

## Evaluation of Methods Proposed by ICARDA and the Soil Science Society of America for Determination of Soil Available Boron

KARIM SHAHBAZI<sup>1\*</sup>, ARZHANG FATHI GERDELIDANI<sup>2</sup>

1. Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

2. Department of Soil Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

(Received: July. 26, 2020- Revised: Sep. 7, 2020- Accepted: Sep. 14, 2020)

### ABSTRACT

Because the range between boron (B) deficiency and toxicity thresholds in soils for many plants is very short, accurate evaluation of available soil B status by soil testing is necessary for proper use of B fertilizer. This study was conducted to compare ICARDA and Soil Science Society of America (SSSA) procedures as the most commonly used methods to determine available soil B. A total of 20 surface soils with different physical and chemical properties were selected and their available B concentration was measured by ICP method and the colorimetric procedures proposed by ICARDA and SSSA. The effect of activated carbon application and the presence of suspended colloids on B concentration was also investigated. Mean available B concentration in the soils for ICARDA and SSSA methods by ICP were 2.59 and 2.86 mg/kg, whereas those by azomethine-H were 2.43 and 2.69 mg/kg, respectively. The relationship between B measured by ICP and azomethine-H for SSSA indicated a higher correlation ( $r^2 = 0.991$ ) and a better fit to 1:1 line than ICARDA ( $r^2 = 0.978$ ). Mean B concentrations were 2.86 mg/kg using hot 0.02 M  $\text{CaCl}_2$  and 2.84 mg/kg using hot water. The use of activated carbon decreased B in extracts significantly. The mean of available B extracted from the soils using hot water with carbon was 2.59 mg/kg, whereas it was 2.84 mg/kg without carbon. Use of 0.2, 0.4 and 0.6 g carbon per 40 ml of B solutions with different initial concentrations yielded the mean B recovery of 104.9, 100.4 and 97.6%, respectively. Because of suspended colloids, B concentrations in extracts filtered through Whatman 40 filter-paper were higher than those filtered through Whatman 42. Without the use of carbon, predicted error in B determination due to color in extract ranged from 0 to 0.88 mg  $\text{kg}^{-1}$ . Generally, the SSSA method measured available soil B more accurate than ICARDA and it is therefore recommended to use.

**Keywords:** Available Soil B, Azomethine-H, ICP, ICARDA, SSSA.

## ارزیابی روش‌های پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا برای تعیین بور قابل دسترس خاک

کریم شهبازی<sup>۱\*</sup>، ارژنگ فتحی گردلیدانی<sup>۲</sup>

۱. موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲. گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۵ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۶/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۶/۲۴)

### چکیده

به دلیل فاصله کوتاه بین آستانه کمبود و سمیت بور در خاک‌ها برای بسیاری از گیاهان، ارزیابی دقیق وضعیت بور از طریق آزمون خاک برای استفاده صحیح از کود بور ضروری است. این پژوهش جهت مقایسه دو روش پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا (SSSA) به عنوان رایج‌ترین روش‌های اندازه‌گیری بور قابل دسترس خاک انجام شد. تعداد ۲۰ نمونه خاک سطحی با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف انتخاب و غلظت بور قابل دسترس آن‌ها با ICP و روش‌های رنگ‌سنجی پیشنهادی ایکاردا و SSSA اندازه‌گیری شد. اثر کاربرد کربن فعال و حضور ذرات کلئیدی معلق بر غلظت بور نیز بررسی شد. نتایج نشان داد میانگین غلظت بور قابل دسترس در خاک‌ها برای روش‌های ایکاردا و SSSA با ICP به ترتیب ۲/۵۹ و ۲/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، در حالی که با آزمون‌های ICP به ترتیب ۲/۴۳ و ۲/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. رابطه بین بور اندازه‌گیری شده با ICP و آزمون‌های ICP در روش SSSA از همبستگی بالاتر ( $r^2 = 0.991$ ) و تطابق بهتر با خط ۱:۱ نسبت به روش ایکاردا ( $r^2 = 0.978$ ) برخوردار بود. میانگین بور استخراج شده با کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ و آب داغ به ترتیب ۲/۸۶ و ۲/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. افزودن کربن سبب کاهش معنی‌دار بور محلول شد. میانگین بور استخراج شده از خاک‌ها با آب داغ همراه با افزودن کربن ۲/۵۹ و بدون آن ۲/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. با کاربرد ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ گرم کربن در ۴۰ میلی‌لیتر از محلول‌های با غلظت اولیه متفاوت بور میانگین بازیابی به ترتیب ۱۰۴/۹، ۱۰۰/۴ و ۹۷/۶ درصد بود. غلظت بور برای عصاره‌های عبور یافته از کاغذ واتمن ۴۰ به دلیل حضور کلئیدها بیشتر از عصاره‌های عبور یافته از واتمن ۴۲ بود. بدون افزودن کربن خطای رنگ عصاره در دامنه صفر تا ۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد اندازه‌گیری بور قابل دسترس خاک به روش SSSA از صحت بالاتری نسبت به روش ایکاردا برخوردار بوده و بنابراین این روش برای استفاده توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بور قابل دسترس خاک، آزمون‌های ICP، ایکاردا، انجمن علوم خاک آمریکا.

### مقدمه

خاک و سپس (۲) استفاده از یک روش تجزیه‌ای برای تعیین مقدار بور در عصاره می‌باشد (Hettiarachchi and Gupta, 2008; Keren, 1996). روش‌های تجزیه‌ای متعددی برای هر دو مرحله فوق وجود دارند و بنابراین نیاز است که این روش‌ها از نظر صحت و دقت ارزیابی شوند و نهایتاً بهترین روش به لحاظ دقت، سرعت، سادگی و اقتصادی انتخاب شود. دستیابی و استفاده از یک روش تجزیه مناسب، ارزیابی دقیق وضعیت بور خاک را امکان‌پذیر می‌سازد و در نتیجه اطمینان از کاربرد کافی برای برآورده کردن نیاز محصولات را تضمین می‌کند. به عبارت دیگر این امکان را فراهم می‌آورد که خاک‌هایی که در آن‌ها وضعیت بور دچار مشکل است (کمبود یا سمیت) با دقت تشخیص داده شوند و استفاده از کود به صورت علمی و با توجه به میزان بور در خاک صورت پذیرد تا علاوه بر کاهش هدرروی کود و افزایش راندمان این نهاد به افزایش تولید و اقتصاد کشاورزی نیز کمک شود

بور یکی از عناصر ضروری کم‌مصرف برای رشد گیاهان است. فاصله آستانه کمبود و سمیت بور در خاک‌ها برای بسیاری از گیاهان نسبت به سایر عناصر غذایی ضروری بسیار کوتاه‌تر بوده و ممکن است حتی طی یک فصل رشد سطوح کمبود و سمیت بور در محلول خاک ایجاد شود. به دلیل دامنه باریک بین سطح کمبود و سمیت بور مدیریت سطح مناسب بور در محلول خاک مشکل است. به طوری که در غلظت اندکی بالاتر از سطح بهینه می‌تواند برای گیاه به شدت سمی باشد (Gupta et al., 1985; Keren and Bingham, 1958). بنابراین ارزیابی دقیق وضعیت بور از طریق آزمون خاک، برای استفاده صحیح از کود بور ضروری است. در این راستا استفاده از روش تجزیه مناسب برای تعیین دقیق غلظت بور در خاک بسیار مهم است. اندازه‌گیری بور قابل دسترس در خاک فرایندی دو مرحله‌ای است و شامل (۱) استخراج بور از

باین‌حال، تنها عصاره‌های بدون کلونید برای اندازه‌گیری غلظت بور به روش ICP-OES مناسب هستند. به دلیل غلظت کم بور در نمونه‌های آب، خاک و گیاه و همچنین عدم دسترسی به ICP در اکثر آزمایشگاه‌ها معمولاً روش‌های رنگ‌سنجی مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش‌های رنگ‌سنجی متنوع هستند اما در منابع علمی عموماً از روش‌های کارمین<sup>۱</sup> (Hatcher and Wilcox, 1950)، کورکامین<sup>۲</sup> (Dible *et al.*, 1954)، کوینالیزارین<sup>۳</sup> (Berger and Truog, 1939; Berger and Truog, 1944) و آزومتین-اچ<sup>۴</sup> (Wolf, 1971, 1974) استفاده شده است. روش آزومتین-اچ به‌عنوان مرسوم‌ترین روش رنگ‌سنجی از مزایایی نسبت به سایر روش‌ها برخوردار است. این روش حساس، ساده، سریع و در معرض مزاحمت‌های اندکی است و نیاز به استفاده از اسیدهای غلیظ ندارد. مشکل اصلی روش آزومتین-اچ برای خاک‌ها خطای ناشی از مواد معلق و محلولی است که به ترتیب سبب ایجاد کدورت و رنگ زرد در عصاره می‌شوند. رنگ زرد عمدتاً به دلیل حضور مواد آلی محلول است و می‌تواند سبب خطای مثبت چشمگیری هنگام قرائت شدت جذب کمپلکس زرد رنگ بور-آزومتین-اچ شود. Gupta (1979) و Wolf (1974) استفاده از کربن فعال را برای رنگ‌بری عصاره‌های خاک پیشنهاد کردند. با این حال هر دو تذکر دادند که افزودن بیش‌ازحد کربن فعال می‌تواند موجب هدررفت بور از محلول و کاهش مقدار بور قابل استخراج شود. به‌علاوه Gupta (1979) دریافت که مقدار کربن فعال لازم برای بی‌رنگ کردن عصاره خاک تقریباً متناسب با مقدار ماده آلی خاک بود و میزان افزودن کربن فعال باید بر اساس آن تنظیم شود. این موضوع نشان‌دهنده یک چالش به‌طور بالقوه بزرگ هنگام تجزیه تعداد زیادی نمونه خاک است. Dible *et al.* (1954) افزودن ۰/۰۲ گرم  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  به عصاره خاک پس از جوشیدن به‌منظور همآوری کلونیدها قبل از سانتریفیوژ یا صاف کردن را توصیه کرد. Baker (1964) با محلول ۰/۰۰۷ مولار منیزیم کلراید حاوی دو عامل هم‌اور کننده پلی‌آکریل آمیدی، بور خاک‌ها را استخراج کرد. هر دو روش در ارائه عصاره‌ای شفاف برای تجزیه بور با روش کورکامین رضایت‌بخش بودند. کمپلکس بور-کورکامین در طول موج بزرگتری نسبت به کمپلکس بور-آزومتین-اچ اندازه‌گیری می‌شود و نسبت به حضور رنگ زرد در عصاره حساسیت کمتری دارد. بعداً Parker and Gardner (1981) از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار به‌عنوان عصاره‌گیر برای تعیین بور خاک به‌منظور حداقل کردن استخراج رنگ و به دست آوردن یک عصاره شفاف و بدون ذرات رس معلق استفاده کردند. یکی از

(Peck and Soltanpour, 1990).

برای ارزیابی قابلیت دسترسی بور در خاک‌ها از عصاره‌گیرهای مختلفی مانند آب داغ (Berger and Truog, 1939)، استات آمونیم یک مولار (Gupta and Stewart, 1978)، هیدروکلریک اسید ۰/۰۵ مولار (Ponnamperuma *et al.*, 1981)، کلسیم کلراید ۰/۰۱ مولار+مانیتول ۰/۵ مولار (Cartwright *et al.*, 1983)، کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ (Parker and Gardner, 1981)، بی‌کربنات آمونیوم-DTPA (Matsi *et al.*, 2000)، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، تارتاریک اسید (Sarkar *et al.*, 2008)، بی‌کربنات آمونیوم یک مولار، منیزیم کلراید یک مولار، مهلیج سه (Joshi *et al.*, 2014)، زایلیتول، مانیتول و سوربیتول (Goldberg and Suarez, 2014) استفاده شده است. همه عصاره‌گیرهای پیشنهاد شده از لحاظ مکانیسم استخراج بور از فازهای تبدالی خاک، متفاوت هستند. در این میان، استخراج بور از خاک به روش بازروانی آب داغ برای مدت پنج دقیقه رایج‌ترین روش مورد استفاده در سراسر جهان برای ارزیابی وضعیت بور قابل دسترس در خاک و تشخیص کمبود و سمیت این عنصر برای گیاهان است. این روش شاخص مفیدی از پاسخ‌های گیاهی به کوددهی بور، در خاک‌های دارای کمبود و نیز شاخصی مفید از مقدار بور گیاهان است (Berger and Truog, 1940; Cartwright *et al.*, 1983; Singh and Sinha, 1976; Wear and Patterson, 1962). به‌طور کلی غلظت بور محلول در آب داغ از مقادیر خیلی کم تا مقادیر بیشتر از سه میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر است. در غلظت کم‌تر از ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای بیشتر گیاهان کمبود بور ایجاد می‌شود، درحالی‌که در غلظت بیش‌تر از سه میلی‌گرم بر کیلوگرم سمیت بور رخ می‌دهد (Lindsay and Cox, 1985). این دامنه باریک بین سطح کمبود و سمیت بور بیانگر اهمیت بالای اندازه‌گیری صحیح بور برای تشخیص غلظت بور قابل دسترس در خاک است.

برای اندازه‌گیری غلظت بور استخراج شده از خاک می‌توان از روش‌های مختلفی مثل رنگ‌سنجی، طیف‌سنجی، تیتراسیون و پتانسیومتری استفاده کرد (Keren, 1996). تکنیک طیف‌سنجی نشر اتمی با ICP برای اندازه‌گیری بور بسیار مناسب است. حد تشخیص ICP-OES برای بور در طول موج ۲۴۹/۷۷۳ نانومتر، شش میکروگرم بر لیتر ( $10^{-7} \times 5$  مولار) است. بور را می‌توان به‌طور مستقیم در عصاره آبی اندازه‌گیری کرد (Aitken *et al.*, 1987) و با توجه به این‌که سطوح آهن استخراج شده پایین است (کمتر از ۱۰ گرم بر لیتر)، هیچ مزاحمت قابل توجهی وجود ندارد.

۳- Quinalizarin

۴- Azomethine-H

۱- Carmine

۲- Curcumin

کردن آزومتین-اچ انجام می‌شود. به‌علاوه اثبات شده که افزودن کلسیم کلراید به عصاره گیر (آب) مقدار بور استخراج شده را تغییر نمی‌دهد. در روش ایکاردا گرچه استفاده از کربن فعال هم‌زمان با مرحله استخراج بور مشکل رنگ عصاره را مرتفع می‌کند اما قادر به حل مشکل ذرات کلوئیدی معلق نیست و خطای ناشی از این موضوع همچنان باقی می‌ماند. به‌دلیل همین موضوع مدت زمان عبور عصاره از کاغذ صافی در روش ایکاردا بسیار طولانی خواهد بود، در صورتی که در روش انجمن علوم خاک امریکا به‌دلیل استفاده از کلسیم کلراید ذرات کلوئیدی هم‌اور شده و عبور عصاره از کاغذ صافی بسیار سریع است. بنابراین به نظر می‌رسد روش انجمن علوم خاک امریکا برای استخراج و اندازه‌گیری غلظت بور قابل دسترس خاک‌ها مناسب‌تر از روش ایکاردا باشد و ضروری است تا پژوهشی جهت مقایسه این دو روش به‌منظور انتخاب روش مناسب برای استفاده در آزمایشگاه‌های خاک و آب ایران انجام شود. در همین راستا این پژوهش به‌منظور بررسی اهداف زیر انجام شد: (۱) مقایسه روش پیشنهادی ایکاردا برای اندازه‌گیری بور قابل دسترس با روش انجمن علوم خاک امریکا، (۲) مقایسه روش‌های رنگ‌سنجی (ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا) با روش طیف‌سنجی نشر اتمی (ICP)، (۳) مقایسه استخراج بور خاک با کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ و آب داغ، (۴) بررسی اثر کاربرد کربن فعال جهت رنگ‌زدایی بر مقدار بور عصاره و (۵) بررسی اثر ذرات کلوئیدی معلق (در روش ایکاردا) و رنگ عصاره (در روش انجمن علوم خاک امریکا) بر مقدار بور عصاره.

## مواد و روش‌ها

### انتخاب خاک‌ها

از بین خاک‌های موجود در بانک خاک موسسه تحقیقات خاک و آب تعداد ۲۰ نمونه خاک سطحی متعلق به استان‌های مختلف ایران برای این پژوهش به گونه‌ای انتخاب شد که از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مؤثر بر قابلیت دسترسی و اندازه‌گیری بور مثل مقدار ماده آلی، قابلیت هدایت الکتریکی، pH، بافت، کربنات کلسیم از دامنه گسترده‌ای برخوردار باشند. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی این خاک‌ها در جدول (۱) ارائه شده است.

مقایسه روش پیشنهادی ایکاردا برای اندازه‌گیری بور با روش انجمن علوم خاک امریکا

در ۲۰ نمونه خاک انتخاب شده غلظت بور قابل دسترس طبق روش‌های پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا برای

مزایای استفاده از کلسیم کلراید این است که رنگ کمی از خاک استخراج می‌کند و خطای پیش‌بینی شده به‌دلیل این رنگ اندک و در دامنه ۰-۰/۰۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خواهد بود (Parker and Gardner, 1981). حضور کلسیم کلراید در محلول عصاره‌گیر مقدار بور استخراج شده را تغییر نمی‌دهد و عصاره شفاف و بی‌رنگی به دست می‌دهد که برای تجزیه با روش‌های ICP و اسپتکروفتومتری با استفاده از واکنشگرهایی مثل آزومتین-اچ بسیار مناسب است (Parker and Gardner, 1981). *al.* (1969) روش آزومتین-اچ را برای تجزیه روزمره مقدار بور برگ مرکبات (*Citrus spp.*) اصلاح کردند. اصلاح آن‌ها شامل اصلاح سنتز واکنشگر، بهبود کنترل بافر و استفاده مستقیم از محلول اتیل دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) برای کاهش مزاحمت‌های ناشی از فلزات موجود در برگ مرکبات بود. آن‌ها بین اندازه‌گیری بور موجود در برگ مرکبات به هر دو روش آزومتین-اچ بهبود داده شده و روش کارمین توافق نزدیک مشاهده کردند (Hatcher and Wilcox, 1950). متعاقباً، Wolf (1971, 1974) روش آزومتین-اچ را برای تجزیه روزمره حجم زیادی از نمونه‌های خاک، گیاه، کود، لجن و آب تغییر داد. آزومتین-اچ تجاری، بافرهای استات و محلول‌های EDTA در اندازه‌گیری بور استفاده شدند.

روش پیشنهادی مرکز بین‌المللی پژوهش کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا<sup>۱</sup>) و روش انجمن علوم خاک امریکا به‌عنوان معتبرترین و پرکاربردترین روش‌های مورد استفاده در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی خاک و آب ایران جهت تعیین بور قابل دسترس خاک هم در مرحله استخراج و هم در مرحله اندازه‌گیری به شیوه رنگ‌سنجی با آزومتین-اچ اندکی با یکدیگر تفاوت دارند. در روش ایکاردا برای استخراج بور از آب داغ استفاده می‌شود و جهت بی‌رنگ کردن عصاره از کربن فعال هنگام جوشاندن استفاده می‌شود. قرائت شدت جذب کمپلکس بور-آزومتین-اچ نیز در این روش ۳۰ دقیقه بعد از اضافه کردن آزومتین-اچ انجام می‌شود. حال آنکه در روش انجمن علوم خاک امریکا برای استخراج بور به‌جای آب داغ از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ استفاده می‌شود. این روش استخراج مشکل ذرات کلوئیدی معلق که سبب ایجاد خطای مثبت می‌شود را به‌طور کامل حل می‌کند و ادعا شده که در تهیه عصاره شفاف نیز بسیار مؤثر است. به‌طوری‌که هنگام استخراج کربن فعال استفاده نمی‌شود و بعد از استخراج و در صورت نیاز جهت بی‌رنگ کردن عصاره خاک‌هایی که ماده آلی آن‌ها بالاست از کربن فعال استفاده خواهد شد. قرائت شدت جذب کمپلکس بور-آزومتین-اچ نیز در این روش دو ساعت بعد از اضافه

مقایسه استخراج بور خاک با کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ و آب داغ

مقدار بور قابل دسترس ۲۰ نمونه خاک با آب داغ (عصاره‌گیر روش ایکاردا) و کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ (عصاره‌گیر روش انجمن علوم خاک امریکا) استخراج و به روش طیف‌سنجی نشر اتمی با دستگاه ICP (مدل Optima 2100 DV, Perkin Elmer instruments, USA) اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر در استخراج با آب داغ (عصاره‌گیر روش ایکاردا) چون اندازه‌گیری بور با ICP انجام شد نیاز به استفاده از کربن فعال نبود و در واقع به دلیل احتمال هدررفت بور در این آزمایش از کربن فعال استفاده نشد. به‌علاوه عصاره‌های آب داغ به‌منظور اطمینان از حذف کلئیدهای معلق قبل از اندازه‌گیری از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ (به‌جای ۴۰) عبور داده شدند. سپس نتایج جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف‌ها از نظر آماری مقایسه شدند.

**بررسی اثر کاربرد کربن فعال جهت رنگ‌زدایی بر مقدار بور عصاره**

این هدف به دو صورت بررسی شد. در یک آزمایش از خاک و در آزمایش دیگر از محلول‌های بور استفاده شد. در آزمایش اول در ابتدا به ۲۰ گرم از هر یک از خاک‌های مورد مطالعه مقادیر صفر و ۰/۴ گرم (مطابق با روش ایکاردا) کربن فعال اضافه و بعد از استخراج مقدار بور آن‌ها با دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. نتایج جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف‌ها از نظر آماری مقایسه شدند.

در آزمایش دیگر ابتدا محلول‌های بور با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر تهیه شدند. سپس به هر یک از آن‌ها کربن فعال به مقدار ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ گرم بر ۴۰ میلی‌لیتر محلول اضافه و بعد از یک دقیقه هم زدن صاف شدند. غلظت بور در محلول‌ها با دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. بعد از به دست آوردن غلظت ثانویه محلول‌ها اختلاف غلظت اولیه و ثانویه محاسبه و با تقسیم کردن اختلاف بر غلظت اولیه محلول درصد بازیابی بور محاسبه شد.

**بررسی اثر ذرات کلئیدی معلق (در روش ایکاردا) و رنگ عصاره (در روش انجمن علوم خاک امریکا) بر مقدار بور عصاره**

جهت بررسی اثر ذرات کلئیدی معلق بر مقدار بور عصاره در روش ایکاردا از بین خاک‌های مورد مطالعه تعداد ۱۰ نمونه خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف و از نظر مقدار رس متنوع انتخاب و مقدار بور قابل دسترس آن‌ها با آب داغ به دو صورت استخراج شد. در یک حالت بعد از پنج دقیقه جوشش بلافاصله تعلیق از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰ و در حالت دیگر بعد از پنج

استخراج و اندازه‌گیری به شیوه رنگ‌سنجی آزومتین-اچ تعیین شد. بر اساس روش ایکاردا (Estefan, 2013): ۲۰ گرم خاک در بالن ته صاف قرار داده و حدود ۰/۴ گرم کربن فعال (بدون بور) و ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. کندانسور بازروانی آب خنک شده به این بالن متصل و اجازه داده شد تا به مدت ۵ دقیقه بجوشد. تعلیق بلافاصله از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰ عبور داده شد. دو میلی‌لیتر عصاره به یک لوله آزمایش پلی‌پروپیلنی ۱۰ میلی‌لیتری پیپت و به آن چهار میلی‌لیتر محلول بافر (مخلوطی از استات آمونیوم، EDTA و استیک اسید)، چهار میلی‌لیتر محلول آزومتین-اچ اضافه و خوب مخلوط شد. شدت جذب بعد از ۳۰ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت بور در نمونه‌ها از طریق منحنی کالیبراسیون به دست آمد. برای روش انجمن علوم خاک امریکا (Keren, 1996): ۲۰ گرم خاک در یک بالن ته صاف دارای بور کم قرار داده و ۴۰ میلی‌لیتر محلول کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار به‌منظور به دست آوردن عصاره‌های شفاف برای اندازه‌گیری بور اضافه شد. کندانسور بازروانی آب خنک شده به این بالن متصل شد. بالن حرارت داده و از لحظه شروع جوشش دقیقاً به مدت ۵ دقیقه زمان گرفته شد. سپس بالن خنک و تعلیق از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده و مقدار مناسبی عصاره (مثلاً ۱۰ میلی‌لیتر) برای اندازه‌گیری بور گرفته شد. مقدار مناسبی از عصاره بی‌رنگ (۱ تا ۱۷ میلی‌لیتر که در آن غلظت نهایی بور در دامنه منحنی کالیبراسیون باشد) به یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد. اگر این مقدار کمتر از ۱۵ میلی‌لیتر بود، قبل از افزودن واکنشگرها (EDTA، بافر و آزومتین اچ) آب مقطر اضافه و حجم محلول نهایی به ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر محلول EDTA و دو میلی‌لیتر محلول بافر (مخلوطی از استات آمونیوم، EDTA و استیک اسید) به بالن اضافه و خوب هم زده شد. بعد پنج میلی‌لیتر محلول آزومتین-اچ اضافه و با آب مقطر به حجم رسانده شد. در پایان پس از دو ساعت، شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

**مقایسه روش‌های رنگ‌سنجی (آزومتین-اچ) پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا با روش ICP**

برای این منظور در عصاره‌های مرحله قبل که در آن‌ها بر اساس روش‌های پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا بور استخراج و به شیوه رنگ‌سنجی آزومتین-اچ اندازه‌گیری شد، مجدداً غلظت بور به روش طیف‌سنجی با دستگاه ICP نیز اندازه‌گیری گردید. نتایج جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف‌ها از نظر آماری مقایسه شدند.

خاک‌ها از صفر تا ۲/۸۴ درصد متغیر بود. از نظر بافت، خاک‌ها در ۸ کلاس لوم، لوم رسی سیلتی، رسی، رسی سیلتی، لوم شنی، لوم رسی، لوم سیلتی و شنی لومی قرار دارند. مقدار کربنات کلسیم خاک‌ها از ۳/۱ تا ۴۶ درصد متغیر بود و اگر مرز خاک آهکی و غیر آهکی دو درصد کربنات کلسیم در نظر گرفته شود (WRB, 2014)، می‌توان گفت کل خاک‌های استفاده شده آهکی هستند. از نظر pH همه خاک‌ها قلیایی بودند که احتمالاً دلیل آن حضور آهک در خاک‌ها است که pH محلول خاک را معمولاً در دامنه ۷/۳ تا ۸/۵ بافر می‌کند (Lindsay, 1979). قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌ها بسیار گسترده و از ۰/۳ تا ۶۰/۸ دسی زیمنس بر متر متغیر بود.

**نتایج اندازه‌گیری بور قابل دسترس با روش‌های پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک آمریکا و مقایسه روش‌های رنگ‌سنجی (آزومتین-اچ) پیشنهادی آن‌ها با روش طیف‌سنجی نشر اتمی (ICP)**

نتایج اندازه‌گیری بور قابل دسترس خاک با روش‌های ایکاردا و انجمن علوم خاک آمریکا در جدول (۲) ارائه شده است. صرف‌نظر از روش قرائت بور، در خاک‌های مورد مطالعه بور اندازه‌گیری شده با روش انجمن علوم خاک آمریکا اندکی بیشتر از روش ایکاردا بود. با این حال فقط در تعدادی کمی از خاک‌ها این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). در روش قرائت با ICP میانگین بور قابل دسترس ۲۰ خاک با روش انجمن علوم خاک آمریکا ۲/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و با روش ایکاردا ۲/۵۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود هرچند اختلاف دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار نبود. دلیل اصلی پایین‌تر بودن میانگین بور در روش ایکاردا نسبت به روش انجمن علوم خاک آمریکا استفاده از کربن فعال جهت بی‌رنگ کردن عصاره در مرحله استخراج است، که سبب جذب بخشی از بور محلول می‌شود (Gupta, 1979; Wolf, 1974). به‌طور کلی در هر دو روش پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک آمریکا، روش قرائت با ICP نسبت به روش رنگ‌سنجی (آزومتین-اچ) غلظت بور بیشتری را به دست داد. برای روش پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک آمریکا میانگین غلظت بور قابل دسترس با ICP به ترتیب ۲/۵۹ و ۲/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، درحالی‌که با آزومتین-اچ به ترتیب ۲/۴۳ و ۲/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. پایین‌تر بودن غلظت بور به دست آمده با روش آزومتین-اچ نسبت به روش ICP می‌تواند ناشی از مزاحمت پتاسیم باشد، که وجود غلظت بالای آن در محلول سبب ایجاد خطای منفی در اندازه‌گیری بور می‌شود (Wolf, 1974). هر دو روش قرائت همبستگی بسیار خوبی با یکدیگر نشان دادند و به‌طور قابل قبولی

دقیقه جوشش تعلیق از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد. بر اساس نتایج مطالعه Parker and Gardner (1981) عبور دادن عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ همانند سانتریفیوژ کردن آن به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵ هزار دور در دقیقه عمل کرده و به‌طور کامل کلونیدها را از عصاره جدا می‌کند. غلظت بور در عصاره‌ها با دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. سپس نتایج جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف‌ها از نظر آماری مقایسه شدند.

در روش انجمن علوم خاک آمریکا در مرحله استخراج بور از کربن فعال استفاده نمی‌شود و Parker and Gardner (1981) نیز در این زمینه ادعا کرده‌اند که به دلیل استفاده از کلسیم کلراید عصاره‌های حاصل شفاف بودند به‌طوری که خطای اندازه‌گیری بور در دامنه صفر تا ۰/۰۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. لذا جهت بررسی اثر رنگ زرد ناشی از حضور مواد آلی محلول در عصاره بر مقدار بور اندازه‌گیری شده به روش انجمن علوم خاک آمریکا کل خاک‌ها با استفاده از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ عصاره گیری شدند. خطای ناشی از رنگ زرد عصاره از طریق اندازه‌گیری جذب عصاره (بدون اضافه کردن آزومتین-اچ) تخمین زده شد. این جذب درجه رنگ عصاره و خطای حاصله در اندازه‌گیری بور را نشان خواهد داد. با فرض اینکه جذب محلول‌های رنگی و کمپلکس آزومتین-اچ-بور جمع‌پذیر است، خطای حاصل از رنگ (برحسب میلی‌گرم بور بر لیتر بیان شده است) معادل با این جذب اندازه‌گیری شده تقسیم بر شیب خط کالیبراسیون برای کمپلکس آزومتین-اچ-بور است.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. برای مقایسه دو میانگین مربوط به یک خاک از آزمون  $t$  مستقل، برای مقایسه دو میانگین مربوط به چند خاک از آزمون  $t$  جفت شده و برای مقایسه بیش از دو میانگین از آزمون  $F$  در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای بررسی رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### ویژگی خاک‌ها

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های استفاده شده در این مطالعه در جدول (۱) ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود خاک‌های انتخاب شده از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از پراکنش خوبی برخوردار بودند. بنابراین، بهتر می‌توان نتایج حاصل از این پژوهش را به خاک‌های مشابه تعمیم داد. کربن آلی

بر خط ۱:۱ منطبق بودند (شکل ۱). رابطه بین بور اندازه‌گیری شده همبستگی بالاتر ( $r^2 = 0/991$ ) و تطابق بهتر با خط ۱:۱ نسبت به روش ایکاردا ( $r^2 = 0/978$ ) برخوردار بود (شکل ۲).

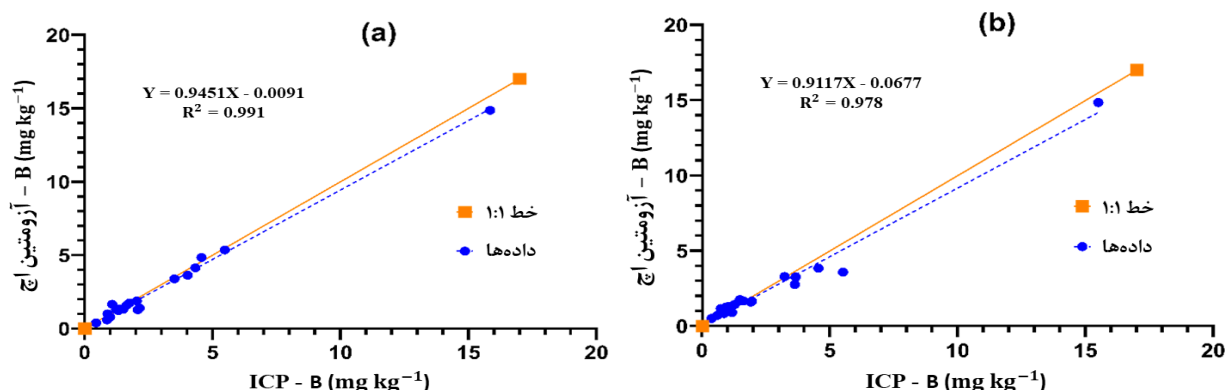
جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های استفاده شده در این مطالعه

شماره خاک	استان نمونه‌برداری	مختصات جغرافیایی		رس (درصد)	کلاس بافت	pH	EC (dS/m)	کربنات کلسیم معادل (درصد)	کربن آلی (درصد)
		عرض	طول						
۱	آذربایجان غربی	۳۶° ۴۰'N	۴۶° ۳۳'E	۲۶	لوم	۸/۱۶	۰/۳۶	۱۴	۱/۳۹
۲	فارس	۲۹° ۲۹'N	۵۴° ۵'E	۴۰	رسی سیلتی	۷/۸	۰/۳	۳۶/۸	۱/۰۹
۳	کرمانشاه	۳۴° ۴۳'N	۴۷° ۳۱'E	۳۸	لوم رسی سیلتی	۷/۶۳	۰/۹۸	۴۳/۶	۰/۸۷
۴	خوزستان	۳۱° ۷'N	۴۸° ۵۷'E	۹	رسی	۷/۳۱	۶۰/۸	۴۶	۰/۵۷
۵	گلستان	۳۷° ۷'N	۵۴° ۲۴'E	۲۴	رسی سیلتی	۸/۲۵	۰/۲۶	۱۳/۵	۱/۱۷
۶	فارس	۲۹° ۲۹'N	۵۴° ۳'E	۱۳	لوم شنی	۷/۸۱	۱۴/۳	۲۱/۷	۰/۳
۷	هرمزگان	۲۵° ۳۸'N	۵۸° ۳۱'E	۸	لوم شنی	۸/۳۱	۸/۱۵	۲۰/۷	۰/۱۱
۸	مازندران	۴۰° ۴۵'N	۶۲° ۲۵'E	۳۴	لوم رسی	۷/۷۵	۰/۳۶	۳/۱	۱/۸۱
۹	خراسان	۳۶° ۳۷'N	۵۹° ۱۲'E	۸	لوم سیلتی	۸	۰/۸۵	۴۴/۵	۱/۴۴
۱۰	فارس	۲۹° ۵۴'N	۵۲° ۳۵'E	۳۵	لوم رسی سیلتی	۸	۰/۶۳	۳۳	۱
۱۱	خوزستان	۳۳° ۱۴'N	۴۸° ۲۸'E	۳۱	لوم رسی	۷/۵	۱/۷	۴۵	۰/۷۸
۱۲	خراسان رضوی	۳۶° ۴۶'N	۵۶° ۴۸'E	۷	لوم شنی	۸/۲	۰/۹۲	۱۳/۴	۰/۴۳
۱۳	خوزستان	۳۲° ۴'N	۴۸° ۱۸'E	۲۲	لوم	۷/۲	۳۷/۸	۴۲/۸	۰/۲۵
۱۴	قم	۳۴° ۳۴'N	۵۰° ۱۲'E	۶	شنی لومی	۸/۰۳	۰/۶۴	۱۴/۹۲	۰
۱۵	لرستان	۳۳° ۳۵'N	۴۸° ۱۷'E	۳۸	لوم رسی سیلتی	۷/۶۵	۰/۶۲	۳۱/۷۸	۱/۶۶
۱۶	لرستان	۳۳° ۲۱'N	۴۸° ۹'E	۲۷	لوم	۷/۶۷	۰/۵	۴۲/۵۵	۲/۲۸
۱۷	زنجان	۳۶° ۴۳'N	۴۸° ۱۸'E	۲۳	لوم	-	-	۲۶/۹۴	۰/۴۳
۱۸	زنجان	۳۶° ۳۹'N	۴۸° ۲۹'E	۱۸	لوم شنی	۷/۷	۱/۸۵	۲۲/۶۳	۲/۸۴
۱۹	گلستان	-	-	۱۹	لوم سیلتی	۸/۱	۱/۱۷	۹/۷	۱/۸۹
۲۰	زنجان	۳۶° ۳۷'N	۴۸° ۳۶'E	۱۴	لوم شنی	۷/۸۲	۱/۲۱	۲۱/۷۲	۰/۵۲

جدول ۲- نتایج اندازه‌گیری بور قابل دسترس (mg/kg) با روش‌های پیشنهادی ایکاردا و انجمن علوم خاک امریکا

شماره خاک	انجمن علوم خاک امریکا (استخراج با 0.02 M CaCl <sub>2</sub> داغ)		ایکاردا (استخراج با آب داغ)	
	ICP	آزومتین-اچ	ICP	آزومتین-اچ
۱	۲/۰۴±۰/۱۴ a	۱/۸۸±۰/۰۸ a	۱/۸۹±۰/۱۸ a	۱/۵۹±۰/۰ a
۲	۲/۱۵±۰/۱۷ a	۱/۴۰±۰/۱۳ c	۱/۹۴±۰/۰۷ ab	۱/۶۵±۰/۰۴ bc
۳	۱±۰/۱۴ a	۰/۷۹±۰/۰۷ a	۰/۸۵±۰/۰۸ a	۰/۸۳±۰/۰۶ a
۴	۵/۴۸±۰/۳۴ a	۵/۳۶±۰/۲۱ a	۵/۵۰±۰/۳۱ a	۳/۵۸±۰/۱۹ b
۵	۴/۳۳±۰/۲۷ a	۴/۱۴±۰/۰۹ ab	۳/۶۵±۰/۰۶ bc	۳/۲۶±۰/۰۵ c
۶	۱۵/۸۵±۰/۵۸ a	۱۴/۸۷±۰/۵۹ a	۱۵/۴۹±۰/۷۳ a	۱۴/۸۵±۰/۱۹ a
۷	۲/۰۸±۰/۲۴ a	۱/۲۹±۰/۰۶ b	۱/۱۶±۰/۰۸ b	۰/۹۰±۰/۰۸ b
۸	۱/۶۵±۰/۰۱ a	۱/۶۱±۰/۲۰ a	۱/۴۷±۰/۰۶ a	۱/۷۵±۰/۲۹ a
۹	۱/۷۵±۰/۱۱ a	۱/۷۵±۰/۰۴ a	۱/۶۰±۰/۰۴ a	۱/۶۷±۰/۰۸ a
۱۰	۱/۳۶±۰/۱۴ a	۱/۳۵±۰/۱۳ a	۱/۱۲±۰/۰۹ a	۱/۲۹±۰/۰۷ a
۱۱	۴/۵۷±۰/۱۴ a	۴/۸۵±۰/۰۴ a	۴/۵۴±۰/۲۵ a	۳/۸۴±۰/۱۵ b
۱۲	۰/۴۵±۰/۳۱ a	۰/۳۹±۰/۰۱ a	۰/۳۶±۰/۰۷ a	۰/۵۰±۰/۰۶ a
۱۳	۳/۵۱±۰/۲۷ a	۳/۳۹±۰/۲۱ a	۳/۶۲±۰/۵۰ a	۲/۷۶±۰/۰۴ a
۱۴	۰/۸۸±۰/۱۳ a	۰/۶۰±۰/۰۸ a	۰/۵۹±۰/۰۲ a	۰/۷۲±۰/۰۲ a
۱۵	۰/۹۰±۰/۱۶ ab	۱/۰۱±۰/۰۲ ab	۰/۷۲±۰/۰۶ b	۱/۱۶±۰/۰۲ a
۱۶	۱/۳۲±۰/۰۵ a	۱/۲۳±۰/۰۳ a	۱/۰۳±۰/۱۰ b	۱/۲۹±۰/۰۹ a
۱۷	۱/۲۳±۰/۰۸ a	۱/۳۱±۰/۰۳ a	۰/۹۴±۰/۰۳ b	۱/۲۷±۰/۰۲ a
۱۸	۴/۰۳±۰/۰۳ a	۳/۶۴±۰/۰۸ a	۳/۲۲±۰/۵۶ a	۳/۲۹±۰/۰ a
۱۹	۱/۵۱±۰/۰۳ a	۱/۳۱±۰/۰ a	۱/۲۶±۰/۱۲ a	۱/۴۳±۰/۰۶ a
۲۰	۱/۰۸±۰/۰۷ b	۱/۶۶±۰/۰۷ a	۰/۸۷±۰/۰۵ c	۰/۹۳±۰/۰۳ bc
میانگین	۲/۸۶ a	۲/۶۹ a	۲/۵۹ a	۲/۴۳ a
ضریب تغییرات (%)	۱۰/۱۷	۴/۷۹	۷/۷۲	۴/۴۲

در هر ردیف حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد است. هر داده میانگین ± انحراف معیار دو تکرار است.



شکل ۱- رابطه بین بور اندازه‌گیری شده با روش ICP و روش آزمونین-اچ. (a) رابطه برای روش رنگ‌سنجی انجمن علوم خاک امریکا و (b) رابطه برای روش ایکاردا

مولار داغ و آب داغ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند. این نتایج نشان می‌دهد می‌توان از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار به جای آب برای استخراج بور قابل دسترس خاک استفاده کرد بدون اینکه تغییری در مقدار بور قابل استخراج با آب داغ ایجاد نماید. استفاده از کلسیم کلراید به جای آب مزیت استخراج عصاره بدون کلویید و حتی از نظر رنگ شفاف‌تر را به همراه دارد که به نوعی سبب کاهش خطای اندازه‌گیری بور به هر دو روش طیف‌سنجی و رنگ‌سنجی خواهد شد.

جدول ۳- اثر نوع عصاره‌گیر بر غلظت بور قابل دسترس (mg/kg)

شماره خاک	استخراج با 0.02 M CaCl <sub>2</sub> داغ (روش انجمن علوم خاک امریکا)	استخراج با آب داغ (روش ایکاردا)
۱	۲/۰۴±۰/۱۴	۲/۱۶±۰/۱۶
۲	۲/۱۵±۰/۱۷	۲/۲۴±۰/۰۴
۳	۱±۰/۱۴	۰/۹۰±۰/۰۹
۴	۵/۴۸±۰/۳۴	۶/۱۱±۰/۴۲
۵	۴/۳۳±۰/۲۷	۴/۵۰±۰/۳۰
۶	۱۵/۸۵±۰/۵۸	۱۵/۶۸±۰/۵۷
۷	۲/۰۸±۰/۲۴	۱/۵۱±۰/۰۴
۸	۱/۶۵±۰/۰۱	۱/۶۵±۰/۰۲
۹	۱/۷۵±۰/۱۱	۱/۷۰±۰/۳۱
۱۰	۱/۳۶±۰/۱۴	۱/۳۸±۰/۱۴
۱۱	۴/۵۷±۰/۱۴	۵/۶۳±۰/۰۶*
۱۲	۰/۴۵±۰/۳۱	۰/۴۹±۰/۰۴
۱۳	۳/۵۱±۰/۲۷	۳/۱۷±۰/۲۹
۱۴	۰/۸۸±۰/۱۳	۰/۷۱±۰/۰۲
۱۵	۰/۹۰±۰/۱۶	۰/۶۴±۰/۰۸
۱۶	۱/۳۲±۰/۰۵*	۱/۱۰±۰/۰
۱۷	۱/۲۳±۰/۰۸	۰/۹۹±۰/۰۷
۱۸	۴/۰۳±۰/۰۳*	۳/۸۵±۰/۰۲
۱۹	۱/۵۱±۰/۰۳	۱/۴۱±۰/۰۳
۲۰	۱/۰۸±۰/۰۷	۱/۰±۰/۰۵
میانگین	۲/۸۶	۲/۸۴
ضریب تغییرات (%)	۱۰/۱۷	۶/۱۶

در هر ردیف علامت \* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت دو میانگین در سطح پنج درصد است. هر داده میانگین ± انحراف معیار دو تکرار است.

مقایسه استخراج بور خاک با کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ و آب داغ

نتایج استخراج غلظت بور قابل دسترس با استفاده از آب داغ (عصاره‌گیر روش ایکاردا) و کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ (عصاره‌گیر روش انجمن علوم خاک امریکا) در خاک‌های مورد مطالعه در جدول (۳) ارائه شده است. اندازه‌گیری غلظت بور در عصاره‌ها با ICP انجام شد. همان‌طور که اشاره شد، اندازه‌گیری بور با ICP روش خوبی برای مقایسه عصاره‌گیرهای مختلف است، زیرا نسبت به رنگی بودن عصاره حساسیت ندارد. با توجه به نتایج فقط در خاک‌های ۱۶ و ۱۸ کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ نسبت به آب داغ مقدار بور بیشتری استخراج کرد به طوری که اختلاف میانگین‌ها در این دو خاک از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). در این دو خاک علاوه بر انحلال کانی‌های حاوی بور ممکن است آزادسازی آن از طریق مکانیسم تبادل آنیونی به سبب رقابت کلراید با بور برای جذب بر مکان‌های تبادلی نیز اتفاق افتاده باشد. در خاک ۱۱ کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ در مقایسه با آب داغ مقدار بور کمتری را استخراج کرد. دلیل این کاهش می‌تواند کاهش حلالیت بورات‌های کلسیم‌دار (به‌عنوان مثال کولمنیت<sup>۱</sup> و یولکسایت<sup>۲</sup>) در نتیجه اثر یون مشترک باشد (Strawn et al., 2015). به‌طور کلی کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار تغییر معنی‌داری در میانگین بور استخراج شده از خاک‌های مورد مطالعه ایجاد نکرد. میانگین غلظت بور استخراج شده در ۲۰ نمونه خاک با استفاده از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ ۲/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و با استفاده از آب داغ ۲/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. رابطه بین این دو عصاره‌گیر در شکل (۲) نشان داده شده است. هر دو عصاره‌گیر همبستگی بالایی ( $r^2 = 0.990$ ) نشان دادند و خط برازش داده شده بر داده‌ها کاملاً بر خط ۱:۱ تطابق دارد. گزارش کردند مقدار بور استخراج شده با کلسیم کلراید ۰/۰۲

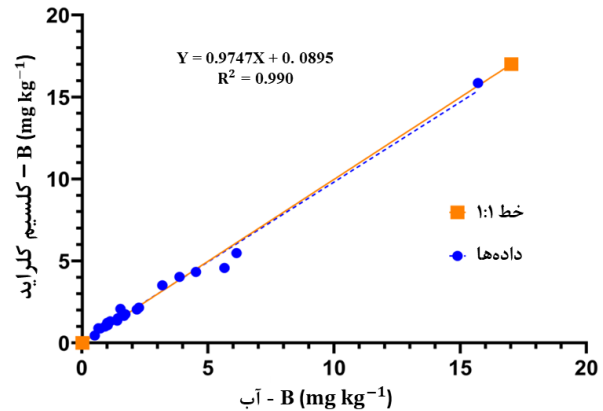


آنکه معادله حاصل از داده‌های تجزیه تعداد قابل توجه و متنوعی خاک باشد). جدول (۵) اثر مقادیر متفاوت کربن فعال بر درصد بازیابی بور محلول را نشان می‌دهد. در این آزمایش همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد از محلول‌های با غلظت متفاوت بور استفاده شد و اندازه‌گیری غلظت بور با ICP انجام گرفت. با توجه به نتایج با افزایش مقدار کربن فعال به ازای حجم ثابتی محلول میانگین بازیابی بور کاهش یافت. با کاربرد ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ گرم کربن فعال در ۴۰ میلی‌لیتر از محلول‌های با غلظت اولیه متفاوت بور میانگین بازیابی به ترتیب ۱۰۴/۹، ۱۰۰/۴ و ۹۷/۶ درصد به دست آمد. این نتایج نیز نشان می‌دهد افزودن بیش از حد کربن فعال در مرحله استخراج باعث کم برآورد بور قابل دسترس خاک خواهد شد. در سایر مطالعات نیز کاربرد کربن فعال به‌منظور از بین برد رنگ عصاره سبب کاهش بازیابی بور گردید (Farahbakhsh, 2007; Gupta, 1979).

جدول ۴- اثر افزودن کربن فعال بر غلظت بور قابل دسترس (mg/kg)

شماره خاک	بدون کربن فعال	با کربن فعال (روش ایکاردا)
۱	۲/۱۶±۰/۱۶	۱/۸۹±۰/۱۸
۲	۲/۲۴±۰/۰۴ *	۱/۹۴±۰/۰۷
۳	۰/۹۰±۰/۰۹	۰/۸۵±۰/۰۸
۴	۶/۱۱±۰/۴۲	۵/۵۰±۰/۳۱
۵	۴/۵۰±۰/۰۲ **	۳/۶۵±۰/۰۶
۶	۱۵/۶۸±۰/۵۷	۱۵/۴۹±۰/۷۳
۷	۱/۵۱±۰/۰۴ *	۱/۱۶±۰/۰۸
۸	۱/۶۵±۰/۰۲	۱/۴۷±۰/۰۶
۹	۱/۷۰±۰/۳۱	۱/۶۰±۰/۰۴
۱۰	۱/۳۸±۰/۱۴	۱/۱۲±۰/۰۹
۱۱	۵/۶۳±۰/۰۶ *	۴/۵۴±۰/۲۵
۱۲	۰/۴۹±۰/۰۴	۰/۳۶±۰/۰۷
۱۳	۳/۱۷±۰/۲۹	۳/۶۲±۰/۵۰
۱۴	۰/۷۱±۰/۰۲ *	۰/۵۹±۰/۰۳
۱۵	۰/۶۴±۰/۰۸	۰/۷۲±۰/۰۶
۱۶	۱/۱۰±۰/۰	۱/۰۳±۰/۱۰
۱۷	۰/۹۹±۰/۰۷	۰/۹۴±۰/۰۳
۱۸	۳/۸۵±۰/۰۲	۳/۲۲±۰/۵۶
۱۹	۱/۴۱±۰/۰۳	۱/۲۶±۰/۱۲
۲۰	۱/۰±۰/۰۵	۰/۸۷±۰/۰۵
میانگین	۲/۸۴ **	۲/۵۹
ضریب تغییرات (%)	۵/۵۹	۷/۷۲

در هر ردیف علامت \* و \*\* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت دو میانگین به ترتیب در سطح یک و پنج درصد است. هر داده میانگین ± انحراف معیار دو تکرار است.



شکل ۲- رابطه بین بور استخراج شده با آب داغ (روش ایکاردا) و استخراج شده با کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار داغ (روش انجمن علوم خاک امریکا)

### بررسی اثر کاربرد کربن فعال جهت رنگ‌زدایی بر مقدار بور عصاره

جدول (۴) نتایج اثر استفاده از کربن فعال جهت رنگ‌زدایی بر مقدار بور عصاره خاک را نشان می‌دهد. در این آزمایش نیز اندازه‌گیری بور در عصاره‌ها با استفاده از ICP انجام شد. تقریباً در همه خاک‌ها استفاده از کربن فعال سبب کاهش مقدار بور محلول شد اما فقط در خاک‌های ۲، ۵، ۷، ۱۱ و ۱۴ این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود. استفاده از کربن فعال میانگین بور استخراج شده از خاک‌ها را به‌طور معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) کاهش داد. میانگین بور استخراج شده در ۲۰ نمونه خاک با استفاده از آب داغ همراه با افزودن کربن فعال ۲/۵۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بدون افزودن کربن فعال ۲/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۴). بنابراین کاربرد کربن فعال در روش ایکاردا جهت رنگ‌زدایی سبب هدررفت بخشی از بور موجود در عصاره و کم برآورد بور قابل دسترس خاک می‌شود. با این حال اگر هدف این باشد که بدون افزودن کربن فعال، بور را استخراج و به روش رنگ‌سنجی آزمون‌تین-اچ اندازه‌گیری کرد خطای مثبت ناشی از رنگی بودن عصاره به لحاظ نسبتی می‌تواند به مراتب بیشتر از این خطای منفی باشد (به‌ویژه در خاک‌هایی که مقدار بور قابل دسترس پایین و کربن آلی بالایی دارند، به جدول (۷) مراجعه شود) و لذا به ناچار باید این میزان خطای منفی را پذیرفت و از کربن فعال استفاده کرد. رابطه بین این دو روش استخراج در شکل (۳) نشان داده شده است. هر دو روش همبستگی بالایی ( $r^2 = 0.991$ ) نشان دادند و خط برازش داده شده بر داده‌ها تطابق بسیار خوبی بر خط ۱:۱ دارد. همبستگی بالای این دو روش نشان می‌دهد که امکان استفاده از معادله حاصل از خط برازش یافته بر داده‌ها جهت برآورد بور قابل دسترس خاک در مواقعی که کربن فعال با هدف رنگ‌زدایی به کار برده می‌شود وجود دارد (البته به شرط

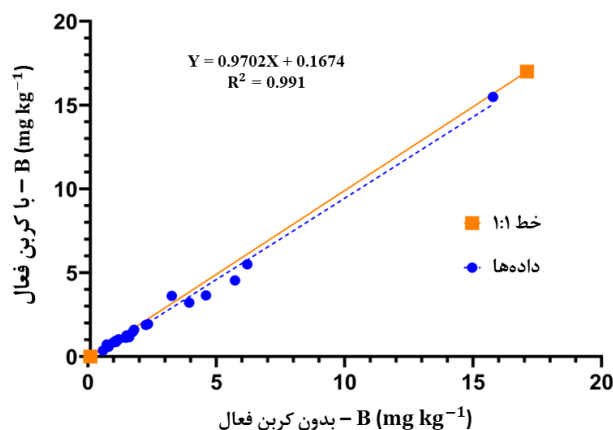
شده بر داده‌ها تطابق بسیار خوبی بر خط ۱:۱ دارد. مجدداً همبستگی بالای این دو روش نشان می‌دهد که امکان استفاده از معادله حاصل از خط برازش یافته بر داده‌ها جهت برآورد بور قابل دسترس خاک در مواقعی که عصاره‌های روش ایکاردا از کاغذ صافی واتمن ۴۰ عبور داده می‌شوند وجود دارد (البته دوباره به شرط آنکه معادله حاصل از داده‌های تجزیه تعداد قابل توجه و متنوعی خاک باشد).

جدول (۷) نتایج آزمایش اثر رنگ عصاره بر غلظت بور در روش انجمن علوم خاک امریکا را نشان می‌دهد. خطای ناشی از رنگ عصاره بدون افزودن کربن فعال در دامنه صفر تا ۰/۴۴ میلی‌گرم بر لیتر (یا صفر تا ۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) متغیر بود و دامنه آن بسیار گسترده‌تر از دامنه صفر تا ۰/۰۷ میلی‌گرم بر کیلوگرمی است که Parker and Gardner (1981) در مطالعه خود گزارش کردند. بنابراین عدم استفاده از کربن فعال می‌تواند سبب ایجاد خطای قابل ملاحظه در برآورد بور قابل دسترس خاک شود. این خطا ارتباط مستقیم با مقدار ماده آلی خاک دارد. به‌عنوان مثال در خاک‌های ۱ و ۱۸ که از نظر کربن آلی غنی بودند (جدول ۱) این خطا از نظر مقداری قابل توجه بود. هنگامی که خطای ناشی از رنگ عصاره از غلظت بور اندازه‌گیری شده کسر گردید اختلاف بین غلظت بور اصلاح نشده و اصلاح شده در خاک‌های ۱، ۲، ۳، ۵، ۸، ۹ و ۱۸ از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). این نتایج نشان می‌دهد استفاده از کربن فعال برای رنگ‌زدایی در مرحله استخراج یا بعد از استخراج ضرورت دارد و به جهت سادگی می‌توان مطابق روش ایکاردا قبل از مرحله استخراج بور کربن فعال را همراه با خاک اضافه کرد.

جدول ۶- اثر کدورت ناشی از ذرات کلوئیدی بر اندازه‌گیری بور به روش ایکاردا

شماره خاک	غلظت بور (mg/kg)	
	عبور از کاغذ واتمن ۴۰	عبور از کاغذ واتمن ۴۲
۱	۱/۸۹±۰/۱۸	۱/۶۴±۰/۰۱
۲	۱/۹۴±۰/۰۷ *	۱/۶۹±۰/۰
۳	۰/۸۵±۰/۰۸	۰/۵۷±۰/۰۷
۴	۵/۵۰±۰/۰۲ *	۴/۴۸±۰/۲۸
۵	۳/۶۵±۰/۰۶	۳/۹۰±۰/۵۹
۶	۱۵/۴۹±۰/۷۳	۱۵/۸۴±۰/۷۲
۷	۱/۱۶±۰/۰۸	۱/۲۰±۰/۱۶
۸	۱/۴۷±۰/۰۶	۱/۶۲±۰/۱۱
۹	۱/۶۰±۰/۰۴	۱/۴۱±۰/۵۰
۱۰	۱/۱۲±۰/۰۹	۱/۸۳±۰/۰۶
میانگین	۳/۴۶	۳/۳۲
ضریب تغییرات (%)	۵/۱	۱۰/۳

در هر ردیف علامت \* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت دو میانگین در سطح پنج درصد است. هر داده میانگین ± انحراف معیار دو تکرار است.



شکل ۳- رابطه بین بور استخراج شده با آب داغ همراه با افزودن کربن فعال و بدون افزودن کربن فعال

جدول ۵- اثر مقادیر متفاوت کربن فعال بر درصد بازیابی بور

میانگین	غلظت اولیه بور (mg/l)				گرم کربن فعال در ۴۰ میلی‌لیتر محلول
	۲	۱	۰/۵	۰/۲	
۱۰۴/۹	۱۰۹/۶	۱۰۰/۸	۱۰۳	۱۰۶/۳	۰/۲
۱۰۰/۴	۱۰۷/۲	۹۸/۷	۱۰۲/۶	۹۳	۰/۴
۹۷/۶	۱۰۲/۹	۹۵/۷	۱۰۰/۶	۹۱/۳	۰/۶

### بررسی اثر ذرات کلوئیدی معلق (در روش ایکاردا) و رنگ عصاره

#### (در روش انجمن علوم خاک امریکا) بر مقدار بور عصاره

نتایج آزمایش اثر کدورت ناشی از ذرات کلوئیدی بر اندازه‌گیری بور به روش ایکاردا در جدول (۶) ارائه شده است. در اکثر عصاره‌هایی که از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور دادند مقدار بور اندازه‌گیری شده کمتر بود و در خاک‌های ۲ و ۴ این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). میانگین بور برای عصاره‌های عبور یافته از کاغذ صافی واتمن ۴۲، ۳/۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای عصاره‌های عبور یافته از کاغذ صافی واتمن ۴۰، ۳/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در روش ایکاردا از کاغذ واتمن ۴۰ (متوسط منفذ) برای صاف کردن عصاره استفاده می‌شود. بنابراین در برخی از خاک‌ها به دلیل عبور کلوئیدها از این کاغذ صافی احتمال بیش برآورد بور قابل دسترس خاک وجود دارد. به علاوه در روش ایکاردا چون از آب مقطر برای استخراج استفاده می‌شود ذرات کلوئیدی خاک پراکنده می‌شوند به گونه‌ای که مدت زمان عبور تعلیق از کاغذ صافی واتمن ۴۲ بسیار طولانی خواهد بود و از لحاظ عملی محدودیت ایجاد می‌کند. بنابراین از این نظر نیز روش انجمن علوم خاک امریکا که از کاغذ صافی واتمن ۴۲ (ریز منفذ) برای صاف کردن تعلیق استفاده می‌کند از خطای کمتری برخوردار است. به‌علاوه در این روش به دلیل استفاده از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار کلوئیدها هم‌اور باقی مانده و عبور عصاره از کاغذ صافی واتمن ۴۲ سریع است. رابطه بین این دو روش صاف کردن عصاره در شکل (۴) نشان داده شده است. هر دو روش همبستگی بالایی ( $r^2 = 0.993$ ) نشان دادند و خط برازش داده

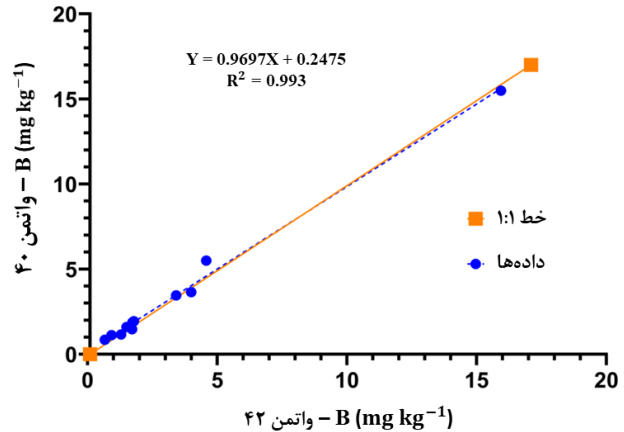
### نتیجه‌گیری

استفاده از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار به‌جای آب تغییر معنی‌داری در مقدار بور قابل استخراج با آب داغ ایجاد نمی‌کند و مزیت استخراج عصاره بدون کلئید و حتی از نظر رنگ شفاف‌تر را به همراه دارد که به‌نوعی سبب کاهش خطای اندازه‌گیری بور به هر دو روش طیف‌سنجی و رنگ‌سنجی خواهد شد. استفاده از کربن فعال سبب کاهش معنی‌دار بور محلول می‌شود اما خطای مثبت ناشی از عدم استفاده آن می‌تواند بیشتر و پراهمیت‌تر باشد به‌ویژه در خاک‌هایی که مقدار بور قابل دسترس پایین و کربن آلی بالایی دارند و اندازه‌گیری بور در آن‌ها به روش رنگ‌سنجی آزمون‌تین-اچ انجام می‌شود. در صورت استفاده از روش رنگ‌سنجی آزمون‌تین-اچ جهت اندازه‌گیری بود افزودن کربن فعال به مقدار پیشنهاد شده در روش ایکاردا جهت حذف این خطای مثبت توصیه می‌شود. در روش ایکاردا عبور عصاره‌های آب داغ از کاغذ صافی واتمن ۴۰ گرچه وقت‌گیر نیست اما به‌طور کامل سبب حذف کلئیدهای معلق در همه خاک‌ها نمی‌شود و لذا در اندازه‌گیری متعاقب بور می‌تواند سبب ایجاد خطای مثبت شود اما در روش انجمن علوم خاک امریکا به‌دلیل استفاده از کلسیم کلراید ۰/۰۲ مولار در مرحله استخراج کلئیدها به‌صورت هم‌اور باقی مانده و تعلیق به‌خوبی از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور می‌کند و این خطا تقریباً به‌طور کامل حذف می‌شود. به‌طور کلی اندازه‌گیری بور قابل دسترس خاک به روش انجمن علوم خاک امریکا از صحت بالاتری نسبت به روش ایکاردا برخوردار است و لذا این روش برای استفاده توصیه می‌شود.

### سپاس‌گزاری

این تحقیق با حمایت مالی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور اجرا گردیده است و نویسندگان بدین وسیله تقدیر می‌نمایند.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"



شکل ۴- رابطه بین بور استخراج شده با آب داغ در عصاره بدون ذرات کلئیدی (عبور یافته از کاغذ واتمن ۴۲) و با ذرات کلئیدی (عبور یافته از کاغذ واتمن ۴۰)

جدول ۷- اثر رنگ عصاره بر غلظت بور در روش انجمن علوم خاک امریکا

شماره خاک	غلظت رنگ عصاره (mg/l)	غلظت اصلاح نشده بور در عصاره (mg/l)	غلظت اصلاح شده بور در عصاره (mg/l)
۱	۰/۱۸±۰/۰۳	۱/۱۲±۰/۰۱ *	۰/۹۴±۰/۰۴
۲	۰/۴۲±۰/۰۱	۱/۱۲±۰/۰۱ *	۰/۷۰±۰/۰۶
۳	۰/۲۰±۰/۰۲	۰/۶۰±۰/۰۱ *	۰/۴۰±۰/۰۳
۴	۰/۰۵±۰/۰۱	۲/۷۳±۰/۱۱	۲/۶۸±۰/۱۰
۵	۰/۲۷±۰/۰۳	۲/۳۴±۰/۰۷ *	۲/۰۷±۰/۰۴
۶	۰	۷/۴۴±۰/۲۹	۷/۴۴±۰/۲۹
۷	۰	۰/۶۵±۰/۰۳	۰/۶۵±۰/۰۳
۸	۰/۴۴±۰/۱۱	۱/۲۵±۰/۰۱ *	۰/۸۱±۰/۰۱
۹	۰/۱۲±۰/۰	۱/۰±۰/۰۷ *	۰/۸۷±۰/۰۲
۱۰	۰/۱۶±۰/۰	۰/۸۳±۰/۰۶	۰/۶۷±۰/۰۶
۱۱	۰/۱۱±۰/۰۳	۲/۵۴±۰/۰۵	۲/۴۳±۰/۰۲
۱۲	۰/۰۱±۰/۰۲	۰/۲۱±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰
۱۳	۰	۱/۶۹±۰/۱۱	۱/۶۹±۰/۱۱
۱۴	۰	۰/۳۰±۰/۰۴	۰/۳۰±۰/۰۴
۱۵	۰	۰/۵۱±۰/۰۱	۰/۵۱±۰/۰۱
۱۶	۰	۰/۶۲±۰/۰۱	۰/۶۲±۰/۰۱
۱۷	۰	۰/۶۶±۰/۰۱	۰/۶۶±۰/۰۱
۱۸	۰/۲۹±۰/۰	۲/۱۱±۰/۰۴ *	۱/۸۲±۰/۰۴
۱۹	۰	۰/۶۶±۰/۰	۰/۶۶±۰/۰
۲۰	۰	۰/۸۳±۰/۰۴	۰/۸۳±۰/۰۴

در هر ردیف علامت \* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت دو میانگین در سطح پنج درصد است. هر داده میانگین ± انحراف معیار دو تکرار است.

### REFERENCES

- Aitken, R., Jeffrey, A., and Compton, B. (1987). Evaluation of selected extractants for boron in some Queensland soils. *Soil Research*, 25(3), 263-273.
- Baker, A. (1964). Modifications in the curcumin procedure for the determination of boron in soil extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 12, 367-370.
- Basson, W., Boehmer, R., and Stanton, D. (1969). An automated procedure for the determination of boron in plant tissue. *Analyst*, 94(1125), 1135-1141.
- Berger, K., and Truog, E. (1939). Boron determination in soils and plants. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 11(10), 540-545.
- Berger, K., and Truog, E. (1940). Boron deficiencies as revealed by plant and soil tests. *Journal of the American Society of Agronomy*, 32, 297-301.
- Berger, K., and Truog, E. (1944). Boron tests and determination for soils and plants. *Soil Science*, 57(1), 25-36.
- Cartwright, B., Tiller, K., Zarcinas, B., and Spouncer, L.

- (1983). The chemical assessment of the boron status of soils. *Soil Research*, 21(3), 321-332.
- Dible, W., Truog, E., and Berger, K. (1954). Boron determination in soils and plants. *Analytical Chemistry*, 26(2), 418-421.
- Estefan, G. (2013). Methods of soil, plant, and water analysis: a manual for the West Asia and North Africa region. In: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
- Farahbakhsh, M. (2007). Application of activated carbon to decolorize soil extract and its effect on the amount of boron measured by Azomethine-H method. Paper presented at the 10th Iranian Soil Science Congress, Karaj. (In Farsi)
- Goldberg, S., and Suarez, D. L. (2014). A new soil test for quantitative measurement of available and adsorbed boron. *Soil Science Society of America Journal*, 78(2), 480-485.
- Gupta, S., and Stewart, J. (1978). An automated procedure for determination of boron in soils, plants, and irrigation waters. *Schweizerische landwirtschaftliche Forschung. La Recherche agronomique en Suisse*, 17, 51-55.
- Gupta, U. (1979). Some factors affecting the determination of hot-water-soluble boron from Podzol soils using azomethine-H. *Canadian Journal of Soil Science*, 59(3), 241-247.
- Gupta, U. C., Jame, Y., Campbell, C., Leyshon, A., and Nicholaichuk, W. (1985). Boron toxicity and deficiency: a review. *Canadian Journal of Soil Science*, 65(3), 381-409.
- Hatcher, J. T., and Wilcox, L. (1950). Colorimetric determination of boron using carmine. *Analytical Chemistry*, 22(4), 567-569.
- Hettiarachchi, G. M., and Gupta, U. C. (2008). Boron, molybdenum, and selenium. Soil sampling and methods of analysis, 95-108.
- Joshi, C., Pachauri, S. P., Srivastava, P. C., and Shukla, A. K. (2014). Evaluation of different soil extractants for assessing B availability to maize (*Zea mays* L.). *Spanish Journal of Soil Science*, 4(3), 254-264.
- Keren, R. (1996). Boron. Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods, 603-626.
- Keren, R., and Bingham, F. (1958). Boron in water, soils, and plants. In *Advances in Soil Science* (pp. 229-276): Springer.
- Lindsay, W. (1979). *Chemical equilibria in soils*: Chichester, UK: John Wiley & Sons.
- Lindsay, W., and Cox, F. (1985). Micronutrient soil testing for the tropics. In *Micronutrients in tropical food crop production* (pp. 169-200): Springer.
- Matsi, T., Antoniadis, V., and Barbayiannis, N. (2000). Evaluation of the NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>-DTPA soil test for assessing boron availability to wheat. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31(5-6), 669-678.
- Parker, D., and Gardner, E. (1981). The determination of hot-water-soluble boron in some acid Oregon soils using a modified azomethine-H procedure. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 12(12), 1311-1322.
- Peck, T., and Soltanpour, P. (1990). The principles of soil testing. *Soil testing and plant analysis*, 3, 1-9.
- Ponnampuruma, F., Cayton, M., and Lantin, R. (1981). Dilute hydrochloric acid as an extractant for available zinc, copper and boron in rice soils. *Plant and Soil*, 61(3), 297-310.
- Sarkar, D., Mandal, B., and Mazumdar, D. (2008). Plant availability of boron in acid soils as assessed by different extractants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(2), 249-254.
- Singh, K., and Sinha, H. (1976). Availability of boron in relation to certain soil properties. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 24(4), 403-408.
- Strawn, D. G., Bohn, H. L., and O'Connor, G. A. (2015). *Soil chemistry*: John Wiley & Sons.
- Wear, J. I., and Patterson, R. (1962). Effect of Soil pH and Texture on the Availability of Water-Soluble Boron in the Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 26(4), 344-346.
- Wolf, B. (1971). The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2(5), 363-374.
- Wolf, B. (1974). Improvements in the azomethine-H method for the determination of boron. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 5(1), 39-44.
- WRB, I. (2014). World reference base for soil resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps (106).