اثر اسید هیومیک و EDTA بر ویژگی‌های رشدی، عملکرد و اجزای عملکرد دانه کلزا تحت تنش سمیت مس

فائضه موحدپور[1*]، عادل دباغ محمدی‌نسب[2]، نصرت‌اله نجفی[4]، روح‌اله امینی[3]

تاریخ دریافت: 92/11/30 تاریخ پذیرش: 93/8/14

1- دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2 و 3- به ترتیب استاد و دانشیار گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

4- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: f_movahedpour@yahoo.com

چکیده

سالانه مقادیر زیادی از آلاینده‌ها وارد محیط زیست شده و سبب تجمع فلزات سنگین نظیر مس در خاک می‌شوند. در این راستا، به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مس و مصرف اصلاح‌گرهای خاک بر صفات مورفولوژیک، اجزای عملکرد و عملکرد دانه کلزا (*Brassica napus* L.)، آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول غلظت مس در چهار سطح شامل شاهد (بدون مصرف مس) ، 100، 200 و 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و فاکتور دوم مصرف اصلاح‌گر خاک در پنج سطح شامل 29/2 و 292/2 میلی‌گرم اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر کیلوگرم خاک (معادل 0/1 و 1 میلی‌مول بر کیلوگرم)، 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک (معادل 2/5 و 5 کیلوگرم در هکتار) و شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر) بودند. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع و تعداد برگ در بوته، سطح برگ، تعداد شاخه فرعی و تعداد خورجین در بوته، وزن هزاردانه، عملکرد دانه و وزن خشک اندام‌هوایی در بوته بودند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مس در خاک صفات مورفولوژیک و عملکرد کلزا کاهش یافت، اما مصرف اصلاح‌گر خاک منجر به افزایش عملکرد دانه به دلیل بهبود صفات مورفولوژیک و اجزای عملکرد شد. مصرف 292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک، 18/6 درصد عملکرد دانه بیشتری را نسبت به تیمارشاهد (فاقد اصلاح‌گر) ایجاد کرد. مصرف 29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم، 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک هر چند سبب افزایش عملکرد دانه کلزا نسبت به تیمارشاهد شدند، ولی این افزایش معنی‌دار نبود. به استثنای وزن هزاردانه، تأثیر EDTA روی تمام صفات مورد بررسی چشمگیرتر از اسید هیومیک بود. مقایسه سطح بحرانی سمیت مس برای ماده خشک نسبی اندام هوایی و عملکرد نسبی دانه نشان داد که مصرف اصلاح‌گرها در غلظت‌های پایین نسبت به غلظت‌های بالا سبب افزایش تحمل گیاه در برابر سمیت مس شدند.

واژه‌های کلیدی: اصلاح‌گر، سطح برگ، سمیت، عملکرد دانه، فلز سنگین، کلزا

Effect of Humic Acid and EDTA on Growth Characteristics, Grain Yield and Yield Components of Oilseed rape (*Brassica napus* L.) Under Copper Toxicity Stress

Faezeh Movahedpour[1*], Adel Dabbagh Mohammadi Nassab[2], Nosratollah Najafi[3], Rouhollah Amini[4]

Recieved: February 19, 2014 Accepted: November 5, 2014
1-Ph.D. Student of Crop Ecology, Dept. of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Prof., Dept. of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3- Assoc. Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
4-Assoc. Porf., Dept. of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author: f_movahedpour@yahoo.com

Abstract

A lot of contaminants are entering to the environment, yearly and cause to accumulate of heavy metals in soil such as copper. In order to investigate the morphological traits, grain yield and yield components of oilseed rape (*Brassica napus* L.) in contaminated soil by copper with application of EDTA and humic acid, a greenhouse experiment was carried out as factorial based on randomized complete block design with three replications. The factors were included application of soil amendment (EDTA and humic acid) at five levels as control (without soil amendment), 29.2 and 292.2 $mg.kg^{-1}$ EDTA, 1.25 and 2.5 $mg.kg^{-1}$ humic acid, and soil copper quantity at four levels as control (without copper), 100, 200 and 300 $mg.kg^{-1}$. The studied traits were height, leaf number and area per plant, branch and pod number per plant, 1000 grain weight, grain yield and shoot dry matter. Increasing of copper concentration in soil decreased morphological traits and yield of oilseed rape. Also positive response of grain yield in polluted soil by using the soil amendment was related to the improved morphological traits and yield components of oilseed rape. Treatment of 292.2 $mg.kg^{-1}$ of EDTA produced the highest grain yield of oilseed rape. 29.2 $mg.kg^{-1}$ of EDTA, 1.25 and 2.5 $mg.kg^{-1}$ of humic acid increased grain yield, but the difference between these treatments with control was insignificant. The effect of EDTA on all traits except 1000 grain weight was more than humic acid. According to critical levels of copper toxicity in relative shoot dry matter and relative grain yield , low concentrations of amendments increased oilseed rape tolerance to copper toxicity compared with high concentrations of amendments.

Keywords: Amendment, Grain yield, Heavy Metal, Leaf Area, Oilseed Rape, Toxicity.

مقدمه

فلزات سنگین به‌دلیل تجزیه‌ناپذیری، داشتن نیمه‌عمر بیولوژیکی طولانی، پتانسیل تجمع در اندام‌های گیاهی (جاروپ 2003 و ساتاوارا و همکاران 2004)، ورود به زنجیره غذایی (زائیدی و همکاران 2005)، جهش‌زا و سرطان‌زا بودن (بویادجیو و همکاران 1990 و کوالچوک و همکاران 2001) به‌عنوان مهمترین مشکل محیط زیست به حساب می‌آیند. فلزاتی نظیر مس، روی، آهن، منگنز، مولیبدن و نیکل جزء عناصر کم‌مصرف ضروری برای متابولیسم و رشد گیاه در مقادیر اندک می‌باشند (ری‌وس و بیکر 2000 و نگاجیوتی و همکاران 2010). مس به‌عنوان کوفاکتور برای تعدادی از آنزیم‌های اکسایش- کاهش انجام وظیفه می‌کند. این آنزیم‌ها شامل ناقلین الکترون فتوسنتزی یعنی پلاستوسیانین، سیتوکروم اکسیداز در تنفس میتوکندری و اسید آسکوربیک اکسیداز می‌باشند (احمدی و همکاران 1388 و نگاجیوتی و همکاران 2010). هر چند مس یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاه است ولی در غلظت‌های بالا سمیت بیشتری نسبت به کادمیم، کروم و سرب برای گیاه زراعی دارد (فرناندز و هنریک 1991). در مورد انسان نیز تجمع مس در کلیه و کبد بسیار خطرناک است (فورستنر 1995). میزان مس در کلیه خاک‌ها در دامنه بین40-1 میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر می‌کند و میانگین آن 9 میلی‌گرم بر کیلوگرم است (هاولین و همکاران 1999). امروزه فعالیت‌های صنعتی و حفاری معادن باعث افزایش غلظت مس در اکوسیستم شده است (لوئیس و همکاران 2001). در یک مطالعه بر روی خاک‌های اراضی کشاورزی اطراف معادن مس اهر واقع در استان آذربایجان شرقی مشخص شد که میانگین غلظت مس از سطح تا عمق 60 سانتی‌متر در محدوده بین 105/3 تا 79/8 میلی‌گرم بر کیلوگرم در نوسان بود که این مقادیر در غلظتی بیش از حد آستانه (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار داشتند (خمسه 1390).

اسیدها و کی‌لیت‌کننده‌ها تحت عنوان اصلاح‌گر[1] برای افزایش مقدار جذب فلزات سنگین توسط گیاهان در خاک مورد استفاده قرار می گیرند (بلی‌لاک و همکاران 1997 و هانگ و همکاران 1997). اسید هیومیک به‌عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی از طریق اثرهای هورمونی ضمن کاهش pH خاک و کمک به حل‌پذیری و جذب عناصر غذایی سبب افزایش زیست‌توده گیاه نیز می‌شود (هالیم و همکاران 2003). به‌نظر می‌رسد مواد هیومیکی با قرار گرفتن در غشاهای سلولی علاوه‌بر پایداری غشای سلولی، جذب برخی عناصر غذایی را نیز بهبود می‌بخشند (نردی و همکاران 2002). محققان در تحقیقات خود دریافتند که مصرف اسید هیومیک در دوزهای پایین (0/1 گرم بر کیلوگرم) نسبت به دوزهای بالا (1 گرم بر کیلوگرم) در حضور غلظت‌های سمی مس ضمن کمک به جذب مس، اثرهای تقویت‌کنندگی روی فاکتورهای رشدی نظیر سطح برگ و وزن خشک اندام‌هوایی تربچه‌علوفه‌ای (*Raphanus sativus* L.) دارد (بندیرا و همکاران 2009). EDTA[2] به‌عنوان یکی از بهترین و ارزانترین عوامل کی‌لیت‌کننده[3] محسوب می‌شود (بلی‌لاک 1999)، که حل‌پذیری کاتیون‌های فلزی و زیست‌فراهمی آنها را برای گیاهان افزایش می‌دهد (بارونا و همکاران 2001). کی‌لیت‌کننده‌های سنتزی نظیر EDTA برای افزایش مصنوعی حلالیت فلزات سنگین در خاک استفاده می شوند و فلزات سنگین را از فاز جامد وارد فاز محلول خاک می کنند و بدین وسیله سبب افزایش دسترسی زیستی فلزات سنگین در محلول خاک می شوند (مرس و همکاران 2008). در یک بررسی با هدف جذب مقادیر بالای مس توسط کلزا، مصرف EDTA (3، 6 و 12میلی‌مول بر کیلوگرم) ضمن افزایش دسترسی فلز سنگین مس در خاک و جذب آن توسط کلزا، در غلظت 12 میلی‌مول بر کیلوگرم سبب

[1]- Amendment
[2]- Ethylenediaminetetraacetic Acid
[3]- Chelates

کاهش 75 درصدی وزن خشک اندام‌هوایی کلزا نسبت به شاهد شد و در نتیجه مصرف غلظت‌های بیش از 6 میلی‌مولار EDTA در این گیاه توصیه نمی شود (توران و اسرینگو 2007). توانایی گیاه برای رشد سالم و تولید زیست‌توده کافی در حضور فلزات سنگین آن را برای گیاه‌پالایی[4] مناسب می‌کند (مانت و همکاران 2006)، زیرا گیاه ایده‌آل برای پالایش باید زیست‌توده و عملکرد بالایی داشته باشد که بتواند ضمن تجمع آلاینده‌های هدف، غلظت‌های بالای آنها را نیز تحمل کند (زو و سانق 2004). کومار و همکاران (1995) کلزا را گیاهی با توانایی تحمل به غلظت‌های بالای فلزات سنگین و تجمع آنها در اندام‌های خود معرفی کردند. کلزا (*Brassica napus* L.) به‌دلیل داشتن کمترین مقدار اسیدهای چرب اشباع یکی از مهمترین دانه‌های روغنی می‌باشد (به نقل از روشنی و لاری یزدی 1389) که علاوه‌بر تولید زیست‌توده قابل توجه، به‌علت انتقال بسیار کم فلزات سنگین به دانه می توان علاوه‌بر پالایش خاک از روغن این گیاه نیز در مصارف مختلف صنعتی و یا به‌عنوان سوخت اتومبیل استفاده کرد (توران و اسرینگو 2007 و پارک و همکاران 2012).

هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تعدادی از صفات مورفولوژیک و عملکرد کلزا تحت غلظت‌های سمی مس با مصرف اسید هیومیک و EDTA می‌باشد. اگر کلزا توان تحمل شرایط مذکور را داشته و عملکرد مناسبی تولید کند، کارایی لازم برای انباشته سازی مس و پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین را خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال 1392 در گلخانه دانشگاه تبریز (32±2°C روز/20°C شب، فتوپریود 8/16 ساعت، رطوبت نسبی هوا 5±60 درصد) اجرا شد. فاکتور اول غلظت مس در 4 سطح شامل شاهد (بدون مصرف مس)، 100، 200 و 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک و فاکتور دوم مصرف اصلاح‌گر خاک در 5 سطح شامل 29/2 و 292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک (معادل 0/1 و 1میلی‌مول بر کیلوگرم) (یارقلی و همکاران 1388، فتاحی‌کیاسری و همکاران 1389 و تورگوت و همکاران 2004)، 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک (معادل 2/5 و 5 کیلوگرم در هکتار) (قربانی و همکاران 1389 و مورنو و همکاران 2005) و شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر) بودند. در این آزمایش هر جعبه به ابعاد 34×28 سانتی‌متر مربع و ارتفاع 20 سانتی‌متر به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول 1 ذکر شده است. خاک مذکور از عمق 30-0 سانتی‌متری نمونه‌برداری شد و بعد از هواخشک کردن، کوبیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس فسفر قابل‌جذب گیاه در خاک با روش اولسن (اولسن و سومرز 1982)، پتاسیم، سدیم، کلسیم و منیزیم قابل‌جذب با عصاره‌گیر استات آمونیم (کنودسن و همکاران 1982)، آهن، روی، مس و منگنز قابل‌جذب با عصاره‌گیر DTPA (لیندسی و نرول 1978)، pH خاک در سوسپانسیون 1:1 آب به خاک (مک لین 1982) و EC آن در عصاره اشباع (گوپتا 2000)، بافت خاک به‌روش هیدرومتر با چهار قرائت، کربن آلی خاک به‌روش اکسایش تر (نلسون و سومرز 1982) و کربنات کلسیم معادل خاک به‌روش خنثی‌سازی با اسید و تیتر کردن با سود (ریچارد 1969) اندازه‌گیری شد.

برای انجام آزمایش سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) ساخت شرکت Merck آلمان در مقادیر لازم تهیه و بعد از حل شدن در آب به‌طور یکنواخت بر روی خاک اسپری و مخلوط شد سپس به‌مدت 20 روز جعبه‌ها به‌طور متناوب خشک و تر شدند تا مس در خاک به تعادل نسبی برسد (توران و اسرینگو 2007). بعد از مدت زمان مذکور، اصلاح‌گر در غلظت‌های مورد نظر با توجه به وزن خاک هر جعبه

[4]- Phytoremediation

(20 کیلوگرم) محاسبه و به خاک اضافه شد و پس از سپری شدن 10 روز (فتاحی‌کیاسری و همکاران 1389)، کشت کلزا رقم هایولا 401 به‌صورت ردیفی با فواصل 7 و 14 سانتی‌متر به‌ترتیب روی ردیف و بین ردیف با در نظر گرفتن تراکم 100 بوته در متر مربع در عمق 1 سانتی‌متری انجام شد. جهت اعمال تیمار اسید هیومیک

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای.

گروه بافت	شن (%)	رس (%)	آهک (%)	کربن‌آلی (%)	SP	(1:1)pH	(dS/m)(1:1)EC
شن لومی	70	12	صفر	0/13	32	7/63	0/11

ادامه جدول 1- غلظت نیتروژن کل و عناصر قابل‌جذب گیاه در خاک.

N (%)	P	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
	(میلی‌گرم بر کیلوگرم)								
0/23	5/7	250	108/8	1149/2	99/1	1/8	1/1	0/85	1/3

P قابل جذب با عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم K،Na، Ca و Mg قابل جذب با عصاره‌گیر استات آمونیوم و Fe، Mn، Zn و Cu قابل جذب با عصاره‌گیر DTPA

از پودر هیومکس شامل 80% اسید هیومیک و 15% اسید فولویک (سبزواری و خزاعی 1388) استفاده شد. دوز مورد استفاده اصلاح‌گر از طریق آب آبیاری در دو مرحله قبل از کاشت و بعد از تنک و استقرار کامل گیاه در خاک اعمال شد. در جهت برطرف کردن کمبود عناصر غذایی به‌ترتیب از کود اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات روی به میزان 180، 120 و 50 کیلوگرم در هکتار استفاده شد وآبیاری با استفاده از بلوک‌های گچی در جهت حفظ رطوبت خاک در محدوده ظرفیت زراعی اجرا شد. بعد از برداشت کلزا ارتفاع، تعداد برگ، تعداد شاخه فرعی، تعداد خورجین و عملکرد دانه در تمام بوته‌های موجود در جعبه (نه بوته) تعیین و بعد از میانگین‌گیری برای هر بوته محاسبه شد. در مرحله گلدهی یک بوته کلزا کف بر شده و بعد از جداشدن تمام برگ‌های یک بوته، اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج (مدل ADC-AM300) انجام شد. برای تعیین وزن خشک بخش هوایی گیاه، پس از جدا نمودن دانه‌های کلزا، نمونه‌ها در دمای 70 درجه سانتیگراد تا ثابت ماندن وزن خشک درون آون قرار گرفتند و سپس توزین شدند.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم-افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مس ($P\leq0.01$) و اصلاح‌گر ($P\leq0.01$) بر روی ارتفاع بوته کلزا معنی‌دار بود (جدول 2). با افزایش غلظت مس در خاک ارتفاع بوته کلزا کاهش یافت، به‌طوری که تیمار شاهد (بدون مصرف مس) بیشترین ارتفاع بوته (64 سانتی‌متر) را داشت، البته اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و سطح دوم و سوم مس (100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) وجود نداشت (جدول 3). در بین سطوح اصلاح‌گر تیمار EDTA با غلظت 292/2 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش معنی‌دار در ارتفاع بوته کلزا (64/6 سانتی‌متر) نسبت به تیمار شاهد (60/2 سانتی‌متر) شد. مصرف EDTA در غلظت 29/2 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و اسید هیومیک در غلظت 2/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نیز سبب افزایش ارتفاع بوته شدند، ولی این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود.

آغاز و همکاران (2013) کاهش ارتفاع شوید (*Anethum graveolens*) را با افزایش غلظت کادمیوم از 100 به 200 میکرومولار گزارش کردند. حیدری و همکاران (2005) نشان دادند که فلز سنگین سرب با

اثرگذاری بر روی خاصیت انعطاف‌پذیری و ارتجاعی دیواره سلولی ارتفاع بخش هوایی ذرت (*Zea mays* L.) را کاهش می‌دهد. ممانعت از جذب عناصر غذایی توسط کادمیم باعث کند شدن رشد و کاهش ارتفاع جو (*Hordeum vulgare* L.) شد (واسیلو 2003). نتایج تحقیق برخی محققان نشان می‌دهد که در حضور فلزات سنگین مس، سرب، روی و کادمیوم کاربرد دوزهای بالای EDTA نسبت به دوزهای پایین، افت بیشتری را در صفات رشدی ایجاد می کند، به نحوی که در بین غلظت‌های 10، 20 و30 میلی‌گرم EDTA بر لیتر، بالاترین غلظت EDTA سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع گل جعفری (*Tagetes erecta*) نسبت به شاهد شد (سین‌هال و همکاران 2010). ارتفاع گیاه vetiver (*Vetiveria zizanioides*) در خاک آلوده به مس با مصرف EDTA در غلظت 5 میلی‌مولار کاهش یافت (چن و همکاران 2012). چن و آویاد (1990) در مطالعات خود به تأثیر مثبت مواد هیومیک بر غشای سلولی و رشد طولی سلول‌ها و در نهایت تحریک رشد بخش هوایی و ساقه گیاهان اشاره کردند. تحریک غشا و رشد طولی سلول‌ها به مرور زمان سبب افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (دانشورحکیمی‌میبدی و همکاران 1390). در یک مطالعه مصرف اسید هیومیک در خاک سبب افزایش ارتفاع ارزن (*Panicum miliaceum* L.) شد (ساروهان و همکاران 2011). فرازنده و همکاران (1390) نیز به افزایش معنی‌دار ارتفاع ذرت (*Zea mays* L.) نسبت به شاهد با مصرف اسید هیومیک در غلظت 3 و 4/5 کیلوگرم در هکتار اشاره کردند.

تأثیر سطوح مس و اصلاح‌گر بر روی تعداد و سطح برگ کلزا معنی‌دار بود ($P\leq0.01$) (جدول 2). عدم مصرف مس در خاک بیشترین تعداد برگ در بوته (28 عدد) و سطح برگ (284/6 سانتی‌متر مربع) را ایجاد کرد، هر چند که در مورد سطح برگ تیمار شاهد مس اختلافی با سطح 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم نداشت. بالاترین غلظت مس در خاک (300 میلی‌گرم بر کیلوگرم) منجر به کمترین تعداد برگ و سطح برگ کلزا شد (جدول 3). در مورد هر دو صفت مذکور 292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم بیشترین تعداد برگ و سطح برگ را تولید کرد که اختلاف معنی‌داری با 29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم نداشت. مصرف اسید هیومیک در هر دو غلظت 1/25 و 2/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش تعداد برگ و سطح برگ کلزا شد، ولی تعداد برگ در بوته در این تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. در مورد سطح برگ نیز در بین غلظت‌های مصرفی اسید هیومیک، 1/25 میلی‌گرم بر کیلوگرم از نظر توسعه سطح برگ اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت.

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مس و اصلاح‌گر خاک بر صفات مورفولوژیک، اجزای عملکرد و عملکرد دانه کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		ارتفاع بوته	تعداد برگ در بوته	سطح برگ	تعداد شاخه فرعی در بوته	تعداد خورجین در بوته	وزن هزار دانه	عملکرد دانه در بوته	وزن خشک اندام هوایی در بوته
تکرار	2	107/9**	2/0^{ns}	1660^{ns}	0/009^{ns}	8/1^{ns}	0/004^{ns}	0/001^{ns}	0/001^{ns}
مس	3	84/4**	58/6**	9434**	0/156**	24/8**	0/657**	0/420**	0/773**
اصلاح‌گر خاک	4	49/5*	29/7**	21666**	0/149**	86/4**	0/126**	0/187**	1/415**
مس× اصلاح‌گر	12	2/5^{ns}	1/2^{ns}	426^{ns}	0/002^{ns}	0/7^{ns}	0/020**	0/007^{ns}	0/011**
خطا	38	14/6	6/6	1307	0/006	3/6	0/006	0/006	0/002
ضریب تغییرات (%)	-	6/18	10/14	14/04	32/85	6/23	2/44	7/03	1/48

ns ، * ،** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد.

جدول 3- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و عملکرد دانه کلزا در سطوح مس و اصلاح‌گر خاک

تیمار	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد برگ در بوته	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	تعداد شاخه فرعی در بوته	تعداد خورجین در بوته	عملکرد دانه در بوته (گرم)
مس (mg/kg)						
صفر	64/0^{a}	28/0^{a}	284/6^{a}	2/5^{a}	32/2^{a}	1/97^{a}
100	63/3^{a}	25/7^{b}	270/8^{ab}	1/7^{b}	31/3^{ab}	1/94^{a} (%-1/67)
200	61/5^{ab}	24/1^{bc}	246/6^{bc}	1/6^{b}	30/4^{bc}	1/84^{b} (%-6/19)
300	58/7^{b}	23/6^{c}	228/3^{c}	1/4^{b}	29/1^{c}	1/60^{c} (%-18/57)
اصلاح‌گر						
شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر)	60/2^{b}	23/6^{c}	211/2^{c}	1/4^{c}	28/5^{c}	1/73^{b}
EDTA (29/2 mg/kg)	62/9^{ab}	26/5^{ab}	292/9^{a}	2/1^{b}	23/4^{b}	1/81^{b} (%+5/08)
EDTA (292/2 mg/kg)	64/6^{a}	27/5^{a}	311/0^{a}	2/5^{a}	34/7^{a}	2/05^{a} (%+18/60)
اسید هیومیک (1/25 mg/kg)	59/6^{b}	24/6^{bc}	230/0^{bc}	1/4^{c}	28/9^{c}	1/77^{b} (%+2/48)
اسید هیومیک (2/5 mg/kg)	62/0^{ab}	24/6^{bc}	242/8^{b}	1/6^{c}	29/1^{c}	1/83^{b} (%+5/95)

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف لاتین مشترک دارند، در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند، و اعداد داخل پارانتز تغییرات نسبت به شاهد را نشان می دهند.

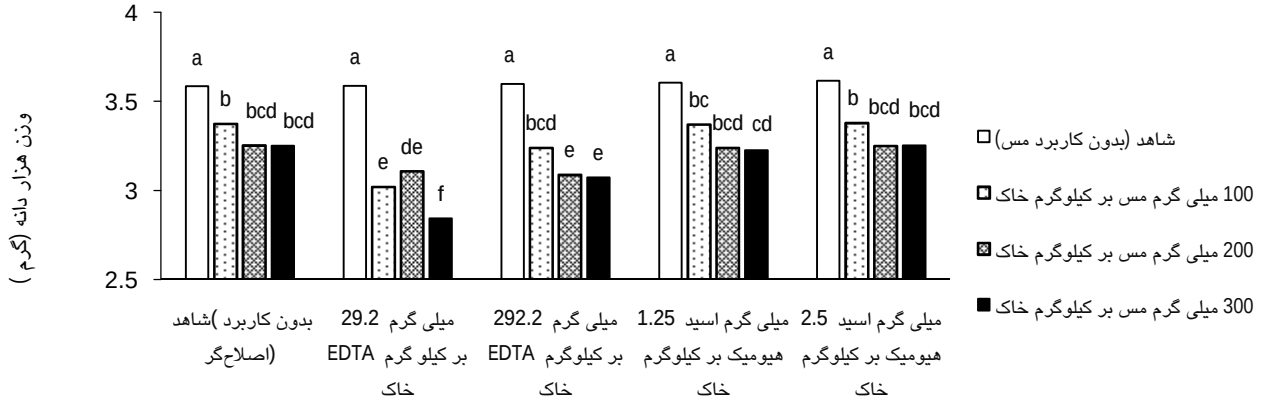
مصرف سولفات مس در دوزهای مازاد بر نیاز کلزا (رقم هایولا 401)، سطح برگ را نسبت به شاهد کاهش داد (روشنی و لاری‌یزدی 1389). فیگلیولیا و همکاران (1994) تأثیر اسید هیومیک را به‌صورت محلول‌پاشی روی برگ‌ها مثبت ارزیابی کرده و آن را عامل توسعه شاخص سطح برگ عنوان کردند. مصرف اسید هیومیک 2 ماه پس از کشت شلغم علوفه‌ای (*Brassica rapa* L.) سبب رشد و نمو بهتر و توسعه برگ‌ها شد (آلبای‌راک و کاماس 2005). غلظت‌های 100، 200 و 300 میلی‌گرم اسید هیومیک در لیتر سبب افزایش سطح برگ گندم شدند (سبزواری و خزاعی 1388 و سبزواری و همکاران 1388). در یک مطالعه که هدف بررسی صفات مورفولوژیک تربچه (*Raphanus sativus* L.) در بستر کشت تفاله سنگ معدنی آلوده به مس (1786 میلی‌گرم بر کیلوگرم) با حضور 0/1 و 1 گرم بر کیلوگرم از اسید هیومیک بود، مشخص شد که غلظت 0/1 گرم بر کیلوگرم به‌صورت مصرف سطحی در زمان کاشت و نیز همین غلظت به‌صورت مخلوط با بستر کشت سبب افزایش سطح برگ نسبت به شاهد شد (بندیرا و همکاران 2009).

تأثیر سطوح مس و اصلاح‌گر بر روی تعداد شاخه فرعی و تعداد خورجین در بوته کلزا معنی‌دار بود ($P\leq0.01$) (جدول 2). افزایش غلظت مس از 100 تا 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش معنی‌دار تعداد شاخه فرعی شد، البته بین سطوح مختلف مس مصرفی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 3). تعداد خورجین در بوته نیز تحت تأثیر غلظت مس قرار گرفت به نحوی که بیشترین (32/2) و کمترین (29/1) تعداد خورجین در بوته به ترتیب مربوط به تیمار شاهد (بدون مصرف مس) و مصرف مس در سطح 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مصرف اصلاح‌گر خاک نیز ضمن کمک به جذب عناصر سبب تحریک رشد گیاه شده و تعداد شاخه فرعی و خورجین در بوته را افزایش داد. بیشترین تعداد شاخه فرعی و خورجین در بوته مربوط به EDTA مصرفی در سطح 292/2 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها داشت. در هر دو صفت مذکور مصرف اسید

هیومیک در هر دو سطح سبب افزایش تعداد شاخه فرعی و خورجین در بوته شد، ولی اختلاف بین سطوح مصرفی اسید هیومیک با هم و با شاهد به سطح معنی‌دار نرسید (جدول 3). فرزادفر و زرین‌کمر (2012) کاهش معنی‌دار تعداد شاخه فرعی بابونه آلمانی نسبت به شاهد را در نتیجه مصرف کادمیوم گزارش کردند. مواد هیومیک اثرهای هورمون مانندی نظیر اکسین (بیدگین و همکاران 2000 و آتیه و همکاران 2002) و سیتوکنین (موسکولو و همکاران 1999 و زاندونادی و همکاران 2007) بر رشد و متابولیسم گیاه داشته و موجب دسترسی بیشتر به عناصر شده و نسبت C/N پایینی دارند (چن و آویاد 1990)، همچنین در تشکیل کمپلکس‌های مختلف با عناصر نظیر آهن و افزایش فراهمی عناصری مثل فسفر که برای نمو اولیه گیاه ضروری هستند نقش قابل ملاحظه‌ای دارند (ساروهان و همکاران 2011)، در نتیجه، استقرار مناسب گیاه در حضور این ترکیبات به بهبود شاخص‌های رشدی نظیر صفات مذکور کمک می کند. در مطالعه‌ای که بستر کشت با 214 و 314 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم آلوده شده بود، حضور اسید هیومیک با غلظت 3 گرم بر کیلوگرم سبب ایجاد شرایط بهینه برای رشد *Elodea nuttallii* شد (وانگ و همکاران 2010)، اما اثرهای مثبت ترکیبات هیومیک عمدتاً به غلظت‌های پایین آن مربوط بود (چن و آویاد 1990) زیرا غلظت‌های بالای این ترکیبات به‌دلیل تولید هورمون بیش از حد نیاز گیاهان سبب کاهش رشد و نمو می‌شوند (دانشورحکیمی‌میبدی و همکاران 1390 و هاپکینز و استارک 2003). شریف (2002) با مطالعه روی دوزهای مختلف اسید هیومیک (50، 100، 150، 200، 250 و 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر جذب و تجمع عناصر کم‌مصرف نظیر مس و رشد ذرت به این نتیجه رسید که سطوح 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم مؤثرتر از دوزهای بالا بودند. این موارد استدلالی بر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین سطوح اسید هیومیک مصرفی (1/25 و 2/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در اکثر صفات مورد مطالعه در این تحقیق می‌باشد. مصرف EDTA نیز همانند اسید هیومیک در غلظت‌های پایین توصیه می‌شود، زیرا غلظت‌های بالا به‌علت تشکیل کمپلکس با فلزات سنگین و کمک به جذب بیشتر این عناصر توسط گیاهان و سمیت آنها سبب افت در فاکتورهای رشدی و کاهش رشد گیاه می‌شوند، به‌طوری که توران و اسرینگو (2007) اشاره کردند که EDTA در غلظت‌های بیش از 3 میلی‌مولار تحت شرایطی که غلظت مس در خاک 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود به‌دلیل کمک به جذب بیشتر مس توسط کلزا رشد آن را کاهش داد. چرم و علیزاده (1388) نتایج مشابهی را در رابطه با کارایی EDTA در غلظت پایین (10 میلی‌مولار) نسبت به غلظت بالا (20 میلی‌مولار) به دست آورده و بیان کردند رشد کلزا در بستر آلوده به نیکل، سرب و کادمیوم در غلظت بالای EDTA به‌علت سمیت بیشتر گیاه زراعی کاهش می‌یابد. در مطالعه حاضر به‌دلیل مصرف EDTA در دوزهای پایین (0/1 و 1 میلی‌مولار) نسبت به دوزهای مصرفی رایج (غلظت‌های بالای 3 میلی‌مولار) در خاک‌های آلوده به مس، غلظت‌های مذکور ضمن کمک به جذب عنصر کم‌مصرف مس، رشد گیاه را تحریک کردند.

وزن هزاردانه به طور معنی‌داری ($P\leq0.01$) تحت تأثیر متقابل مس و اصلاح‌گر قرار گرفت (جدول 2). تمام سطوح اصلاح‌گر خاک در شرایط عاری از مس بیشترین وزن هزاردانه کلزا را تولید کردند هر چند که اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر نداشتند. تحت شرایطی که غلظت مس از 100 تا 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود تیمارهای شاهد اصلاح‌گر، 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم (در غلظت‌های مشابه مس) نتوانستند به‌طور معنی‌داری وزن هزاردانه را تغییر دهند. تحت تنش مس با مصرف EDTA افت بیشتری در وزن هزاردانه مشاهده شد و کمترین وزن هزاردانه در تیمار 29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم و با بالاترین غلظت مس مشاهده شد (شکل 1). برخی از

گزارش‌ها حاکی از آن است که اسید هیومیک تأثیری بر شاخص‌های رشدی گیاه بنت‌گراس (*Agrostis stolonifera* L.) نداشته است (کوپر و همکاران 1998)، با این حال در برخی مطالعات مصرف اسید هیومیک سبب افزایش وزن هزاردانه گندم و ارزن شده است (حق‌پرست و همکاران 1390 و ساروهان و همکاران 2011). در تحقیق سبزواری و خزاعی (1388) مشخص شد که در بین تیمارهای 100، 200 و 300 میلی‌گرم اسید هیومیک در لیتر وزن هزاردانه گندم فقط تحت تأثیر بالاترین غلظت اسید هیومیک افزایش یافت.



کاربرد اصلاح گر

شکل 1- تأثیر سطوح مختلف مس و اصلاح‌گر خاک بر وزن هزاردانه کلزا

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف لاتین مشترک دارند، در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عملکرد دانه در بوته کلزا به طور معنی داری ($P\leq0.01$) تحت تأثیر مصرف مس و اصلاح‌گر قرار گرفت (جدول 2). خاک فاقد مس (شاهد) بیشترین عملکرد دانه در بوته (1/97 گرم) را تولید کرد که اختلاف معنی‌داری با سطح 100 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک نداشت. بالاترین غلظت مس سبب 18/5 درصد افت در عملکرد دانه نسبت به تیمارشاهد شد (جدول 3). در مورد سطوح اصلاح‌گر نیز همانند اکثر صفات قبلی 292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک بالاترین عملکرد دانه را ایجاد کرد. بعد از تیمار مذکور بیشترین عملکرد دانه به‌ترتیب مربوط به 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم، 29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم و 1/25 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک بود که البته اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و با شاهد نشان ندادند (جدول 3). به‌نظر می‌رسد حضور اصلاح‌گر در خاک آلوده به مس به نفع گیاه کلزا بوده، زیرا ضمن کمک به توسعه صفات مورفولوژیک و اجزای عملکرد در نهایت منجر به افزایش عملکرد دانه شده است. جدول 4 نشان می‌دهد که حضور اصلاح‌گر در خاک سبب افزایش تحمل کلزا نسبت به تنش سمیت مس می‌شود. با توجه به سطح بحرانی سمیت مس برای 90 درصد عملکرد نسبی دانه مشخص شد که نقش EDTA در افزایش تحمل به تنش سمیت مس بیشتر از اسید هیومیک بود. در بین سطوح مصرفی EDTA نیز سطح 29/2 نسبت به 292/2 میلی‌گرم بر کیلوگرم، نقش بیشتری در افزایش تحمل کلزا به سمیت مس داشت. 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک به ترتیب در غلظت‌های 232/5 و 219/8 میلی‌گرم مس بر

کیلوگرم خاک سبب افت 10 درصدی عملکرد نسبی دانه شدند (جدول4). این نتایج بیانگر اثرات مثبت اصلاح‌گر خاک در غلظت‌های پایین نسبت به غلظت‌های بالای این ترکیبات است. چن و آویاد (1990) و توران و اسرینگو (2007) نیز در این رابطه به نتایج مشابهی دست یافتند. مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی اثرهای قابل ملاحظه‌ای در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک داشته و به‌علت وجود ترکیبات هورمونی اثرهای مفیدی در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی دارند (سماوات و ملکوتی 1384). در تحقیقی مشخص شد که مواد آلی حاوی فولویک و هیومیک اسید به‌علت وجود ترکیبات ارگانیک نظیر ویتامین‌ها، آمینواسیدها، اکسین و جیبرلین سبب افزایش عملکرد دانه گندم شدند (وگان و لینه‌هان 2004). افزودن اسید هیومیک به خاک سبب افزایش عملکرد دانه ارزن نسبت به شاهد شد (ساروهان و همکاران 2011). دوپلسیس و مکنزی (1983) نیز معتقد بودند مصرف اسید هیومیک در خاک می‌تواند عملکرد دانه لگوم‌هایی نظیر ماش (*Vigna radiata* L.)، سویا (*Glycine max* L.) و نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) را افزایش دهد. در یک مطالعه مصرف اسید هیومیک در غلظت‌های 0، 10، 20، 30 و 40 میلی‌لیتر بر لیتر سبب افزایش عملکرد خیار (*Cucumis sativus* L.) شد (اوزداماراونلو و همکاران 2011). شریف (2002) در بررسی اسید هیومیک بر روی اجزای عملکرد و عملکرد دانه گندم (*Triticum aestivum* L.) و ذرت دریافت که افزودن 0/5 تا 1 کیلوگرم اسید هیومیک در هکتار به خاک ضمن کمک به جذب مس باعث افزایش عملکرد دانه در گیاهان مذکور شد.

جدول 4- اثر مصرف اصلاح‌گرهای مختلف بر سطح بحرانی سمیت مس برای 90 درصد عملکرد نسبی دانه کلزا

سطح اصلاح‌گر	معادله خط	R^2	سطح بحرانی سمیت مس برای 90 درصد عملکرد نسبی دانه نسبت به شاهد
شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر)	$Ry=-0.0003\ (Cu^2)+0.0182\ (Cu)+100.22$	0/9966**	217/38
29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0001\ (Cu^2)-0.0109\ (Cu)+99.921$	0/9988**	265/15
292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0003\ (Cu^2)+0.0345\ (Cu)+99.491$	0/9600**	244/43
1/25 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0003\ (Cu^2)+0.0274\ (Cu)+99.853$	0/9986**	232/55
2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0004\ (Cu^2)+0.0438\ (Cu)+99.698$	0/9948**	219/80

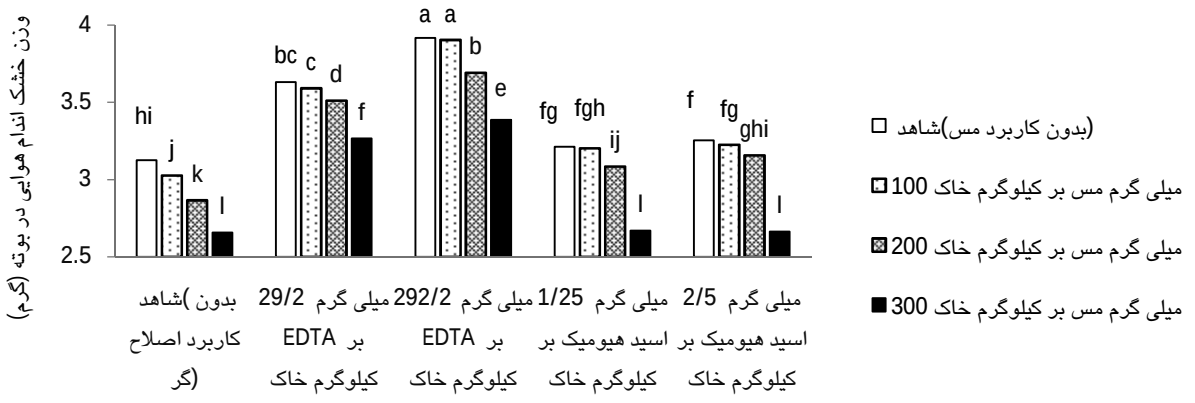
Cu: غلظت مس، Ry: عملکرد نسبی دانه که برای محاسبه آن در هر سطح اصلاح‌گر میانگین عملکرد دانه در غلظت های 100، 200 و 300 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک به شاهد (بدون مصرف مس) تقسیم و به صورت درصد بیان شد.

اثر متقابل مس و اصلاح‌گر بر روی وزن خشک اندام هوایی کلزا معنی‌دار بود ($P\leq0.01$) (جدول 2). مصرف اصلاح‌گر به تنهایی در خاک و بدون حضور مس رشد گیاه را تحریک کرده و سبب افزایش معنی‌دار در وزن خشک کلزا نسبت به شاهد اصلاح‌گر شد. با این حال استفاده از اصلاح‌گر خاک تحت شرایطی که مس در خاک حضور داشت نیز باعث افزایش وزن خشک کلزا شد، که در این راستا نقش EDTA در افزایش وزن خشک ملموس‌تر از اسید هیومیک بود، طوری که استفاده از EDTA در غلظت 292/2 میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک فاقد مس (شاهد مس) و خاکی که با 100 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم آلوده شده بود منجر به تولید بیشترین وزن خشک اندام هوایی در بوته به‌ترتیب 3/91 و 3/90 گرم شد که اختلاف معنی‌داری با سایرتیمارها

داشتند. کمترین وزن خشک مربوط به تیمارهایی بود که بیشترین غلظت مس را داشتند. 1/25 و 2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم در غلظت‌های یکسان مس به‌طور مشابهی وزن خشک را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل 2). به نظر می رسد اصلاح‌گرها از طریق کمک به توسعه سیستم ریشه و استقرار بهتر گیاه، جذب عناصر غذایی را افزایش داده و تحمل گیاه به تنش‌های محیطی را بیشتر می‌کنند (لیو و کوپر 1999). جدول 5 نشان می‌دهد که افت در ماده خشک نسبی اندام‌هوایی کلزا در سطوح مختلف اصلاح‌گر نسبت به شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر) در غلظت‌های بالاتری از مس حاصل شد و بیان گر افزایش تحمل کلزا در حضور اصلاح‌گر خاک نسبت به سمیت مس می باشد. سطح 292/2 نسبت به 29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک و سطح 2/5 نسبت به 1/25 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک تحمل کلزا را به سمیت مس در خاک کاهش دادند. چن و آویاد (1990) به اثرات مثبت ترکیبات هیومیک، چرم و علیزاده (1388) و توران و اسرینگو (2007) به اثرات مثبت EDTA در غلظت های پایین نسبت به غلظت های بالای این ترکیبات روی رشد و نمو گیاه اشاره کردند. در برخی تحقیقات مشخص شد که مصرف سرب و کادمیوم به‌ترتیب در غلظت‌های 300 تا 600 میکرومولار و 100 تا 200 میکرومولار سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک بخش‌هوایی شوید نسبت به شاهد شدند (آغاز 1391 و آغاز و همکاران 2013) و مصرف سولفات مس نیز سبب کاهش وزن خشک اندام‌هوایی کلزا رقم هایولا شد (روشنی و لاری‌یزدی 1389). افت وزن اندامهای گیاهی در حضور فلزات سنگین به‌علت اختلال در متابولیسم کلی سلول‌ها است (جلیازکووا و همکاران 2003). تداخل فلزات سنگین با فعالیت‌های فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن منجر به کاهش رشد و زیست‌توده گیاه شد (گویا و همکاران 2001). در خاکی که با 50 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم آلوده شده بود، مصرف EDTA در غلظت‌های 3، 6 و 12 میلی‌مول بر کیلوگرم وزن خشک اندام‌هوایی کلزا را کاهش داد (توران و اسرینگو 2007). حضور مس در خاک در دوزهای 150 و 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه 20 و 40 میلی‌مولار EDTA سبب افزایش جذب عنصر مس توسط گیاه و کاهش وزن خشک اندام هوایی شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum*) شد (یوسفی‌راد و همکاران 1390). استفاده از EDTA در غلظت‌های 2، 4 و 8 میلی‌مول بر کیلوگرم تحت شرایطی که غلظت مس کل در خاک 256/4 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود سبب کاهش وزن خشک اندام‌هوایی کلزا نسبت به شاهد شد ولی این اختلاف معنی‌دار نبود (زرمسکی- اشکوریک و همکاران 2010). نتایج متفاوتی در رابطه با مصرف اصلاح‌گر و نقش آنها در تولید ماده خشک گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گزارش شده است به‌عنوان مثال در یک مطالعه اسید هیومیک در غلظت‌های 1 و 2 درصد به‌علت کمک به جذب بیشتر مس سبب کاهش معنی‌دار ماده خشک تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.) شد (تاپچواوغلو 2013)، در حالی که استفاده از اسید هیومیک در غلظت 0/1 گرم بر کیلوگرم در بستر آلوده به غلظت بیش از 1000 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم اثرهای تقویت‌کنندگی روی رشد گیاه داشته و سبب افزایش وزن خشک اندام‌هوایی تربچه‌علوفه‌ای نسبت به شاهد شد (بندیرا و همکاران 2009). شریف (2002) گزارش کرد که استفاده از اسید هیومیک در غلظت‌های 0/5 و 1 کیلوگرم در هکتار ضمن کمک به جذب مس سبب افزایش زیست‌توده گندم و ذرت نسبت به شاهد شد.

مقادیر بالای مس سبب تنش سمیت مس در گیاه می‌شوند که در چنین شرایطی به علت اثر متقابل و رقابت بین مس با سایر عناصر نظیر روی برای اتصال به پروتئین‌های انتقالی غشا (رنگل و گراهام 1995، موسوی 2011 و موستاکاس و همکاران 2011) رشد گیاه کاهش پیدا می کند، در نتیجه در این تحقیق افزایش

غلظت مس سبب افت در تمام صفات مورد بررسی شد. در حضور اصلاح‌گرها هرچند که رهاسازی فلزات سنگین نظیر مس در خاک و جذب و تجمع آنها توسط کلزا بیشتر می شود (توران و اسرینگو 2007) ولی به علت این که اصلاح‌گرها از طریق کی‌لیت کردن، بخش اعظمی از عناصر غذایی موجود در خاک را علاوه بر مس در اختیار گیاه قرار می‌دهند، بدین‌وسیله سبب بهبود رشد گیاه می شوند. واکوئل‌های برگ مخازن عمده‌ای برای اصلاح‌گرها می‌باشند (وازکواز و همکاران 1992 و کرامر و همکاران 2000). همراهی EDTA و اسید هیومیک با فلزات سنگین منجر به تشکیل کمپلکس فلز-اصلاح‌گر می‌شود، در نتیجه این کمپلکس‌ها در واکوئل تجمع می‌یابند که منجر به سمیت‌زدایی فلزات از طریق محبوس شدن آنها در واکوئل می‌شود. همچنین اتصال فلزات سنگین به دیواره سلول و یا تجمع آنها در آپوپلاست مکانیسم دیگری برای تحمل گیاهان به فلزات سنگین در حضور اصلاح‌گرها می‌باشد (وازکواز و همکاران 1992 و کرامر و همکاران 2000)، مجموع این عوامل می‌تواند بیان‌گر افزایش تحمل کلزا به سمیت مس و رشد قابل قبول آن در حضور EDTA و اسید هیومیک باشد.



شکل 2- تأثیر سطوح مختلف مس و اصلاح‌گر خاک بر وزن خشک اندام هوایی کلزا

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف لاتین مشترک دارند، در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول 5- اثر مصرف اصلاح‌گرهای مختلف بر سطح بحرانی سمیت مس برای 90 درصد ماده خشک نسبی اندام هوایی کلزا

سطح اصلاح‌گر	معادله خط	R^2	سطح بحرانی سمیت مس برای 90 درصد ماده خشک نسبی اندام هوایی نسبت به شاهد
شاهد (بدون مصرف اصلاح‌گر)	$Ry=-9\times10^{-5}(Cu^2)-0.0235\ (Cu)+100.02$	0/9999**	227/74
29/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0001\ (Cu^2)+0.0096\ (Cu)+99.828$	0/9902**	300/0
292/2 میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0002\ (Cu^2)+0.0093\ (Cu)+100.14$	0/9968**	249/61
1/25 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0003\ (Cu^2)+0.0399\ (Cu)+99.701$	0/9905**	258/22
2/5 میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک	$Ry=-0.0004\ (Cu^2)+0.0506\ (Cu)+99.412$	0/9683**	229/17

Cu: غلظت مس، Ry: ماده خشک نسبی اندام هوایی که برای محاسبه آن در هر سطح اصلاح‌گر میانگین وزن خشک اندام هوایی در غلظت های 100، 200 و 300 میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک به شاهد (بدون مصرف مس) تقسیم و به صورت درصد بیان شد.

نتیجه‌گیری

با توجه به تغییرات صفات مورفولوژیک و عملکرد کلزا در سطوح بالای مس در خاک می توان نتیجه گرفت که این گیاه پتانسیل بالایی برای رشد در خاک‌های آلوده به مس دارد و بدون افت قابل ملاحظه‌ای در این صفات تنش سمیت مس را به خوبی تحمل می کند. در ضمن در حضور اصلاح‌گرهایی نظیر EDTA و اسید هیومیک شاخص‌های رشدی کلزا بهبود یافته و بیان‌گر این مساله است که علاوه‌بر نقش شناخته شده اصلاح‌گر خاک در افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین و کمک به جذب مقادیر بیشتر عناصر از خاک توسط گیاه، غلظت‌های پایین این ترکیبات می‌تواند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به رشد بهینه گیاه کمک کند. در این بین سهم EDTA در بهبود صفات مورفولوژیک، افزایش عملکرد و وزن خشک کلزا بیشتر از اسید هیومیک بود. مقایسه سطح بحرانی سمیت مس برای ماده خشک نسبی اندام هوایی و عملکرد نسبی دانه نشان داد که مصرف اصلاح‌گرها در غلظت‌های پایین نسبت به غلظت‌های بالا سبب افزایش تحمل گیاه در برابر سمیت مس شدند، همچنین عملکرد نسبی دانه در مقایسه با ماده خشک نسبی اندام هوایی حساسیت بیشتری به تنش سمیت مس نشان داد. نتایج حاصل از صفات مورفولوژیک و عملکرد قابل قبول گیاه کلزا در سطوح مختلف مس می‌تواند نوید بخش کشت کلزا در خاک‌های آلوده به ویژه در اراضی کشاورزی اطراف معادن مس باشد.

منابع مورد استفاده

آغاز م ، 1391. پاسخ اکوتیپ‌های گیاه دارویی شوید به تنش سرب. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. رشته اصلاح نباتات. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

احمدی ع، احسان زاده پ و جباری ف، 1388. مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران . جلد اول.

چرم م و علیزاده آ، 1388. بررسی اثرهای کمپوست بقایای نیشکر و EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) جهت پالایش خاک‌های آلوده به کادمیم، سرب و نیکل. مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، 23 (2): 29 - 20.

حق‌پرست ر، زنگنه ش و رجبی ر، 1390. بررسی واکنش ارقام مختلف گندم نان به مصرف مواد آلی هیومیکا و هیومکس (حاوی اسید هیومیک و فولویک) تحت شرایط دیم در کرمانشاه. ششمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاداسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

خمسه ا، 1390. آلودگی مس در خاک‌های اطراف معدن مس مزرعه و پهنه بندی مزرعه با استفاده از ArcGIS. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. رشته علوم خاک. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

دانشورحکیمی‌میبدی ن، کافی م، نیکبخت ع و رجالی ف، 1390. اثرهومیک اسید بر برخی از خصوصیات کمی و کیفی چمن اسپیدی گرین. مجله علوم باغبانی ایران، 42 (4): 412 - 403.

روشنی م و لاری‌یزدی ح، 1389. بررسی میزان جوانه زنی و برخی فاکتورهای رشدی تحت تاثیرمتقابل مس، آسکوربات وجیبرلین در دو رقم گیاه کلزا (*Brassica napus* L.). پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاداسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

سبزواری س و خزاعی ح ر، 1388. اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف اسید هیومیک بر خصوصیات رشدی، عملکرد و اجزاء عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم پیشتاز. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، 1 (2): 63 - 53.

سبزواری س، خزاعی ح ر و کافی م، 1388. اثراسید هیومیک بر رشد ریشه و بخش هوایی ارقام سایونز و سبلان گندم (*Triticum aestivum* L.). مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، 23 (2): 94 - 87.

سماوات س و ملکوتی م، 1384. ضرورت استفاده از اسیدهای آلی (هیومیک و فولویک) برای افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی. نشریه فنی تحقیقات خاک و آب، 63 (4): 13 - 1.

قربانی ص، خزاعی ح ر، کافی م و بنایان اول م، 1389. اثر کاربرد اسید هیومیک در آب آبیاری بر عملکرد و اجزاء عملکرد ذرت. نشریه بوم شناسی کشاورزی، 2 (1): 118 - 111.

فتاحی کیاسری ا، فتوت ا، آستارایی ع و حق نیا غ، 1389. اثر اسید سولفوریک و EDTA بر گیاه پالایی سرب در خاک توسط سه گیاه آفتابگردان، ذرت و پنبه. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، 51 (1): 68 - 57.

فرازنده ع، باقی م و فاضلی ف، 1390. بررسی تأثیر هیومیک اسید بر رشد و دانه گیاه ذرت. ششمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاداسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

یارقلی ب، عباسی ف و لیاقت ع، 1388. بررسی جذب کادمیوم از محیط ریشه و تجمع آن در اندامهای مختلف محصولات جالیزی رایج ایران. مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی، 10 (2): 44 - 31.

یوسفی‌راد م، عسگری قاهانی م، ارادتمند اصلی د و غلامحسینی ا، 1390. بررسی گیاه‌پالایی شبدربرسیم در حضور EDTA بر روی عنصر مس. ششمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

Aghaz M, Bandehagh A, Aghazade E, Toorchi M and Ghasemi Golezani K, 2013. Effects of cadmium stress on some growth and physiological characteristics in Dill (Anethum graveolens) ecotypes. International Journal of Agriculture Research Review, 3: 409-413.

Albayrak S and Camas N, 2005. Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage turnip (*Brassica rapa* L.). Agronomy Journal, 4:130-133.

Atiyeh R M, Lee S and Edwards CA, 2002. The influence of humic acids derived from earthworm processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology, 84: 7-14.

Bandiera M, Mosca G and Vamerali T, 2009. Humic acids affect root characteristics of fodder radish (*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers.) in metal-polluted wastes. Desalination, 246: 78-91.

Barona A, Aranguiz I and Elias A, 2001. Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for the effectiveness of further clean-up procedures. Environment Pollution, 113: 79–85.

Bidegain RA, Kaemmerer M, Guiresse M, Hafidi M, Rey F, Morard P and Revel JC, 2000. Effects of humic substances from composted or chemically decomposed poplar sawdust on mineral nutrition of ryegrass. Journal of Agriculture and Science, 134: 259-267.

Blaylock MJ, 1999. Field demonstrations of phytoremediation of lead contaminated soils. In: Banuelos GS and Terry NE (eds). phytoremediation of trace elements. Ann Arbor Press. Ann Arbor, MI.

Blaylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, Zakharova O, Gussman C and Kapulnik Y, 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environment Science Technology, 31: 860–865.

Boyadjiev V, Ts V, Alexieva ZK, Zaprjanov YT, Hadzhieva MI, Koleva NK, Tzacheva PV, Boyadjieva P and Nikolova PO, 1990. Heavy metal Poisonings. Medicina Ifizkultura, Sofia, 242 pp. (Bg).

Chen Y and Aviad T, 1990. Effects of humic substances on plant growth. Pp. 161-186. In: MacCarthy P. (ed). Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings. SSSA and ASA, Madison, WI.

Chen KF, Yeh TY and Lin CF, 2012. Phytoextraction of Cu, Zn, and Pb Enhanced by Chelators with Vetiver (*Vetiveria zizanioides*): Hydroponic and Pot Experiments. International Scholarly Research Network, 2012: 1-12.

Cooper RJ, Liu C and Fisher DS, 1998. Influence of humic substances on rooting and nutrient content of creeping bentgrass. Crop Science, 38: 1639-1644.

Duplessis GL and Mackenzie AF, 1983. Effect of Leonardite applications on phosphorus availability and corn growth. Canadian Journal of Soil Science, 63: 749-751.

Farzadfar S and Zarinkamar F, 2012. Morphological and anatomical responses of Matricaria Chamomilla plants to cadmium and calcium. Advances in Environmental Biology, 6: 1603-1609.

Fernandes JC, and Henriques FS, 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. The *Botanical Review*, 57: 246–273.

Forstner U, 1995. Land contamination by metals: global scope and magnitude of problem. Pp. 1-33. In: Allen HE, Huang CP, Bailey GW and Bowers AR (eds). Metal speciation and contamination of soil. CRC Press, Boca Raton.

Figliolia A, Benedetti A, Izza C, Indiati R, Rea E, Alianiello F, Canali S, Biondi FA, Pierandrei F and Moretti R, 1994. Effects of fertilization with humic acid on soils and plant metabolism: A

multidisciplinary approach. Pp. 579-584. Note I: crop production, (humic substances in the global environment and implications on human health, Proc. 6th Int. Meet. of the Int. Humic Subst. Soc., Elsevier Publ. Amsterdam, the Netherlands).

Gouia H, Ghorbal MH and Meyer C, 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology, 38: 629-638.

Gupta PK, 2000. Soil, Plant, Water, and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Halim M, Conte P and Piccolo A, 2003. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances. Chemosphere, 52: 265–275.

Havlin J, Beaton J, Nelson W and Tisdale S, 1999. Soil fertility and fertilizers: An introduction to Nutrient management. Prentice Hall, New York.

Hopkins B and Stark J, 2003. Humic acid effects on potato response to phosphorus. Pp. 22–23. Idaho Potato Conference. Idaho.

Hiedri R, Khaiami M and Farboodnia T, 2005. Physiological and biochemical effects of Pb on Zea mays L. seedlings. Iranian Journal of Biology, 3: 228-235.

Huang JW, Chen JJ, Berti WR and Cunningham SD, 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Science and Technology, 31: 800–805.

Jarup L, 2003. Hazards of heavy metal contamination. British Medical Bulletin, 68: 167-182.

Jeliazkova EA, Craker LE and Xing B, 2003. Seed germination of anise, caraway and fennel in heavy metal contaminated solutions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants. 10: 83-93.

Knudsen D, Peterson GA and Pratt PF, 1982. Lithium, sodium, and potassium, Pp. 225-246. In: A.L. Page, et al. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. ASA and SSSA Inc, Madison, WI, USA.

Kovalchuk O, Titov V, Hohn B and Kovalchuk I, 2001. A sensitive transgenic plant system to detect toxic inorganic compounds in the environment. Nature Biotechnology, 6: 568-572.

Kramer U, Pickering IJ, Prince RC, Raskin I and Salt DE, 2000. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator Thlaspi species. Plant Physiology, 122: 1343-1353.

Kumar PBAN, Dushenkov V, Motto H and Raskin I, 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. Environment Science Technology, 29: 1232-1238.

Lewis S, Donkin ME, Depledge MH, 2001. Hsp 70 expression in Enteromorpha intestinalis (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. Aquatic Toxicology, 51: 277–291.

Lindsay WL and Norvell WA, 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Society of America Journal, 42: 421-428.

Liu C and Cooper RJ, 1999. Humic substances: their influence on creeping bentgrass growth and stress tolerance. Turfgrass Trends, 21: 6-12.

McLean EO, 1982. Soil pH and lime requirement. Pp. 199-224. In: A. L. Page et al. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. ASA and SSSA Inc, Madison, WI, USA.

Mant C, Costa S, Williams J and Tambourgi E, 2006. Phytoremediation of chromium by model constructed wetland. Boiresource Technology, 97: 1767-1772.

Meers E, Tack FMG, Van S, Slycken A, Ruttens J, Vangronsveld M, Verloo G, 2008. Chemically assisted phytoextraction: A review of potential soil amendments for increasing plant uptake of heavy metals. International Journal of Phytoremediation, 10: 390-414.

Moreno FN, Christopher WN, Anderson R, Stewart B, Robinson BH, Ghomshei M and Meech JA, 2005. Induced plant uptake and transport of mercury in the presence of sulphur-containing ligands and humic acid. New phytologist, 166: 445-454.

Mousavi SR, 2011. Zinc in crop production and interaction with phosphorus. Australian Journal of Basic and Applied Science, 5: 1503-1509.

Moustakas NK, Akoumianaki AI, Barouchas PE, 2011. The effects of cadmium and zinc interactions on the concentration of cadmium and zinc in pot marigold (*Calendula officinalis* L.). Australian Journal of Crop Science, 5: 277-282.

Muscolo A, Bavolo F, Gionfriddo F and Nardi S, 1999. Earthworm humic matter produced auxinlike effects on Daucus carota cell growth and nitrate metabolism. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1303-1311.

Nagajyoti PC, Lee KD and Sreekanth TVM, 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters, 8: 199–216.

Nardi S, Pizzeghello D, Muscolo A and Vianello A, 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1527-1536.

Nelson DW and Sommers LE, 1982. Total Carbon and Organic Matter. Pp. 539-579. In: A. L. Page and et al. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. ASA and SSSA Inc, Madison, WI, USA.

Olsen SR and Sommers LE, 1982. Phosphorus. Pp. 403-430. In: A. L. Page, et al. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. ASA and SSSA Inc., Madison, WI, USA.

Ozdamar unlu H, Unlu H, Karakurt Y and Padem H, 2011. Changes in fruit yield and quality in response to foliar and soil humic acid application in cucumber. Scientific Research and Essays, 6: 2800-2803.

Park J, Kim JY, Kim KW, 2012. Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals using *Brassica napus*. Geosystem Engineering, 15: 10-18.

Reeves RD, Baker AJM, 2000. Metal-accumulating plants. Pp. 193–229. In: Raskin I and Ensley BD (eds). Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Wiley, New York.

Rengel Z and Graham RD, 1995. Importance of seed Zn content for wheat grown on Zn defiant soil vegetable growth. Plant and Soil, 176:217-224.

Richards LA, 1969. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. US Salinity Laboratory Staff. Agricultural Handbook. No. 60. USDA, USA.

Sathawara NG, Parikh DJ and Agarwal YK, 2004. Essential heavy metals in environmental samples from western India. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 73: 756-761.

Saruhan V, kusvuran, A and Babat S, 2011. The effect of different humic acid fertilization on yield and yield components performances of common millet (*Panicum miliaceum* L.). Scientific Research and Essays, 6 : 663-669.

Shariff M, 2002. Effect of lignitic coal derived HA on growth and yield of wheat and maize in alkaline soil. PH.D Thesis, NWFP Agricultural university, Peshawar, Pakistan.

Sinhal VK, Srivastava A and Singh VP, 2010. EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta* L.). Journal of Environmental Biology, 31: 255-259.

Topcuoğlu B, 2013. Effects of humic acids on the phytoextraction efficiency of sludge applied soil. International Journal of Chemical, Environmental and Biological Sciences, 1: 21-24.

Turan M and Esringu 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 and Environmental sciences, 53: 7-15.

Turgut C, Pepe MK and Curight TJ, 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using Helianthus annuus. Environmental Pollution, 131: 147-154.

Vassilev A, 2002. Physiological and agroecological aspects of cadmium interaction with barley plants: An overview. Journal of Central European Agriculture, 4: 65-74.

Vaughan D and Linehan DJ, 2004. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. Plant and Soil. 44: 445-449.

Vazquez MD, Barcelo J, Poschenrieder CH, Madico J, Hatton P, Baker AJM and Cope GH, 1992. Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. Journal of Plant Physiology, 140: 350-355.

Wang Q, Li Z, Cheng S and Wu Z, 2010. Effects of humic acids on phytoextraction of Cu and Cd from sediment by Elodea nuttallii. Chemosphere, 78: 604-608.

Zaidi MI, Asrar A, Mansoor A and Farooqui MA, 2005. The heavy metal concentrations along roadside trees of Quetta and its effects on public health. Journal of Applied Sciences, 5: 708–711.

Zandonadi DB, Canellas LP and Facmana AR, 2007. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H+ pumps activation. Planta, 225: 1583-1595.

Zeremski-Škoric TM, Sekulic P, Maksimovic IV, Šeremesic SI, Ninkov JM, Milic SB and Vasin JR, 2010. Chelate-assisted phytoextraction: effect of EDTA and EDDS on copper uptake by Brassica napus L. Journal of the Serbian Chemical Society, 75: 1279–1289.

Zhou QX, Song YF, 2004. Remediation of Contaminated Soils: Principles and Methods, Beijing: Science Press, 489.