

## اثر یک ماده آلی و زمان خواباندن بر شکل‌های شیمیایی سرب در یک خاک آهکی

صدیقه صفرزاده شیرازی<sup>1</sup>، شهرزاد کرمی و لیلا زارع

استادیار بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز؛ safarzadeh@shirazu.ac.ir

دانشجوی دکتری بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز؛ sh.k624@gmail.com

دانشجوی دکتری بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز؛ leila.zare88@gmail.com

دریافت: 96/6/11 و پذیرش: 96/10/11

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) به‌عنوان یک ماده آلی و زمان خواباندن بر شکل‌های شیمیایی سرب در یک خاک آهکی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها به ترتیب شامل دو زمان خواباندن (یک و دو ماه در دمای 25 درجه سلسیوس)، سه سطح سرب از منبع نیترات سرب (شاهد، 200 و 400 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، سه سطح سیانوباکتری اسپیرولینا (0، 500 و 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. نتایج نشان داد با افزایش سطوح سرب، غلظت سرب در تمامی شکل‌های شیمیایی (تبادلی، کربناتی، آلی، متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل، متصل به اکسیدهای منگنز و باقیمانده) افزایش معنی‌داری یافت. کاربرد سطوح مختلف سیانوباکتری می‌تواند اثرات متفاوتی بر شکل‌های شیمیایی سرب در طول زمان از خود بجای گذارد اما به‌طور کلی کاربرد سیانوباکتری سبب افزایش 31% و 43% در شکل‌های محلول‌تر (به ترتیب کربناتی و تبادلی) نسبت به شاهد شد و فراهمی سرب در خاک را افزایش داد. لذا انتخاب این سیانوباکتری به‌عنوان اصلاح‌کننده بایستی با احتیاط بیشتری صورت گیرد و آزمایش‌های بیشتری در خاک‌های مختلف و در زمان‌های متفاوت خواباندن انجام شود.

واژه‌های کلیدی: زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا، عصاره‌گیری دنباله‌ای (متوالی)، فراهمی سرب

<sup>1</sup> نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، بخش علوم خاک

## مقدمه

امروزه زمین‌های کشاورزی افزایش قابل توجهی در مقدار فلزات سنگین نشان می‌دهند که علت آن فعالیت‌های صنعتی انسان و استفاده از پساب‌های کارخانه‌ها، لجن فاضلاب، کودهای شیمیایی است (ایندرا و سیواجی، 2006؛ اولاخ و همکاران، 2009). تجمع بیش از حد فلزات سنگین در گیاهان می‌تواند منجر به افزایش خطر برای سلامت انسان‌ها شود (یانگ و همکاران، 2011). سرب از نظر انتشار گسترده‌ترین عنصر سمی در محیط است که پس از جذب به‌وسیله موجودات زنده می‌تواند اثرات مخربی بر سلامتی آن‌ها بر جای گذارد (پرهیزکار و دادلهی سهراب، 1389). فراهمی زیستی و پتانسیل خطرآفرینی فلزات سنگین علاوه بر مقدار کل، به تغییر شکل‌های شیمیایی آن‌ها بستگی دارد (دولتی، 1394) لذا مشخص کردن محتوی فلزات سنگین و شکل‌های شیمیایی آن‌ها اطلاعاتی مفید را درمورد فراهمی زیستی فلزات فراهم می‌کند چرا که تغییر در شکل شیمیایی ممکن است بر جذب گیاهی و کاهش یا افزایش سمیت فلز تأثیر بگذارد (خورانا و کانسال، 2014).

در طول دو دهه گذشته تحقیقاتی درمورد ارزیابی قابلیت اصلاح‌کننده‌های متفاوت خاک برای غیرمترک کردن فلزات سنگین در خاک‌های آلوده انجام شده است (یاستا و همکاران، 2001؛ غفور و همکاران، 2008). فهم دقیق غلظت فلزات سنگین، شکل‌های آن‌ها، و وابستگی آن‌ها به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک، پایه‌ای را برای مدیریت دقیق خاک ایجاد نموده که تا حد امکان اثر منفی فلزات سنگین را در اکوسیستم‌ها محدود خواهد کرد (چلوئی و همکاران، 1391). توزیع فلزات در خاک را می‌توان با عصاره‌گیری متوالی بررسی کرد. اساس روش عصاره‌گیری دنباله‌ای کاربرد متوالی عصاره‌گیرهای انتخابی بر یک نمونه واحد خاک و افزایش قدرت عصاره‌گیر از مرحله‌ای به مرحله دیگر است (رجائی، 1385). فلزاتی که در شکل‌های محلول در آب و تبدلی وجود دارند، قابلیت دسترسی بیشتری نسبت به فلزاتی که در شکل باقیمانده هستند دارند زیرا در بخش باقیمانده فلزات بصورت باندهای مستحکمی وجود دارند که در شرایط طبیعی آزاد نمی‌شوند (جیانیس و همکاران، 2010). در مناطق خشک با پ-هاش بالاتر از 7/5، به دلیل جذب سطحی و ظرفیت بافری بالا، تحرک فلزات کمتر شده و رسوب اتفاق می‌افتد (رجائی، 1385). عناصر سمی، رفته رفته در بین اجزاء گوناگون فاز جامد خاک و در شکل‌های مختلف (تبدلی، کربناتی، آلی و غیره) توزیع می‌شوند (هان و همکاران 2001). به نظر می‌رسد

کربنات‌ها در رفتار شیمیایی عناصر سنگین در خاک‌های نواحی خشک نقش مهمی دارند (کوچی، 1385). یکی از روش‌های اصلاح شیمیایی خاک آلوده به فلز سنگین، کاربرد مواد آلی است که به دلیل داشتن قابلیت تشکیل کمپلکس پایدار لیگاند‌های آلی با فلزات سنگین در خاک، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (عباسپور و همکاران، 2007). کمپلکس بین فلز و مواد آلی محلول، به رقابت بین پیوند فلز با مکان‌های جذبی و لیگاند آلی محلول وابسته است. فلزاتی که به آسانی کمپلکس‌های پایدار با مواد آلی محلول تشکیل می‌دهند، در خاک متحرک هستند (آکونور و همکاران، 1984). رودریگز ویلا و همکاران (2015) با بررسی شکل‌های شیمیایی سرب، نیکل، مس و روی در خاک‌هایی که با کمپوست و بیوجار تیمار شده بودند بیان کردند که کاربرد این مواد آلی سبب کاهش مقدار تحرک سرب و غلظت آن در بخش‌های محلول خاک شد. در سال‌های اخیر، اثر سیانوباکتری‌ها در حذف فلزات سنگین از آب‌های آلوده بصورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. به طور مثال مطالعات بسیاری اثر افزودن سیانوباکتری‌های زنده و یا زی‌توده غیرزنده آن‌ها را بر جذب سرب از آب‌های آلوده بررسی کرده و به نتایج موفقیت آمیزی در زمینه جذب یا حذف این فلز دست یافته‌اند (کیران و همکاران، 2005؛ آنجا و همکاران، 2010؛ اکمکیپار و همکاران، 2012). سیانوباکتری‌ها به خاطر اندازه کوچک و داشتن سطح ویژه زیاد برای پیوند با فلزات مورد توجه قرار دارند (کیم و همکاران، 2002؛ زوبولیس و همکاران، 2004).

ظرفیت نگهداری فلز به‌وسیله زی‌توده سیانوباکتری‌ها ممکن است حتی از جاذب‌های شیمیایی نیز بیشتر باشد (آنجا و همکاران، 2010). اسپیرولینا زی‌توده خشک سیانوباکتری *Arthrospira platensis* است که تولید جهانی آن بالغ بر 5000 تن در سال بوده (بلائی، 2007) و در ایران در منطقه قشم تولید شده و قیمت نسبتاً بالایی هم ندارد. سطح ویژه سیانوباکتری اسپیرولینا در دمای 20 درجه سلسیوس و به روش بت حدود 248/5 متر مربع بر گرم گزارش شده است (اولیویرا و همکاران، 2009). از آنجایی که بیشتر مطالعات در زمینه حذف فلزات سنگین در محلول‌های آبی صورت گرفته و افزودن این سیانوباکتری‌ها به خاک کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است و همچنین تاکنون پژوهشی در زمینه حذف آلودگی فلزات سنگین مانند سرب به وسیله سیانوباکتری‌ها مانند اسپیرولینا در خاک‌های ایران صورت نگرفته است، هدف از انجام تحقیق حاضر مطالعه اثر افزودن سطوح مختلف زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری‌ها اسپیرولینا به‌عنوان

خشک سوزانی استفاده شد. سدیم و پتاسیم به روش شعله سنجی، فسفر کل با روش زرد و عصاره گیر آمونیوم مولیبدات و آمونیوم وانادات (چاپمن و پرت، 1961) و عناصر کم‌مصرف در عصاره گرفته شده به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل شیماتزو AA-670) اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه اسپرولینا در جدول 1 آورده شده است. مقدار کافی خاک از عمق 30 سانتی‌متری سری کوی اساتید دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز با نام علمی Fine, mixed, mesic, Typic Calcixerepts جمع-آوری و پس از هوا خشک شدن از الک 2 میلی‌متری عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از قبیل بافت خاک، پ-هاش خاک در گل اشباع (pH)، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع (EC)، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC)، کربنات کلسیم معادل (CCE)، نیتروژن کل (اسپارکز و همکاران، 1996) و عناصر آهن، منگنز، روی، مس و سرب با روش عصاره‌گیری با DTPA (لیندزی و نورول، 1978) و قرائت بوسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در جدول 2 آورده شده است.

یک ماده آلی به خاک و تأثیر آن بر شکل‌های مختلف سرب و بررسی احتمال کاهش فراهمی آن در خاک است.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش بنیادی و گلدانی در زمستان سال 1394 در آزمایشگاه تخصصی علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به‌صورت آزمون فاکتوریل 2×3×3 و در سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل زمان خواباندن (یک و دو ماه در دمای 25 درجه سلسیوس)، سه سطح سرب از منبع نترات سرب (10 (شاهد)، 200، و 400 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، و سه سطح زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپرولینا (0، 500 و 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به عنوان ماده آلی بود. جهت انجام تحقیق، پودر خشک شده سیانوباکتری اسپرولینا از شرکت Swisse Weliness (ملبورن، استرالیا) خریداری شد. برخی از ویژگی‌های این ماده آلی مورد مطالعه از قبیل ماده آلی، pH در عصاره یک به پنج ماده آلی به آب، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره یک به پنج ماده آلی به آب، نیتروژن کل به روش میکرو کلدال اندازه‌گیری شد (اسپارکز و همکاران، 1996). برای اندازه‌گیری غلظت سایر عناصر، از روش

جدول 1- ویژگی‌های ماده آلی بکار برده شده

نوع ماده آلی	نیتروژن	ماده آلی	قابلیت هدایت الکتریکی	pH	فسفر	پتاسیم	سدیم	روی	آهن	منگنز	مس
	%	(dS m <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )								
سیانوباکتری اسپرولینا	4/6	85	7/1	5/35	7435	11389	5202	28/1	311	18	0/05

جدول 2- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

شن	سیلت	رس	بافت خاک	FC %	EC <sub>e</sub> (dSm <sup>-1</sup> )	pH	OM (%)	CEC (Cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup> )	N (%)	P	K	Fe	Mn	Zn	Cu	Pb
(mg.kg <sup>-1</sup> )																
%																
22	35	43	Clay	18	0/47	7/2	1/84	15	0/13	13/2	450	4/7	14	0/56	1/2	ناچیز

هر دو زمان خواباندن، مقدار 2/5 گرم خاک از هر ظرف پلاستیکی با دقت وزن شده و به لوله‌های پلی اتیلن منتقل شدند. سپس از روش عصاره‌گیری دنباله‌ای سینگ و همکاران (1988) به‌منظور تعیین شکل‌های شیمیایی سرب استفاده شد. خلاصه‌ای از عصاره‌گیرهای استفاده شده در هر مرحله و شکل سرب استخراج شده در جدول 3 ارائه شده است. بعد از عصاره‌گیری شکل‌های مختلف سرب، مقدار سرب در هر مرحله به‌وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

مقدار سرب موجود در خاک اولیه، کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی و ناچیز بود. به همین دلیل مقدار 10 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به عنوان حداقل مقدار جهت تشخیص دستگاه به تمامی تیمارها افزوده و به‌عنوان شاهد منظور گردید.

مقدار 300 گرم خاک وزن و در ظروف پلاستیکی 350 گرمی به قطر 4/5 و ارتفاع 12/5 سانتی متر ریخته شد و تیمارهای مذکور اعمال گردید. پس از اعمال تیمارها، نمونه‌ها با روش وزنی به‌وسیله آب مقطر در حد ظرفیت زراعی (18% وزنی) و در دمای 25 درجه سلسیوس تا پایان هر دوره زمانی آبیاری شدند. در پایان

جدول 3- مراحل مختلف عصاره‌گیری دنباله‌ای به روش سینگ و همکاران (1988)

شکل شیمیایی	نسبت خاک به عصاره گیر	عصاره گیر	مدت زمان رسیدن به تعادل (ساعت)	دما (درجه سلسیوس)
تبادلی (EX)	2/5:10	1 M Mg (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2	20
کربناتی (CAR)	2/5:10	1 M NaOAc (pH=5)	5	20
ماده آلی (OM)*	2/5:5	0.7 M NaOCl (pH=8.5)	0/5	100
متصل به اکسیدهای منگنز (Mn-OX)	2/5:25	0.1 M NH <sub>2</sub> OH.HCl (pH=2)	0/5	100
متصل به اکسیدهای آهن بی شکل (AFe-OX)	2/5:25	0.25 M NH <sub>2</sub> OH.HCl + 0.25 M HCl	0/5	50
متصل به اکسیدهای آهن بلورین (OX CFe-) (OX)	2/5:25	0.2 M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> + 0.2 M H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> + 0.1 M C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	0/5	100
باقیمانده (Residual)	...	Total- (مجموع سایر شکل‌ها)	...	...
کل (Total)	2:25	4 M HNO <sub>3</sub>	16	80

\* دو مرتبه عصاره‌گیری، صاف و مخلوط گردد.

در سطح 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک و 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، با گذشت زمان و طی فرآیند تجزیه سیانوباکتری اسپروولینا شکل تبادلی سرب افزایش قابل توجهی داشته و به حد تشخیص دستگاه رسیده است که حاکی از این واقعیت است که کاربرد سیانوباکتری اسپروولینا به میزان 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک می‌تواند در این شرایط به تشدید آلودگی محصولات منجر شود. اسپینوسا و آرمیتا (2007) نشان دادند که سرب بیشتر در شکل‌های متصل به اکسیدهای آهن و باقیمانده قرار می‌گیرد و بیان نمودند که کم بودن بخش تبادلی به معنی کم بودن قابلیت استفاده بیولوژیکی این فلز است.

#### غلظت سرب کربناتی در خاک

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سرب و سیانوباکتری بر شکل کربناتی سرب در طول زمان (جدول 4) نشان داد که تمامی اثرات اصلی زمان (در سطح 5 درصد)، سطوح مختلف سرب و سیانوباکتری اسپروولینا (در سطح یک درصد) و تمامی برهمکنش‌های دو تایی و سه تایی تیمارهای بکار برده شده معنی‌دار بود. نتایج جدول 5 نشان داد با افزایش سطح سرب در خاک، غلظت سرب کربناتی نیز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. غلظت سرب کربناتی با کاربرد 500 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سیانوباکتری افزایش و سپس با افزایش سطح سیانوباکتری کاربردی به مقدار 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، کاهش یافت. افزایش سطح سیانوباکتری سبب تبدیل سرب کربناتی به سرب قابل تبادل و افزایش سهولت فراهمی و در نتیجه افزایش سمیت آن برای گیاه می‌گردد هرچند با مقایسه مقادیر جدول 5 می‌توان نتیجه گرفت مقدار این تبدیل کم است

پس از به دست آوردن نتایج آزمایشگاهی، تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با کمک نرم افزار Excel و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

#### نتایج و بحث

##### غلظت سرب تبادلی در خاک

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 4) تمامی اثرات اصلی و برهمکنش تیمارهای اعمال شده بر شکل تبادلی سرب، در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. البته شایان ذکر است که غلظت سرب در این شکل شیمیایی به وسیله دستگاه جذب اتمی (حد تشخیص دستگاه 0/3 میلی‌گرم سرب در لیتر)، بجز سطح 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم سیانوباکتری اسپروولینا و سطح 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک و زمان دو ماه (2/5 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک)، قابل تشخیص نبود (جدول 5).

به‌طور کلی شکل تبادلی معمولاً بخش کمی از مقدار کل عناصر را تشکیل می‌دهد. کربنات کلسیم موجود در خاک ممکن است به‌عنوان یک جاذب قوی برای سرب عمل کند و سرب را بصورت کربنات سرب رسوب دهد (راموس و همکاران، 1994). کاربرد مواد آلی مانند سیانوباکتری اسپروولینا می‌تواند اثرات دوگانه‌ای بر جا گذارد (کرمی و یثربی، 1394). مواد آلی افزوده شده به خاک با افزایش بارهای سطحی در خاک سبب افزایش نگهداری و کاهش تحرک فلزات می‌شود (کلارک و همکاران، 2007) همچنین این مواد به شکل محلول و کلوئیدی می‌توانند تحرک فلزات سنگین در خاک را افزایش دهند (تینینگ و همکاران، 2003).

خاک‌های آهکی است. با توجه به آهکی بودن خاک‌های ایران انتظار می‌رود با ورود فلزات به خاک و با گذشت زمان، قابلیت استفاده فلز کاهش یافته و از شکل‌های با حلالیت زیاد (مانند شکل کربناتی و تبادل) به شکل‌های با حلالیت کمتر (مانند شکل متصل به اکسیدهای آهن و باقیمانده) تبدیل شوند (رجائی و کریمی‌ان، 1384).

و بیشتر سرب در سطح 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم سیانوباکتری همانند سطح شاهد (بدون افزودن سیانوباکتری) در شکل باقیمانده جای گرفته است. نتایج جدول 5 و شکل 1 نشان دادند که با گذشت زمان شکل کربناتی سرب کاهش یافته (از 42/7 به 39/6 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) است که روند طبیعی تثبیت این فلز در

جدول 4- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سرب، زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا و زمان بر شکل‌های شیمیایی سرب

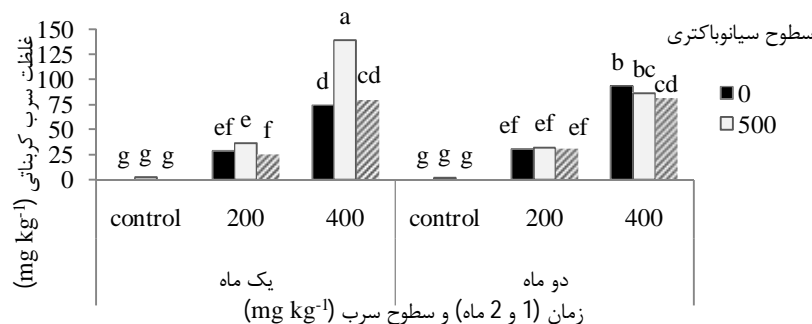
میانگین مربعات						منابع تغییرات
Res	AFe-ox	OM	Car	Ex	درجه آزادی	
5/12 <sup>ns</sup>	295 <sup>*</sup>	0/30 <sup>ns</sup>	131/4 <sup>*</sup>	1/12 <sup>**</sup>	1	زمان
160069 <sup>**</sup>	45077 <sup>**</sup>	76/1 <sup>**</sup>	39405 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	2	سطوح سرب
2497 <sup>**</sup>	634 <sup>**</sup>	7/09 <sup>**</sup>	954 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	2	سطوح سیانوباکتری اسپیرولینا
914 <sup>**</sup>	186 <sup>*</sup>	3/92 <sup>**</sup>	185 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	2	زمان × سطوح سرب
14642 <sup>**</sup>	8516 <sup>**</sup>	1/56 <sup>*</sup>	879 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	2	زمان × سطوح سیانوباکتری اسپیرولینا
754 <sup>**</sup>	439 <sup>**</sup>	2/63 <sup>**</sup>	485 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	4	سطوح سرب × سطوح سیانوباکتری اسپیرولینا
5696 <sup>**</sup>	2794 <sup>**</sup>	6/56 <sup>**</sup>	631 <sup>**</sup>	1/12 <sup>**</sup>	4	زمان × سطوح سرب × سطوح سیانوباکتری اسپیرولینا
81/9	41/2	0/41	25/2	0/005	36	خطا
...	...	...	...	...	53	کل

\* و \*\* به ترتیب در سطح 5 و 1 درصد معنی‌دار است و ns به لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول 5- اثرات اصلی کاربرد زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا و سطوح مختلف سرب بر شکل‌های شیمیایی سرب در طول زمان

سطوح سیانوباکتری (mg kg <sup>-1</sup> )			سطوح سرب (mg kg <sup>-1</sup> )			زمان (ماه)		شکل شیمیایی
1000	500	0	400	200	شاهد	2	1	
0/43 A	ND B	ND B	0/43 A	ND B	ND B	0/39 A	ND <sup>*</sup> B	Ex
36/2 B	49/5 A	37/7 B	92/4 A	30/5 B	0/63 C	39/6 B	42/7 A	Car
3/6 B	3/87 B	4/8 A	6/39 A	3/46 B	2/42 C	4/17 A	4/02 A	OM
60/3 B	67/9 B	56/1 A	104 A	73/4 B	6/53 C	63/8 A	59/1 B	AFe-ox
100 A	79/3 B	98/6 A	188 A	90/1 B	ND C	92/6 A	93/2 A	Res

\* در هر تیمار بکار برده شده، اعدادی که در هر ردیف یا ستون دارای یک حرف مشترک بزرگ هستند از لحاظ آماری در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار نمی‌باشند. ND مقادیری از عنصر هستند که به‌وسیله دستگاه اتمیک قابل تشخیص و اندازه‌گیری نبودند (Not Detected). \*\* معادل فارسی شکل‌های شیمیایی در جدول 3 آورده شده است.



شکل 1- برهمکنش سه‌تایی سطوح زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا، سطوح سرب و زمان خواباندن بر غلظت سرب کربناتی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک). ستون‌های دارای حروف مشترک، در سطح 5 درصد آزمون دانکن از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند

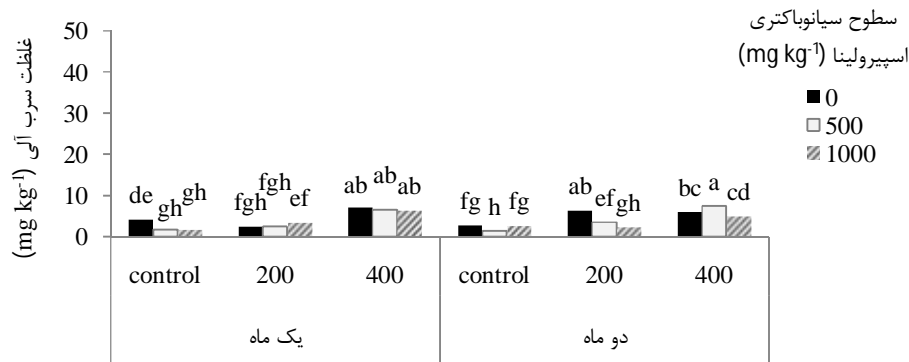
یافت. علی‌رغم آنچه پیش‌بینی می‌شد با کاربرد سیانوباکتری و افزایش سطوح آن، کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار سرب آلی مشاهده شد (جدول 5). این کاهش می‌تواند به دلیل تجزیه سیانوباکتری به‌وسیله میکروارگانیزم‌های خاک و افزایش فراهمی سرب به‌وسیله عوامل اسیدی افزوده شده به محیط و تبدیل شکل آلی به سایر شکل‌ها بویژه شکل‌های محلول‌تر باشد (آلماس و همکاران، 2000). مواد آلی به دلیل داشتن گروه‌های عاملی گوناگون یکی از مهمترین مکان‌های جذب انواع آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین هستند اما قدرت نگهداری آن‌ها به‌وسیله این لیگاندها متفاوت است که نهایتاً تعیین‌کننده تحرک فلزات در خاک می‌باشند. کلمنت و برنال (2006) نیز بیان کردند که افزودن مواد آلی به خاک ممکن است در مواردی سبب افزایش شکل‌های محلول‌تر و افزایش تحرک فلز در خاک گردد. بقائی و همکاران (1391) با بررسی بخش معدنی و آلی لجن فاضلاب و کود گاوی بیان کردند که با وجود درصد نسبت بالای کربن آلی در تیمارهای لجن و کود گاوی، بخش معدنی این ترکیبات تأثیر بیشتری بر قابلیت دسترسی سرب در خاک دارد. شکل 2 اثرات سه‌تایی سطوح سرب، سیانوباکتری اسپیرولینا و زمان را نشان می‌دهد. کاربرد سیانوباکتری در ماه اول و در تیمار شاهد سرب، سبب کاهش معنی‌دار سرب آلی از 4/17 به 1/72 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک شد که البته بین سطوح 500 و 1000 سیانوباکتری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر مشاهده نشد. در ماه دوم، کاربرد 500 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک سبب کاهش معنی‌دار سرب آلی نسبت به سطح شاهد شد. در سطح 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، کاربرد 500 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک سبب افزایش شکل آلی سرب گردیده است اما کاربرد سطح 1000 سیانوباکتری سبب افزایش شکل‌های محلول‌تر و کاهش شکل آلی گردیده است. با توجه به برهمکنش‌های سه‌گانه، کاربرد سیانوباکتری در خاک‌های آلوده به فلز سرب باید با احتیاط لازم صورت گیرد چرا که بخوبی اثرات دوگانه مواد آلی بر تحرک سرب قابل مشاهده است و در برخی موارد سبب تثبیت سرب در شکل آلی و در بیشتر موارد سبب کاهش شکل آلی و افزایش شکل‌های محلول‌تر و فراهمی بیشتر این فلز شده است.

مقایسه اثرات سه‌تایی نشان داد که در یک ماه اول، کاربرد سیانوباکتری به میزان 500 میلی‌گرم در کیلوگرم سبب افزایش شکل کربناتی در تمامی سطوح سرب نسبت به سطح شاهد (بدون کاربرد سیانوباکتری) شده که این افزایش تنها در سطح 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک معنی‌دار بود (شکل 1). در ماه دوم، همین روند (افزایشی) تکرار گردید با این تفاوت که در سطح 400 سرب، سبب کاهش غیرمعنی‌دار سرب کربناتی (و احتمالاً تبدیل به شکل تبادل) شد. افزایش شکل کربناتی با افزودن سیانوباکتری نسبت به سطح شاهد (بدون حضور سیانوباکتری) می‌تواند به دلیل افزایش تحرک فلز بوسیله ماده آلی باشد (آلماس و همکاران، 2000؛ تپینگ و همکاران، 2003). کاربرد 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم سیانوباکتری در ماه اول، سبب کاهش معنی‌دار شکل کربناتی در تمامی سطوح سرب نسبت به سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری شد. در ماه دوم نیز همین روند (کاهش نسبت به کاربرد 500 میلی‌گرم سیانوباکتری) تکرار گردید. با توجه به مقادیر سایر شکل‌ها، در سطح 200 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، سرب کربناتی به شکل‌های کمتر محلول تبدیل شده است.

این روند ممکن است به دلیل آهکی بودن خاک و تبدیل سرب به شکل‌های کمتر محلول در طول زمان باشد. در سطح 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، سرب کربناتی به شکل محلول‌تر (تبادل) تبدیل شده که می‌تواند به علت افزایش غلظت کل سرب و/یا افزایش تجزیه سیانوباکتری به مرور زمان و در نتیجه فراهمی بیشتر فلز در خاک باشد. با توجه به نتایج جدول 5 در سطح 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، روند کاهشی غیرمعنی‌داری در شکل کربناتی سرب نسبت به سطح شاهد (بدون کاربرد سیانوباکتری) دیده شد که بیانگر اثر هر چند ناچیز کاربرد سیانوباکتری بر افزایش فراهمی سرب (تبدیل به شکل تبادل) نسبت به سطح شاهد است (شکل 1).

#### غلظت سرب آلی در خاک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی زمان بر شکل آلی سرب معنی‌دار نبود اما اثرات اصلی سطوح سرب و سطوح سیانوباکتری اسپیرولینا در سطح یک درصد معنی‌دار بود. تمامی برهمکنش‌های دوتایی و سه‌تایی تیمارها بر سرب آلی خاک معنی‌دار بودند (جدول 4). با افزایش سطوح سرب، مقدار سرب آلی افزایش



زمان (1 و 2 ماه) و سطوح سرب ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

شکل 2- برهمکنش سه‌تایی سطوح زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا، سطوح سرب و زمان خواباندن بر غلظت سرب آلی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک). ستون‌های داری حروف مشترک، در سطح 5 درصد آزمون دانکن از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند

### غلظت سرب متصل به اکسیدهای منگنز

کرد و با افزودن سیانوباکتری به‌عنوان ماده آلی، سرب از شکل‌های کمتر محلول به شکل‌های محلول‌تر تبدیل شد (جدول 5).

غلظت سرب متصل به اکسیدهای منگنز در تمامی تیمارها خارج از حد تشخیص دستگاه (0/3 میلی‌گرم در لیتر سرب) بود.

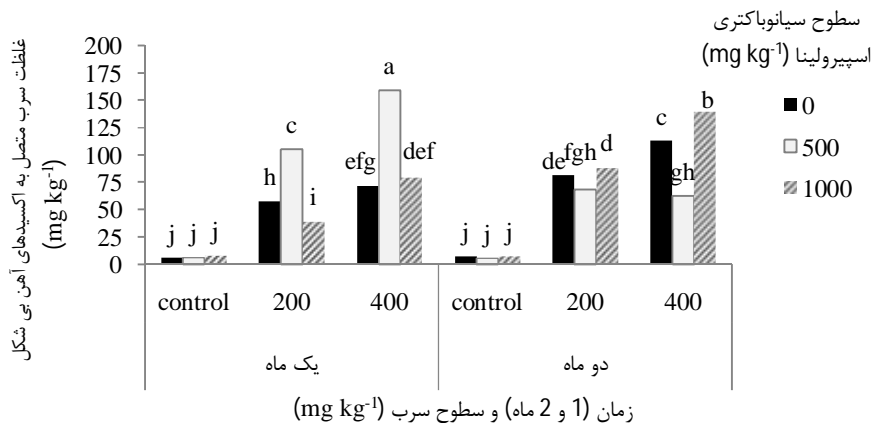
### غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل در خاک

شکل 3 اثرات دوتایی و سه‌تایی افزودن سطوح مختلف سرب، سیانوباکتری اسپیرولینا و زمان را بر غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل نشان می‌دهد. کاربرد سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک در ماه اول سبب افزایش شکل متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل شد. افزودن 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک پس از دو ماه خواباندن، سبب افزایش شکل متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل گردید که نشان می‌دهد که سطوح ماده آلی بکار برده شده می‌تواند بر تثبیت سرب به این شکل در زمان‌های مختلف تأثیر بگذارد.

نتایج تجزیه واریانس (جدول 4) نشان داد که تمامی اثرات اصلی و برهمکنش‌های دوتایی و سه‌تایی فاکتورهای اعمال شده بر غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل معنی‌دار بود. با گذشت زمان مقدار سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل افزایش یافته و در واقع سرب به شکل کمتر محلول تبدیل شده است که می‌تواند به دلیل تثبیت سرب به‌وسیله خاک باشد (جدول 5). حسینیان رستمی و همکاران (1392) با بررسی اثر زمان بر شکل‌های شیمیایی سرب در یک خاک آلوده بیان کردند که گذشت زمان باعث کاهش بخش سرب تبدلی، کربناته و باقیمانده و افزایش سرب متصل به اکسید آهن، منگنز و ماده آلی گردیده است. با افزایش سطوح سرب، میانگین سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل نیز افزایش یافت (جدول 5). اثر اصلی سیانوباکتری بر مقدار سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل نیز روندی مشابه آنچه درمورد اثر افزودن سیانوباکتری و سطوح آن بر سرب آلی گفته شد، را دنبال

### غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بلورین در خاک

غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بلورین در تمامی تیمارها خارج از حد تشخیص دستگاه بود و شاید دلیل آن مقدار بسیار ناچیز اکسیدهای آهن بلورین در خاک‌های آهکی مناطق انتخاب شده جهت آزمایش مذکور باشد.



شکل 3- برهمکنش سه‌تایی سطوح زی‌توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا، سطوح سرب و زمان خواباندن بر غلظت سرب متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک). ستون‌های داری حروف مشترک، در سطح 5 درصد آزمون دانکن از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند

سطح شاهد (بدون افزودن سیانوباکتری) نشان داد که این حاکی از خطر کاربرد سیانوباکتری در سطوح پایین آلودگی سرب و تبدیل سرب به شکل‌های محلول‌تر و در نتیجه احتمال سمیت بیشتر محصول و افزایش جذب آن به‌وسیله گیاه است؛ حال آنکه در سطح 400 میلی‌گرم سرب (سطح بالای آلودگی سرب) کاربرد 500 میلی‌گرم سیانوباکتری در ماه دوم توانسته سرب را تا حدودی کنترل و به شکل باقیمانده وارد کند (شکل 4). تفسیر تأثیر سیانوباکتری، به‌عنوان یک ماده آلی افزوده شده به خاک، بر شکل‌های شیمیایی مختلف در طول زمان بسیار دشوار به نظر می‌رسد چرا که رفتار مواد آلی در زمان‌های مختلف و حتی در سطوح مختلف کاربرد متفاوت است.

#### درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف

درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف سرب در خاک در جدول 6 آورده شده است. در هر دو زمان خواباندن و در تیمار شاهد (سطح صفر سرب) و در سطوح 0 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، ترتیب درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف به‌صورت: سایر شکل‌ها > AFe-ox > Om اما در سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، ترتیب به‌صورت سایر شکل‌ها > AFe-ox > Car > Om بود که نشان می‌دهد کاربرد این سطح از سیانوباکتری سبب افزایش شکل کربناتی و محلول‌تر شدن سرب شده است. در سطح 200 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، در ماه اول و دوم روندهای متفاوتی دیده شد به این صورت که در ماه اول با کاربرد سطوح 0 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، روند درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف سرب به‌صورت Res > AFe-ox > Car > Om > Ex

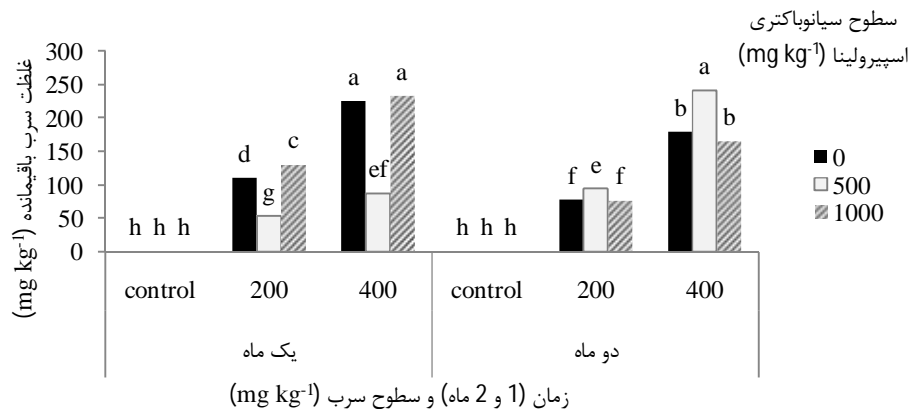
#### غلظت سرب باقیمانده در خاک

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سرب و سیانوباکتری اسپیرولینا و زمان بر شکل باقیمانده سرب در خاک نشان داد که تمامی اثرات اصلی بجز زمان بر شکل باقیمانده معنی‌دار بودند. برهمکنش‌های دو تایی و سه‌تایی عوامل مورد مطالعه نیز معنی‌دار بود (جدول 4). نتایج نشان داد که با افزایش سطوح سرب مقدار سرب باقیمانده در خاک نیز افزایش یافت. همچنین با افزودن 500 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، مقدار سرب باقیمانده کاهش و با افزایش سطح کاربرد سیانوباکتری به میزان 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، افزایش یافت. با افزودن 500 میلی‌گرم سیانوباکتری، بخشی از شکل باقیمانده، به شکل متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل و بخش دیگری به شکل محلول‌تر کربناتی در آمده اما با افزایش سطح سیانوباکتری به میزان 1000 میلی‌گرم، شکل‌های کربناتی و متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل کمتر از سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری شده و به شکل باقیمانده افزوده شده که در نهایت با سطح شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است (جدول 5). این می‌تواند به دلیل تثبیت سرب به‌وسیله خاک و یا سیانوباکتری باشد. سرب باقیمانده در سطح شاهد سرب ناچیز و غیرقابل تشخیص به‌وسیله دستگاه جذب اتمی بود (شکل 4). با افزودن سیانوباکتری و با گذشت دو ماه غلظت سرب باقیمانده در تمامی سطوح سیانوباکتری کاهش معنی‌داری نسبت به غلظت آن در ماه اول داشته است (بجز سطح 400 میلی‌گرم سرب و 500 میلی‌گرم سیانوباکتری). با گذشت زمان و افزودن سیانوباکتری در سطح 200 میلی‌گرم سرب، غلظت سرب باقیمانده کاهش معنی‌داری نسبت به



کاربرد سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری سبب کاهش شکل باقیمانده و محلول‌تر کردن سرب شده بود.

در سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری به صورت AFe-ox>Res>Car>Om>Ex بود و بصورت مشابه



شکل 4- برهمکنش سه تایی سطوح زی توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا، سطوح سرب و زمان خواباندن بر غلظت سرب باقیمانده (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک). ستون‌های دارای حروف مشترک، در سطح 5 درصد آزمون دانکن از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند. مقادیر ستون‌های سطح شاهد سرب ناچیز و خارج از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود لذا صفر در نظر گرفته شد

رشد گیاه اسفناج شده در حالیکه سطوح 1000، 2500 و 5000 این سیانوباکتری، وزن خشک گیاه را کمتر افزایش داده بود و این می‌تواند به دلیل همین تأثیر متفاوت بر میزان فراهمی عناصر باشد. چمن نژادیان و همکاران (1390) نیز نشان دادند که افزودن مواد آلی به خاک سبب افزایش جذب سرب به وسیله برنج و افزایش غلظت سرب قابل استخراج با DTPA در خاک شد.

#### نتیجه گیری

با گسترش آلودگی فلزات، پژوهش در زمینه اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات توسعه یافته است. یکی از روش‌های کارآمد، کاربرد ترکیبات آلی به منظور تثبیت آلودگی در خاک است. در سال‌های اخیر، اثر سیانوباکتری‌های زنده یا غیرزنده در حذف فلزات سنگین از آب‌های آلوده مورد مطالعه قرار گرفته است اما اثر آنها در حذف آلودگی خاک کمتر بررسی شده است. در پژوهش حاضر، امکان اصلاح خاک آلوده به فلز سرب بوسیله زی توده غیرزنده سیانوباکتری اسپیرولینا در طی زمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش سطوح سرب، غلظت سرب در تمامی شکل‌های شیمیایی (تبادلی، کربناتی، آلی، متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل، متصل به اکسیدهای منگنز و باقیمانده) افزایش معنی‌داری یافت. به‌طور کلی در خاک آهکی آلوده به فلز سرب، کاربرد سیانوباکتری اسپیرولینا سبب تبدیل شکل‌های شیمیایی سرب از شکل‌های کمتر محلول به شکل‌های محلول‌تر (تبادلی و کربناتی) گردید که در صورت چنین اتفاقی اصلاً به سود زارعین و مصرف کنندگان اعم از

اما در ماه دوم روند ذکر شده بر عکس بود و کاربرد سطوح 0 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری سبب افزایش شکل متصل به اکسیدهای آهن بی شکل نسبت به شکل باقیمانده شده بود. در سطح 400 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، در ماه اول و دوم روندهای متفاوتی دیده شد به این صورت که در ماه اول با کاربرد سطوح 0 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، روند درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف سرب بصورت Res>Car>AFe-ox>Om>Ex و در سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری به صورت AFe-ox>Car>Res>Om>Ex بود و بصورت مشابه کاربرد سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری سبب کاهش شکل باقیمانده و محلول‌تر کردن سرب شده بود. اما در ماه دوم با کاربرد سطوح 0 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری در کیلوگرم خاک، Res>AFe-ox>Car>Om>Ex و سرب نا محلول‌تر گردید. در سطح 500 میلی‌گرم سیانوباکتری درصد نسبی شکل‌های سرب به صورت Res>Car>AFe-ox>Om>Ex بود که نشان دهنده اثر توأم زمان و سیانوباکتری بر شکل‌های کربناتی و باقیمانده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد، در تمامی تیمارها سطوح شاهد (بدون افزودن سیانوباکتری) و سطح کاربرد 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری روند مشابهی را داشته‌اند در حالیکه سطح 500 میلی‌گرم در کیلوگرم سیانوباکتری تأثیرات متفاوتی را از خود بر جا گذاشته است که با نتایج صفرزاده و همکاران (1394) مطابقت دارد که نشان دادند کاربرد 500 میلی‌گرم سیانوباکتری اسپیرولینا در کیلوگرم خاک سبب افزایش

انتخاب این سیانوباکتری به‌عنوان ماده آلی احتیاط لازم به عمل آید چرا که این سیانوباکتری همانند سایر مواد آلی اثر دوگانه‌ای بر غلظت فلزات سنگین داشته و در برخی موارد سبب افزایش فراهمی فلز شده و نیاز به آزمایشات بیشتری در این زمینه احساس می‌شود. پیشنهاد می‌شود که اثر سطوح مختلف این سیانوباکتری بر شکل‌های شیمیایی سرب در مدت زمان طولانی‌تر بررسی گردد تا اثر زمان بهتر مورد بررسی قرار گیرد و اثر آن بر رشد گیاهان در مزرعه و در مناطق آلوده نیز بررسی شود.

انسان‌ها و دام‌ها نمی‌باشد. از بین سطوح 500 و 1000 میلی‌گرم سیانوباکتری می‌توان سطح 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم را به دلیل افزایش مقدار سرب باقیمانده و تثبیت بهتر سرب انتخاب نمود هر چند این سطح نیز در برخی حالات (سطوح بالای آلودگی) غلظت سرب تبدلی را افزایش داد. به‌طور کلی پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بیشتری در زمینه اثر این ماده بر شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین در خاک‌های آهکی ایران صورت گیرد تا بتوان با قطعیت بیشتری در مورد اثر آن بر حذف آلودگی خاک اظهار نظر نمود. همچنین در خاک‌های آلوده به سرب در

جدول 6- درصد نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف سرب در طول زمان

Res	Afe-ox	Om	Car	Ex	سطوح سرب (mg kg <sup>-1</sup> )	سطوح سیانوباکتری اسپیروولینا (mg kg <sup>-1</sup> )
ND	55/5	42/5	ND	ND*	شاهد	
54/5	29/1	1/26	14/3	ND	200	0
56/4	19	1/87	19/6	ND	400	
ND	61/4	17/4	20/3	ND	شاهد	
23/2	53/3	1/29	18/3	ND	200	500
21/6	40/7	1/66	35/4	ND	400	
ND	81/5	17/6	ND	ND	شاهد	
65	19/8	1/78	12/7	ND	200	1000
56/1	19/9	1/60	20	ND	400	
دو ماه						
ND	70/8	27/7	ND	ND	شاهد	
37/3	41/7	3/26	15/4	ND	200	0
43/5	28/9	1/51	23/8	ND	400	
ND	55/2	14/5	17/9	ND	شاهد	
47/4	34/6	1/81	16/1	ND	200	500
60/6	15/7	1/87	21/7	ND	400	
ND	72/2	27/6	ND	ND	شاهد	
38/2	44/5	1/14	15/8	ND	200	1000
39	35/6	1/27	20/6	0/66	400	

\*ND= Not detected

### فهرست منابع:

1. بقائی، ا. م.، خوشگفتار منش ا. م. و افیونی، م. 1391. اثر بخش معدنی و آلی کود گاوی و لجن فاضلاب غنی شده بر توزیع شکل‌های شیمیایی سرب در خاک. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، 60: 95-106.
2. پرهیزکار، م. و دادلهی سهراب، ع. 1389. بررسی استفاده از جلبک سبز (*Entromorpha intestinalis*) به‌عنوان شاخص کنترل زیستی فلزات سنگین (Ni, Pb, Cd & Cu) در آب‌های نواحی ساحلی بوشهر، فصلنامه علمی محیط زیست، 49: 30-20.

3. چلوئی، م.، چرم، م.، معتمدی، ح. و فرخیان فیروزی، ا. 1391. اثر کاربرد لجن فاضلاب بر جزء بندی شیمیایی فلزات سنگین کادمیم و روی در خاک. اولین همایش بین المللی و ششمین همایش ملی مدیریت پسماند، 2 و 3 اردیبهشت، مشهد.
4. چمن نژادیان، ع.، معزی، ع.، صیاد، غ. و جهانگیری، ع. 1390. تأثیر ماده آلی بر جذب کادمیم و سرب در گیاه برنج و کاهش بازاریابی. نخستین همایش ملی جهاد اقتصادی در عرصه کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان جهاد کشاورزی قم.
5. حسینیان رستمی، ق.، غلامعلی زاده آهنگر، ا. و لکزیان، ا. 1392. اثر زمان بر توزیع شکل‌های شیمیایی سرب در خاک آلوده. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، 27(5): 1066-1057.
6. دولتی، ب. 1394. تاثیر لئوناردیت بر تغییر شکل‌های شیمیایی کادمیم و سرب در خاک‌های حاصله از مواد مادری متفاوت، نشریه دانش آب و خاک، 25(1): 179-165.
7. رجائی، م. 1385. تاثیر زمان، سطوح و منابع کادمیم و نیکل بر شکل‌های شیمیایی، رشد و جذب این دو عنصر توسط اسفناج. پایان نامه دکتری تخصصی، بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.
8. رجائی، م. و کریمیان، ن. ع. 1384. تغییرات زمانی شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک‌های تیمار شده با سطوح و منابع متفاوت این عنصر، نهمین کنگره علوم خاک ایران.
9. صفرزاده شیرازی، ص.، مرادی، م. و کاظمی، م. س. 1394. مقایسه اثر کاربرد کودهای آلی و شیمیایی بر جذب عناصر کم مصرف و عملکرد اسفناج. مجموعه مقالات چهاردهمین کنگره علوم خاک ایران، کرمان، رفسنجان. ص. ص. 939-941.
10. کرمی، ش. و یشربی، ج. 1394. اثر باکتری محرک رشد گیاه و تنش خشکی بر شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک پس از برداشت ذرت، مجموعه مقالات چهاردهمین کنگره علوم خاک ایران، کرمان، رفسنجان. ص. ص. 1674-1671.
11. کوچی، م.، فتوت، الف.، حق نیا، غ. و لکزیان، ا. 1385. بررسی شکل‌های شیمیایی عناصر سنگین سرب، کبالت، کادمیم، نیکل، روی و مس در خاک‌های آبیاری شده با فاضلاب. مجله علوم و صنایع کشاورزی، 20(2): 54-45.
12. Abbaspour, A., Kalbasi, M. Hajrasuliha Sh. and Golchin. A. 2007. Effects of plant residue and salinity on fractions of cadmium and lead in three soils. *Soil and Sediment Contam*, 16:539–555.
13. Almas, A.R., McBride, M.B. and Singh, B.R. 2000. Solubility and lability of cadmium and zinc in two soils treated with organic matter. *Soil Sci.* 165: 250-259.
14. Aneja, R.K., Chaudhary, G. Ahluwalia, S.S. and Goyal, D. 2010. Biosorption of  $Pb^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  by Non-Living Biomass of *Spirulina sp.* *Indian J Microbiol.* 50(4): 438–442.
15. Aulakh, M.S., Khurana, M.P.S. and Dhanwinder, S. 2009. Water pollution related to agricultural, industrial, and urban activities, and its effects on the food Chain: Case Studies from Punjab *J. New Seeds.* 10: 112–137.
16. Basta, N.T., Gradwohl, R., Senethen, K.L. and Schroder, J.L. 2001. Immobilization of lead, zinc and cadmium in smelter contaminated soils using biosolids and rock phosphate. *J. Environ. Qual.* 30: 1222-1230.
17. Belay, A. 2007. *Spirulina (Arthrospira): production and quality assurance.* In: Gershwini ME, Belay, A., editors. *Spirulina in human nutrition and health: CRC Press*, PP: 2-26.
18. Chapman, H.D. and Pratt, P.F. 1961. *Methods of analysis for soils, plants and water.* Univ. California, Berkeley, CA, USA.
19. Clark, G.J., Dodgshun, N., Sale, P.W.G. and Tang, C. 2007. Changes in chemical and biological properties of a sodic clay subsoil with addition of organic amendments. *Soil Biol Biochem.* 39: 2806-2817.

20. Clemente, R. and Bernal, M.P. 2006. Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids. *Chemosphere*. 64(8):1264-1273.
21. Ekmekyapar, F., Aslan, A. Bayhan, Y.K. and Cakici, A. 2012. Biosorption of Pb (II) by Nonliving Lichen Biomass of *Cladonia rangiformis Hoffm.* *International Journal of Environmental Research*. 6(2): 417-424.
22. Espinosa, E. and Armienta, M.A. 2007. Mobility and fractionation of Fe, Pb and Zn in river sediments from silver and base-metals mining area: Taxco, México. *J Environ Sci Health a Tox Hazard Subst Environ Eng*. 42(10):1391-401.
23. Ghafoor, A., Zia-UR-Rehman, M. Ghafoor, A. Murtaza, G. and Sabir, M. 2008. Fractionation and availability of cadmium to wheat as affected by inorganic amendments. *Int. J. Agr. Biol*. 10(5): 469-474.
24. Giannis, a., Pentaritis, D. Wang, J.Y. and Gidarakos, E. 2010. Application of sequential extraction analysis to electrokinetic remediation of cadmium, nickel and zinc from contaminated soils. *J. Hazardous Material*, 184: 547-554.
25. Han, F.X., Banin, A. and Triplett, G.B. 2001. Redistribution of heavy metals in arid-zone soils under a wetting-drying soil moisture regime. *Soil Sci*. 166: 18-28.
26. Indra, V. and Sivaji, S. 2006. Metals and organic components of sewage and sludge. *J. Environ. Biol*, 27: 723-725.
27. Khurana, M.P.S. and Kansal, B.D. 2014. Effect of farm yard manure on chemical fractionation of cadmium and its bio-availability to maize crop grown on sewage irrigated coarse textured soil. *J. Environ Biol*. 35: 431-437.
28. Kim, D.W., Che, D.K., Wang, J. and Huang, C.P. 2002. Heavy metal removal by activated sludge: influence of *Nocardia amarae*. *Chemosphere*, 46:137-142.
29. Kiran, I., Akar, T. and Tunalı, S. 2005. Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*. *Process Biochemistry*. 40(11): 3550-3558.
30. Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 421-428.
31. Oconnor, G.A., Oconnor, C. and Cline, G.R. 1984. Sorption of cadmium by calcareous soils: influence of solution composition, *Soil Science Society of American Journal*, 48:1244-1247.
32. Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes M.A. and Pinto, L.A.A. 2009. Moisture sorption characteristics of microalgae *Spirulina platensis*. *Braz. J. Chem. Eng.* 26(1): 189-197.
33. Ramos, L., Hernandez, M. and Gonzalez, M.J. 1994. Sequential of copper, lead, cadmium and zinc in soils, from or near Donadona National Park. *J. Environ. Qual.* 23: 50-57.
34. Rodríguez-Vila, A., Asensio, V., Forján, R. and Covelo, 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.* *J. Geochem. Explor.* 158: 74-81.
35. Sing, J.P., Karwasra, P.S., and Sing, M. 1988. Distribution and forms of copper, iron, manganese and zinc in calcareous soils of India. *Soil Science*. 146:359-366.
36. Sparks, D.L., Page, A.L. Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T. and Sumner, M.E. 1996. *Methods of soil analysis, Parts 2 and 3*, 3rd ed. Am. Soc. Agron. Inc., Madison, WI. 1390 p.
37. Tipping, E., Rieuwerts, J. Pan, G. Ashmore, M.R. Lofts, S. Hill, M.T.R., Farago, M.E. and Thornton, I. 2003. The solid-solution partitioning of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb) in upland soils of England and Wales. *Environ. Pollut.* 125: 213-225.
38. Yang, Y., Nan, Z., Zhao, Z., Wang, S., Wang, Z. and Wang, X. 2011. Chemical fractionation and bioavailability of cadmium and zinc to cole (*Brassica campestris L.*) grown in the multi-metals contaminated Oasis soil, northwest of China. *J. Environ. Sci.* 23: 275.
39. Zouboulis, A.I., Loukidou, M.X. and Matis, K.A. 2004. Bio sorption of toxic metals from aqueous solution by bacterial strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochem.* 39: 909-916.

## Effect of Organic Matter and Incubation Time on Pb Chemical Forms in a Calcareous Soil

S. Safarzadeh Shirazi<sup>1</sup>, S. Karami, and L. Zare

Ph.D. assistant professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran; E-mail: safarzadeh@shirazu.ac.ir.

Ph.D. student, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran; E-mail: sh.k624@gmail.com.

Ph.D. student, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran; E-mail: leila.zare88@gmail.com

Received: September, 2017 and Accepted: January, 2018

### Abstract

This study was conducted to investigate the effect of non-living *Spirulina cyanobacterium* (*Arthrospira platensis*) biomass as an organic matter and incubation time on the chemical forms of lead (Pb) in a calcareous soil. The experiment was conducted in a factorial with completely randomized design in three replications. Treatments consisted of two incubation time (one and two months at 25 °C), three Pb levels as Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (control (10), 200, and 400 mg kg<sup>-1</sup> of soil) and three *Spirulina cyanobacterium* levels (0, 500 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> soil). Results showed that with increasing Pb levels, Pb concentration in all chemical forms (Ex, Car, Om, Fe-ox, Mn-ox and Res-Pb) significantly increased. Different levels of *Spirulina cyanobacterium* had different effects on Pb chemical forms over time but, in general, application of *Spirulina* increased Ex and Car-Pb fraction by 31% and 43%, respectively as compared to those of control, and increased Pb availability in the soil. Therefore, application of this *cyanobacterium* as an amendment should be done with caution; and more investigation at different incubation time and different soils are recommended.

**Keywords:** Non-living *Spirulina cyanobacterium* biomass, Sequential extraction, Pb availability

---

<sup>1</sup> Corresponding author: Ph.D. assistant professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.