اثر کبالت خاک بر برخی شاخص‌های رشد لوبیا چیتی

مهری شرفی[1]*، ابوالفضل رنجبر فردوئی، حبیب اله بیگی هرچگانی و رامین ایرانی پور

دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه شهرکرد؛ mehrisharafi@ yahoo.com

استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شهرکرد؛ ranjbar@agr.sku.ac.ir

استادیار گروه زراعت دانشگاه شهرکرد؛ beigi.habib@gmail.com

استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات و منابع طبیعی شهرکرد؛ ramin.iranipour@gmail.com

چکیده

ضرورت کبالت برای گیاهان هنوز اثبات نشده، اگر چه این عنصر برای رشد برخی گیاهان مفید است. از طرف دیگر کبالت عنصر سنگینی است که همراه برخی پساب‌ها و ضایعات روی خاک تخلیه می‌شود. تاکنون اثر کبالت خاک بر رشد لوبیا چیتی بررسی نشده است. به منظور بررسی اثر کبالت خاک بر تراکم کبالت و شاخص‌های رشد لوبیا چیتی آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار (۰، ۲۰، ۷۰، ۱۵۰ و۲۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک خشک) در گلخانه دانشگاه شهرکرد در سال 1389 اجرا شد. در پایان مرحله بلوغ فیزیولوژیکی، اندام‌های لوبیا چیتی (برگ، ساقه و ریشه) جدا و پس از اندازه‌گیری سطح برگ، طول ساقه و طول ریشه، وزن‌تر و خشک آن‌ها نیز تعیین شد، سپس میزان کبالت در ساقه، ریشه و برگ خشک شده اندازه‌گیری شد. رابطه‌ی خطی قوی بین غلظت کبالت خاک و تراکم کبالت در برگ، ساقه، ریشه و در بوته لوبیا چیتی دیده شد ($p<0/01$). بیشتر کبالت جذب شده در ریشه لوبیا چیتی انباشته شد. در تیمار۲۰یعنی ۲۰میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک، تمام شاخص‌های رشد (وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته لوبیا چیتی، سطح برگ، طول ساقه و ریشه افزایش یافتند ($p<0/01$)، در غلظت‌های زیادتر کبالت خاک تمام شاخص‌های رشد تحت تأثیر منفی کبالت قرار گرفته و به صورت خطی کاهش یافتند. ضریب آلومتری در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کبالت خاک دارای بیشترین مقدار بود ($p<0/01$) و سپس کاهش یافت. بنابراین، در غلظت‌های کم کبالت رشد ساقه بیشتر از رشد ریشه افزایش می‌یابد، بر عکس بازدارندگی نسبی رشد ریشه در تیمار؛ ۲ معادل ۲۰ میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم، کاهش و با افزایش کبالت خاک افزایش یافت. در مجموع آستانه تحمل لوبیا چیتی به کبالت ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک یا ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی لوبیا تخمین زده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آستانه تحمل کبالت،تراکم کبالت، شاخص‌های رشد، ضریب آلومتری

مقدمه

دانه‌ی لوبیا چیتی[2] (*Phaselous vulgaris*) با 22 درصد پروتئین، 62 درصد نشاسته و 2 درصد چربی و به خاطر داشتن پروتئین زیاد می‌تواند جای خالی پروتئین حیوانی را در خانواده‌های کم درآمد پر کند (باقری و همکاران،1380). لوبیا چیتی گیاهی یک‌ساله است که ریشه‌ی آن از نوع ریشه‌های راست بوده و روی

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: لرستان-خرم آباد خیابان کوی ارتش پشت بیمارستان شفا خیابان نبرد کوچه نبرد یک غربی بلوک 9 قطعه 8. کدپستی6816983693

* دریافت: مهر 1390 و پذیرش: آبان 1391

[2]. pinto bean

ریشه‌های فرعی آن غده‌های حاوی باکتری‌های رایزوبیوم قرار گرفته‌اند (مجنون حسینی، 1372؛ کوچکی و بنایان، 1386) پسماندهای آلی و لجن فاضلاب حاوی مقادیر زیادی عناصر پر مصرف و کم مصرف است و پس از افزایش به خاک می‌تواند رشد و عملکرد گیاه را افزایش دهد. در عین حال این افزودنی‌ها ممکن است حاوی غلظت‌های زیادی از عناصر سنگین از جمله کبالت (با جرم یویژه g/cm^3 756. 8) باشند. از طرف دیگر با مصرف پساب‌های صنعتی برای آبیاری مزارع امکان افزودن کبالت به محیط خاک و انتقال آن به گیاه وجود دارد (حسینی، 1376). همچنین فعالیت‌های انسانی مانند احتراق زغال‌سنگ، معدن‌کاری، فرآوری کانسنگ‌های حاوی کبالت و تولید و استفاده از موادشیمیایی دارای کبالت موجب ورود مقداری از این عنصر شیمیایی به گیاهان می‌شود (لنگستون، 1956). بررسی‌ها حاکی از آن است که عناصر سنگین در غلظت‌های بالا موجب تداخل در رشد گیاهان می‌شوند. مثلاً در گیاه *(Cucumus sativus* L.) غلظت‌های زیاد کادمیوم موجب کاهش رشد شده است (ویلکینز، 1956).

کبالت از عناصر ضروری برای گیاهان به شمار نمی‌رود ولی ممکن است برای رشد گیاهان مفید باشد غلظت‌های نرمال کبالت در گیاهان بین 0/1 تا 10 میکروگرم بر وزن خشک است (باکاس و همکاران، 2005). از طرف دیگر، کبالت احتمالاً در گره‌های ریشه‌های خانواده حبوبات برای تثبیت نیتروژن لازم است (احمد و همکاران، 1960؛ دلویچ و همکاران، 1961). کبالت خاک در غلظت‌های کم حدود 20 mg/kg موجب تشدید فرآیندهای نمو در گیاهان از جمله رنگدانه‌سازی (شرفی و همکاران، 1389)، طویل شدن هیپوکوتیل و گسترش سطح برگ می‌شود (ابراهیم و همکاران،1989). وجود کبالت زیاد در خاک بازدارنده رنگدانه‌سازی و تولید در برگ‌ها بوده (شرفی و همکاران، 1389) و از انتقال مواد غذایی به ریشه جلوگیری و در نهایت منجربه کاهش عملکرد می‌شود (سمریون و رازر، 1979).

میزان انباشت کبالت خاک در اندام‌های مختلف گیاهی با افزایش غلظت‌های کبالت خاک افزایش می‌یابد ولی میزان انباشت در اندام‌های مختلف متفاوت گزارش شده است (کاندیل، 2007). چاترجی و همکاران (2006) بیشترین میزان کبالت در لوبیا سبز را به ترتیب در ریشه، برگ‌های جوان و سپس ساقه مشاهده کردند. در غلظت‌های مختلف کبالت خاک بیشترین میزان انباشت در نخود (*Cicer arietinum* L.) به ترتیب در اندام‌های ساقه، ریشه و برگ بوده است (رحمان خان و محمود خان، 2010). با این حال، تاکنون میزان انباشت کبالت در برخی از پژوهش‌ها حاکی از وجود یک رابطه‌ی خطی بین غلظت فلز سنگین در خاک با تراکم آن در اندام گیاهی است. وجود یک رابطه‌ی خطی بین کبالت خاک و تراکم کبالت در اندام‌های حبوبات مثل لوبیا سبز (چاترجی و همکاران، 2006)، و در باقلا (کاندیل، 2007) نیز مشاهده شده است. (رحمان‌خان و محمودخان، 2010) رابطه‌ی خطی بین غلظت کبالت خاک با تراکم آن در برگ، ساقه و ریشه نخود را به صورت زیر گزارش کرده‌اند:

$S= ۰/۱۶۵ X \quad R^2=۰/۹۷۵$ (1)

$R= ۰/۱۶۷ X \quad R^2= ۰/۹۷۸$ (2)

$L= ۰/۱۰۲ X \quad R^2= ۰/۹۷۵$ (3)

که در این معادلات X: کبالت خاک بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک و S، R و L به ترتیب تراکم کبالت در ساقه، ریشه و برگ نخود بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک است. طبق این معادلات با افزایش کبالت خاک تراکم کبالت در اندام افزایش می‌یابد.

پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که کبالت خاک در غلظت‌های کم اثر مثبت و در غلظت‌های زیاد اثر منفی بر شاخص‌های رشد گیاهان لگوم می‌گذارد. مثلاً کاربرد غلظت کم کبالت (0/05 میلی‌مولار) در محلول غذایی به مدت 35 روز در لوبیا سبز (*Phaselous vulgaris* L.) وزن دانه، وزن زیست‌توده، طول ریشه و ساقه را افزایش ولی غلظت بیشتر از 0/1 میلی‌مولار کبالت در محلول غذایی در همین مدت موجب کاهش شاخص‌های رشد نسبت به شاهد شده است (چاترجی و همکاران، 2006). همچنین، غلظت‌های کم کبالت خاک (0/05 میکروگرم بر گرم کبالت خاک) موجب افزایش معنی‌داری در وزن خشک اندام (ریشه، ساقه، برگ) و زیست‌توده در لوبیا (*Phaselous vulgaris*L.) شده است ولی وزن خشک اندام‌ها در غلظت بیشتر (0/25 میکروگرم بر گرم کبالت خاک) نسبت به شاهد کاهش یافته است (هالووا و همکاران، 2009). به نظر می‌رسد مرز غلظت مفید و غلظت زیاد و مضر برای گیاهان مختلف متفاوت است و حتی ممکن است که این مرز از یک شاخص به شاخص دیگر متفاوت باشد.

تأثیر متفاوت یک تنش را بر دو اندام ساقه و ریشه می‌توان با ضریب آلومتری بیان کرد (کاستلان و همکاران، 2002). اگرچه نسبت ضریب آلومتری تحت تأثیر کنترل ژنتیکی است ولی به طور شدیدی تحت تأثیر محیط نیز می‌باشد، تغذیه گیاه نیز تأثیر بارزی روی نسبت آلومتری دارد. هر چه ضریب آلومتری بزرگتر باشد نشان

دهنده رشد بیشتر ساقه نسبت به ریشه می‌باشد. به منظور بررسی برآورد تأثیر غلظت عناصر سنگین بر رشد گیاه هم می‌توان از شاخص بازدارندگی نسبی رشد استفاده کرد.

علی‌رغم مطالعه‌ی وسیع اثر عناصر سنگین از جمله کبالت بر شاخص‌های رشد گیاهان زراعی و خانواده حبوبات از قبیل لوبیا سبز، باقلا، سویا، ماش به نظر می‌رسد اثر کبالت خاک بر شاخص‌های رشد در لوبیا چیتی مطالعه نشده است، لذا هدف از این تحقیق:1. تعیین رابطه‌ی غلظت کبالت خاک و تراکم کبالت در ریشه و اندام هوایی (برگ و ساقه) لوبیاچیتی؛ 2. مطالعه اثر کبالت خاک بر وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته، سطح برگ، طول‌های ساقه و ریشه در لوبیا چیتی؛ 3. تعیین غلظت مناسب یا مفید کبالت خاک و آستانه خسارت برای شاخص‌های رشد؛ 4 و مطالعه تغییرات ضریب آلومتری و بازدارندگی نسبی کبالت در لوبیا چیتی است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت گلدانی با استفاده از دانه‌های درشت لوبیا چیتی (توده‌های بومی خمین) که دارای رنگ مشابه و شاخص لوبیا چیتی بودند در سال 1389در گلخانه دانشگاه شهرکرد در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و پنج تیمار (0، 20، 70، 150 و 220 میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک خشک) اجرا شد. در مجموع 20 گلدان شماره 7 (ارتفاع و قطر دهانه به ترتیب 25 و20 سانتی‌متر) با بستر کشت 50 درصد کود گاوی، 35 درصد خاک زراعی و 15 درصد ماسه پر شدند. خصوصیات خاک گلدان، در ابتدای آزمایش، به صورت زیر تعیین شد: نیتروژن کل به روش کجلدال (برمنر و مولوینی، 1982)، فسفر قابل جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر به روش اولسن (اولسن و سامرز، 1982) و پتاسیم قابل جذب با استفاده از فلیم‌فتومتر (سیمارد، 1993) انجام گرفت. برای تعیین میزان کبالت خاک عصاره‌گیری نمونه‌ها با DTPA انجام گرفت (لیندزی و نورول، 1978) و میزان کبالت خاک با دستگاه جذب اتمی قرائت شد. pH و هدایت الکتریکی خاک در عصاره اشباع با الکترود (جانزن، 1993) و بافت خاک به روش هیدرومتری (بویوکوس، 1963) تعیین شد.

در هر گلدان چهار بذر که از قبل در ظرف آزمایشگاهی جوانه‌زده بودند در عمق 10 سانتی‌متری قرار داده شدند. در مرحله سه برگی، بوته‌های داخل هر گلدان تنک شدند و دو بوته در هر گلدان باقی ماند. با توجه به وزن خاک خشک هر گلدان (2/460 کیلوگرم) مقدار کلریدکبالت ($CoCl_2.6H_20$) لازم برای هر سطح تیمار محاسبه و در مرحله سه برگی اعمال شد. مقدار کبالت مورد نیاز در آب مقطر حل و به گلدان‌های مربوطه اضافه شد. عملیات داشت از قبیل آبیاری، مبارزه با آفات و بیماری‌ها به صورت مطلوب انجام شد.

در پایان مرحله بلوغ فیزیولوژیکی، از هر گلدان یک بوته برای اندازه‌گیری پارامترهای رشد و یک بوته برای برای تعیین تراکم کبالت بافت گیاهی به کار برده شد. ساقه‌ها از محل طوقه گیاه قطع و برگ‌های هر بوته به آرامی جدا و سطح برگ و طول ساقه اصلی اندازه‌گیری شد. برای تجزیه بافت گیاهی از ساقه اصلی و فرعی استفاده شد. ریشه، ساقه و برگ مربوط به هر تکرار در پاکت‌های جداگانه سریعاً به آزمایشگاه انتقال یافته و وزن‌تر آن‌ها به وسیله‌ی ترازوی آنالیتیک -LIBROR AEU ۲۱۰ (اندازه‌گیری شد. اندام‌ها به صورت جدا در پاکت‌های کاغذی در یک آون تهویه‌دار در دمای 70 درجه سلسیوس به مدت 48 ساعت خشک شدند و با همان ترازو وزن خشک اندام‌ها تعیین شد. طول ریشه یک بوته به آرامی با جدا کردن ریشه اصلی و ریشه فرعی و سپس به وسیله خط‌کش تعیین شد. طول ساقه یک بوته با استفاده از خط‌کش و سطح برگ با استفاده از پلانی‌متر اندازه‌گیری شد (امامی، 1375).

برای تعیین میزان کبالت در ساقه، ریشه و برگ خشک شده، از روش گابریلی و همکاران (1991) استفاده شد. میزان کبالت در عصاره‌های بدست آمده و همچنین کبالت موجود در عصاره خاک به وسیله دستگاه جذب اتمی مدل GBC 932 Plus قرائت شدند.

نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-وکس بررسی و در صورت عدم پیروی از توزیع نرمال، توزیع داده‌ها با استفاده از تبدیل باکس-کاکس به توزیع نرمال تبدیل یا به آن نزدیک شدند. سپس اثرات غلظت‌های مختلف کبالت خاک بر شاخص‌های رشد گیاه لوبیا چیتی با استفاده از تجزیه واریانس بررسی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح 0/05 و 0/01 انجام شد. برای مقایسه‌ی تفاوت معنی‌دار شیب‌های روابط رگرسیونی از رابطه‌ی (4) استفاده شد (GraphPad Software, Inc. 2012):

$$t = \frac{b_n - b_h}{\sqrt{sE(b_n)^z + SE(b_h)^z}} \qquad (4)$$

که در آن: bb و ba شیب‌های خطوط رگرسیون و SE خطای معیار آن‌هاست. مقدار محاسبه شده دارای توزیع t

است که با توجه به مجموع درجه آزادی ba و bb با مقدار مرجع مقایسه می‌شود.

ضریب آلومتری از رابطه‌ی زیر محاسبه شد (کوچکی و سرمدنیا، 1377):

(5)

$$\text{ضریب آلومتری}1 = \left[\frac{\text{وزن خشک ساقه}}{\text{وزن خشک ریشه}}\right] \times ۱۰۰$$

به منظور بررسی برآورد تأثیر غلظت عناصر سنگین بر رشد گیاه از شاخص بازدارندگی نسبی رشد استفاده شد (کوچکی و سرمدنیا، 1377):

وزن خشک ساقه

(6)

$$\text{بازدارندگی‌نسبی‌رشد} = \left[\frac{\text{طول ریشه در تیمار موردنظر} - \text{طول ریشه در تیمار شاهد}}{\text{طول ریشه در تیمار شاهد}}\right] \times 100$$

محاسبات آماری شامل تبدیل باکس-کاکس، ANOVA، مقایسه میانگین‌ها، ترسیم نمودارها و رگرسیون با استفاده از STATISTICA 8 محصول شرکت (Statsoft Inc, 2008) انجام شد.

نتایج

واکنش خاک (pH)، هدایت الکتریکی (ECe) و غلظت برخی عناصر در خاک گلدان در جدول 1 داده شده است. خاک بستر کاشت دارای بافت لوم بود و حاوی کبالت نبود. داده‌های تراکم کبالت در ریشه، ساقه، برگ و وزن‌های خشک ساقه و ریشه دارای توزیع نرمال نبودند از این رو تبدیل باکس-کاکس روی آن‌ها اعمال شد.

اثر کبالت خاک بر تراکم کبالت در ریشه، ساقه و برگ معنی‌دار بود ($p<0/01$). نتایج مقایسه‌ی میانگین در جدول 2 داده شده است.

غلظت‌های مختلف کبالت خاک موجب ایجاد تفاوت معنی‌داری در تراکم کبالت در برگ، ساقه و ریشه لوبیا چیتی شده است ($P>0.05$). همان‌طور که مشاهده می‌شود (جدول 2) در هر تیمار، تراکم کبالت در ساقه و در برگ شبیه بوده ولی در هر تیمار تراکم کبالت در ریشه از تراکم کبالت در ساقه و یا برگ بیشتر است (بین 1/4 تا 1/8 برابر). با افزایش کبالت خاک نسبت کبالت در اندام هوایی (مجموع تراکم کبالت در برگ و ساقه) به کبالت ریشه از 1/1 برابر به 1/6 برابر افزایش می‌یابد.

بین تراکم کبالت در اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) و اندام زیرزمینی (ریشه) با غلظت کبالت خاک یک رابطه‌ی خطی قوی وجود دارد (شکل 1). آزمون عرض از مبدأ خطوط رگرسیون نشان داد که این خطوط همگی از مبدأ می‌گذرند ($\alpha=0/01$). ضمناً در شکل رابطه‌ی خطی ساده کبالت در اندام هوایی و بوته لوبیا چیتی با کبالت خاک نیز نشان داده شده است. این دو به ترتیب از مجموع تراکم کبالت در برگ و ساقه و تراکم بوته از تراکم کبالت در برگ، ساقه و ریشه محاسبه شده‌اند. ضرایب تعیین خطوط از 0/97تا 0/99 تغییر می‌کنند و نشان دهنده‌ی قدرت زیاد این روابط خطی هستند.

ضریب رگرسیون تراکم کبالت ساقه با کبالت خاک (2/4) شبیه ضریب رگرسیون تراکم کبالت برگ با کبالت خاک (2/5) است ($P<0/05$). ولی این دو ضریب کوچک‌تر از شیب رگرسیون تراکم کبالت ریشه-تراکم کبالت خاک هستند (**$p<0/01$**). ضمناً شیب تراکم کبالت در اندام هوایی از شیب تراکم کبالت در ریشه بزرگتر است ($P<0/05$). این بدان معنی است که با افزایش کبالت خاک مجموع کبالت متراکم در اندام هوایی از کبالت متراکم شده در ریشه فاصله بیشتری می‌گیرد (شکل 1).

با توجه به شیب خط (کبالت کل گیاه) در شکل 1، به ازای هر میلی‌گرم کبالت اضافه شده به خاک کمتر از یک درصد کبالت در گیاه لوبیا چیتی تجمع می‌یابد. از این مقدار کمتر از نیمی در ریشه، یک چهارم درصد در ساقه و یک چهارم درصد در برگ انباشته می‌شود. این مطلب نشان دهنده‌ی تراکم بیشتر کبالت در ریشه در مقایسه با برگ و یا ساقه است.

کبالت خاک بر وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته اثر گذاشت ($P<0/05$). میانگین وزن‌های برگ، ساقه، ریشه و بوته لوبیاچیتی در برابر کبالت خاک در شکل 2 مقایسه شده است. با توجه به شکل ۲ غلظت‌های نسبتاً کم کبالت خاک (20 میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر مثبتی بر وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته گذاشت ($p<0/01$). افزایش بیشتر کبالت خاک تأثیر منفی بر این شاخص‌ها داشت. مثلاً وقتی کبالت خاک حدود 220 میلی‌گرم بر کیلوگرم باشد وزن خشک اجزاء و بوته کمتر از شاهد خواهد بود ($p<0/01$).

به منظور تخمین حد تحمل کبالت خاک توسط شاخص‌های وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته خط رگرسیونی بر پاسخ‌ها در تیمارهای 3 تا 5 برازش شده است. معادله‌ی هر خط در نمودار مربوطه در شکل 2 داده شده است. تمام خطوط رگرسیون دارای شیب منفی هستند که به معنی کاهش وزن اجزاء و بوته لوبیا چیتی با

[1] Root-Shoot Allometric coefficient

افزایش کبالت خاک فراتر از یک آستانه است. شیب‌ها به ترتیب برای وزن های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته لوبیاچیتی0/006-، 0/003-، 0/001- و 0/010- می‌باشد. معنی‌دار بودن شیب خط رگرسیون مربوط به وزن خشک بوته (P<0/05) بدان معنی است که با افزایش کبالت خاک و جذب بیشتر آن به وسیله لوبیا چیتی وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد.

محل تقاطع خط رگرسیون با خط افقی میانگین شاهد نقطه شروع کاهش شاخص قلمداد شده است. خط عمود از این نقطه بر محور x غلظتی از کبالت خاک را نشان می‌دهد که می‌توان آن را آستانه آسیب کبالت خاک نامید. در کمتر از این آستانه، گیاه کبالت را کاملاً تحمل می‌کند و حتی در ابتدای این بازه کبالت برای گیاه مفید است. در مقادیر بیشتر از این آستانه، اثر مضر کبالت خاک بر وزن خشک اندام‌ها شروع می‌شود تا این که شاخص به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یابد. با توجه به شکل 2 به نظر می‌رسد آستانه آسیب کبالت خاک برای شاخص‌های وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته لوبیا چیتی حدود 50، 80، 80 و 60 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک می‌باشد.

میانگین سطح برگ، طول ساقه و طول ریشه لوبیا چیتی در سطوح تیمار در نمودارهای شکل ۳ مقایسه شده است. غلظت‌های مختلف کبالت خاک بر سطح برگ، طول‌های ریشه و ساقه مؤثر بود (P<0/05). با توجه به شکل ۳ مشاهده می‌شود که در غلظت‌های کم کبالت خاک (20 میلی‌گرم بر کیلوگرم) ابتدا سطح برگ، طول ریشه و طول ساقه افزایش یافته است. سپس با افزایش غلظت کبالت خاک این شاخص‌ها کاهش یافته‌اند. مثلاً از غلظت 150 میلی‌گرم کبالت خاک بر کیلوگرم به بعد تفاوت معنی‌داری در طول‌های ساقه و ریشه نسبت به شاهد مشاهده می‌شود**(p<0/01)**. از آن جایی که این روند برای طول‌های ریشه، ساقه و سطح برگ مشابه است به نظر می‌رسد که غلظت کم کبالت خاک اثر مثبت و غلظت زیاد آن اثر منفی بر شاخص‌های مذکور دارد.

به منظور تخمین آستانه تحمل شاخص‌های سطح برگ، طول ساقه و طول ریشه خط رگرسیونی بر پاسخ‌ها در مقابل غلظت کبالت خاک (سطوح تیمار) برازش شده است. معادله‌ی هر خط در نمودار مربوطه در شکل 3 داده شده است. شیب تمام خطوط منفی و از قرار ۰/۱۱۳- (سطح برگ)، ۰/۰۳۱- (طول ساقه اصلی) و ۰/۰۶۶- (طول ریشه) است، و این بدان مفهوم است که با افزایش کبالت خاک، فراتر از یک آستانه، سطح برگ و طول‌های ساقه و ریشه کاهش می‌یابند. به نظر می‌رسد غلظت‌های 60 و 80 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک خشک حد تحمل کبالت خاک به ترتیب برای سطح برگ و طول ریشه باشد و خسارت به این دو شاخص به ترتیب بعد از این غلظت‌ها اتفاق می‌افتد.

اثر کبالت خاک بر ضریب آلومتری معنی‌دار بود (P<0/05). در غلظت 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم کبالت خاک ضریب آلومتری افزایش یافت. این بدان مفهوم است که در حدود این غلظت کبالت خاک وزن خشک ساقه نسبت به وزن خشک ریشه بیشتر افزایش می‌یابد (شکل 4). در غلظت‌های زیادتر کبالت خاک ضریب آلومتری روندی کاهشی نشان می‌دهد، یعنی وزن خشک ساقه بیشتر از وزن خشک ریشه آسیب می‌بیند. مقایسه بین شیب کاهش وزن خشک ساقه (۰/۰۰۳-) با شیب کاهش وزن خشک ریشه (۰/۰۰۱-) با افزایش کبالت نیز این نکته را آشکار می‌کند (شکل2).

به نظر می‌رسد غلظت‌های 60 و 80 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک خشک حد تحمل کبالت خاک به ترتیب برای سطح برگ و طول ریشه باشد و خسارت به این دو شاخص به ترتیب بعد از این غلظت‌ها اتفاق می‌افتد.

اثر کبالت خاک بر ضریب آلومتری معنی‌دار بود (P<0/05). در غلظت 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم کبالت خاک ضریب آلومتری افزایش یافت این بدان مفهوم است که در حدود این غلظت کبالت خاک وزن خشک ساقه نسبت به وزن خشک ریشه بیشتر افزایش می‌یابد (شکل 4). در غلظت‌های زیادتر کبالت خاک ضریب آلومتری روندی کاهشی نشان می‌دهد، یعنی وزن خشک ساقه بیشتر از وزن خشک ریشه آسیب می‌بیند. مقایسه بین شیب کاهش وزن خشک ساقه (۰/۰۰۳-) با شیب کاهش وزن خشک ریشه (0/001-) با افزایش کبالت نیز این نکته را آشکار می‌کند (شکل2).

کبالت خاک ابتدا بازدارندگی نسبی رشد را کاهش و سپس افزایش داد (p<0/01). همان طور که در شکل 4 مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کبالت خاک تا حدود، 20 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم بازدارندگی کبالت کمتر از تیمار شاهد است.

با افزایش غلظت کبالت خاک بازدارندگی افزایش می‌یابد ولی تا حدود 100 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک بازدارندگی از حالت شاهد کمتر نیست، از این نقطه به بعد (100 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک) بازدارندگی به صورت خطی افزایش می‌یابد.

بحث

بین کبالت خاک و تراکم کبالت در اندام‌های مختلف لوبیاچیتی و بوته آن رابطه‌ی خطی قوی وجود دارد، رابطه‌ی خطی بین کبالت خاک و کبالت جذب شده به اندام‌های (برگ، ساقه و ریشه) حبوبات مانند نخود (رحمان‌خان و محمودخان، 2010)، لوبیا سبز (چاترجی و همکاران، 2006) و باقلا (کاندیل، 2007) نیز گزارش شده است.

روابط خطی بین غلظت کبالت خاک با تراکم کبالت در برگ، ساقه و ریشه در این مطالعه از نظر شکل و ضریب تعیین (R^2) مشابه روابط خطی رحمان‌خان و محمودخان (2010) هستند. با این حال شیب‌های روابط به دست آمده برای لوبیا چیتی در مطالعه حاضر بسیار بزرگ‌تر از شیب‌های روابط متناظر در مطالعه‌ی رحمان‌خان و محمودخان (2010) است. در مطالعه‌ی حاضر روابط زیر به دست آمد (شکل1):

که در این معادلات X: کبالت خاک بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک و R، S، L، A و P به ترتیب تراکم کبالت در ریشه، ساقه، برگ، اندام هوایی و بوته لوبیا چیتی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک است. به نظر می‌رسد گیاهان مختلف قدرت متفاوتی در جذب کبالت خاک دارند. در واقع جذب کبالت در اندام‌های برگ، ساقه و ریشه لوبیاچیتی 14 تا 24 بیشتر بالاتر از جذب این عنصر به اندام‌های نخود در مطالعه رحمان‌خان و محمودخان (2010) است. این مطلب حاکی از این است که کارآیی جذب کبالت توسط لوبیا چیتی احتمالاً بالاتر از کارایی جذب این عنصر توسط نخود است.

انباشت کبالت جذب شده در برگ، ساقه و ریشه لوبیا چیتی یکسان نیست و بیشترین تراکم کبالت در ریشه لوبیا چیتی رخ می‌دهد. طی بررسی‌های به عمل آمده دیگر هم گیاهان خانواده حبوبات بیشترین کبالت را در ریشه ذخیره می‌کنند (چاترجی و همکاران، 2006؛ گد و کاندیل، 2009). به نظر می‌رسد تراکم بیشتر کبالت در ریشه لوبیا چیتی نشان دهنده نقش مفید کبالت در فعالیت باکتری‌های ریزوبیوم باشد (احمد و همکاران،1960؛ دلویچ و همکاران، 1961). با این حال، غلظت‌های بالای این عنصر موجب ایجاد سمیت و حتی تداخل در فعالیت فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود (الشیخ و همکاران، 2003 ؛ پارمار وچاندا، 2005 ؛ جایاکومار و همکاران، 2009).

افزایش غلظت کبالت خاک و تراکم آن در اندام‌های هوایی، شاخص‌های رشد گیاهان زراعی را کاهش می‌دهد (چاترجی و همکاران، 2006؛ هالووا و همکاران، 2009؛ جایاکومار و همکاران، 2009؛ جلیل و همکاران، 2009؛ کاندیل، 2007؛ رحمان خان و محمودخان، 2010). افزایش بیش از حد غلظت کبالت خاک و جذب بیشتر آن سبب شده است تا تمامی شاخص‌های رشد لوبیا چیتی (وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته، سطح برگ، طول‌های ساقه و ریشه) و ضریب آلومتری به طور خطی کاهش یابند. تراکم زیاد کبالت در سطوح بالا شاید بازدارنده رشد ریشه به صورت مستقیم به وسیله ممانعت از تقسیم سلولی یا ممانعت ازطویل شدن سلول‌ها و یا ترکیبی از هر دو عمل کند (گریگوری و برادشاو، 1965).

با وجود این که ریشه لوبیاچیتی توانایی ذخیره میزان بالاتری از کبالت را نسبت به برگ یا ساقه دارد ولی این اندام نظیر دیگر اندام‌ها به غلظت‌های بالای کبالت حساس بوده و شاخص‌های طول و وزن ریشه با افزایش کبالت روندی کاهش نشان می‌دهند. مثلاً مقایسه بین شیب کاهش طول ریشه (0/066) با شیب کاهش طول ساقه (۰/۰۱٤) در برابر کبالت خاک، علی‌رغم حد تحمل نسبتاً بالای ریشه به کبالت خاک (80 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم) که قابل توجه می‌باشد، نشان می‌دهد که طول ریشه در غلظت‌های زیاد کبالت خاک از طول ساقه حساس‌تر است (شکل3). گفته می‌شود کبالت برای لگوم‌ها یک عنصر ضروری است زیرا موجب تأثیر مثبت بر فعالیت باکتری رایزوبیوم در تثبیت نیتروژن جو می‌شود. برگ در گیاهان زراعی از جمله لوبیا چیتی مهم‌ترین اندام تولید است. احتمالاً کبالت در غلظت‌های بالا از طریق کاهش در وزن برگ و کاهش سطح برگ که به دلیل کاهش در تعداد سلول‌های برگ است موجب خسارت می‌شود (پللوآرد و همکاران، 2002). غلظت‌های بیش از حد کبالت می‌تواند موجب کاهش سطح برگ و به دنبال آن کاهش دریافت نور و کاهش تراکم رنگدانه شود (شرفی و همکاران، 1389)، و در نهایت افت عملکرد را در پی داشته باشد. کاهش سطح برگ در گیاهان مختلف در اثر عناصر سنگین توسط پژوهشگران دیگر هم بیان شده است (گریگوری و برادشاو، 1965؛ کلمنس، 2001). مثلاً کاهش سطح برگ در گیاه (*Raphanus sativa* L.) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کبالت (جایاکومار و همکاران، 2007)، کاهش سطح برگ گندم (*Triticum aestivum* L.) در اثر غلظت‌های مختلف نیکل (ستیا و همکاران، 1988) و کاهش سطح برگ گندم در غلظت‌های بالای کرومیوم توسط شارما و شارما (1993) گزارش شده است.

ضریب آلومتری یکی از معیارهای شدت فتوسنتز در گیاهان است (علیزاده، 1385). در غلظت 20 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک هم وزن ریشه و هم وزن ساقه افزایش معنی‌داری یافت. درعین حال، در همین غلظت کبالت ضریب آلومتری نیز افزایش معنی‌داری یافت که حاکی از اثر مثبت این غلظت کبالت بر ساقه لوبیا چیتی در مقایسه با ریشه آن است. نسبت طول ساقه به طول ریشه در همین غلظت (حدود 2/4) نیز اثر مثبت کبالت کم خاک را بر ساقه در مقایسه با ریشه نشان می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد که فتوسنتز لوبیا چیتی در این محدوده‌ی غلظتی به حداکثر می‌رسد.

بازدارندگی نسبی رشد شاخصی است که واکنش ریشه را در پاسخ به تیمار اعمال شده مشخص می‌کند. غلظت‌های پایین کبالت خاک بازدارندگی نسبی رشد را کاهش داده است (شکل 4). این بدان مفهوم است که در این غلظت سیستم ریشه‌ای لوبیا چیتی گسترش یافته و قادر به جذب بیشتر آب و عناصر غذایی می‌باشد. در غلظت‌های بیش از حد کبالت تأثیر معکوس و منفی بر گسترش ریشه و در نتیجه جذب آب و عناصر غذایی داشته و در نهایت منجربه کاهش تولید می‌شود. در این مطالعه، نتایج شاخص بازدارندگی رشد مکمل نتایج شاخص آلومتری در لوبیا چیتی است.

نتیجه‌گیری

1- بین غلظت کبالت خاک و تراکم آن در اندام‌های لوبیا چیتی (برگ، ساقه و ریشه) رابطه‌ی خطی مستقیم و قوی وجود دارد.

2- رابطه‌ی خطی کبالت خاک و تراکم کبالت در ریشه لوبیاچیتی قوی‌تر از نظیر آن در برگ و ساقه است. به عبارت دیگر،و بیشترین انباشت کبالت در ریشه لوبیاچیتی صورت می‌گیرد.

3- کبالت خاک در مقادیر کم (یعنی حدود 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر مثبتی بر شاخص‌های رشد لوبیا چیتی دارد. این غلظت کبالت خاک معادل 100 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی است. در غلظت‌های زیادتر کبالت خاک شاخص‌های رشد و تولید لوبیاچیتی به صورت منفی تحت تأثیر قرار می‌گیرند.

4- تا یک حد آستانه، شاخص‌های رشد لوبیاچیتی کبالت را تحمل می‌کنند بدون آن که اثر منفی کبالت آشکار شود. آستانه‌ی تحمل شاخص‌های رشد لوبیا چیتی به کبالت خاک متفاوت و مطابق جدول 3 است. آستانه‌ی تحمل کلی لوبیا چیتی را می‌توان 70 میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک خشک در نظر گرفت. با توجه به شکل 1، این آستانه تحمل معادل 600 و 350 میلی‌گرم کبالت بر وزن خشک به ترتیب در کل بوته و اندام هوایی است.

5- فراتر از آستانه تحمل، با افزایش کبالت خاک شاخص‌های رشد به صورت خطی کاهش می‌یابند.

6- کاهش در تمام شاخص‌های رشد لوبیا چیتی در غلظت‌های بالای کبالت خاک سبب می‌شود که رشد و تولید تحت تأثیر قرار گرفته و نهایتاً عملکرد لوبیا چیتی کاهش یابد.

پیشنهاد می‌شود که در پژوهشهای آینده سطوح بیشتری از کلریدکبالت در آزمایش‌ها گنجانده شود تا اطلاعات دقیق‌تری از حد مفید و حد قابل تحمل کبالت خاک بر شاخص‌های رشد در لوبیا چیتی حاصل شود.

جدول 1- واکنش، هدایت الکتریکی و غلظت برخی عناصر در خاک گلدان

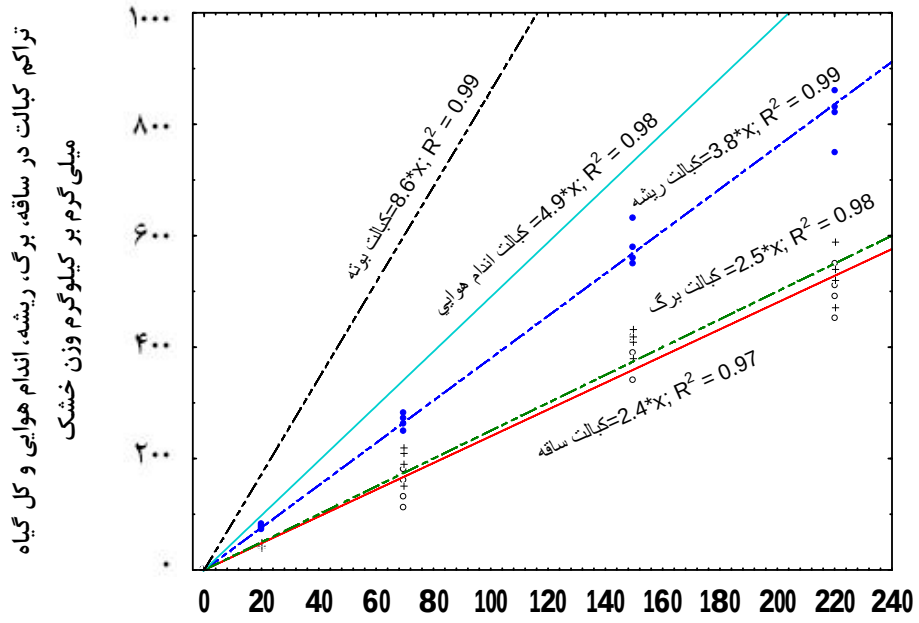
مشخصه	pH	ECe	کل N	P قابل جذب	K قابل جذب	کبالت*
		dS/m	%	mg/kg		
مقدار	6/72	۰/۰۵٤	۰/۰۸	٤/٥	۲/۳	۰۰/۰

*کبالت استخراج شده با DTPA

جدول 2- میانگین تراکم کبالت در برگ، ساقه و ریشه لوبیا چیتی در تیمارهای آزمایشی

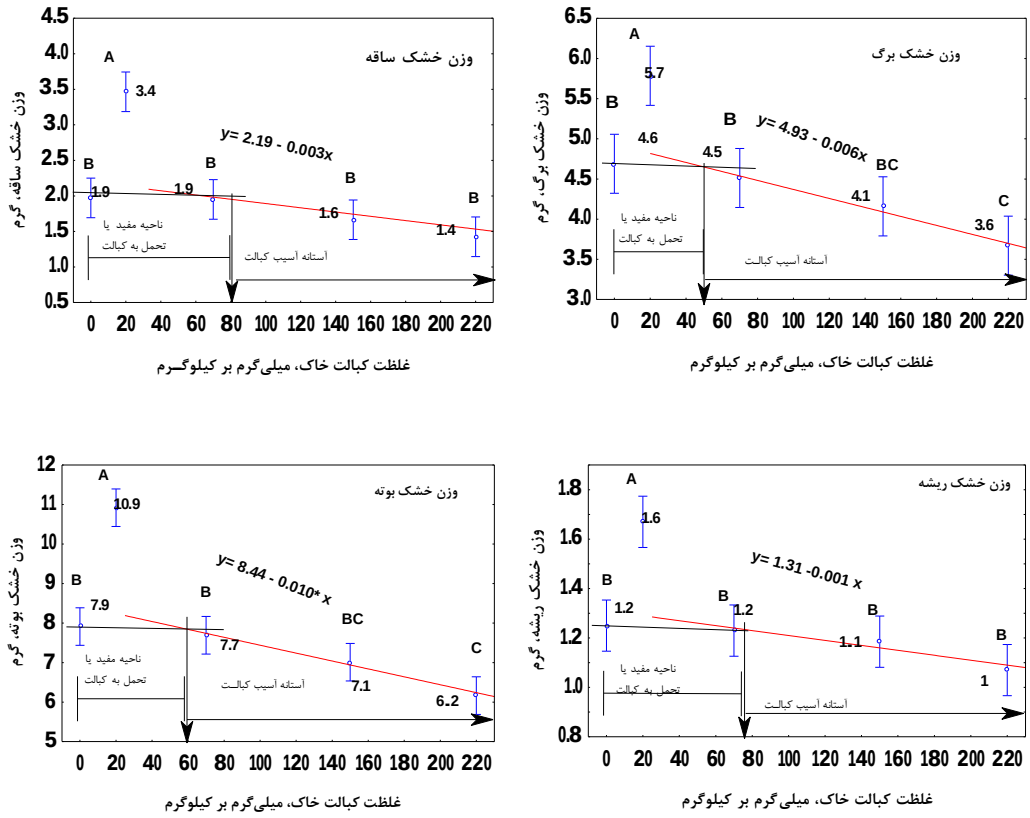
تیمار	کلریدکبالت خاک	برگ	ساقه	ریشه
	mg/kg		mg/kg	
۱، شاهد	0	0 e	0 e	0 e
۲	۲۰	۴۴ d	۴۲ d	۷۷ d
۳	۷۰	۱۹۲ c	۱۴۵ c	۲۶۵ c
۴	۱۵۰	۴۱۰ b	۳۹۰ b	۵۸۰ b
۵	۲۲۰	۵۳۰ a	۵۰۰ a	۸۱۵ a

در هر ستون حروف متفاوت نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح 1 است.

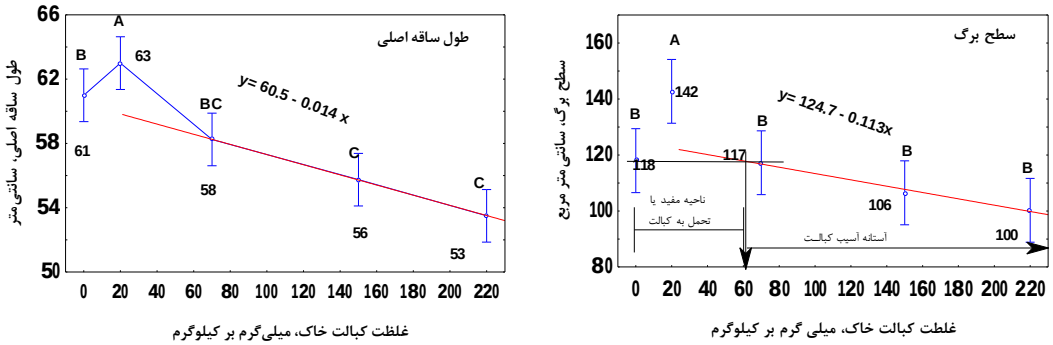


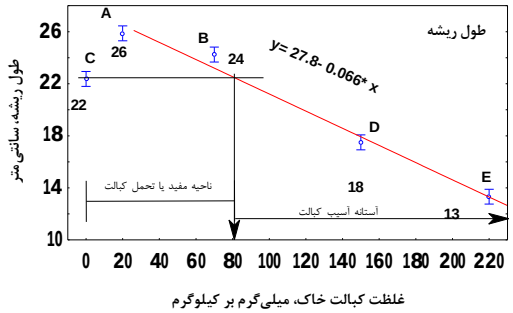
غلظت کبالت خاک، میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک

شکل 1- روابط خطی غلظت کبالت خاک با تراکم کبالت در ریشه (●)، تراکم کبالت در برگ (+)، تراکم کبالت در ساقه (○)، کبالت اندام هوایی و کبالت بوته

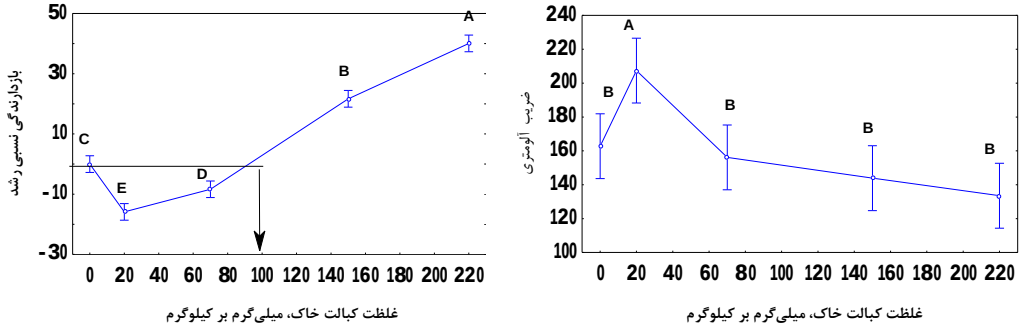


شکل 2- اثر کبالت خاک بروزن خشک برگ (بالا سمت راست)، وزن خشک ساقه (بالا سمت چپ)، وزن خشک ریشه (پایین سمت راست)، وزن خشک بوته (پایین سمت چپ). میله‌های خطا ± خطای معیار را نشان می‌دهد. برای هر شاخص، حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است ($p<0/01$).





جدول 3 - اثر کبالت خاک بر سطح برگ (سمت راست)، طول ساقه (سمت چپ) طول ریشه (پایین سمت چپ). میله‌های خطا ± خطای معیار را نشان می‌دهد. در هر نمودار، حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین‌های هر شاخص در سطوح تیمار بر اساس آزمون دانکن است (P<0/05)



جدول 4- اثر کبالت خاک بر ضریب آلومتری (سمت راست) و بازدارندگی نسبی رشد (سمت چپ). میله‌های خطا ± خطای معیار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت انگلیسی نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است (p<0/01)

ریشه	R = ۳/۸ X	R^2 =۰/۹۷	[۷]
ساقه	S = ۲/۴ X	R^2 =۰/۹۷	[۸]
برگ	L = ۲/۵ X	R^2 =۰/۹۸	[۹]
اندام هوایی	A = ۴/۹ X	R^2 =۰/۹۸	[۱۰]
کل بوته	P = ۸/۶ X	R^2 =۰/۹۹	[۱۱]

جدول 3- آستانه‌ی تحمل برخی شاخص‌های رشد لوبیا چیتی به کبالت خاک (mg/kg)

شاخص	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک بوته	سطح برگ	طول ریشه
آستانه‌ی تحمل	۵۰	۸۰	۸۰	۶۰	۶۰	۸۰
میانگین تقریبی	میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک۷۰					

فهرست منابع:

1. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. مؤسسه تحقیقات آب و خاک کشور. نشریه فنی شماره ۹۸۲.
2. باقری، ع. محمودی، ع.ا. و دین قزلی، ف. ۱۳۸۰. زراعت و اصلاح لوبیا. جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۵۶ صفحه.
3. حسینی، ر. ۱۳۷۶. آلودگی‌های منابع آب و برنامه‌ریزی جهت کاهش آلودگی‌ها. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته برنامه‌ریزی و مدیریت محیط زیست. دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران.
4. شرفی، م. رنجبر، ا. و بیگی هرچگانی، ح. 1389. تأثیر غلظت‌های مختلف کبالت بر کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل در لوبیا چیتی. مجله پژوهش آب و خاک تبریز. در دست داوری.
5. کوچکی، ع. و بنایان، م. ۱۳۶۸. زراعت حبوبات. انتشارات جاوید. ۲۳۶ صفحه.
6. کوچکی، ع. و سرمدنیا، غ. 1377. فیزیولوژی گیاهان زراعی (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. 467 صفحه.
7. مجنون حسینی، ن. 1372. حبوبات در ایران. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران. 240 صفحه.
8. Ahmed, S., and H.J. Evans. 1960. Cobalt, a micronutrient element for the growth of soybean plants under symbiotic conditions. Soil Science. 90:205-210.
9. Bakkaus, E.B., B. Gouget, J.P. Gallien, H. Khodja, F. Carrot, J.L. Morel, and R. Collins. 2005. Concentration and distribution of cobalt in higher plants : The use of micro-PIXE spectroscopy . Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B. 231:350-356.
10. Bouyoucos, C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agronomy Journal. 54:464-465.
11. Bremner, J.M., and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-total. In: Page A.L., Miller R.H. Keene D.R. (eds), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison. 595-624.
12. Castelan, M., P. Vivin, and J.P. Gaudillere. 2002. Allometric relationships to estimate seasonal above ground vegetative and reproductive biomass of *Vitis vinifera* L. Annals of Botany. 89:401-408.
13. Chatterjee, C., R. Gopal, and B.K. Dub. 2006. Physiological and biochemical responses of French bean to excess cobalt. Journal of Nutrition. 29:127-136.
14. Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta. 212:475-486.
15. Delwiche, C.C., C.M. Johnson, and H.M. Reisenauer. 1961. Influence of cobalt on nitrogen fixation by medicago. Plant Physiology. 36:73-78.
16. EL-Sheekh, M.M., A.H. EL-Nagger M.E.H. Osman and E. EL-Mazaly. 2003. Effect of cobalt on growth, pigments and the photosynthetic electron transport in *Monoraphidium minutum* and *Nitzchia perminuta*. Journal of Plant Phsiology 15:159-166.
17. Gabrielli, R., C. Mattioni, and O. Vergnano. 1991. Accumulation mechanism and heavy metal tolerance of a nickel hyperaccumulator. Journal of Plant Nutrition. 14:1067-1080.
18. Gad, N., and H. Kandil. 2009. The influence of cobalt on Sugar beet *Beta vulgaris* L. production. International Journal of Academic Research. 1(2):52-58.
19. GraphPad Software, Inc. 2012. Comparing fits to two sets of data (same equation). http://graphpad.com/curvefit/1_model__2_datasets.htm. Accessed on 10 July 2012.
20. Gregory, R.P.G., and A.D. Bradshaw. 1965. Heavy metal tolerance in population of *Agrosis tenuis* Sibth. and other grasses. New Phytologist. 61:131-143.
21. Hallova, H., S. Sozudogrus, and S. Taban. 2009. Effect of cobalt on some physiological parameters of common bean *Phaseolus vulgaris* L. Asian Journal of Chemistry. 21(4):3307-3309.

22. Ibrahim, A., S.O. El-Abd, and A.S. El-Beltage. 1989. A possible role of cobalt in salt tolerance of plant. Egyption Journal of Soil Science. 14:359-370.
23. Jaleel, A.C., K. Jayakumar, and Z. Chang-xing, M.M. Azooz. 2009. Antioxidant protentials protect *Vigna radiate* L. wilczek plants from soil cobalt stress and improve growth and pigment composition. Plant Omics Journal. 2(3):120-126.
24. Janzen, H.H. 1993. Soluble salts. In: Carter MR (ed), Soil sampling and methods of analysis. Lewis, Boca Ratoon, FL. 161-166.
25. Jayakumar, K., A.C. Jaleel, and P. Vijayarengan. 2007. Changes in growth, biochemical constituents, and antioxidant potentials in radish *Raphanus sativa* L. under cobalt stress. Turkish Journal of Botany. 31:127-136.
26. Jayakumar, K., A.C. Jaleel, M. Azooz, P. Vijayarengan**,** M. Gomathinayam, and R. Panneerselvam. 2009. Effect of different concentrations of cobalt on morphological parameters and yield components of soybean. Global Journal of Molecular Sciences. 4(1):10-14.
27. Kandil, H. 2007. Effect of cobalt fertilizer on growth, yield and nutrients of Faba bean *Vicia faba* L. plants. Applied Sciences. 3(9):876-872.
28. Langston, R. 1956. Studies on marginal movements of cobalt-60 in cabbage. Proceedings of American Society of Horticulture Science. 68:366-369.
29. Lindsay, W.L., and W.A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Socity of America Journal. 42:421-428.
30. Olsen, S.R., and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: Page A.L., Miller R.H. Keeney D.R. (eds), Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison. 403-430.
31. Parmar G. and V. Chanda. 2005. Effects of mercury and chromium on peroxidase and IAA oxidase enzymes in the seedlings of *Phaseolus vulgaris* L. Turkish Journal of Biology. 29:15-21.
32. Rahman Khan, M., and M. Mahmud Khan. 2010. Effect of varying concentrations of nickel and cobalt on the plant growth and yield of chick pea. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 4(6): 1036-1046.
33. Samaryoon, A.B., and W.E. Rauser. 1979. Carbohydrate level and photoassimilation export from leaves of *Phaseolus vulgaris* L. exposed to excess cobalt, nickel and zinc. Plant Physiology. 63:1165-1169.
34. Setia, R.C., J. Kaila and C.P. Malik. 1988. Effect of $NiCl_2$ toxicity on stem growth and early development in *Triticum aestivum* L. Phytomorphology. 38:21-27.
35. Sharma D.C. and C.P Sharma. 1993. Chromium uptake and its effects on growth and biological yield of wheat. Cereal Research Communications. 21:317-322.
36. Simard, R.R. 1993. Ammonium acetate-extractable elements. In: Carter M.R. (ed), Soil sampling and methods of analysis, Boca Raton, FL, USA, Lewis Publishers. Pp. 390-420.
37. Statsoft Inc. 2006. STATISTICA (statistical data analysis system). Version 8.0. www.Statsoft.com.
38. Wilkins D.A. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. New Phytologist. 80:23-33.