اثر کلات EDTA بر جذب سرب و کادمیم توسط کلزا

رسول میرخانی[۱]*، سعید سعادت[۱]، حامد رضایی[۱] و یوسف رضا باقری[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۲۷)

چکیده

سرب و کادمیم از جمله عناصر سنگینی هستند که از منابع گوناگون به آب، خاک، گیاه و نهایتاً به زنجیره غذایی انسان راه می‌یابند و آسیب‌هایی جدی به سلامتی انسان وارد می‌کنند. تاکنون روش‌های مختلفی برای پالایش خاک‌های آلوده بیان شده است. گیاه‌پالائی یکی از روش‌های نویدبخش در این زمینه است. هدف از گیاه‌پالایی برداشت و استخراج حداکثری آلاینده از محیط خاک می‌باشد. استفاده از کلات‌ها از جمله شیوه‌های مؤثر در فراهمی زیستی عناصر سنگین است. لذا، در این پژوهش پیامدهای اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید (EDTA) به‌عنوان یک کلات‌کننده شیمیایی در افزایش جذب سرب و کادمیم توسط کلزا (رقم اوکاپی) بررسی گردید. این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل: ۱- کاربرد EDTA در دو سطح (صفر و ۲/۷ میلی‌مول در کیلوگرم خاک)، ۲- عنصر سرب در سه سطح (صفر ، ۱۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و ۳- عنصر کادمیم در سه سطح (صفر، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بودند. بدین‌منظور، یک نمونه خاک غیرآلوده انتخاب و با غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم آلوده شد. سپس بذر کلزا کشت گردید و در پایان دوره رشد (هفت ماه پس از کشت) غلظت سرب و کادمیم در گیاه (کاه و کلش و دانه) و خاک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کاربرد EDTA حلالیت سرب و کادمیم را در محلول خاک افزوده و منجر به افزایش جذب سرب در کاه و کلش (۲۵/۶ برابر) و دانه کلزا (۱۱/۲ برابر) و کادمیم در کاه و کلش (۱۲ درصد) گردید. همچنین بررسی غلظت سرب و کادمیم در کلزا نشان داد که در کاه و کلش در تیمارهای آلوده، غلظت کادمیم (۲۳/۱- ۷/۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در هر دو سطح EDTA و غلظت سرب (۱۰۶/۴۷-۲۷۵/۴۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) تنها در حضور EDTA در حد سمیت مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: عناصر سنگین، دانه، کاه و کلش و گیاه‌پالایی

۱-اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران (مکاتبه‌کننده)
۲-محقق موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
* پست الکترونیک: Rasoulmirkhani@yahoo.com

مقدمه

امروزه آلودگی محیط‌زیست یکی از مشکلات اساسی به شمار می‌رود که جوامع بشری با آن روبرو هستند. افزایش جمعیت، توسعه شهرها، توسعه کشاورزی و صنعت و مدیریت نادرست آن‌ها و دخالت بی‌رویه بشر در طبیعت در بسیاری از مناطق، سبب افزایش آلودگی فلزات سنگین شده است. فلزات سنگین به‌ویژه سرب و کادمیم به‌دلیل پیامدهای وخیم در آلودگی محیط‌زیست اهمیتی ویژه دارند. افزون بر آن، این آلاینده‌ها از منابع و مصارف گوناگون به آب، خاک، گیاه و نهایتاً به زنجیره غذایی انسان و دام راه می‌یابند و اثر مخرب خود را برجای می‌گذارند (Sajwan *et al*., 1996).

روش‌های مختلفی برای پالایش خاک‌های آلوده وجود دارد که عمدتاً بسیار پرهزینه بوده و به این دلیل استفاده از روش‌های کم‌هزینه‌تر برای رفع آلودگی خاک‌های آلوده می‌تواند به پالایش و استفاده بهینه از این اراضی کمک نماید. یکی از روش‌های نوین در پالایش خاک استفاده از گیاهان در زدودن آلودگی‌ها از خاک می‌باشد (Glick, 2003; Sun *et al*., 2011). فن‌آوری استفاده از گیاهان در پالایش محیط‌زیست، گیاه‌پالایی نام گرفته است (Shakoor, 2013). راسکین و انسلی (Raskin & Ensley, 2000) گزارش کردند که پالایش سبز نسبت به روش‌های مرسوم در پاکسازی مناطق آلوده دارای چندین مزیت است، مهمترین مزیت پالایش سبز کارآیی چشمگیر آن در پالایش بسیاری از ترکیبات آلی و غیرآلی است. مزیت دیگر پالایش سبز این است که یک فن‌آوری سبز است و اگر درست اجرا شود هم با محیط‌زیست سازگاری بیشتری دارد و هم از نظر زیباشناختی برای عموم خوشایندتر است. در پالایش سبز نیازی به تجهیزاتی پرهزینه و نیروهای متخصص نیست و اجرای آن نسبتاً ساده ولی زمان‌بر می‌باشد.

در زمینه پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با استفاده از گیاهان پژوهش‌های زیادی انجام شده است. گاربیسو و همکاران (Garbisu *et al*., 2002) بیان کردند که برای اجرای گیاه‌پالایی عناصر سنگین دو روش کلی وجود دارد که به نام‌های پالایش سبز[1] و استخراج سبز[2] معروف هستند.

EDTA برای استفاده در پاکسازی خاک‌های آلوده شده به فلزات سنگین بسیار مناسب پیشنهاد شده است (Evangelou *et al*., 2007). ترکیبات EDTA با فلزات می‌توانند حلالیت و قابلیت دسترسی فلزات در خاک‌ها را افزایش دهد. در مورد یون‌های سرب، EDTA مؤثرترین کلات در میان ترکیبات طبیعی و مصنوعی مورد مطالعه یافت شده است (Liu *et al*., 2007). وقتی EDTA در خاک‌ها استفاده می‌شود، بدون اینکه محیط کشت اسیدی قوی ایجاد گردد (Evangelou *et al*., 2007)، بخش بزرگی از فلزات حل شده و برای استخراج سبز در دسترس قرار می‌گیرند (Haag-Kerwer *et al*., 1999). به‌علاوه در مقایسه با ترکیبات شیمیایی دیگر مثل اسیدهای غیرآلی EDTA می‌تواند فلزات را به حالت محلول درآورد و اثرات نامطلوب کمتری بر خواص فیزیکی و شیمیایی خاک بگذارد (Steele & Pichtel, 1998).

به دلیل بالا بودن تمایل پیوند EDTA به فلزات، وقتی EDTA در غلظت‌های بالایی استفاده می‌شود، تأثیر بالقوه‌ای بر آزاد شدن فلزات از فاز جامد با تشکیل کمپلکس‌های محلول دارد و تشکیل کمپلکس‌های EDTA با فلزات در محلول خاک ممکن است تعادل رسوب و جذب را به سمت حل شدن فلزات پیش ببرد (Dushenkov *et al*., 1997). در پژوهشی رولی و همکاران (Ruley *et al*., 2006) اثرات سرب و کلات‌ها را برای ارزیابی پتانسیل رشد لوبیای سمی (*Sesbania drummondii*) در خاک‌های آلوده به سرب بررسی و گزارش کردند که کلات‌ها (بسته به نوع کلات) جذب سرب توسط ریشه را ۴ تا ۵ برابر و جذب توسط ساقه را تا ۴۰ برابر افزایش داده است. در پژوهش دیگری، چو و همکاران (Cho *et al*., 2009) به‌منظور ارزیابی پالایش سبز توسط پیاز سبز و سرخس گزارش کردند که EDTA به‌مقدار قابل‌توجهی غلظت سرب را در ساقه پیاز سبز افزایش داده است. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al*., 2015) نشان دادند که EDTA تأثیر معنی‌داری (در سطح ۵ درصد) بر خصوصیات مرفولوژیکی و انباشتگی عناصر سنگین در گیاه سوییس (*Thlaspi caerulescens* L.) داشته و شاخص مقاومت با افزایش مقدار EDTA کاهش داشته و مقدار ۳ میلی‌مول برکیلوگرم EDTA را پیشنهاد کردند. هانگ-گی و همکاران (Hong- Qi *et al*., 2007) به‌منظور پالایش سبز خاکهای آلوده به سرب توسط گونه (*Maximowicziana bidens*) گزارش کردند که توزیع سرب در گیاه به ترتیب:

1- Phytoremediation

2 - Phytoextraction

ریشه < ساقه < برگ بوده و تحرک سرب خاک و غلظت سرب در گیاهان، هر دو با استفاده از EDTA افزایش یافتند. توانایی EDTA در افزایش غلظت فلزات در محلول خاک تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله غلظت فلزات و EDTA، حضور کاتیون‌های رقابتی، گونه‌های فلزی و توزیع آن‌ها در بین بخش‌های خاک، pH خاک، جذب فلزات آزاد یا کمپلکس شده بر روی ذرات باردار خاک و ثبات تشکیل ترکیبات فلز-لیگاند می‌باشد (Dushenkov *et al*., 1997). در پژوهشی چوی و همکاران (Cui *et al*., 2004) گزارش کردند که کاربرد توأم EDTA و گوگرد عنصری به‌طور قابل-توجهی حلالیت فلزات سنگین (سرب و روی) را افزایش داد. یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2006) گزارش کردند که pH خاک عامل مهمی برای جذب و دفع سطحی سرب در خاک است و کاهش pH، دفع سطحی سرب را از اجزای خاک افزایش و در نتیجه غلظت سرب در محلول خاک افزایش می‌یابد. بنابراین راندمان عامل‌های کلات‌کننده بر روی حلالیت و تجمع فلزات می‌تواند با کاهش pH خاک، افزایش یابد. در پژوهشی قاسمی فسایی (Ghasemi-Fasaei, 2012) نشان داد که در تمام سطوح فسفر، EDTA موجب افزایش جذب و کارایی استخراج گیاهی سرب در ریشه و ساقه ذرت شده و افزایش سطوح فسفر موجب کاهش غلظت سرب در ریشه ذرت و کاهش غلظت و جذب سرب در ساقه ذرت شد. ابراهیمی و شاه‌پسند (Ebrahimi & Shahsavand, 2014) نشان دادند که فاکتور تغلیظ زیستی در اندام‌های زیرزمینی گیاه بوریا (*Scirpus maritimus* L.) به‌طور نسبی بالاتر بوده و غلظت سرب و کروم در ریشه> ریزوبیوم> برگ> ساقه بود. افزایش EDTA (۱۰، ۵ و ۲/۵ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) به‌طور معنی‌داری تحرک عناصر را افزایش داده و ضریب همبستگی مثبتی بین زمان و غلظت عناصر در اندام‌های گیاهی مشاهده شد و مناسبترین مقدار EDTA مربوط به مقدار ۵ میلی‌مول در کیلوگرم در ۶۰ روز پس از کشت گزارش شد. سمیت خاصی برای EDTA به خودی خود در محیط‌زیست شناخته نشده است، البته قابلیت آن در جابه‌جا کردن فلزات سنگین به علاوه پایداری آن، چیزی است که نگرانی‌های زیست‌محیطی را ایجاد کرده است (Gonsior *et al*., 1997). مرس و همکاران (Meers *et al*., 2004) در مورد خطر آلودگی آب‌های زیرزمینی در ارتباط با استخراج سبز به کمک EDTA ابراز نگرانی کرده‌اند. در پژوهشی وو و همکاران (Wu *et al*., 2003) گزارش کردند که افزایش آبشویی سرب در طول استخراج سبز به کمک EDTA به‌طور عمده به حلالیت کمپلکس Pb-EDTA نسبت داده شده است. این امر به خاطر کم بودن جذب ترکیب Pb-EDTA بر روی ذرات خاک در مقایسه با یون‌های آزاد می‌باشد. وو و همکاران (Wu *et al*., 2004) در یک مطالعه آزمایشگاهی اثرات غلظت‌های مختلف EDTA را در آبشویی فلزات کادمیم، مس، سرب و روی بررسی و گزارش کردند که آبشویی این فلزات با افزایش غلظت EDTA افزایش یافته و ۴ تا ۷۸ درصد از کل سرب موجود در خاک پس از استفاده از EDTA حذف شده است. در پژوهشی مرس و همکاران (Meers *et al*., 2005) گزارش دادند که انتشار سرب متصل به خاک می‌تواند با افزایش در غلظت EDTA افزایش یابد. بنابراین سطح بالایی از سرب موجود در محلول خاک به‌علت استفاده از EDTA ممکن است منجر به آلودگی آب‌های زیرزمینی شود. عوارض جانبی EDTA تنها مربوط به افزایش حلالیت نیست بلکه به کم بودن توانایی زیستی آنها نیز مربوط است. بنابراین EDTA برای مدت زمان طولانی پس از پاکسازی در خاک باقی می‌ماند.

چندین گونه از جنس *Brassica* از محصولات مهم کشاورزی هستند که به‌عنوان انباشتگر عناصر سنگین شناخته شده‌اند و مطالعات زیادی در خصوص ظرفیت این گونه‌ها در استفاده برای اهداف گیاه‌پالایی انجام شده است (Mourato *et al*., 2015). توران و اسرینگو (Turan & Esringu, 2007) با بررسی تأثیر مقادیر مختلف EDTA (صفر، ۳، ۶، ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) بر ظرفیت جذب سرب، کادمیم، مس و روی توسط کلزا و خردل هندی نشان دادند که کاربرد EDTA جذب عناصر سنگین را افزایش داده و کلزا بیشترین جذب را داشته و در هر دو گونه جذب عناصر سنگین در ریشه بیشتر از ساقه بود. زئیر و همکاران (Zaier *et al*., 2010) نشان دادند که EDTA موجب افزایش تجمع عناصر سنگین (روی، منگنز و سرب) در ساقه کلزای کشت شده در لجن شده است و کلزا می‌تواند برای رفع آلودگی مورد استفاده قرار گیرد. سرسر و همکاران (Sarsar *et al*., 2012) گزارش کردند که با افزایش غلظت EDTA غلظت سرب در خردل هندی (*Brassica Juncea* L.) افزایش و بیشترین انباشتگی در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA مشاهده شد و غلظت‌های بیشتر موجب نکروز و ریزش برگ‌ها گردید. در پژوهشی آدیل‌اوغلو و

همکاران (Adiloglu *et al*., 2016) با بررسی سطوح مختلف EDTA (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) بر جذب نیکل توسط کلزا نشان دادند که با افزایش EDTA عملکرد ریشه و ساقه کلزا کاهش و مقدار نیکل افزایش معنی‌داری (در سطح یک درصد) داشت.

با توجه به افزایش سطح آلودگی خاک‌های کشاورزی کشور به آلاینده‌هایی همچون عناصر سنگین، پالایش خاک‌های آلوده و بررسی روش‌های مناسب برای بهبود و افزایش کارایی جذب آلاینده‌ها از محیط خاک کاملاً ضروری به‌نظر می‌رسد. لذا در این مطالعه اثر اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) به‌عنوان یک عامل کلات‌کننده مؤثر بر مقدار جذب عناصر سرب و کادمیم خاک توسط گیاه کلزا (*Brassica napus*) و مقدار تجمع این عناصر در کاه و کلش و دانه این گیاه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل: کاربرد EDTA در دو سطح (صفر و ۲/۷ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) از منبع نمک سدیم که به عنوان کلات-کننده شیمیایی به گلدان‌ها، در مرحله نزدیک گلدهی آنها افزوده شد، عنصر سرب در سه سطح آلودگی (صفر ، ۱۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و عنصر کادمیم در سه سطح آلودگی (صفر ، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بودند. برای انجام این پژوهش ابتدا ویژگی‌های فیزیکی خاک شامل بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee & Or, 2002) و جرم مخصوص ظاهری خاک به روش کلوخه (Aria & Mirkhani, 2005) اندازه‌گیری شدند (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک پیش از اعمال تیمارها

Table 1. Soil physical and chemical properties before applying the treatments

pH	هدایت الکتریکی EC	کلاس بافت Textural class	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	ازت کل N (total)	سرب قابل جذب Pb (ava)	کادمیم قابل جذب Cd (ava)	پتاسیم قابل جذب K (ava)	فسفر قابل‌جذب P (ava)	عمق Depth
	($dS\ m^{-1}$)				(%)			($\mu g\ kg^{-1}$)		($mg\ kg^{-1}$)	
7.5	0.56	Silty Loam	15	32	53	0.05	78	11	140	3	0-30

خاک از الک ۵ میلیمتری عبور داده شد و تیمارهای آلودگی با استفاده از نمک‌های نیترات سرب و سولفات کادمیم اعمال گردید. برای اطمینان از روند آلودگی انجام شده و ایجاد شرایط آلودگی طبیعی‌تر، پس از گذشت دو ماه و چندبار فرآیند خشک و تر شدن، مقادیر سرب و کادمیم قابل‌جذب خاک‌های آلوده شده به‌روش DTPA (Ali Ehyaee & Behbahanizadeh, 1993) اندازه‌گیری شد و میانگین سرب و کادمیم قابل‌استفاده در خاک برای همه گلدان‌ها به‌دست آمد (جدول ۲). قبل از اعمال تیمارها، مقدار عناصر غذایی خاک شامل فسفر قابل‌استفاده به روش اولسن و پتاسیم قابل‌استفاده با استفاده از دستگاه فلیم-فتومتر و نیتروژن خاک با استفاده از دستگاه کجل‌تک اندازه‌گیری (Ali Ehyaee & Behbahanizadeh, 1993) و با توجه به نتایج بدست آمده جدول ۱ و پایین بودن مقادیر ازت، فسفر و پتاسیم خاک، مقدار کود مورد نیاز بر اساس توصیه کودی مؤسسه تحقیقات خاک و آب به گلدان‌ها اضافه گردید. سپس رقم اوکاپی کلزا (*Brassica napus*) کشت شد. همچنین برای کاهش تبخیر از سطح خاک گلدان‌ها، روی خاک با سنگریزه پوشانده شد. گلدان‌ها تا قبل از پنجه‌زنی در محلی سرپوشیده در خارج از گلخانه (Nethouse) نگه‌داری شدند تا گیاه بتواند دوره سرمادهی را طی کند، پس از اتمام این دوره، گلدان‌ها برای ادامه رشد رویشی و زایشی به گلخانه انتقال داده شدند. به‌منظور اعمال تیمار کاربرد EDTA، در زمان نزدیک به گلدهی، EDTA از منبع نمک سدیم به مقدار ۲/۷ میلی‌مول در کیلوگرم خاک افزوده شد. پس از برداشت (هفت ماه پس از کشت)، غلظت سرب و کادمیم در خاک به‌روش DTPA (Ali Ehyaee & Behbahanizadeh, 1993) و در گیاه (کاه و کلش و دانه) به‌روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید کلریدریک (Emami, 1976) اندازه‌گیری و داده‌های بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن با سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مقادیر سرب و کادمیم اضافه شده به خاک و مقادیر اندازه-گیری شده پس از برقراری تعادل در خاک در جدول ۲ و نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف اعمال شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم در خاک و گیاه در جدول ۳ ارائه شده است. در جدول ۴ میانگین مقادیر سرب و کادمیم محلول خاک گیاه (کاه و کلش و دانه کلزا) در سطوح مختلف EDTA ارائه شده است. در ادامه تأثیر سطوح مختلف EDTA، سرب و کادمیم بر مقادیر سرب و کادمیم خاک، کاه و کلش و دانه گیاه کلزا بررسی می‌گردد.

جدول ۲ - میانگین مقادیر سرب و کادمیم قابل‌جذب خاک‌های آلوده شده

Table 2. Average of available lead and cadmium in contaminated soil

سرب (Pb)		کادمیم (Cd)		
(mg kg^{-1})				
500	150	10	3	اضافه شده به خاک (Added to soil)
325	106	4.2	1.3	اندازه‌گیری شده در خاک (Measured in the soil)

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس تأثیر EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده بر غلظت سرب و کادمیم در خاک و گیاه

Table 3. Analysis of variance of the effect of added EDTA, lead and cadmium to soil on lead and cadmium concentration in the soil and plants

Mean Square میانگین مربعات						df درجه آزادی	The source of changes منابع تغییر
(seed) Cd کادمیم دانه	(seed) Pb سرب دانه	(straw) Cd کادمیم کاه	(straw) Pb سرب کاه	Cd (soil) کادمیم خاک	(soil) Pb سرب خاک		
0.052*	19.942**	22.112**	209266.45**	9.593**	303.41**	1	EDTA Application
0.034*	14.862**	144.968**	86198.51**	0.378**	219343.02**	2	سرب (Pb)
3.675**	2.401**	2104.59**	5667.82**	133.348**	2882.74**	2	کادمیم (Cd)
0.124**	16.155**	35.089**	79285.32**	0.002^{ns}	3973.02**	2	Pb × EDTA
0.02^{ns}	1.297**	68.62**	5827.296**	3.345**	42068.97**	2	Cd × EDTA
0.053**	1.053*	33.099**	3320.297**	0.468**	14079.30**	4	Pb ×Cd
0.156**	1.374**	8.123**	2980.508**	0.127**	10579.741**	4	Cd ×Pb × EDTA
0.008	0.046	0.331	15.512	0.011	40.593	36	خطا (Error)
21.63	29.489	5.254	8.833	4.321	3.855	-	CV

جدول ۴- مقایسات میانگین سرب و کادمیم در محلول خاک و گیاه در سطوح مختلف EDTA مورد استفاده

Table 4. Average of lead and cadmium in soil solution and plants in levels of EDTA Application

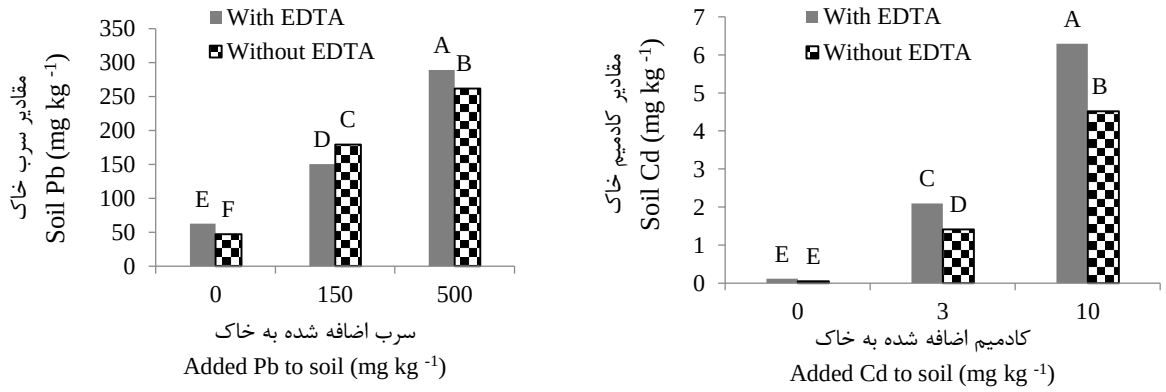
Average cadmium میانگین کادمیم			Average lead میانگین سرب			EDTA Application کاربرد EDTA
Seed دانه	Straw کاه و کلش	Soil خاک	Seed دانه	Straw کاه و کلش	Soil خاک	
(mg kg^{-1})						
0.435 ^{a}	10.31 ^{b}	1.992 ^{b}	0.119 ^{b}	5.268 ^{b}	162.889 ^{b}	EDTAwithout
0.373 ^{b}	11.59 ^{a}	2.835 ^{a}	1.335 ^{a}	129.772 ^{a}	167.63 ^{a}	with EDTA

تأثیر EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم محلول خاک

بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۳ اثرات متقابل EDTA و کادمیم بر غلظت سرب و کادمیم محلول خاک و

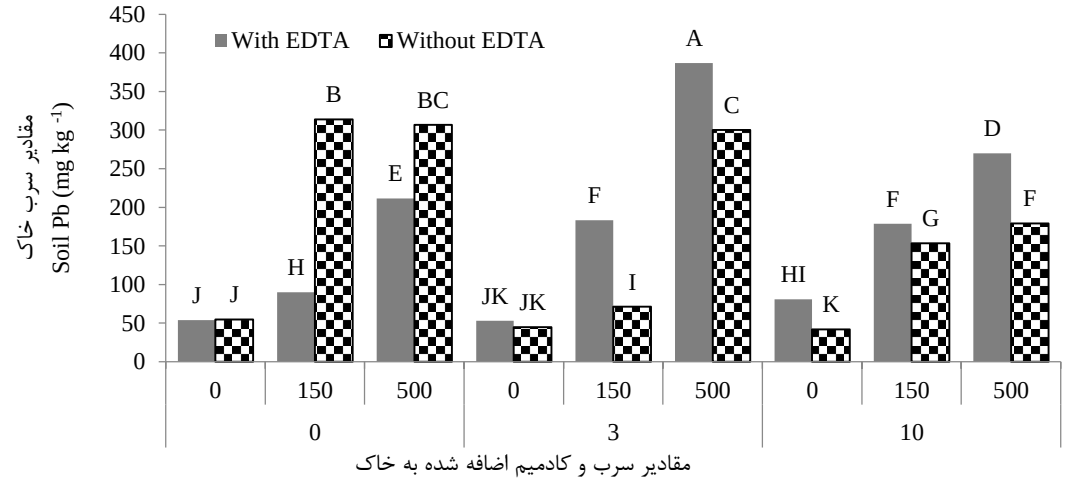
همچنین اثر متقابل EDTA و سرب بر غلظت سرب محلول در خاک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. ولی اثر متقابل EDTA و سرب بر غلظت کادمیم محلول خاک معنی‌دار نبود. با توجه به معنی‌دار بودن اثرات متقابل از تفسیر اثرات ساده صرف‌نظر شده است. بر اساس شکل ۱ با افزایش مقدار سرب و کادمیم اضافه شده به خاک در هر دو سطح کاربرد EDTA، مقدار سرب و کادمیم محلول خاک به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که این افزایش در حضور EDTA به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای بدون EDTA بیشتر بوده است. دامت و همکاران (Doumett *et al.*, 2008) نیز به چنین نتیجه‌ای رسیدند.

شکل ۲ نشان می‌دهد که در مقادیر ۳ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم اضافه شده به خاک، کاربرد EDTA به‌طور معنی‌داری موجب افزایش سرب محلول خاک شده است که دلیل آن افزایش حلالیت و قابلیت دسترسی سرب توسط EDTA می‌باشد که با یافته‌های هانگ-کرور و همکاران (Haag-Kerwer *et al.*, 1999) مطابقت دارد. ولی در مقادیر صفر میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم اضافه شده به خاک تیمارهای بدون EDTA نسبت به تیمارهای با EDTA موجب افزایش سرب محلول خاک شده است، که علت آن افزایش جذب توسط گیاه در حضور EDTA می‌باشد. شکل ۳ نشان می‌دهد که در مقادیر مختلف سرب اضافه شده به خاک با افزایش کادمیم اضافه شده به خاک مقدار کادمیم محلول خاک به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که این افزایش در تیمارهای کاربرد EDTA به‌طور معنی‌داری بیشتری بوده است که با یافته‌های لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2006) مطابقت دارد. در ضمن در مقادیر مختلف کادمیم اضافه شده به خاک با افزایش سرب اضافه شده به خاک مقدار کادمیم محلول خاک به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. دلیل این امر افزایش جذب کادمیم توسط گیاه با افزایش میزان سرب اضافه شده به خاک می‌باشد (Zhao *et al.*, 2014).



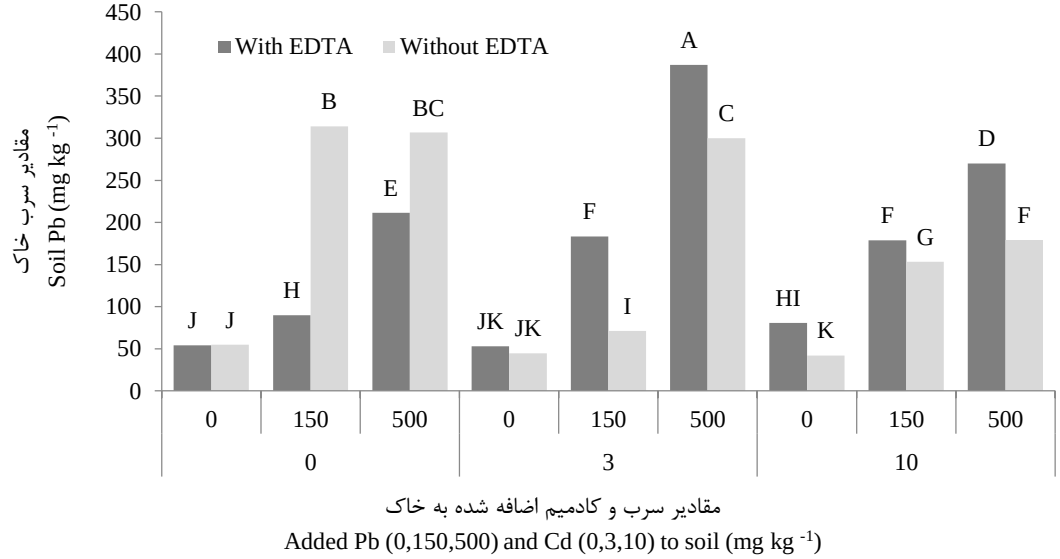
شکل ۱- اثر متقابل EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم محلول خاک

Figure 1. The interaction of added EDTA, lead and cadmium to soil on the lead and cadmium concentration



شکل ۱- اثر متقابل EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم محلول خاک

Figure 1. The interaction of added EDTA, lead and cadmium to soil on the lead and cadmium concentration in soil solution



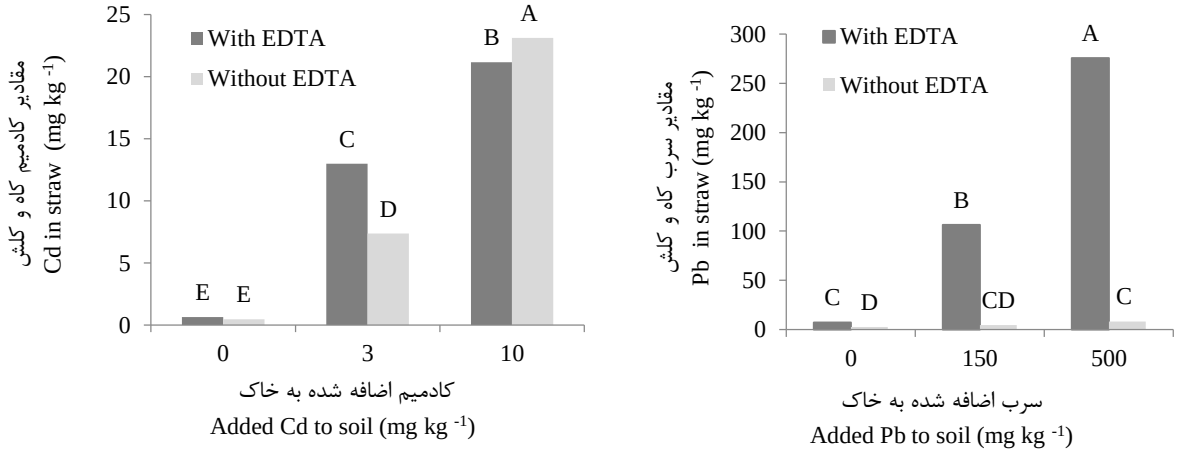
شکل ۳- اثر متقابل EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت کادمیم محلول خاک

Figure 3. The interaction of added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the cadmium concentration in soil solution

تأثیر EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر جذب سرب و کادمیم توسط کاه و کلش

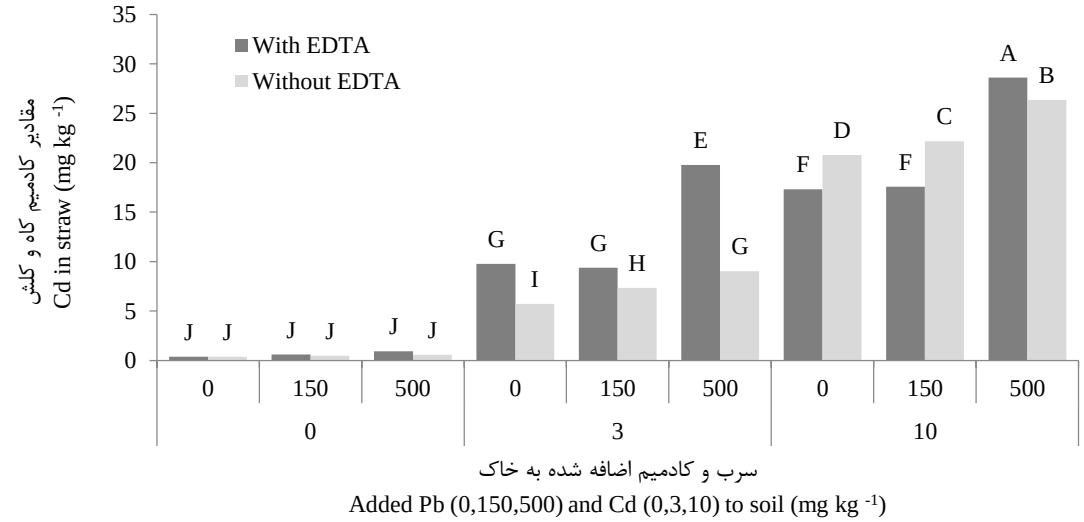
بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۳ اثر سطوح مختلف EDTA، سرب، کادمیم و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت سرب و کادمیم کاه و کلش در سطح یک درصد معنی‌دار است. با توجه به معنی‌دار بودن اثرات متقابل از تفسیر اثرات ساده صرف‌نظر شده است. بر اساس شکل ۴ در هر دو سطح EDTA با افزودن سرب به خاک، سرب کاه و کلش افزایش می‌یابد. این افزایش در تیمارهای کاربرد EDTA به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. این به‌دلیل آن است که EDTA اضافه شده قادر بوده که حلالیت سرب محلول خاک را افزایش دهد. در نتیجه منجر به افزایش جذب سرب بیشتری در گیاه شده است. در پژوهشی لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2007) گزارش کردند که جابجایی سرب از ریشه به شاخساره‌ها می‌توانند به‌طور چشمگیری با کاربرد ترکیبات EDTA افزایش یابد. شکل ۵ نشان می‌دهد که در هر دو سطح EDTA و مقادیر مختلف سرب اضافه شده به خاک با افزایش کادمیم اضافه شده به خاک مقدار کادمیم کاه و

کلش به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین در مقادیر کادمیم اضافه شده به خاک در هر دو سطح کاربرد EDTA با افزایش سرب اضافه شده به خاک مقدار کادمیم کاه و کلش نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که با نتایج ژاو و همکاران (Zhao *et al*., 2014) مطابقت دارد. اثرات اکولوژیکی متفاوت برهمکنش کادمیم و سرب متأثر از رفتار متفاوت جذب رقابتی و کمپلکس-کلات می‌باشد (Guo & Zhou, 2003). در مقدار صفر کادمیم بین مقدار کادمیوم کاه و کلش در تیمارهای مقادیر مختلف سرب اضافه شده به خاک در هر دو روش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. سد و همکاران (Seth *et al*., 2008) نیز در پژوهشی بر روی گیاه خردل هند (*Brassica iuncea L.*) به چنین نتیجه‌ای دست یافتند.



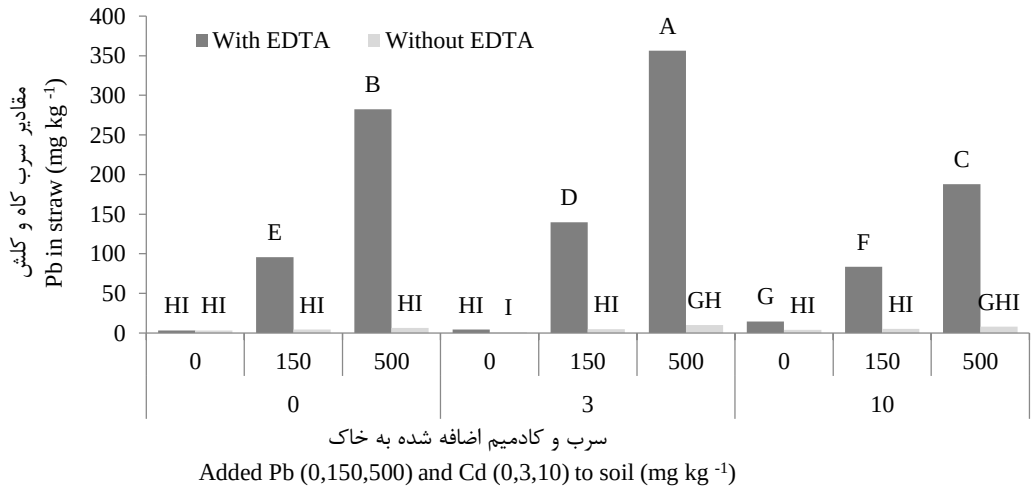
شکل ۴- اثر متقابل EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم کاه و کلش

Figure 4. The interaction of added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the lead and cadmium concentration in straw



شکل ۵- اثر متقابل EDTA، مقادیر مختلف سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت کادمیم کاه و کلش

Figure 5. The interaction of added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the cadmium concentration in straw



شکل ۶- اثر متقابل EDTA، مقادیر مختلف سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب کاه و کلش

Figure 6. The interaction of added EDTA, lead added lead and cadmium to soil on the lead concentration in straw

شکل ۶ نشان می‌دهد که در تیمارهای کاربرد EDTA و در مقادیر مختلف کادمیم اضافه شده به خاک، با افزایش سرب به خاک، میزان سرب کاه و کلش افزایش معنی‌داری داشته است که این به‌علت EDTA اضافه شده می‌باشد که منجر به افزایش جذب سرب بیشتری توسط گیاه شده است. که با نتایج هانگ-جی و همکاران (Hong – qi *et al*., 2007) و زئیر و همکاران (Zaier *et al*., 2010) مطابقت دارد. ولی در تیمارهای بدون EDTA در مقادیر مختلف سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بین مقادیر سرب کاه و کلش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

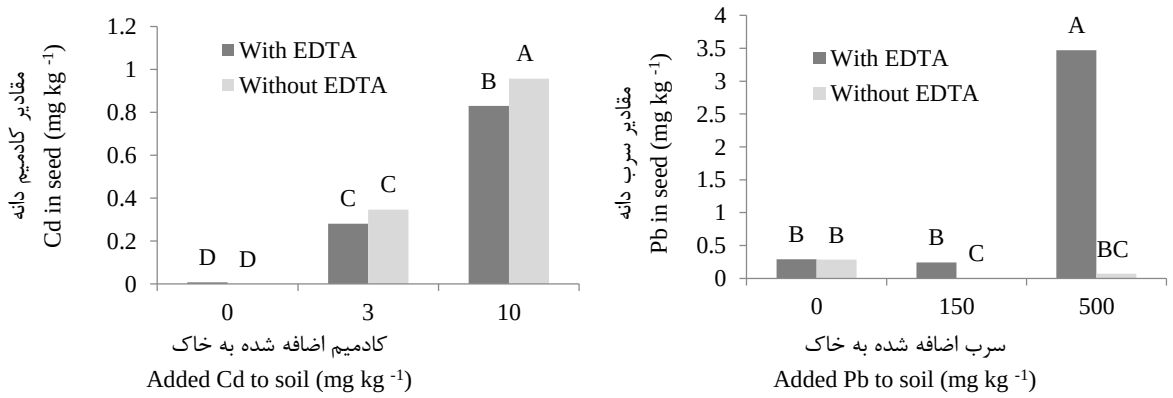
تأثیر EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر جذب سرب و کادمیم توسط دانه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۳ اثر EDTA، سرب، کادمیم و اثر متقابل آنها بر غلظت سرب و کادمیم دانه در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار است. ولی اثر متقابل EDTA و کادمیم تأثیر معنی‌داری بر غلظت کادمیم دانه نداشت.

بر اساس شکل ۷ با افزایش مقادیر کادمیم اضافه شده به خاک، غلظت کادمیم دانه در هر دو سطح کاربرد EDTA افزایش معنی‌داری را نشان داد. که این افزایش به ویژه در مقدار ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم در تیمارهای بدون EDTA بیشتر از تیمارهای کاربرد EDTA بود.

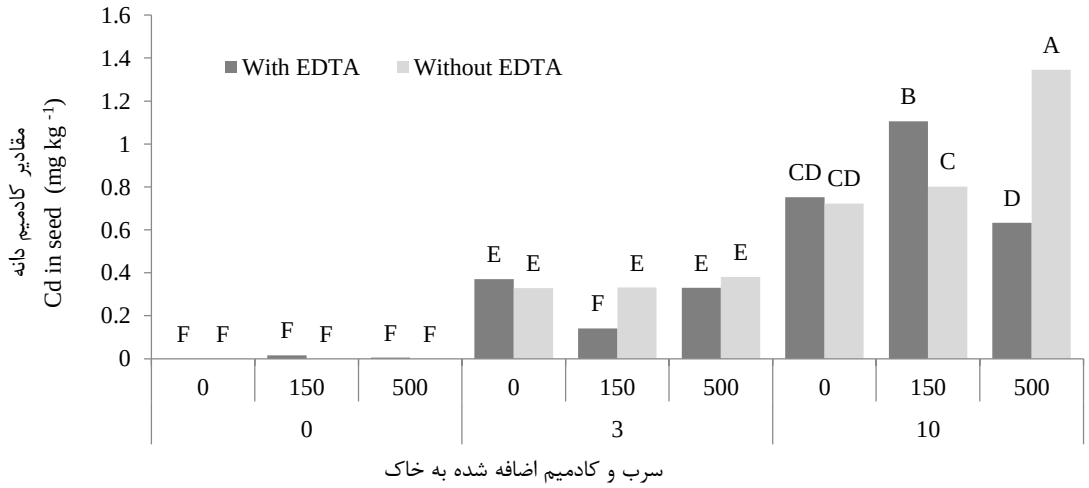
بر ا ساس نتایج شکل ۷ بیشترین مقدار سرب دانه مربوط به تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب اضافه شده به خاک در تیمارهای کاربرد EDTA می‌باشد که نسبت به تیمارهای بدون EDTA افزایش معنی‌داری داشته است. که نشان‌دهنده تأثیر EDTA بر جذب سرب و تجمع در دانه بوده است.

بر اساس شکل ۸ در هر دو سطح EDTA در مقادیر مختلف سرب اضافه شده به خاک با افزایش کادمیم اضافه شده به خاک مقدار کادمیم دانه افزایش معنی‌داری دا شته است. بر اساس شکل ۹ در تیمارهای کاربرد EDTA در مقادیر مختلف کادمیم اضافه شده به خاک با افزایش مقدار سرب ا ضافه شده به خاک به‌ویژه در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب، مقدار سرب دانه افزایش معنی‌داری داشته است. همچنین در تیمارهای کاربرد EDTA با افزایش کادمیم به خاک مقدار سرب دانه به‌خصوص در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب اضافه شده به خاک کاهش معنی‌داری داشته است.



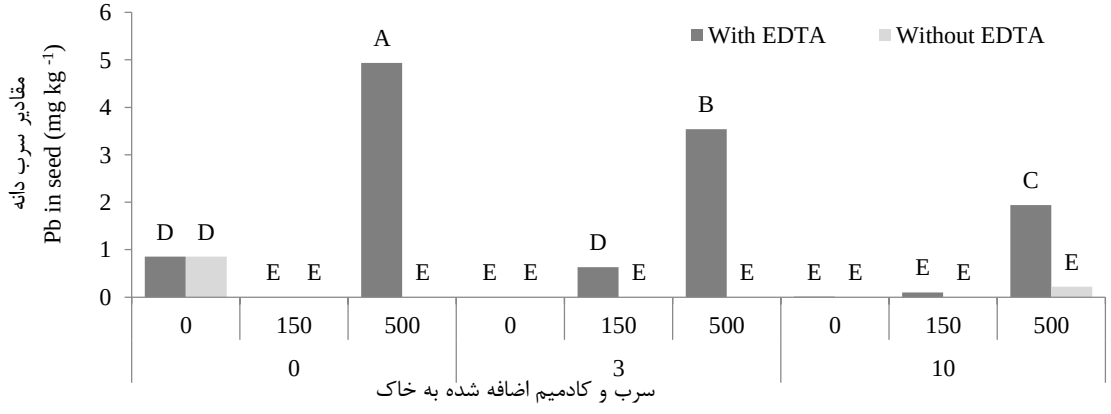
شکل ۷- اثر متقابل EDTA، سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب و کادمیم دانه

Figure 7. The interaction of added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the lead and cadmium concentration in seed



شکل ۸- اثر متقابل EDTA، مقادیر مختلف سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت کادمیم دانه

Figure 8. The interaction added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the cadmium concentration in seed



شکل ۹- اثر متقابل EDTA، مقادیر سرب و کادمیم اضافه شده به خاک بر غلظت سرب دانه

Figure 9. The interaction of added EDTA, lead lead and cadmium to soil on the lead concentration in seed

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشـــان داد که کاربرد EDTA قادر بوده که حلالیت سرب و کادمیم را در محلول خاک افزایش دهد، در نتیجه منجر به افزایش جذب سرب و کادمیم در گیاه شده است. درخصوص مقدار مجاز سرب (۲۰-۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کـادمیم (۲/۴-۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) برای گیـاه بر اســـاس گزارشـــات کاباتا- پندیاس (Kabata-Pendias, 1984)، با توجه به نتایج بدست آمده در هر دو روش میزان کادمیم دانه کلزا کمتر از حد مجاز برای گیاه بوده (۰/۹۶-۰/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و م شکلی از نظر سمیت برای گیاه نشـــان نداد ولی آلودگی کادمیم در کاه و کلش کلزا (در تیمارهای آلوده) در حدود سمیت مشاهده شد (۲۳/۱-۷/۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم). درخصـــوص ســـرب، در تی‌مار های بدون EDTA میزان ســـرب در دا نه برابر با ۰/۰۷-۰/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و در کاه و کلش برابر با ۸/۳ -۲/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که از حد مجاز برای گیاه پایین‌تر بوده و مشکلی از نظر سمیت برای گیاه نشان نداد. در تیمارهای کاربرد EDTA با افزایش EDTA میزان جذب ســـرب افزایش یافته و در تیمارهای آلوده در کاه و کلش در حد ســـمیت برای گیاه بوده (۲۷۵/۴۸-۱۰۶/۴۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) ولی در دا نه کلزا پایین‌تر از حد مجاز برای گیاه مشـــاهده شـــد (۳/۴۷-۰/۲۹ میلی‌گرم در کیلوگرم).

References

Adiloglu S., Turgut Saglam M., Adiloglu A., and Sume A. 2016. Phytoremediation of nickel (Ni) from agricultural soils using canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Desalination and Water Treatment,* 57(6): 2383-2388.

Ali Ehyaee M., and Behbahanizadeh A. 1993. Methods of Soil Chemical Analysis, *Technical Bulletin,* Soil and Water Research Institute, Iran, No. 983. (In Persian)

Aria P., and Mirkhani R. 2005. Methods of Soil Physical Analysis, *Technical Bulletin,* Soil and Water Research Institute, Iran No:479. (In Persian)

Cho Y., Bolick G.A., and Butcher D.J. 2009. Phytoremediation of lead with green onions (*Allium fistulosum*) and uptake of arsenic compounds by moonlight ferns (*Pteris cretica* cv Majii). *Microchemical Journal*, 91(1): 6-8.

Cui Y., Wang Q., Dong Y., Li H., and Christie P. 2004. Enhanced uptake of soil Pb and Zn by Indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA. *Plant and Soil,* 261: 181–188.

Doumett S., Lamperi L., checchini L., Azzarello E., Mugnai S., Mancuso S., Petruzzelli G., and Bubba M.D. 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.

Dushenkov S., Kapulnik Y., Blaylock M., Sorochinsky B., Raskin I., and Ensley B. 1997. Phytoremediation: a novel approach to an old problem. *Global Environmental Biotechnology*, 563–572.

Ebrahimi M., and Shahsavand F. 2014. EDTA enhanced phytoextraction capacity of *Scirpus maritimus* L. grown on Pb-Cr contaminated soil and associated potential leaching risks. *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences*, 2(10): 379-388.

Ebrahimi M., Piri Sahragard H., and Miri E. 2015. Effect of EDTA Application on lead and zinc uptake and germination of *Thlaspi caerulescens* L. in a contaminated soil. *Ecopersia*, 3(4): 1213-1224.

Emami A. 1976. Methods of Plant Analysis, *Technical Bulletin,* Soil and Water Research Institute, Iran, No:982. (In Persian)

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.

Garbisu C., Hernandez-Allica J., Barrutia O., Alkorta I., and Becerril, J.M. 2002. Phytoremediation: a technology using green plants to remove contaminants from polluted areas. *Reviews on Environmental Health*, 17 (3): 173–188.

Gee G.W., and Or D. 2002. Particle-size analysis. In: Methods of Soil Analysis. Part-4. Physical Methods. SSSA Book Series, Madison, pp. 255-293.

Ghasemi-Fasaei R. 2012. Effects of EDTA and phosphorus levels on lead phytoremediation by maize. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4-23: 1786-1790.

Glick B.R. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances*, 21(5): 383-393.

Gonsior S.J., Sorci J.J., Zoellner M.J., and Landenberger B.D. 1997. The effects of EDTA on metal solubilization in river sediment/water systems. *Journal of Environmental Quality*, 26: 957-966.

Guo G.L., and Zhou Q.X. 2003. Advances of research on combined pollution in soil plant systems. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 14(5): 823–828.

Haag – Kerwer A., Schafer H.J., Heiss S., Walter C., and Rausch T. 1999. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 50(341): 1827-1835.

Hong-qi W., Si-jin L., Hua L., and Zhi-hua Y. 2007. EDTA-enhanced phytoremediation of lead contaminated soil by Bidens maximowicziana. *Journal of Environmental Sciences*, 19: 1496-1499.

Kabata-Pendias A. 1984. Trace elements in soils and plants. CRC Press, the University of Michigan, 315p.

Liu D., Yang T., Li X., Islam E., Jin X., and Mahmood Q. 2007. Enhancement of lead uptake by hyperaccumulator plant species *Sedum alfredii* Hance using EDTA and IAA. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 78(3-4): 280–283.

Meers E., Hopgood M., Lesage E., Vervaeke P., Tack F.M.G., and Verloo M.G. 2004. Enhanced phytoextraction: in search of EDTA alternatives. *International Journal Phytoremediation*, 6(2): 95–109.

Meers E., Ruttens A., Hopgood M.J., Samson D., and Tack F.M.G. 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58: 1011–1022.

Mourato M.P., Moreira I.N., Leitao I., Pinto F.R., Sales J.R., and Luisa Louro Martins L.L. 2015. Effect of heavy metals in plants of the genus Brassica. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 17975-17998.

Raskin I., and Ensley B.D. 2000. Phytoremediation of Toxic Metals: Using plants to clean up the Environment. *Engineering*, pp. 53-70.

Ruley A.T., Sharma N.C., Sahi S.V., Singh S.R., and Sajwan K.S. 2006. Effects of lead chelators on growth, phytosynthetic activity and pb uptake in Sesbania drummondii grown in soil. *Environmental pollution*, 144: 11-18.

Sajwan K.S., Ornes W.H., Youngblood T.V., and Alva A.K. 1996. Uptake of soil applied cadmium, nickel and selenium by bush beans. *Journal of Water, Air and Soil Pollution*, 91: 209-217.

Sarsar V., Hardeep H., Selwal K.K., Tanwar R.S., Pankaj K., Tyagi P.K., and Anami Ahuja A. 2012. Indian Mustard *Brassica juncea L*. Mediated Phytoremediation of Lead. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 3(4): 1-5.

Seth C.S., Chaturvedi P.K., and Misra V. 2008. The role of phytochelatins and antioxidants in tolerance to Cd accumulation in *Brassica juncea* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 76-85.

Shakoor M.B., Ali S., Farid M., Farooq M.A., Tauqeer H.M., Iftikhar U., Hannan F., and Bharwana S.A. 2013. Heavy metal pollution, a global problem and its remediation by chemically enhanced phytoremediation: A Review, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(3): 12-20.

Steele M.C., and Pichtel J. 1998. Ex-situ remediation of a metals contaminated superfund soil using selective extractants. *Journal of Environmental Engineering*, 124(7): 639-64.

Sun,Y., Zhou Q., Xu Y., Wang L., and Liang X. 2011. The role of EDTA on cadmium phytoextraction in a cadmiumhyperaccumulator. *Rorippa globosa. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3(3): 45-51.

Turan M., and Esringu A. 2007. Phytoremediation based on canola (*Brassica napus* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb, and Zn. *Plant Soil Environment*, 53: 7–15.

Wu L.H., Luo Y.M., Christie P., and Wong M.H. 2003. Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil. *Chemosphere*, 50: 819–822.

Wu L.H., Luo Y.M., Xing X.R., and Christie P. 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agriculture, Ecosystems, Environment*, 102: 307–318.

Yang J.Y., Yang X.E., He Z.L., Li T.Q., Shentu J.L., and Stoffella P.J. 2006. Effects of pH, organic acids, and inorganic ions on lead desorption from soils. *Environmental Pollution*, 143(1): 9–15.

Zaier H., Ghnaya T., Ben R.K., Lakhdar A., Rejeb S., and Jemal F. 2010. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with Brassica napus. *Bioresource Technology*, 101: 3978–3983.

Zhao Z., , Nan Z., Wang Z.W., Yang Y.M., and Shimizu M. 2014. Interaction between Cd and Pb in the soil-plant system: a case study of an arid oasis soil-cole system. *Journal of Arid Land* , 6(1): 59−68.

Effect of EDTA on Uptake of Lead and Cadmium by Canola

Rasoul Mirkhani[1]*, Saeed Saadat[1], Hamed Rezaei[1], Yousfreza Bagheri[2]

(Received: September 2016 Accepted: March 2017)

Abstract

Lead (Pb) and cadmium (Cd) are among heavy metals which enter water, soil, plants and ultimately the human and animals food chain from variouse resources and can cause serious damages. Several methods has been suggested for remediation of contaminated soils. Phytoremediation is a promising technology for this purpose. Harvesting and maximum extraction of contaminants from soil environment is the purpose of phytoremediation. Use of chelates, is one of the effective approaches for increasing the bioavailability of heavy metals. Therefore, In this study, the effects of Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid (EDTA) as a chelating agent on increased absorption of Pb and Cd by Canola (Okapi) were studied. A pot experiment was conducted in the greenhouse as a factorial and completely randomized design with three replication. Factors included of : 1- EDTA Application in two levels (0 and 2.7 mmol kg^{-1} soil), 2- Pb at three levels (0, 150 and 500 mg kg^{-1} soil) and 3- Cd in three levels (0, 3 and 10 mg kg^{-1} soil). Consequently, a non-contaminated soil was selected and contaminated with different amounts of Pb and Cd. Then, canola seeds were planted and after harvest, Pb and Cd concentration in plants (grain and straw) and soil was measured. The results showed that EDTA application was able to increase Pb and Cd solubility in soil solution, resulting in increased absorption of Pb in straw (25.6 times) and grain (11.2 times) and Cd in straw (12 %). Also studying the Pb and Cd concentration in canola showed that in canola straw in contaminated treatments, Cd concentration (7.35-23.1 mg kg^{-1}) in both levels of EDTA and Pb concentration (106.47-275.48 mg kg^{-1}) only in treatment with EDTA were observed in toxicity limit.

Keywords: Heavy Metals, Grain, Straw, Phytoremediation.

1- Members of Scientific Board of Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO)
2-Researcher of Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO)
* Corresponding Author Email: Rasoul_mirkhani@yahoo.com