

تأثیر EDTA، اسید سیتریک و عصاره کود مرغی بر گیاه پالایی سرب با ذرت در یک خاک آلوده لومی شنی

محمد رحمانیان^{۱*}، علیرضا حسین پور^۲، ابراهیم ادهمی^۳، حمیدرضا متقیان^۲

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۲۷)

چکیده

از گیاهان می توان برای پاکسازی خاک از آلاینده‌ها استفاده کرد ولی، برای این امر ممکن است سالها و یا حتی چندین دهه وقت لازم باشد، به همین دلیل از تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی برای گیاه پالایی استفاده می شود. در پژوهش حاضر توانایی ذرت (هیبرید سینگل کراس ۷۰۴) برای اندوزش سرب در یک خاک لوم شنی آلوده به سرب در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه بررسی شد. اسید سیتریک و EDTA در سطوح غلظتی صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مول بر کیلوگرم خاک و عصاره کود مرغی در سطوح غلظتی صفر، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم خاک استفاده شدند. نتایج نشان داد که اثر کلات کننده‌ها بر غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه، جذب سرب اندام هوایی و ضریب تغلیظ زیستی معنی دار ($p \leq 0/05$) بود. با افزایش غلظت کلات کننده‌ها وزن خشک اندام هوایی به صورت غیر معنی دار کاهش یافت. استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مول EDTA بر کیلوگرم خاک غلظت سرب در اندام هوایی ذرت را به ترتیب ۱۶۴ و ۲۶۰ درصد برابر شاهد به صورت معنی دار افزایش داد. کاربرد ۱ میلی مول بر کیلوگرم خاک اسید سیتریک و ۱ گرم بر کیلوگرم خاک عصاره کود مرغی غلظت سرب را در اندام هوایی ذرت به ترتیب ۱۲۲ و ۱۱۶ درصد برابر شاهد افزایش داد. کاربرد ۱ میلی مول در کیلوگرم EDTA و اسید سیتریک ضریب تغلیظ زیستی را به ترتیب ۱۴۵ و ۱۴۰ درصد برابر شاهد به صورت معنی دار افزایش داد. کاربرد غلظت ۱ میلی مول EDTA در کیلوگرم خاک ضریب انتقال را ۲۰۷ درصد برابر شاهد به صورت معنی دار افزایش داد. از آنجایی که استفاده زیاد از حد کلات کننده‌ها می تواند باعث قابلیت استفاده بیشتر سرب در خاک شود بدون این که جذب گیاه را افزایش دهد، لذا استفاده از سطوح غلظتی بالاتر توصیه نمی شود.

واژه‌های کلیدی: گیاه پالایی، فلزات سنگین، EDTA، اسید سیتریک، عصاره کود مرغی

۱- دانشجوی دکتری علوم خاک دانشگاه شهرکرد (مکاتبه کننده)

۲- استاد و استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شهرکرد

۳- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه یاسوج

* پست الکترونیک: M.rahmanian10@yahoo.com

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین، یکی از مهمترین مسائل زیست‌محیطی در دنیا محسوب می‌شود. پیامد این آلودگی، تهدیدی مهم برای سلامتی انسان خواهد بود (Luo *et al.*, 2005). اخیراً توجه پژوهشگران زیادی به روش استفاده از گیاهان برای خروج فلزات سنگین از خاک‌های آلوده معطوف شده است. برای کسب نتایج مناسب در گیاه‌پالایی استفاده از گیاهان دارای زیست‌توده زیاد مانند ذرت، پنبه، آفتابگردان، خردل هندی و کلزا پیشنهاد شده است (Vassilev *et al.*, 2002). از آنجایی که فراهمی زیستی برخی از فلزات سنگین در خاک کم است، بنابراین افزایش حلالیت آنها در خاک و تسریع انتقال آنها از ریشه به اندام هوایی گیاه برای موفقیت گیاه‌پالایی امری مهم است (Blaylock *et al.*, 1997). استفاده از ترکیبات آلی و غیرآلی می‌تواند به طور مؤثر و اختصاصی حلالیت فلزات سنگین را افزایش داده و منجر به تجمع فلزات سنگین توسط گونه‌های متعدد گیاهی شود.

کلات‌کننده‌های شیمیایی و طبیعی می‌توانند جذب فلزات سنگین توسط گیاهان و فراهمی آنها را افزایش دهند (Luo *et al.*, 2005). افزودن کلات‌کننده‌های شیمیایی از قبیل EDTA و اسید سیتریک (Evangelou *et al.*, 2007) و کلات‌کننده‌های طبیعی از قبیل عصاره کود مرغی، عصاره کود گاوی و عصاره کود گوسفندی (Safari Sinigani & Ahmadi, 2012) به خاک منجر به افزایش قابلیت استفاده فلزات و در نهایت جذب و اندوزش آنها توسط گیاهان شده است. کلات‌کننده‌ها، میل ترکیبی قوی برای کاتیون فلزات سنگین مختلف دارند و به آسانی آنها را از ریشه به اندام هوایی به صورت کمپلکس فلز با کلات جابه‌جا می‌کنند. از این رو کلات‌کننده‌ها در زمان یکسان جذب و جابه‌جایی فلزات سنگین را افزایش می‌دهند و همچنین می‌توانند سمیت کاتیون‌های فلزی را در بخش‌های مختلف گیاه کاهش دهند.

بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده کاربرد کلات‌کننده‌ها در افزایش راندمان گیاه‌پالایی تأثیر زیادی دارد. ژانگیو و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثر EDTA و IDSA (آمینو دیسکاسنیک اسید) بر جذب و توزیع سرب در آپوپلاست و سیمپلاست ریشه ذرت مشاهده کردند که غلظت آن در

ریشه با افزایش کلات‌کننده‌ها افزایش یافت. EDTA بیشترین تأثیر را در جذب سرب داشت. پژوهش‌های انجام‌شده نشان می‌دهند EDTA تحرک فلزات سنگین در خاک و جذب آنها به وسیله ریشه را افزایش می‌دهد. بابائیان و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند بیشترین غلظت سرب در شاخساره و ریشه هویج با کاربرد ۱۰ میلی‌مول EDTA بر کیلوگرم خاک بدست آمد (Babaeian *et al.*, 2011). بر اساس نظر این محققان توالی کلات‌کننده‌های مختلف در افزایش غلظت سرب محلول در خاک به ازای تمامی سطوح آلاینده به ترتیب اسیدازگزالیک > NTA > EDTA بود. از دلایل مهم این توالی می‌توان به وجود کمپلکس‌های قوی و پایدار میان EDTA و فلز سرب در pH معمول خاک، پتانسیل تحرک بالای کمپلکس‌های EDTA-Pb در خاک‌های سبک‌بافت (Luo *et al.*, 2005) و ویژگی زیست‌تجزیه پذیر NTA (نیتریلو تری استیک اسید) و اسید اگزالیک و در مقابل مقاومت بالای EDTA نسبت به تجزیه در خاک (Evangelou *et al.*, 2007) اشاره نمود. کاربرد EDTA و مقادیر مختلف اسید سیتریک به طور معنی‌داری غلظت‌های کادمیم، سرب و کروم را در اندام هوایی گیاه *Typha angustifolia* در مقایسه با شاهد را افزایش داده و در این میان EDTA از اسید سیتریک مؤثرتر بوده است (Dawood *et al.*, 2009). بنابراین با توجه به موارد فوق، این پژوهش با رویکرد کاهش مقدار سرب یک خاک آلوده به این عنصر با ذرت که سیستم ریشه‌ای قوی داشته و همچنین زیست‌توده بالایی تولید می‌کند و اثر کلات‌کننده‌های مختلف بر آن انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر یک نمونه خاک از لایه سطحی (۳۰-۰ سانتی‌متری) در نزدیکی معادن سرب و روی باما در شهر اصفهان انجام شد. نمونه خاک هوا خشک‌شده و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری، به منظور بررسی‌های آزمایشگاهی آماده شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه از جمله: بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، pH در سوسپانسیون ۲:۱ خاک به آب مقطر (Thomas, 1996)، EC در عصاره صاف‌شده ۲:۱ خاک به آب مقطر (Rhoades, 1996)، کربنات کلسیم معادل (Loeppert & Suarez, 1996) و مقدار ماده آلی خاک و عصاره کود مرغی به روش اکسیداسیون تر (Nelson

(۲) $\frac{\text{غلظت فلز در اندام هوایی}}{\text{غلظت فلز در ریشه گیاه}} = \text{ضریب انتقال}$

(۳) $\text{عملکرد} = \left[\frac{\text{مقدار کل برداشت فلز از خاک توسط گیاه}}{\text{غلظت فلز استخراج شده توسط گیاه در گلدان}} \times \text{وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان} \right] / \text{گیاه}$

در روابط بالا غلظت فلز در گیاه بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک گیاهی، عملکرد گیاه بر حسب کیلوگرم گیاه، غلظت فلز استخراج شده و غلظت فلز در خاک بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم و وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان بر حسب کیلوگرم در هر گلدان است. بررسی تفاوت بین تیمارهای مختلف مورد استفاده با تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بافت خاک لوم شنی، دارای پهاش ۸/۲ و قابلیت هدایت الکتریکی ۰/۴۴ دسی‌زیمنس بر متر در عصاره ۱ به ۲ خاک به آب مقطر بود (جدول ۱). مقدار قابل استفاده عناصر فسفر، پتاسیم در این خاک، به ترتیب ۲۲ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. مقدار سرب قابل استفاده (اندازه‌گیری شده با عصاره‌گیر DTPA-TEA) ۶/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مقدار سرب، روی و مس کل به ترتیب ۲۵۰، ۸۵۰ و ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. غلظت سرب در خاک بیشتر از سطح طبیعی و حد بحرانی در خاک بود. سازمان سلامت جهانی (WHO) محدوده هشدار غلظت کل سرب، روی، مس و کادمیم خاک را به ترتیب ۳۵، ۹۰، ۳۰ و ۰/۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین کرده است (Tembo *et al.*, 2006). مقدار pH و قابلیت هدایت الکتریکی عصاره کود مرغی مورد استفاده در عصاره ۱ به ۵ کود مرغی به آب مقطر به ترتیب ۷/۹ و ۷/۷۵ (دسی‌زیمنس بر متر) بود. مقدار ماده آلی عصاره کود مرغی مورد استفاده ۰/۹۲ درصد بود. مقدار سرب، روی و مس در عصاره کود مرغی به ترتیب ۰/۱۲۵، ۱۰/۸۸ و ۲/۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

(Sommers, 1996) & تعیین شدند. معادل کل عنصر سرب با اسید نیتریک ۴ نرمال (Sposito *et al.*, 1982) در خاک عصاره‌گیری شد. مقدار سرب قابل استفاده در خاک و عصاره کود مرغی با عصاره‌گیر DTPA-TEA (Lindsay & Norvell, 1978) اندازه‌گیری شد.

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد انجام شد. ۵ بذر در عمق مناسب کاشته شد و پس از استقرار و سبز شدن کامل بذور در پایان هفته دوم، تعداد گیاهان به ۳ بوته تنک گردید. در طول دوره رشد گیاه، سعی شد رطوبت خاک‌ها با در نظر گرفتن ۳۰ درصد تخلیه مجاز ثابت بماند. اسید سیتریک و EDTA در سطوح غلظتی ۰/۵ و ۱ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک (Karczewska *et al.*, 2011) و عصاره کود مرغی در سطوح غلظتی ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم خاک (Tahmasbian & Safari Sinegani, 2013) به همراه آب آبیاری به طور منظم در طول دوره کشت و در چهار مرحله به گلدان‌ها اضافه شد. همچنین یک تیمار شاهد بدون اضافه کردن کلات‌کننده‌ها استفاده شد. برای تهیه عصاره کود مرغی، نسبت ۱ به ۵ کود مرغی به آب مقطر همراه با ۲ ساعت تکان دادن و سپس ۲۰ دقیقه سانتریفوژ و بعد از صاف شدن با کاغذ صافی واتمن ۴۲ استفاده شد (Tahmasbian & Safari Sinegani, 2013). مقدار عصاره کود مرغی مورد نیاز بر اساس مقدار عصاره حاصل از حجم مشخصی از عصاره ۱ به ۵ (کود مرغی به آب) محاسبه شد.

بعد از ۸ هفته در پایان رشد رویشی، اندام هوایی گیاهان برداشت، پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن در آون (۷۰ درجه سلسیوس) توزین و وزن خشک اندام هوایی گیاه اندازه‌گیری شد. غلظت سرب در اندام‌های هوایی با روش خشک سوزانی (Campbell & Plank, 1998) و به وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل جی بی سی، ۹۳۲) تعیین گردید. برای بررسی تأثیر کلات‌کننده‌ها بر گیاه‌پالایی سرب توسط ذرت ضریب انتقال فلز، ضریب تغلیظ زیستی و شاخص جذب با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (Doumett *et al.*, 2008).

(۱) $\text{غلظت فلز در ریشه یا اندام} = \text{ضریب تغلیظ زیستی} \times \text{غلظت کل یا قابل دسترس فلز در خاک} / \text{هوایی}$

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش

Table 1- Some physical and chemical characteristics of soil used in this study

سرب کل Total Pb (mg kg ⁻¹)	فسفر قابل استفاده Available P (mg kg ⁻¹)	کربنات کلسیم معادل (%) CaCO ₃	شن (%) Sand	سیلت (%) Silt	رس (%) Clay
250	22	32	57	25	18
سرب قابل استفاده Available Pb (mg kg ⁻¹)	پتاسیم قابل استفاده Available K (mg kg ⁻¹)	نیترژن کل خاک (%) Total N	قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)	واکنش pH خاک	ماده آلی OM (%)
6.3	150	0.03	0.44	8.2	0.82

سنگین منجر به کاهش عملکرد آفتابگردان شد (Lesage *et al.*, 2005). کاربرد ۲ گرم بر کیلوگرم EDTA جوانه زنی گیاهان را به تاخیر انداخت و منجر به کاهش عملکرد شد (Liphadzi & Kirkham, 2006). بر اساس نتایج جدول (۳)، در خاک‌های تیمارنشده و تیمار شده در کشت ذرت، بیشترین وزن خشک اندام هوایی ذرت در خاک تیمار شده با عصاره کود مرغی مشاهده شد و سایر تیمارها اثر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی ذرت نداشتند. علت افزایش وزن خشک اندام هوایی ذرت در خاک تیمار شده با عصاره کود مرغی می‌تواند به وجود عناصر غذایی بویژه نیترژن و فسفر در کود مرغی نسبت داده شود.

بررسی تأثیر کلات‌کننده‌ها بر غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی ذرت

استفاده از کلات‌کننده‌ها اثر معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بر غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی ذرت داشت (جدول ۳). با افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه ذرت افزایش یافت (جدول ۳). بیشترین غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی ذرت در خاک تیمار شده با ۱ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA مشاهده شد. نتایج نشان داد که غلظت سرب در ریشه ذرت بیشتر از اندام هوایی بود (جدول ۳). تجمع سرب در ریشه می‌تواند به دلیل ایجاد پیوند با گروه‌های سولفیدریل و در نتیجه کاهش انتقال به اندام هوایی باشد (Singh *et al.*, 2004). با این حال وانگ و همکاران (۲۰۰۲) علت تجمع عناصر در ریشه را به دلیل دوره کوتاه رشد (۱۰ هفته) گزارش کردند (Wang *et al.*, 2002). کاربرد کلات‌کننده‌ها موجب افزایش غلظت سرب در ریشه ذرت شد.

جدول ۲ نتایج تجزیه واریانس اثر کلات‌کننده‌ها بر شاخص‌های ذرت شامل ماده خشک اندام هوایی و ریشه، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه، جذب سرب اندام هوایی و ریشه، ضریب تغلیظ زیستی و فاکتور انتقال ذرت را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد اثر کلات‌کننده‌ها بر غلظت سرب در اندام هوایی، جذب سرب اندام هوایی ($p \leq 0.05$) معنی‌دار است (جدول ۲).

بررسی تأثیر کلات‌کننده‌ها بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی ذرت

شاخص‌های ذرت در مطالعه عنصر سرب در خاک‌های تیمارنشده و تیمار شده با کلات‌کننده‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از کلات‌کننده‌ها اثر معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بر وزن خشک اندام هوایی ذرت داشت اما اثر آن‌ها بر وزن خشک ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۳). با افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها وزن خشک اندام هوایی کاهش یافت. کاهش وزن خشک اندام هوایی در نتیجه افزایش غلظت کلات‌کننده‌ها را می‌توان به پایداری بالای کمپلکس-های سرب با کلات‌کننده‌ها، افزایش فراهمی سرب قابل استفاده خاک (جدول ۳) و به تبع آن اثرات سمی این فلز بر گیاهان و ریزجانداران خاک نسبت داد (Greman *et al.*, 2003). بنابراین در خاک‌های دارای فلزات سنگین با قابلیت‌استفاده زیاد، بهتر است از کلات‌کننده‌ها استفاده نشود. افزایش غلظت اسید سیتریک منجر به کاهش رشد گیاه به دلیل بروز اثرات سمی ناشی از عناصر سنگین می‌شود (Dawood *et al.*, 2009) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

در خاک‌های تیمار شده با EDTA و اسید سیتریک زیست-توده ذرت کاهش یافت. افزایش قابل توجه غلظت فلزات

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کلات‌کننده‌ها بر شاخص‌های ذرت

Table 2- Analysis of variance (mean of squares) of the effect of chelating agents on Corn indicators

فاکتور انتقال TF	ضریب تغلیظ زیستی BCF	جذب سرب در ریشه Pb root cont.	وزن خشک ریشه Root DM	غلظت سرب در ریشه Pb root conc.	جذب سرب اندام هوایی Pb shoot cont.	وزن خشک اندام هوایی Shoot DM	غلظت سرب در اندام هوایی Pb shoot conc.	درجه آزادی df	منابع تغییر Source of variation
0.007 _{ns}	4.31 _{ns}	0.0004 _{ns}	0.06 _{ns}	171.35 _{ns}	0.0004*	0.64 _{ns}	18.88**	6	کلات Chelate
0.004	1.64	0.0004	0.08	65.15	0.0001	0.32	2.23	14	خطا Error
35.3	21.3	29.6	17.3	21.3	30.1	10.3	21.9	-	CV%

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و ns عدم تفاوت معنی‌دار در سطح آماری.

** significant at P=0.01; * significant at P=0.05; ns: not significant at each probability level.)

Chen, 2005). در مطالعه‌ی چن و زیانگ‌دنگ (۲۰۰۴)، کاربرد ۲ گرم بر کیلوگرم EDTA منجر به افزایش جذب سرب توسط *Hemidesmus indicus* به مقدار ۳ برابر در مقایسه با گیاه شاهد شد (Chen & Xiangdong, 2004).

استفاده از کلات‌کننده‌ها منجر به افزایش غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد شد، که اثر EDTA بیشتر از بقیه دیده شد. لائو و شن (۲۰۰۵) تأثیر EDTA، EDDS و اسید سیتریک را در گیاه‌پالایی خاک آلوده به سرب را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که EDTA غلظت سرب را در اندام‌های هوایی ذرت افزایش داد (Lai & Lai

جدول ۳- شاخص‌های ذرت در خاک‌های تیمارنشده و تیمار شده با کلات‌کننده‌ها

Table 3- Corn indicators in untreated and treated soils by chelating agents

فاکتور انتقال TF	ضریب تجمع زیستی BCF	جذب Uptake (mg pot ⁻¹)		وزن خشک Dry mass (g pot ⁻¹)		غلظت Conc. (mg kg ⁻¹)		غلظت Conc.	تیمارها Treatments
		هوایی Shoot	ریشه Root	هوایی Shoot	ریشه Root	هوایی Shoot	ریشه Root		
0.16 ^b	6.82 ^{ab}	0.037 ^b	0.080 ^a	5.19 ^{bc}	1.85 ^a	7.16 ^b	43.00 ^{ab}	0.5	EDTA
0.27 ^a	7.46 ^a	0.058 ^a	0.074 ^a	5.14 ^{bc}	1.54 ^a	11.36 ^a	47.00 ^a	1	(mmol kg ⁻¹)
0.15 ^b	5.66 ^{bc}	0.027 ^b	0.060 ^a	5.36 ^{abc}	1.70 ^a	5.10 ^{bc}	35.66 ^{bc}	0.5	اسید سیتریک
0.11 ^b	7.19 ^a	0.027 ^b	0.068 ^a	5.07 ^c	1.52 ^a	5.33 ^{bc}	45.33 ^a	1	Citric acid (mmol kg ⁻¹)
0.17 ^b	4.15 ^c	0.025 ^b	0.048 ^a	6.15 ^a	1.83 ^a	4.30 ^c	26.16 ^c	0.5	عصاره کود مرغی
0.14 ^b	5.66 ^{bc}	0.030 ^b	0.064 ^a	6.06 ^{ab}	1.80 ^a	5.06 ^{bc}	45.16 ^c	1	PME (g kg ⁻¹)

حروف متفاوت برای هر ویژگی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد هستند، Con: غلظت different letters show significant differences at the 0.05 probability level for each properties, Con: concentration)

بود. به طور کلی کاهش جذب سرب در اندام هوایی ذرت در مقایسه با ریشه به دلیل کاهش غلظت سرب در اندام هوایی در مقایسه با ریشه می‌باشد (جدول ۳). سان و همکاران (۲۰۰۹) تأثیر EDTA و اسید سیتریک در دو غلظت (۵ و ۸ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) را در جذب فلزات سنگین توسط *Sedum alfredia* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که EDTA و اسید سیتریک تأثیر بازدارندگی بر رشد گیاه داشته و وزن خشک اندام هوایی را کاهش داده بودند (Sun et al., 2009).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش اگرچه کاربرد EDTA و اسید سیتریک منجر به کاهش زیست‌توده ذرت شد اما با افزایش جذب سرب توسط ریشه و اندام هوایی منجر به افزایش استخراج سرب از خاک توسط ذرت شد. جذب سرب در ریشه ذرت در مقایسه با اندام هوایی بیشتر بود. کاربرد غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مول EDTA بر کیلوگرم خاک جذب سرب توسط اندام هوایی ذرت را به ترتیب ۱۴۸ و ۲۳۲ درصد (معنی‌دار برای ۱ میلی‌مول EDTA) برابر شاهد افزایش داد. کاربرد اسید سیتریک و ۱ گرم بر کیلوگرم عصاره کود مرغی جذب سرب توسط اندام هوایی ذرت را به ترتیب ۱۱۰ و ۱۲۰ درصد برابر شاهد افزایش داد. کاربرد کلات‌کننده‌ها باعث افزایش غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه ذرت شد. غلظت سرب در ریشه ذرت بیشتر از اندام هوایی بود. کاربرد کلات‌کننده‌ها باعث افزایش ضریب تغلیظ زیستی سرب (به استثناء خاک تیمار شده با ۰/۵ گرم بر کیلوگرم عصاره کود مرغی) و ضریب انتقال سرب در مقایسه با شاهد شد. حداکثر ضریب تغلیظ زیستی و ضریب انتقال سرب در خاک تیمار شده با ۱ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA مشاهده شد. حداکثر جذب سرب، در خاک‌های تیمار شده با EDTA مشاهده شد که علت آن افزایش غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی در اثر کاربرد EDTA است. کاربرد کلات‌کننده‌ها باعث افزایش جذب سرب توسط ذرت در مقایسه با شاهد شد.

بررسی تأثیر کلات‌کننده‌ها بر ضریب تغلیظ زیستی و فاکتور انتقال سرب

ضریب انتقال در حقیقت نسبت غلظت فلز در اندام هوایی به غلظت فلز در ریشه بوده و نشانگر توانایی گونه‌های مختلف گیاهی در انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی است (Doumett et al., 2008). با افزایش غلظت EDTA ضریب انتقال سرب افزایش یافت که معنی‌دار نبود، اما با افزایش غلظت اسید سیتریک و عصاره کود مرغی ضریب انتقال سرب کاهش یافت (جدول ۳). ضریب انتقال با این که قدرت نسبی گیاهان برای پالایش عناصر فلزی از خاک نشان می‌دهد، ولی برای ارزیابی نهایی کافی نمی‌باشد. از آنجایی که علاوه بر غلظت عنصر، میزان ماده خشک اندام هوایی نیز در تعیین پتانسیل پالایش عناصر نقش مهمی دارد لذا برای ارزیابی نهایی قدرت گیاه‌پالایی گیاهان، این پارامتر کافی نیست (Solhi, 2006). سرب تمایل زیادی برای تجمع در ریشه دارد و انتقال این عنصر از ریشه به اندام‌های هوایی با مقاومت زیادی روبرو می‌باشد (Solhi, 2006)، که نتایج بیانگر این حقیقت می‌باشند. افزایش ضریب تغلیظ زیستی بیانگر توانایی بالاتر گیاه در پالودن عنصر مورد نظر می‌باشد. بر اساس تقسیم‌بندی بینی و همکاران (Bini et al., 1995) گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، در گروه گیاهان بسیار اندوزشگر قرار می‌گیرد.

بررسی تأثیر کلات‌کننده‌ها بر مقدار کل برداشت سرب توسط ریشه و اندام هوایی ذرت

مقدار کل برداشت فلز از خاک توسط گیاه از حاصل‌ضرب عملکرد گیاه در گلدان بر حسب کیلوگرم گیاه، در غلظت فلز استخراج‌شده توسط گیاه بر حسب میلی‌گرم، تقسیم بر وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان بر حسب کیلوگرم بدست می‌آید (Doumett et al., 2008). مقدار کل برداشت فلز یک معیار نسبی برای تعیین پالایش عناصر فلزی در خاک می‌باشد و در واقع در استخراج عناصر فلزی از خاک قویترین معیار برای تعیین پتانسیل گیاه‌پالایی می‌باشد (Solhi, 2006). حداکثر جذب سرب، در خاک‌های تیمار شده با EDTA مشاهده شد که علت آن افزایش غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی در اثر کاربرد EDTA می‌باشد. در خاک‌های تیمار شده مقدار جذب سرب از شاهد بیشتر

References

- Babaeian E., Ghafarian M., and Homae M. 2011. Comparison of EDTA, NTA and oxalic acid effects on fixation and extraction of lead from soil. The first National Phytoremediation Congress, February 17, International Center of Science, Technology and Environmental Science Kerman, p.136. (In Persian)
- Bini C., Gentili L., Maleci-Bini L., and Vaselli O. 1995. Trace elements in plants and soils of urban parks. Annexed to Contaminated Soil Prost, INRA. Paris.
- Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., and Kapulnik Y. 1997. Enhanced accumulation of Pb in *Indian mustard* by soil-applied chelating agents. *Environmental Science and Technology*, 31: 860-865.
- Bouyoucos G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal*, 54: 464-465.
- Campbell C.R., and Plank C.O. 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. In: Kalra Y.P. (ed.), Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Taylor and Francis Group. pp: 37-50.
- Chen Y., and Xiangdong L.Z. 2004. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. *Chemosphere*, 57: 187-196.
- Dawood M., Chen F., Zhao J., Zhang G., and Wu F. 2009. Comparison of EDTA and citric acid enhanced phytoextraction of heavy metal in artificially metal contaminated soil by *Typha agustifolia*. *International Journal of Phytoemediation*, 11: 109-121.
- Doumett S., Lamperi L., Checchini L., Azzarello E., Mugnai S., Mancuso S., Petruzzelli G., and Del Bubba M. 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. *Chemosphere*, 72: 1481-1490.
- Evangelou M.W.H., Ebel M., and Schaeffer A. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil: effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68: 989-1003.
- Greman H., Vodnik B., Velikonja-Bolta D., and Lestan D. 2003. EDDS as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, 32: 500-506.
- Karczewska A., Orłow K., Kabala C., Szopka K., and Galka B. 2011. Effects of chelating compounds on mobilization and phytoextraction of copper and lead in contaminated soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42: 1379-1389.
- Lai H.Y., and Chen Z.S. 2005. The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metals contaminated soils using rainbow pink (*Dianthus chinensis*). *Chemosphere*, 60: 1062-1071.
- Lesage E., Meers E., Vervaeke P., Lamsal S., Hopgood M., Tack F.M.G., and Verloo M.G. 2005. Enhanced phytoextraction: II. Effect of EDTA and citric acid on heavy metal uptake by *Helianthus annuus* from a calcareous soil. *International Journal of Phytoremediation*, 7: 143-152.
- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421-428.
- Liphadzi M.S., and Kirkham M.B. 2006. Availability and plant uptake of heavy metals in EDTA-assisted phytoremediation of soil and composted biosolids. *South African Journal of Botany*, 72: 391-397.
- Loeppert R.H., and Suarez D.L. 1996. Carbonate and gypsum. In: Sparks D.L. (Eds.), Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, WI, pp. 437-474.
- Luo C., Shen Z., Lou S., and Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 59: 1-11.
- Nelson D.W., and Sommers L.E. 1996. Carbon, organic carbon, and organic matter. In: Sparks D.L. (Eds.), Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, WI, pp. 961-1010.
- Rhoades J.D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In: Sparks D.L. (Eds.), Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, WI, pp. 417-435.
- Safari Singani A.A., and Ahmadi P. 2012. Manure application and cannabis cultivation influence on speciation of lead and cadmium by selective sequential extraction. *Soil and Sediment Contamination*, 21: 305-321.

- Singh S., Saxena R., Pandey K., Bhatt K., and Sinha S. 2004. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. *Chemosphere*, 57: 1663-1673.
- Solhi M. 2006. Phytoremediation of Pb and Zn contaminated soils and use of radioisotopes in order to study the behavior of Zn in soil and plant. PhD Thesis, College of Agriculture, Isfahan University of Technology.
- Sposito G.L., Lund J., and Chang A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in solid phases. *Soil Science Society of America Journal*, 46: 260-265.
- Sun U.B., Zhou Q., An J., Liu W., and Liu R. 2009. Chelator-enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil irrigated by industrial wastewater with the hyperaccumulator plant. *Geoderma*, 150: 106-112.
- Tahmasbian I., and Safari Sinegani A.A. 2013. Monitoring the effects of chelating agents and electrical fields on active forms of Pb and Zn in contaminated soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185: 8847-8860.
- Tembo B.D., Sichilongo K., and Cernak J. 2006. Distribution of copper, lead, cadmium and zinc concentrations in soils around Kabwe town in Zambia. *Chemosphere*, 63: 497-501.
- Thomas G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks D.L. (ed.), *Methods of Soil Analysis*. SSSA, Madison, WI, pp. 475-490.
- Vassilev A., Vangronsveld J., and Yordanonov I. 2002. Reviews: Cadmium phytoextraction: present state, biological backgrounds and research needs. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 28: 68-95.
- Wang Z., Shan X.Q., and Zhang S. 2002. Comparison between fractionation and bioavailability of trace elements in rhizosphere and bulk soils. *Chemosphere*, 46(8): 1163-1171.
- Zhongqiu Z., Meizhu X., Guangyu J., Xiaona L., Zhongke B., and Yizong H. 2010. Effects of IDSA, EDDS and EDTA on heavy metals accumulation in hydroponically grown maize (*Zea mays* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 181: 455-459.

The Impact of EDTA, Citric Acid and Poultry Manure Extract on Phytoremediation of Pb by Corn in a Sandy Loam Contaminated Soil

Mohamad Rahmanian^{1*}, Ali Reza Hosseinpour², Ebrahim Adhami³ and Hamid Reza Motaghian²

(Received: April 2016 Accepted: September 2016)

Abstract

The plants which can be used to clean up the heavy metals contaminated soils but, for this reason may take years or even decades, because of this chemical and biological treatment uses for phytoremediation. In this study, the potential of corn (hybrid KSC. 704) for accumulation of lead was conducted as an experiment using a completely randomized design with three replications in a greenhouse experiment in a sandy loam soil contaminated with Pb. Citric acid and EDTA were used at concentrations level 0, 0.5 and 1 mmol kg⁻¹ soil and poultry manure extract 0, 0.5 and 1 g kg⁻¹ soil. The results showed that the effect of chelating agents on the shoots and roots Pb concentration, shoots absorption Pb and biological concentration factor (BCF) was (p <0.05) significant. With increasing chelators concentration shoots dry weight nonsignificantly decreased. The results showed that application of 0.5 and 1 mmol kg⁻¹ soil concentrations of EDTA were significantly increased Pb concentration in corn shoots 164 and 260 (%) (significant for 1 mmol kg⁻¹ of EDTA) times more than the control, respectively. Application of 1 mmol kg⁻¹ soil citric acid and 1 g kg⁻¹ soil poultry manure extract were increased Pb concentration in corn shoots 122 and 116 (%) times more than the control, respectively. Application of 1 mmol kg⁻¹ soil EDTA and citric acid significantly increased bioconcentration factor 145 and 140 (%) times more than the control, respectively. Application of 1 mmol kg⁻¹ soil EDTA significantly increased translocation factor 207 (%) times more than the control. Since inordinate use of chelators can make more Pb availability in soil without increasing plant uptake, therefore application of more concentration level not recommend.

Keywords: Citric acid, EDTA, Heavy metal, Phytoremediation, Poultry manure extract

1- Ph.D Student of Soil Science, Shahrekord University

2-Professor and Assistant Professor, Department of Soil Science, Shahrekord University, respectively

3-Associate Professor, Department of Soil Science, Yasouj University

*Corresponding author E-mail: M.rahmanian10@yahoo.com