemical forms and bioavailability in soil. Therefore, distribution of metals in chemical forms in soil need to be more studied. To investigate the effects of alfalfa green manure (2% w/w) and root activity on chemical forms of lead, zinc, copper and nickel in a lead-zinc contaminated soil, a greenhouse experiment was conducted using rhizobox systems in a split plot design, with 3 replications, two levels of green manure (0 and 2%) and 4 zone by distance from root. Sequential extraction procedure (Tessier) was also carried out to differentiate the chemical forms of heavy metals in the soil samples. Results showed that the green manure addition enhanced dissolved organic carbon concentration (DOC) and reduced pH of the soil. It also increased exchangeable, organic matter-bound fractions and bioavailability of the metals. The highest and lowest values of DOC were found in rhizosphere and bulk soil respectively. The pH value in the rhizosphere was 0.4 times lower than in the bulk soil. Oxide fraction of metals increased with distance from the root that maybe related to the change of oxide fraction to other forms. Addition of green manure to the soil increased oxide fraction and bioavailability of lead in the rhizosphere that maybe approve the change of oxide form to more bioavailable forms. The results of plant analysis showed that green manure addition reduced the concentration of lead, zinc and copper and also reduced the uptake of lead and copper in shoots of corn.

Keywords: heavy metals, sequential extraction, green manure, rhizosphere, rhizobox.