

کاربرد روش شیب پخش در غشاء نازک (DGT) در پیش‌بینی روی و مس قابل

دسترس گیاه در خاک و مقایسه آن با روش DTPA

صابر حیدری¹، امیر محسنی، عادل ریحانی تبار و جواد سرحدی

عضو هیات علمی بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، جیرفت، ایران؛ s.heydari@areeo.ac.ir

دانش آموخته دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز؛ amir.mohseni65@gmail.com

عضو هیات علمی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز؛ areyhanitabar@yahoo.com

عضو هیات علمی بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، جیرفت، ایران؛ javad.sarhadi2009@gmail.com

دریافت: 98/8/20 و پذیرش: 98/11/27

چکیده

روش‌های مختلفی برای ارزیابی زیست‌فراهمی عناصر غذایی کم مصرف در خاک ارائه شده است. یکی از تکنیک‌های جدید در این مورد روش شیب پخش در غشاء نازک (Diffusion Gradient in Thin Films) است. این روش بر پایه انتقال یون‌ها یا عناصر به صورت پخشیدگی از لایه پخش و جذب آن‌ها در لایه جاذب عمل می‌کند. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی عملکرد DGT در خاک یا مقایسه آن با روش DTPA در اندازه‌گیری زیست‌فراهمی روی و مس برای گیاه ذرت بود. برای این منظور، DGT در 10 خاک با خصوصیات مختلف که دارای رطوبت اشباع بودند به مدت 24 ساعت قرار داده شد. همچنین کشت ذرت به صورت گلدانی در این خاک‌ها انجام گرفت و در نهایت مقدار عناصر جذب شده توسط گیاه با مقدار روی و مس اندازه‌گیری شده توسط روش‌های DGT و DTPA مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین تغییرات Zn و Cu در گیاه و غلظت این عناصر در خاک و مقدار اندازه‌گیری شده توسط DGT رابطه خطی وجود داشت. Zn اندازه‌گیری شده با روش DGT ($C_E DGT$) نسبت به روش DTPA، همبستگی بالاتری با جذب Zn در گیاه داشت ($r^2=0.8$ برای DTPA، $r^2=0.82$ برای C_E) و نشان داد که در 10 خاک مختلف، C_E بیان‌کننده 82% تغییرات مربوط به جذب Zn توسط گیاه است. همچنین، رابطه بین Cu اندازه‌گیری شده توسط DTPA و جذب آن توسط ذرت دارای ضریب تبیین 0/75 بود در حالیکه Cu اندازه‌گیری شده با روش DGT ($C_E DGT$) دارای $r^2=0.78$ بود. نتایج این تحقیق نشان داد که برای پیش‌بینی جذب عناصر فوق در برگ‌های گیاه ذرت، روش DGT در مقایسه با روش DTPA نسبتاً دقیقتر بود.

واژه‌های کلیدی: زیست‌فراهمی، عناصر کم مصرف، ذرت، عصاره گیر

¹ نویسنده مسئول، آدرس: بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت، ایران

مقدمه

کمبود مواد مغذی در تولید محصولات زراعی یک مشکل جهانی است. این کمبودها می‌توانند اثرات زیادی بر عملکرد محصولات زراعی داشته باشند و در عین حال شناسایی آنها اغلب دشوار می‌باشد. تجزیه بافت های گیاهی خصوصاً برگ می‌تواند به طور دقیقی این کمبودها را نشان دهد، اما تا قبل از این مرحله، گیاه دچار کمبود پنهان و کاهش عملکرد ناشی از آن شده است (ریوتر و رایبسون، 1997). روش‌های مختلفی برای بررسی زیست‌فراهمی عناصر ریز مغذی توسط محققین ارائه شده است. در این رابطه می‌توان به روش‌های استخراجی مانند محلول 1 مولار نیترات آمونیوم (پرویب، 1997)، محلول 0/1 مولار کلرید کلسیم (یانگ و همکاران، 2000) و روش‌های استخراج جز به جز¹ (زین، 1989) اشاره کرد. بعضی از این روش‌ها گران بوده و در بیشتر موارد به منظور پیش‌بینی کمبودهای خاک و جبران آن با کودها، تجزیه و تحلیل خاک قبل از کشت و فصل رشد می‌باشد که خود می‌تواند یکی از عوامل پیش-بینی نادرست زیست‌فراهمی عناصر ریزمغذی در خاک باشد (منزایس و همکاران، 2007). تاکنون روش استاندارد جهانی که زیست‌فراهمی عناصر ریزمغذی در خاک‌های زراعی را پیش‌بینی کند، ارائه نشده است (آجبین و ولپ، 2012).

در برخی از کشورها، عصاره‌گیر EDTA در غلظت‌های متفاوت با pH های مختلف، برای پیش-بینی مقدار قابل دسترس ریزمغذی‌ها در خاک‌های کشاورزی استفاده می‌شود. در حالیکه در برخی دیگر از مناطق خصوصاً در ایران از عصاره‌گیر DTPA برای این منظور استفاده می‌شود. EDTA و DTPA متداول-ترین عصاره‌گیر به منظور قابلیت دسترسی عناصر ریزمغذی در گیاهان می‌باشند (سینکلر و ادوارد، 2008). منزیس و همکاران (2007) یک مطالعه مروری بر طیف وسیعی از عصاره‌گیرها در گیاهان مختلف انجام دادند. نتایج آنان نشان داد که هر دو عصاره‌گیر EDTA و DTPA در پیش‌بینی Zn قابل دسترس خاک ضعیف عمل کردند. اگر وضعیت خاک از نظر قابلیت دسترسی عناصر ریز مغذی به درستی ارزیابی نشود، می‌تواند مشکلاتی در کشت محصولات کشاورزی ایجاد کند. در صورتی که ارزیابی عناصر کمتر از مقدار واقعی برآورد شود، عملکرد محصول کاهش می‌یابد و از طرف دیگر اگر بیشتر از مقدار واقعی

برآورد شود، سبب افزایش هزینه و آلودگی محیط زیست می‌شود.

یکی از تکنیک‌های جدید در اندازه‌گیری عناصر ریزمغذی، روش شیب پخش در غشاء نازک یا به اختصار DGT² است. DGT توسط دیویسون و ژانگ (1995) ارائه و برای ارزیابی قابلیت دسترسی یا زیست‌فراهمی عناصر کمیاب در محیط‌های آبی و خاک مورد استفاده قرار گرفت. این روش بر پایه انتقال یون‌ها به صورت پخشیدگی در لایه نازک هیدروژل و جذب آنها در لایه جاذب می‌باشد. این لایه قادر به جذب یون‌ها است. یون‌هایی که از لایه پخش عبور می‌کنند، به سرعت در این لایه جذب می‌شوند. از مهمترین فرضیات این روش، حرکت به صورت پخشیدگی یون است. در نتیجه تنها یون‌هایی که حرکت آنها در خاک به صورت پخشیدگی است، می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (ژانگ و همکاران، 1998). محققان مختلف در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که عناصر جمع شده توسط DGT، همبستگی بالایی با زیست‌فراهمی آنها در گیاه دارد (هودا و همکاران، 1999. ژانگ و همکاران، 2001. نولان و همکاران، 2005). اگرچه DGT، به صورت مشخص نمی‌تواند همه فرایندهای درگیر در جذب عناصر توسط گیاه را شبیه‌سازی کند که این مسئله خود جزو ایرادات این روش است اما همبستگی مناسب آن نشان می‌دهد که احتمالاً DGT فرایندهای اصلی در خاک‌های مورد مطالعه را تقلید می‌کند. فرایندهای فیزیکوشیمیایی کنترل‌کننده سیستم DGT-خاک می‌تواند در تشخیص عوامل اصلی کنترل‌کننده‌ی فراهمی عناصر به سمت گیاه مفید باشد (ارنست‌برگر، 2005).

استفاده از این روش به دلیل هزینه بالای واردات آن برای اندازه‌گیری عناصر در ایران عملیاتی نشده است و چون در ساخت ژل‌های مورد نیاز در DGT از مواد انحصاری و دارای حق ثبت استفاده می‌شود، امکان ساخت آن از نمونه اصلی فراهم نبود. همچنین تغییر در ترکیبات این ژل می‌تواند کارائی آن را تحت تأثیر قرار دهد. برای اولین بار حیدری و همکاران (2016) روش جدیدی برای تولید ژل‌های مورد نیاز برای ساخت این ابزار استفاده کردند و از آن برای اندازه‌گیری فسفر آب و خاک استفاده کردند ولی کارایی این روش جدید برای اندازه‌گیری غلظت عناصر میکرو مورد بررسی قرار نگرفت. بنابراین هدف از مطالعه حاضر ارزیابی عملکرد DGT ساخته شده با روش حیدری و همکاران (2016) در خاک و

² diffusion gradient in thin films

¹ speciation

پس از هر کاربرد، DGT ها برداشته شده، از هم جدا و با آب دیونیزه شسته شدند. ژل های جاذب پس از شستشو با آب دیونیزه شده در محلول اسید نیتریک 2 مولار به مدت 24 ساعت قرار داده و جمعا حدود 8 ساعت تکان داده می‌شود. غلظت Zn و Cu در اسید اندازه‌گیری شد. هنگامی که DGT در خاک قرار می‌گیرد، یون ها از طریق ژل انتشار حرکت کرده و توسط ژل جاذب، غیرمتحرک و جذب می‌شوند. یک شیب غلظت خطی از یونها در لایه انتشار ایجاد می‌شود. متوسط غلظت DGT (C_{DGT}) با معادله زیر (معادله 1) (ژانگ و دیویسون، 1995) محاسبه شد:

$$C_{DGT} = M \Delta g / (DA t)$$

که M (میلی گرم) جرم عناصر در ژل جاذب، Δg ضخامت لایه انتشار، D ضریب پخشیدگی عناصر در لایه انتشار است و چون ژل با ترکیبات جدید ساخته شده بود لازم است برای هر عنصر باید به صورت جداگانه به دست آید (حیدری و همکاران، 1398)، A سطحی از ژل قرار گرفتن در تماس با خاک یا آب (3.14 cm^2)، t زمان کاربرد (در این تحقیق 24 ساعت) است. جرم عناصر در ژل جاذب با استفاده از معادله زیر (معادله 2) محاسبه شد (ژانگ و دیویسون، 1995).

$$M = Ce(V_{gel} + V_{acid})$$

که M از غلظت عناصر اندازه گیری شده توسط ICP-OES بعد از شستشو با اسید نیتریک 2 مولار (Ce)، حجم اسید نیتریک (5 میلی لیتر) (V_{acid}) و حجم ژل جاذب (V_{gel}) محاسبه شد.

جمع آوری و آماده سازی خاک

ده خاک مختلف از مزارع کشاورزی جمع آوری شد. اطلاعات مربوط به خاک‌ها در جدول 1 نشان داده شده است. تلاش بر این شد خاک هایی با مقادیر متفاوت عناصر روی و مس انتخاب شود. تمامی خاک‌ها به مدت دو هفته هواخشک شدند. خاکها به منظور آنالیزهای آزمایشگاهی و برای استفاده در گلدان به ترتیب از الک 2 میلی متر و 4.75 میلی متر عبور داده شدند. بافت خاک به روش هیدرومتری 4 زمانه (گی و همکاران، 1986)، pH در نسبت 1:2 خاک به آب (نوماس، 1996) و کربن آلی خاک به روش اکسایش تر (نلسون و سامر، 1996) اندازه‌گیری شد.

مقایسه آن با روش DTPA در اندازه‌گیری زیست فراهمی روی و مس در گیاه ذرت (*Zea mays L*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

DGT ابزار

ابزار DGT (شکل 1) مجموعا شامل دو صفحه پلاستیکی (یک صفحه پشتی و یک صفحه جلویی با منفذی به قطر 2 سانتی متر) تشکیل شده است که دو ژل را در خود نگه می‌دارد. لایه جاذب¹ (ژل جذب کننده یون) در قسمت پشتی لایه انتشار² (ژل نفوذ پذیر یون) قرار می‌گیرد، لایه انتشار در تماس با سطح خاک یا آب است (حیدری و همکاران، 1394).

تهیه ژل لایه انتشار و جاذب

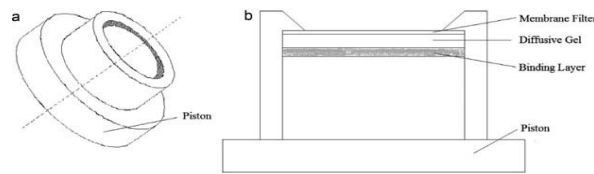
در نمونه خارجی برای ساخت ژل‌های DGT، از آکریلامید که مونومرهای آن با یک عامل پیوندی عرضی (کراس لینکر) دارای حق انحصاری به یکدیگر متصل شده است، استفاده شده است. در تحقیق حاضر برای ساخت ژل آکريل امید از عامل پیوندی عرضی مشتق شده از آگاروز با پیوندهای آلیلی استفاده شد. عامل پیوندی عرضی با افزودن 33 میلی گرم بوروهیدرید و 1/6 میلی لیتر آلیل گلیسیدیل اتر به مخلوط آگاروز (1 گرم) و سود (33 میلی لیتر و 0/3 نرمال) و تکان دادن آن برای 12 ساعت و سپس آبگیری آن با متانول و خشک کردن آن در آون به دست آمد. ژل انتشار با انحلال آلیل آگاروز 0/2 - 0/6 (w/v) در آب 95 درجه سلسیوس و افزایش آکريل امید 10 - 20% (w/v)، پرسولفات آمونیوم 10% (w/v) به عنوان آغازگر³ و کاتالیزور TEMED⁴ و قالب‌گیری بین دو شیشه با فاصله مشخص تهیه شد (حیدری و همکاران، 2016). لایه جاذب نیز به صورت مشابه با لایه انتشار اما با 3 گرم رزین تبادل کاتیونی در هر 10 میلی لیتر محلول ژل تهیه شد. سپس ژل‌ها به مدت 2 ساعت در آب دیونیزه قرار داده شد. در طول این دو ساعت آب حداقل 2 بار تعویض گردید تا کلیه مواد ناخواسته از ژل خارج شود. در پایان ژل‌ها برای تثبیت و شکل‌گیری نهایی، در محلول 0/03 مولار NaNO_3 به مدت 24 ساعت قرار داده شد. این ژل‌ها تا 33 روز با نگهداری در محلول 0/03 مولار NaNO_3 و یخچال قابل استفاده می‌باشند (ارنست‌برگر و همکاران، 2002).

1 binding layer

2 diffusive layer

3 Initiator

4 N,N,N',N'- tetramethylethylenediamine



شکل 1- شکل شماتیک از ابزار DGT (Heidari et al., 2016)

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

pH	CCE	OC	clay	sand	بافت خاک	شماره خاک
8/3	11/56	0/81	25	37	loam	1
8/1	7/21	0/35	23	65	sandy clay loam	2
8/1	10/69	0/25	18	58	sandy loam	3
8/2	20/06	0/46	25	20	silt loam	4
7/9	5/45	1/8	30	35	clay loam	5
8	15/65	0/73	37	10	silty clay loam	6
8/3	14/12	0/64	16	65	sandy loam	7
7/9	8/16	1/27	18	47	loam	8
8/1	8/36	0/11	8	80	loamy sand	9
8/2	18/32	0/96	35	24	clay loam	10

خاک و بعلاوه آن قسمتی که از فاز جامد خاک باز فراهم¹ می‌شود. منظور از باز فراهمی، تخلیه عناصر از فاز مایع و عدم تعادل بین فاز جامد و مایع و حرکت آن عناصر از فاز جامد به مایع است و به طور کامل توسط ژانگ و همکاران (2001) توضیح داده شده است.

(3)

$$CE = CDGT/R_{diff}$$

که R_{diff} وسعت تخلیه عناصر مورد نظر از محلول خاک از سطح DGT است. برای محاسبه آن از مدل عددی دو بعدی سیستم خاک-DGT با نام 2D-DIFS² استفاده شد. پارامترهای ورودی نرم افزار DIFS برای محاسبه R_{diff} با فرض این است که حرکت عناصر به سمت DGT تنها بر اساس پدیده پخشیدگی می‌باشد. بنابراین، T_C (زمان پاسخ خاک³) در حداکثر مقدار 10^{10} ثانیه و K_d (نسبت توزیع⁴) در حداقل مقدار خود و 10^{-10} cm^3/g قرار داده شد. در این حالت، R_{diff} تنها به ظرفیت

کاربرد DGT و محاسبه C_E

24 ساعت قبل از کاربرد DGT در خاک، 50 گرم خاک (بر اساس وزن خشک) در یک ظرف قرار داده شده و با آب دیونیزه به صورت اشباع درآمد و روز بعد، DGT در آن قرار گرفت. آزمایشات در 4 تکرار انجام گرفت و یک DGT برای هر آزمایش به صورت شاهد نیز استفاده گردید. DGT شاهد در تماس با خاک قرار نگرفته و مانند دیگر DGTها، مراحل تجزیه و تحلیل را طی کرد (هودا و همکاران، 1999). پس از پایان زمان کاربرد، DGT ها از خاک خارج شده و هرگونه خاک چسبنده توسط آب دیونیزه شسته شد. دستگاه های DGT سپس باز و ژل جاذب در 1 میلی لیتر HNO_3 2 مولار قرار داده شد. پس از حداقل 24 ساعت شستشو، 0.8 میلی لیتر از اکسید کننده نمونه برداری شد و توسط ICP-OES مقادیر Zn و Cu اندازه‌گیری شد. برای تفسیر بیشتر اندازه گیری های DGT، غلظت عناصری که به طور مستقیم توسط DGT اندازه‌گیری می شود (C_{DGT}) با استفاده از معادله 3 به غلظت مؤثر (C_E) تبدیل می‌شود. غلظت مؤثر (C_E) مربوط به غلظت عناصر در محلول

¹ Resupply

² DGT Induced Fluxes in Sediments and Soils

³ soil response time

⁴ distribution ratio

نگهداری آب (WHC) خاک بستگی دارد و خاک‌هایی که ظرفیت نگهداری آب بالایی دارند از R_{diff} بالاتر و خاکهایی با ظرفیت نگهداری آب کمتر دارای R_{diff} کمتری هستند (ساجوسکی و همکاران، 2007).

آزمایشات گلدانی

سه کیلوگرم خاک هوا خشک در گلدان‌های پلاستیکی ریخته شد. رطوبت خاک در حدود 80٪ ظرفیت مزرعه نگهداری شد. سپس شش بذر گیاه ذرت (*Zea mays L.*) رقم 704 در گلدان‌ها کشت شد. بعد از یک هفته، تعداد گیاه به سه کاهش یافت. محتوای آب خاک در نزدیکی ظرفیت مزرعه حفظ شد و هر دو روز یکبار در طول دوره رشد گیاه با توجه به گلدان شاهد آبیاری شد. رطوبت خاک در طول 2 ماه رشد بین 80 تا 100٪ رطوبت 33 کیلوپاسکال به روش وزنی نگه‌داشته شد (حیدری و همکاران، 2016). تمام مواد مغذی مورد نیاز به جز عناصر میکرو مطابق با آزمایش خاک و توصیه‌های کودهای معمول مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تأمین عناصر غذایی ماکرو 250 میلی‌گرم در هر کیلوگرم، 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم سوپرفسفات و 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات پتاسیم استفاده شد. در خاک‌هایی که به اندازه کافی پتاسیم در دسترس داشتند (< 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم) از کود پتاسیم استفاده نشد. گیاهان در شرایط 14 ساعته روز، 10 ساعت شب و در دمای 28 درجه سانتیگراد کشت شدند. پس از 8 هفته اندام هوایی و ریشه از خاک برداشت شده با آب دیونیزه شده شستشو داده شد، در دمای 80 درجه سانتیگراد تا وزن ثابت خشک شد. هضم نمونه‌های گیاهی پس از خشک کردن در دمای 80 درجه سانتیگراد و آسیاب کردن آنها با روش اکسیداسیون مرطوب انجام شد (والینگ و همکاران، 1989). غلظت Cu ، Zn در نمونه‌های گیاهی اندازه‌گیری شد. از روش DTPA و DGT برای پیش‌بینی در دسترس بودن Cu و Zn در خاک قبل از کاشت گیاه و مقایسه آن با جذب گیاه استفاده شد. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام گرفت.

نتایج و بحث

در جدول 2 داده‌های ورودی در بخش شبیه‌سازی نرم افزار DIFS به منظور محاسبه R_{diff} ارائه شده است. در خاک حرکت Cu و Zn به سمت DGT یا ریشه به صورت پخشیدگی است. در این حالت، مقدار R_{diff} کاهش می‌یابد. طبق محاسبات ساجوسکی و همکاران (2007) در مدل DIFS، حالت پخشیدگی با افزایش بسیار زیاد Tc (زمان پاسخ خاک) و kd (ضریب توزیع) بسیار پایین نزدیک صفر حاصل می‌شود. در حالت پخشیدگی،

پارامترهای ورودی برای Tc و kd به ترتیب در 10^{10} ثانیه و $10^{-10} \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ قرار داده شد (میسون و همکاران، 2010). محاسبه C_E از C_{DGT} تنها به مقدار غلظت ذرات¹ (P_C) بستگی دارد (نسبت جرم ذرات خاک به حجم آب افزوده شده به آن $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) (میسون و همکاران، 2010). در جدول 3 مقادیر P_C به عنوان ورودی و R_{diff} محاسبه شده توسط نرم افزار DIFS ارائه شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود بین R_{diff} و P_C نسبت عکس وجود دارد و با افزایش P_C ، R_{diff} کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه مهمترین عامل تأثیرگذار بر میزان R_{diff} محاسبه شده توسط نرم افزار DIFS، مقدار غلظت ذرات است. در نتیجه مهمترین دلیل برای تغییرات R_{diff} در تحقیق حاضر، بافت متفاوت خاک‌ها بوده است.

در شکل‌های 2 و 3 رابطه بین Zn و Cu اندازه‌گیری شده در خاک‌ها با روش DGT و DTPA با مقدار آنها در گیاه نشان داده شده است. همچنین در شکل 4 همبستگی بین دو روش DGT و DTPA در اندازه‌گیری مقدار Zn و Cu قابل جذب خاک نشان داده شده است. در 6 خاک، مقدار Zn موجود در برگ‌ها در دامنه نرمال ($15-60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) و در 4 خاک دیگر، کمتر از حد آستانه Zn در گیاه ($5-15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) با توجه به گزارشات محققان دیگر (بتون، 1998؛ ریوتر و رایبسون، 1997) بود. همچنین در 5 خاک، مقدار Cu موجود در برگ ذرت کمتر از حد آستانه کمبود Cu در گیاه ($3-6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) بود (بتون، 1998؛ ریوتر و رایبسون، 1997).

برآورد میزان Zn و Cu قابل دسترس گیاه که توسط دو روش DGT و DTPA در خاک‌های مختلف اندازه‌گیری شد که به صورت معنی داری ($P < 0.01$) با غلظت Zn و Cu در برگ‌های جوان گیاه ذرت در ارتباط بود. همانطور که در شکل 2 نشان داده شده است، Zn اندازه‌گیری شده با روش DGT (C_E) نسبت به روش DTPA، همبستگی بالاتری با جذب Zn در گیاه داشت و نشان داد که در 10 خاک مختلف، C_E بیان‌کننده 82 درصد تغییرات مربوط به جذب Zn توسط گیاه بود. در مورد Cu نیز، 78 درصد تغییرات جذب Cu توسط گیاه، وابسته به تغییرات C_E که توسط DGT اندازه‌گیری شده، است (شکل 3).

Zn و Cu استخراج شده از خاک با روش DTPA، به صورت معنی‌داری با غلظت این عناصر در بافت گیاه ارتباط داشت اما تنها به ترتیب 80 و 75 درصد این تغییرات در بافت گیاه می‌تواند با غلظت Zn و Cu با روش DTPA قابل تفسیر باشد.

¹ Particle Concentration

جدول 2- داده‌های ورودی در بخش شبیه‌سازی نرم افزار DIFS به منظور محاسبه R_{diff} در هر خاک (ساچوسکی و همکاران، 2007)

مقدار ورودی	توضیحات	واحد	داده‌های ورودی
$5/8 \times 10^{-6}$	ضریب پخشیدگی Zn در لایه پخش	$cm^2 s^{-1}$	Dd
$5/53 \times 10^{-6}$	ضریب پخشیدگی Cu در لایه پخش	$cm^2 s^{-1}$	Dd
$7/15 \times 10^{-6}$	ضریب پخشیدگی Zn در آب	$cm^2 s^{-1}$	D_0
$7/33 \times 10^{-6}$	ضریب پخشیدگی Cu در آب	$cm^2 s^{-1}$	D_0
0/5	ضخامت لایه پخش	mm	Δg
0/95	تخلخل در لایه پخش	$cm^3 cm^{-3}$	ϕ_d
1×10^{-10}	ضریب توزیع	$cm^3 g^{-1}$	K_d
1×10^{10}	زمان پاسخ	s	T_c

جدول 3- مقادیر PC به عنوان ورودی در نرم افزار DIFS و R_{diff} محاسبه شده در نرم افزار جهت محاسبه C_E از C_{DGT} در زمان 24 ساعت

شماره خاک	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pc	2/38	2/65	2/89	2/18	1/92	2	3/01	2/23	3/36	2/08
R_{diff} Zn	0/030	0/029	0/028	0/030	0/032	0/030	0/029	0/030	0/027	0/030
R_{diff} Cu	0/032	0/030	0/029	0/032	0/032	0/033	0/029	0/032	0/029	0/032

قرمز یافتند ($r^2=0.95$) که بهتر از محلول خاک ($r^2=0.85$) یا روش EDTA ($r^2=0.55$) بود. همچنین تیان و همکاران (2008) در یک خاک غیر آلوده یک رابطه خطی بین C_{DGT} و غلظت Zn و Cu در دانه برنج با ضرایب همبستگی 0/64 و 0/71 به دست آوردند. تندی و همکاران (2011) مطالعه‌ای در مورد فراهمی Zn و Cu در گیاه جو با روش DGT انجام دادند. نتایج آنان نشان داد که هیچ رابطه‌ای بین غلظت Zn و Cu در گیاه و غلظت اندازه‌گیری شده این عناصر با روش EDTA و DTPA در خاک وجود نداشت. در حالیکه همبستگی خطی بین C_E و غلظت Zn و Cu در گیاه بسیار بالا بود ($r^2=0.9$). نولان و همکاران (2005) یک رابطه لگاریتمی بین C_E و غلظت Zn و Cu ($r^2=0.67$ برای Cu و $r^2=0.8$ برای Zn) در گندم به دست آوردند. رابطه لگاریتمی بین C_E و غلظت Zn و Cu در گیاه می‌تواند به دلیل سمیت خاک‌های مورد مطالعه به این عناصر و مقاومت گیاهان مورد مطالعه به غلظت بالای این عناصر باشد (تندی و همکاران، 2011).

همانطور که در شکل 4 نشان داده شده است، همبستگی بین دو روش DTPA و DGT در اندازه‌گیری Cu قابل جذب خاک کمتر از همبستگی آنها در اندازه‌گیری Zn قابل جذب بود (r^2 برابر با 0/45 برای Cu و 0/72 برای Zn). همچنین مقدار Cu موجود در اندام هوایی ذرت در مقایسه با Zn همبستگی کمتری با مقدار اندازه‌گیری شده با روش DGT داشت. همبستگی بین Cu موجود در اندام هوایی و روش DGT، 0/78 (شکل 3ب)

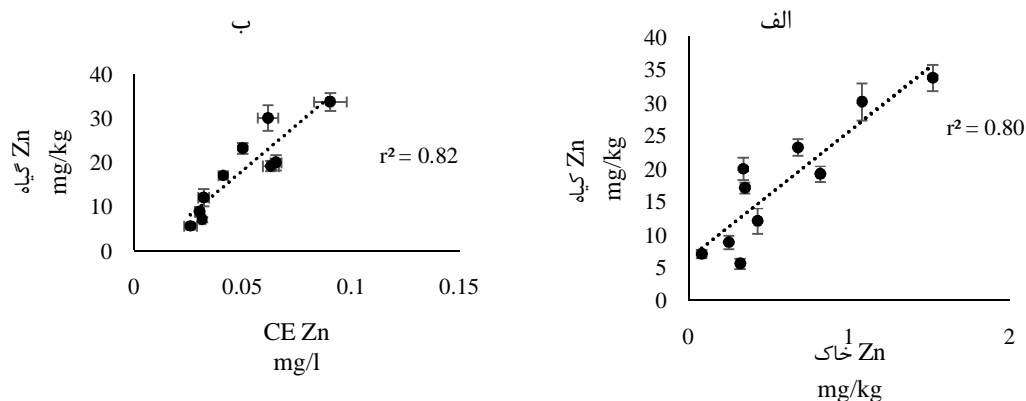
برخی دیگر از محققین نیز همبستگی بین Zn و Cu اندازه‌گیری شده با DTPA و غلظت این عناصر در گیاه را در تحقیقات خود نشان دادند (فنگ و همکاران، 2005، برنان و همکاران، 2005). اشکال عمده در کاربرد روش‌های شیمیایی به منظور برآورد میزان عناصر ریز مغذی جذب شده توسط گیاه، عوامل مختلفی است که می‌تواند بر این برآورد تأثیر بگذارد. میزان استخراج تحت تأثیر پارامترهایی مانند pH، زمان استخراج، شدت هم زدن، نسبت خاک به ماده استخراج کننده و غلظت عامل استخراج کننده است (منزایس و همکاران، 2007).

در حقیقت روش DGT، با عمل به عنوان یک جاذب بی‌نهایت¹، سبب بازفراهمی عناصر از بخش قابل دسترس خاک می‌شود. با تبدیل C_{DGT} به C_E با R_{diff} ، قابلیت پیش‌بینی عناصر قابل دسترس برای گیاه در یک خاک به دست می‌آید (ژانگ و همکاران، 2001). که DGT در خاک همانند ریشه گیاه عمل کرده و موجب کاهش Zn و Cu در محلول خاک و بازفراهمی آن از فاز جامد می‌شود. همچنین در مقایسه با روش‌های عصاره‌گیری، DGT در شرایط رطوبتی نزدیک به شرایط طبیعی خاک استفاده می‌گردد، در نتیجه این ابزار در شبیه‌سازی پخشیدگی Zn و Cu به سمت ریشه گیاه بهتر می‌تواند عمل کند (مانسون و همکاران، 2010). بیشتر تحقیقات در مورد DGT در خاک‌های آلوده بود. ژانگ و همکاران (2001) رابطه خطی بین C_E و جذب Cu توسط لفل

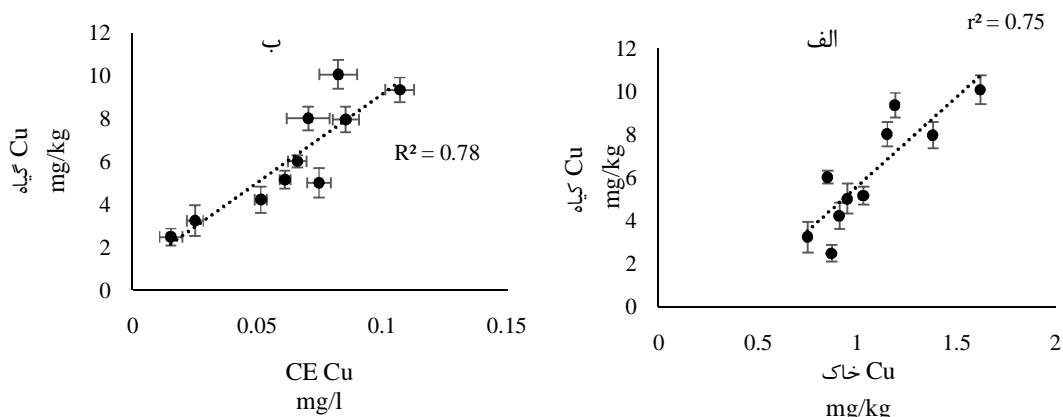
1: infinite sink

پخشیدگی در جذب این عناصر از خاک غالب بوده و روش DGT در پیش‌بینی جذب این عناصر بهتر عمل کرده است. از طرف دیگر بخشی از Cu در خاک می‌تواند به صورت پیوند یافته با لیگاندهای آلی باشد و از آنجا که Cu پیوند یافته با اسیدهای آلی قادر به عبور از منافذ زل در روش DGT نمی‌باشند، این بخش از Cu خاک، در اندازه‌گیری با روش DGT مورد محاسبه قرار نگرفتند (نولان و همکاران، 2005).

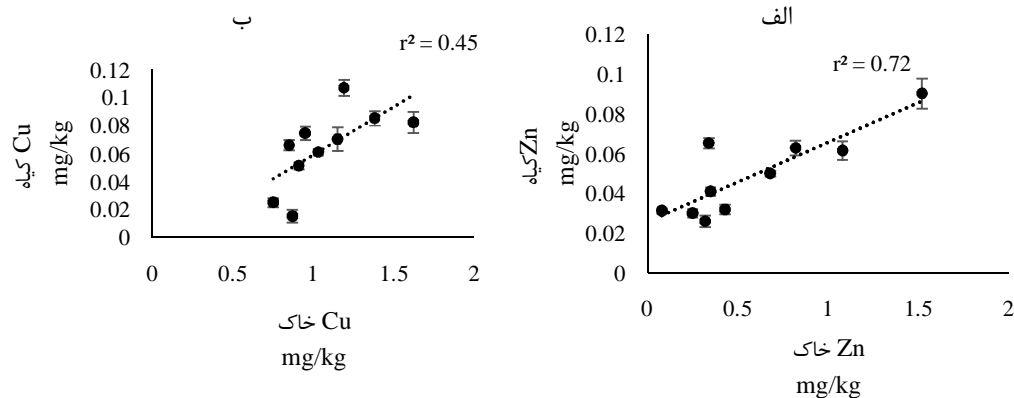
و همبستگی بین Zn موجود در اندام هوایی ذرت و روش DGT، 0/82 (شکل 2ب) بود. نولان و همکاران (2005) در بررسی خود بیان داشتند که غلظت Cu موجود در اندام هوایی گندم رابطه نسبتاً ضعیفی با غلظت اندازه‌گیری شده با روش DGT داشت در حالیکه بین Cu موجود در اندام هوایی و Cu کل خاک همبستگی بالاتری مشاهده شد. آنان این فرض را بیان داشتند که جذب Cu، از خاک توسط گیاه تنها به صورت پخشیدگی نیست (خصوصاً در خاک‌های آلوده) در حالیکه جذب Zn، به صورت پخشیدگی است. با توجه به اینکه در بررسی حاضر مقدار Cu و Zn قابل جذب خاک در حدود کم و حتی در برخی از خاک‌ها کمتر از مقدار بهینه بود، در نتیجه نقش



شکل 2- رابطه بین میزان Zn اندازه‌گیری شده توسط الف) عصاره‌گیر DTPA در خاک و ب) DGT (C_E) در خاک با مقادیر اندازه‌گیری شده در گیاه



شکل 3- رابطه بین میزان Cu اندازه‌گیری شده توسط الف) عصاره‌گیر DTPA در خاک و ب) DGT (C_E) در خاک با مقادیر اندازه‌گیری شده در گیاه



شکل 4- رابطه بین مقدار عناصر اندازه‌گیری شده توسط DTPA و DGT در الف) Zn و ب) Cu

طیف وسیعی از خاک‌های کشور و گونه‌های و ژنوتیپ- های گیاهی مختلفی با مورفولوژی مختلف ریشه‌ای با همین روش مورد آزمایش قرار گیرد تا روش DGT در شرایط متغیر اعتبارسنجی شود. در بحث هزینه، اگرچه روش DGT هزینه اولیه تولید خصوصاً در مورد ساخت ابزار پلاستیکی مورد نیاز دارد ولی ابزار پلاستیکی می‌تواند بارها مورد استفاده قرار گیرد. با این حال به نظر می‌رسد روش DGT، از نظر هزینه بالاتر از روش معمول DTPA باشد اگرچه بررسی دقیقی راجع به آن انجام نگرفت.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، قابلیت ساخت شده توسط حیدری و همکاران (2016) در پیش‌بینی Cu و Zn قابل دسترس توسط گیاه ذرت، در 10 خاک مورد بررسی قرار گرفت و با روش رایج DTPA مقایسه شد. نتایج این تحقیق نشان داد که DGT، روش دقیقتری برای پیش‌بینی جذب عناصر فوق در برگ‌های گیاه ذرت می‌باشد. در این تحقیق DGT ساخته شده با مواد جایگزین در پیش‌بینی جذب Cu و Zn بهتر از روش DTPA بود و باید تحقیقات جامع‌تری به منظور صحت سنجی بیشتر این روش انجام گیرد. به این منظور باید تحقیقات بیشتری در

فهرست منابع:

1. ریحانی تبار، ع. حیدری، ص. و اولاد، ع. 1394. بومی سازی روش DGT در ایران و کاربرد آن در اندازه‌گیری میزان فسفر آب و خاک. تحقیقات آب و خاک ایران (علوم کشاورزی ایران) 46 (1):151-161.
2. Agbenin, J.O., and G. Welp. 2012. Bioavailability of copper, cadmium, zinc, and lead in tropical savanna soils assessed by diffusive gradient in thin films (DGT) and ion exchange resin membranes. *Environmental Monitoring And Assessment* 184 (4):2275-2284.
3. Benton, J.J. 1998. *Plant nutrition manual* CRC Press. Boca Raton, New York.
4. Brennan, D., B. Coulter, G. Mullen., and R. Courtney. 2008. Evaluation of Mehlich 3 for extraction of copper and zinc from Irish grassland soils and for prediction of herbage content. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 39 (13-14):1943-1962.
5. Ernstberger, H., H. Zhang., and W. Davison. 2002. Determination of chromium speciation in natural systems using DGT. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 373 (8):873-879.
6. Ernstberger, H., H. Zhang, A. Tye, S. Young, and W. Davison. 2005. Desorption Kinetics of Cd, Zn, and Ni Measured in Soils by DGT. *Environmental Science and Technology* 39 (6):1591-1597.
7. Feng, M., X. Shan., S. Zhang., and B. Wen. 2005. A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl₂, and NaNO₃ extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. *Environmental Pollution* 137 (2):231-240.

8. Gee, G.W., J.W. Bauder., and A. Klute. 1986. Particle-size analysis. *Methods of soil Analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*:383-411.
9. Heidari, S., A. Reyhanitabar, S. Oustan., and A. Olad. 2016. A New Method of Preparing Gel for DGT Technique and Application to the Soil Phosphorus Availability Test. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47 (10):1239-1251.
10. Hooda, P.S., H. Zhang., W. Davison., and A.C. Edwards. 1999. Measuring bioavailable trace metals by diffusive gradients in thin films (DGT): soil moisture effects on its performance in soils. *European Journal of Soil Science* 50 (2):285-294.
11. Mason, S., A. McNeill., M.J. McLaughlin., and H. Zhang. 2010. Prediction of wheat response to an application of phosphorus under field conditions using diffusive gradients in thin-films (DGT) and extraction methods. *Plant and Soil* 337 (1-2):243-258.
12. Menzies, N.W., M.J. Donn., and P.M. Kopittke. 2007. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. *Environmental Pollution* 121 (1): 130-145.
13. Nelson, D.W., and L. Sommers. 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter. In 'Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods'.(Ed. DL Sparks) pp. 961–1010. Soil Science Society of America: Madison, WI.
14. Nolan, A.L, H. Zhang., and M.J. McLaughlin. 2005. Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques. *Journal of Environmental Quality* 34 (2):496-507.
15. Prüß, A. 1997. Action values for mobile (NH₄NO₃-extractable) trace elements in soils based on the German national standard DIN 19730. *Colloques de l'INRA (France)*.
16. Reuter, D., and J.B. Robinson. 1997. *Plant analysis: an interpretation manual*: CSIRO publishing.
17. Sinclair, Alex H, and Anthony C Edwards. 2008. Micronutrient deficiency problems in agricultural crops in Europe. In *Micronutrient deficiencies in global crop production*, 225-244: Springer.
18. Sochaczewski, Ł., W. Tych., B. Davison., and H. Zhang. 2007. 2D DGT induced fluxes in sediments and soils (2D DIFS). *Environmental Modelling & Software* 22 (1):14-23.
19. Tandy, S., S. Mundus., J. Yngvesson, T.C. de Bang, E. Lombi, J.K. Schjørring., and S. Husted .2011 .The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils. *Plant and Soil* 346 (1-2):167-180.
20. Thomas, GW. 1996. Soil pH and Soil Acidity. In 'Methods of soil analysis. Chemical methods'.(Ed. DL Sparks) Soil Science Society of America: Madison, WI:475-490.
21. Tian, Y., X. Wang., J. Luo., H. Yu., and H. Zhang. 2008. Evaluation of holistic approaches to predicting the concentrations of metals in field-cultivated rice. *Environmental science & technology* 42 (20): 7649-7654.
22. Waling, I., W.V. Vark., V. Houba., and J.V. Lee. 1989. *Soil and plant analysis, a series of syllabi: Part 7. Plant Analysis Procedures* Wageningen Agriculture University.
23. Young, SD, A. Tye., A. Carstensen., L. Resende., and N. Crout. 2000. Methods for determining labile cadmium and zinc in soil. *European Journal of Soil Science* 51 (1):129-136.
24. Zeien, H. 1989. Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbildungsformen in Boden. *Mitt. Dtsch. Bodenk. Gesell.* 59:505-510.
25. Zhang, H., and W. Davison. 1995. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry* 67 (19):3391-3400.

26. Zhang, H., W. Davison., R. Gadi., and T. Kobayashi. 1998. In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. *Analytica Chimica Acta* 370 (1):29-38.
27. Zhang, H., F.J. Zhao., B. Sun., W. Davison., and S.P. Mcgrath. 2001. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. *Environmental science & technology* 35 (12):2602-2607.

Application of Diffusion Gradient in Thin Films (DGT) Method for Prediction of Plant Available Zinc and Copper in Soils and Its Comparison with DTPA Method

S. Heidari¹, A. Mohseni, A. Reyhanitabar, and J. Sarhadi

Scientific Staff, Soil and Water Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft, Iran; E-mail: s.heydary@areeo.ac.ir

PhD Graduate, Soil Science Department, University of Tabriz, Tabriz, Iran;

E-mail: amir.mohseni65@gmail.com

Scientific Staff, Soil Science Department, University of Tabriz, Tabriz, Iran;

E-mail: areyhanitabar@yahoo.com

Scientific Staff, Soil and Water Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft, Iran;

E-mail: javad.sarhadi2009@gmail.com

Received: November, 2019 and Accepted: February, 2020

Abstract

There are different methods for assessing the bioavailability of micronutrients in soil and water. One of the new techniques in this regard is diffusive gradient in thin films (DGT). This method acts on ion transport in the diffusion layer and absorption in the resin layer. The aim of this study was to evaluate the performance of DGT for soil Zn and Cu determination and to compare it with Zn- and Cu-DTPA measured for the bioavailability of these elements in maize (*Zea mays* L.). For this purpose, DGT was placed in 10 soils with different properties that had saturated moisture for 24 h. Also, maize cultivation was done in these soils and, finally, the amount of elements absorbed by the plant was compared with the amount of zinc and copper measured by DGT and DTPA methods. The results showed that there was a linear relationship between Zn and Cu changes in the plant and the concentration of these elements in soil measured by DGT. Zn measured by DGT method (C_{EDGT}) had higher correlation with Zn uptake compared to the DTPA method ($r^2 = 0.8$ for DTPA, $r^2 = 0.82$ for C_E) and in the 10 different soils, C_E represented 82% of the changes related to the plant Zn uptake. In the case of Cu, the correlation between Cu measured by DTPA and its uptake by maize had a correlation coefficient of 0.75, whereas Cu measured by (C_{EDGT}) had $r^2 = 0.78$. The results of this study showed that DGT is relatively more accurate than the DTPA method for predicting uptake of these elements in maize leaves.

Keywords: Bioavailability of microelements, Maize, Extractant

¹ Corresponding author: Soil and Water Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Jiroft, Iran.