Archive of SID

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۶، بهمن – اسفند ۱۳۹۴، ص. ۱۵۰۵-۱۴۹۳

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 6, Jan.-Feb. 2016, p. 1493-1505

تأثیر EDTA و اسید سیتریک بر استخراج گیاهی مس و روی از یک خاک طبیعی آلوده توسط ارقام ذرت

علی اکبر طاهری‌پور[۱]- شهرام کیانی[۲*]- علیرضا حسین‌پور[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۲۶

چکیده

در پژوهش حاضر کارایی عوامل کلات کننده بر بهبود گیاه استخراجی مس و روی از یک خاک طبیعی آلوده توسط ارقام ذرت (*Zea mays* L.) در قالب یک آزمایش گلدانی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه نوع کلات در سه غلظت مختلف و سه نوع رقم ذرت در سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه شهرکرد انجام شد. کلاتهای مورد استفاده شامل دو کلات اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و اسید سیتریک بودند که در سطوح غلظتی صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک مورد استفاده قرار گرفتند. سه رقم ذرت مورد استفاده نیز شامل ارقام سینگل کراس ۷۰۴، تری‌وی‌کراس۶۴۷ و سینگل‌کراس۶۷۷ بودند. نتایج نشان داد کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، وزن تر ریشه و اندام هوایی را در تمامی ارقام ذرت به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد (به استثنای وزن تر ریشه در رقم سینگل کراس۶۷۷)، در حالی که افزایش غلظت اسید سیتریک تا ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک وزن تر ریشه را در مقایسه با شاهد (به استثنای رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷) افزایش داد. بیشترین غلظت مس در ریشه و اندام هوایی ذرت (به ترتیب ۲۵۰۶/۱ و ۳۵۵/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) با کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ حاصل شد که نسبت به شاهد به ترتیب ۶۲/۲ و ۴۲۲/۹ درصد افزایش یافت. بیشترین جذب مس (۸۷۱/۱ میکروگرم در گلدان) و روی (۷۶/۶ میکروگرم در گلدان) توسط اندام هوایی ذرت در رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ با کاربرد ۱/۵ میلی‌مول برکیلوگرم خاک به ترتیب از کلاتهای EDTA و اسید سیتریک حاصل شد. بر اساس نتایج حاصله استفاده از رقم تری‌وی-کراس۶۴۷ و کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم می‌تواند گزینه مناسبی برای گیاه استخراجی مس از خاک باشد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، گیاه پالایی، معدن مس سرچشمه

مقدمه

سطوح بالای مس و روی در خاکهای اطراف معدن مس سرچشمه کرمان به دلیل فعالیتهای استخراج و ذوب فلز باعث بروز سمیت این عناصر در گیاهان فضای سبز این منطقه شده است. طوری که نتایج تجزیه خاک حاکی از بالا بودن مقادیر مس و روی قابل دسترس به ترتیب به مقدار ۲۶۰/۱ و ۹/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بوده است (۲۷).

گیاه‌پالایی[۴] از جمله روش‌های کم هزینه، موثر، دوستدار محیط زیست، با صرفه اقتصادی و دارای مقبولیت جهانی برای حل مشکل آلودگی فلزات سنگین در خاک است. یکی از تکنیکهای این روش گیاه استخراجی[۵] است که در آن، گیاه فلزات سنگین را از خاک خارج کرده و در قسمتهای قابل برداشت خود ذخیره می‌کند (۲). تاکنون از گیاهان مختلفی از قبیل ذرت (۷، ۱۳ و ۱۵)، آفتابگردان (۱۴) و خردل هندی (۴ و ۱۸) به خاطر تولید زیست توده بالا و تحمل غلظت بالای فلزات سنگین در محلول خاک و همچنین قابلیت انباشت مقادیر زیادی از فلزات سنگین (۲۱) برای این منظور استفاده شده است. 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 (۴). استفاده از ترکیبات آلی و غیرآلی می‌تواند به طور موثر و اختصاصی حلالیت فلزات سنگین را افزایش داده و منجر به تجمع فلزات سنگین به وسیله گونه‌های متعدد گیاهی شود (۲۱).

اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و اسید سیتریک از

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: Email: shkiani2002@yahoo.com)

4- Phytoremediation

5- Phytoextraction

www.SID.ir

Archive of SID

جمله معروفترین اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک هستند که به طور وسیعی در پژوهشهای گیاه‌پالایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۳، ۶، ۱۴، ۱۵ و ۱۷). کاربرد EDTA اگرچه توام با موفقیت‌های زیادی بوده است اما به دلیل پایداری محیطی EDTA در ترکیب با فلزات و قابلیت بالای کلات‌کنندگی آن و از طرف دیگر احتمال آبشویی فلزات سنگین، استفاده از آن با چالشهایی مواجه شده است. به طوری که تحقیقات به استفاده از گزینه‌های جایگزین با خطر کمتر از قبیل اسیدهای آلی یا سایر آمینوکربوکسیلیک اسیدهای قابل تجزیه سوق پیدا کرده است. (۲۰). در مورد تاثیر کلات‌کننده‌ها بر گیاه استخراجی فلزات سنگین بررسی‌های بسیاری توسط محققان انجام شده و نتایج متفاوتی گزارش شده است. بابائیان و همکاران (۳) گزارش کردند که بیشترین غلظت سرب در شاخساره و ریشه هویج در غلظت ۱۰ میلی-مول بر کیلوگرم EDTA بدست آمد. 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 افزایش داده و در این میان EDTA از اسید سیتریک موثرتر بوده است (۱۷). تایالاکامران و همکاران (۲۸) عنوان کردند کاربرد EDTA منجر به افزایش غلظت مس در علوفه تولیدی از ۳۰ به ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد. در این میان کاربرد EDTA در مقادیر کم و به تعداد دفعات زیاد منجر به افزایش جذب مس توسط علوفه تولیدی در مقایسه با کاربرد یک یا دوباره آن در مقادیر زیاد شد. چنگ و همکاران (۷) گزارش کردند کاربرد EDTA و اتیلن دی آمین – ان، ان- دی سیوکسینیک اسید[1] به طور معنی‌داری غلظت و جذب سرب را در اندام هوایی ذرت افزایش داد. ناسیمنتو و همکاران (۱۸) عنوان کردند اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم نظیر اسید سیتریک و گالیک قادر به برداشت مس، روی، نیکل و کادمیم از خاک بدون هیچ گونه افزایش خطر آبشویی آنها بودند. دوآرته و همکاران (۹) در اصلاح یک خاک باتلاقی نمکی آلوده به فلزات سنگین توسط گیاه *Spartina maritime* گزارش کردند که اسید استیک و اسید سیتریک دارای توانایی خوبی برای استخراج فلزات کادمیم، روی، سرب، مس، کروم و نیکل از خاک باتلاقی بودند. نتایج تحقیقات چن و همکاران (۶) نشان داد حضور اسید سیتریک می‌تواند سمیت سرب و کادمیم را در تربچه کاهش داده و منجر به افزایش غلظت آنها در بخش هوایی گیاه شود. یکی از مزایای اسید سیتریک در مقایسه با EDTA تاثیر مثبت آن بر رشد گیاه است. محققان زیادی کاهش رشد گیاه در نتیجه کاربرد EDTA را گزارش کرده‌اند (۱۴، ۱۷ و ۲۵) که دلیل این مسئله نیز به افزایش فراهمی فلزات سنگین در خاک و بروز اثرات سمی آنها بر رشد گیاه و از طرف دیگر تاثیر منفی EDTA بر فعالیت ریزجانداران خاک نسبت داده شده است (۵). بنابراین با توجه به موارد فوق، تحقیق حاضر سعی دارد تاثیر استفاده از غلظتهای مختلف دو کلات-کننده رایج EDTA و اسید سیتریک را برای کاهش آلودگی مس و روی از یک خاک آلوده طبیعی با استفاده از ارقام مختلف ذرت مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه نوع کلات، غلظت‌های مختلف کلات و سه نوع رقم ذرت (*Zea mays* L.,) در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد انجام شد. اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و اسید سیتریک دو کلاتی بودند که در سطوح غلظتی صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مول برکیلوگرم خاک به کار برده شدند. ارقام ذرت مورد استفاده نیز شامل سه رقم دیررس سینگل‌کراس ۷۰۴، رقم متوسطرس تری-وی‌کراس ۶۴۷ و رقم سینگل‌کراس ۶۷۷ بودند که برای کاشت در منطقه سرچشمه توصیه شده‌اند. برای انجام آزمایش یک نمونه خاک آلوده طبیعی از فضای سبز ناحیه معدنی مس سرچشمه و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه شد. سپس بر اساس روشهای رایج در آزمایشگاه برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و مقدار قابل استفاده فسفر به روش اولسن (بی‌کربنات سدیم ۰/۵ مولار)، پتاسیم به روش استات آمونیوم، آهن، منگنز، مس و روی به روش DTPA-TEA و همچنین میزان کل مس و روی خاک به روش هضم با اسید نیتریک جوشان و اندازه‌گیری با دستگاه جذب اتمی مشخص شد (۱). پس از تهیه‌ی خاک و عبور آن از الک ۶ میلی-متری، نسبت به مصرف عناصر غذایی مورد نیاز برای ذرت اقدام شد. این عناصر شامل نیتروژن به مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع اوره، فسفر به مقدار ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع سوپر فسفات تریپل، آهن به مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (Fe-EDDHA) و منگنز به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع سولفات منگنز بودند که به صورت خاکی و قبل از کشت استفاده شدند. بدنبال آن مقدار ۴ کیلوگرم خاک در درون گلدان‌های پلاستیکی به قطر و ارتفاع ۲۳×۲۳ سانتی‌متر ریخته شده و گلدان‌ها در داخل گلخانه قرار داده شدند. سپس در هر گلدان۱۰ عدد بذر ذرت کاشته شد که یک هفته پس از کشت ۳ بوته حذف و بقیه نگه‌داشته شدند. مراقبتهای زراعی معمول در حین دوره داشت در گلخانه صورت گرفت. به منظور رفع کمبود آهن در ذرتهای کشت شده به دلیل اثرات آنتاگونیستی مس و آهن، محلول‌پاشی با کلات آهن Fe-EDTA در سه مرتبه در مرحله ۶ تا ۸ برگی با غلظت ۳ در هزار انجام شد. تیمارهای EDTA و اسید سیتریک به صورت محلول تهیه و طی هفت نوبت از هفته پنجم تا دوازدهم به همراه آب آبیاری به گلدانها اضافه شدند.

1- Ethylenediamine-N,N'-Disuccinic Acid, EDDS

www.SID.ir

Archive of SID

در هفته سیزدهم پس از کشت، اندام هوایی و ریشه در هر پلات به طور جداگانه برداشت شد. وزن تر نمونه‌ها (اندام هوایی و ریشه) پس از شستشو با آب معمولی و آب مقطر توسط ترازوی رقومی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در پاکت کاغذی قرار داده شده و به مدت ۴۸ ساعت در خشک‌کن در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده و مجددا توزین شدند تا وزن خشک آنها بدست آید. نمونه‌های گیاهی خرد شده با استفاده از روش خشک-سوزانی هضم شده و غلظت مس و روی آنها با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۱۱). همچنین جذب مس و روی توسط ریشه و اندام هوایی ذرت از حاصلضرب غلظت آنها در وزن خشک ریشه و اندام هوایی بدست آمد. در پایان آزمایش از خاک گلدانها نمونه‌برداری شده و غلظت مس و روی قابل استفاده پس از عصارگیری با DTPA-TEA توسط دستگاه جذب اتمی قرائت شد (۱). نتایج حاصله به کمک نرم افزار SAS (نسخه ۸/۰۲) تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح آماری ۵ درصد آماری استفاده شد. همچنین ضرایب همبستگی بین ویژگیهای مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۱/۵) محاسبه شده و این ضرایب بر اساس آزمون پیرسون مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه خاک (جدول ۱) نشان داد خاک مورد استفاده غیرشور بوده و میزان قابل استفاده عناصر فسفر، آهن و منگنز در این خاک، کمتر از مقادیر مورد نیاز برای رشد ذرت بوده که به همین دلیل کودهای شیمیایی مورد نیاز به آن افزوده شد. با این وجود مقدار قابل استفاده دو عنصر مس و روی در مقادیر بیشتر از حد مورد نیاز گیاه بوده که این امر منجر به بروز علائم ناشی از سمیت این دو عنصر به صورت زردی و بافت مردگی در ارقام ذرت شد. همچنین بر اساس نتایج حاصله غلظت کل مس و روی (به ترتیب ۳۰۲۲/۰ و ۲۵۴/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود که بر مبنای حدود بحرانی (به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک برای مس و روی) مقدار مس خاک در ناحیه سمیت قرار گرفت (۱۲).

غلظت مس و روی قابل استفاده خاک

در همه ارقام ذرت با کاربرد کلات‌های EDTA و اسید سیتریک تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، غلظت مس و روی قابل استفاده خاک افزایش یافت. در این میان تفاوت معنی‌داری از نظر مس قابل استفاده خاک بین غلظتهای ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار کلاتهای EDTA و اسید سیتریک به ترتیب در رقم‌های تری‌وی‌کراس۶۴۷ و سینگل‌کراس۶۷۷ مشاهده نشد. بیشترین غلظت مس قابل استفاده خاک مربوط به رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ در غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA (۴۰۱/۹ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) و کمترین غلظت مس قابل استفاده خاک مربوط به رقم سینگل کراس ۷۰۴ در تیمار شاهد (۲۳۴/۹) بود (جدول ۲). همچنین روی قابل استفاده خاک در تیمار شاهد و کاربرد اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در ارقام سینگل کراس ۷۰۴ و ۶۷۷ با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین روی قابل استفاده خاک با کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم در رقم سینگل کراس ۷۰۴ (۱۷/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و کمترین روی قابل استفاده خاک در تیمار شاهد در رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ (۱۴/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد (جدول ۲). عوامل کلات‌کننده نظیر EDTA، اسید سیتریک، گوگرد عنصری و سولفات آمونیوم با عناصر سنگین کمپلکسهای محلول در آب تشکیل داده و به واجذب آنها از ذرات خاک کمک می‌کنند. زیست فراهمی فلزات سنگین در نتیجه کاهش پ.هاش خاک نیز افزایش می‌یابد، زیرا نمکهای فلزات در محیط اسیدی حلالیت بیشتری نسبت به محیط بازی دارند (۲). بر اساس پژوهشهای انجام شده کاربرد آمینوکربوکسیلیک اسیدها می-تواند منجر به افزایش غلظت عناصر سنگین در خاک شود.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1- Some physical and chemical properties of studying soil

قابلیت هدایت الکتریکی	پ.هاش(۱:۱۰)	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	فسفر	پتاسیم	آهن	منگنز	روی	مس	بافت خاک
				قابل استفاده (میلی‌گرم بر کیلوگرم)						
Electrical conductivity	$pH_{(1:10)}$	Organic carbon	Calcium carbonate equivalent	P	K	Fe	Mn	Zn	Cu	Textural class
($dS\ m^{-1}$)		(٪)		Available ($mg\ kg^{-1}$)						
2.3	7.9	0.98	8.8	2.1	175.8	0.14	1.41	10.8	305.1	Silty loam

www.SID.ir

Archive of SID

چن و همکاران (۵) با کاربرد EDTA و اسید سیتریک با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک گزارش کردند کاربرد هر دو کلات منجر به افزایش مس تبادلی خاک در مقایسه با تیمار شاهد شد و در این بین تاثیر EDTA بیشتر از اسید سیتریک بود. کارزوسکا و همکاران (۱۳) گزارش دادند کاربرد EDTA و اسید سیتریک با غلظت ۲۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک به ترتیب منجر به استخراج ۴۲۲ و ۲۹۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مس از یک خاک آلوده طبیعی شد. نتایج پژوهشهای محمد و همکاران (۱۷) نشان داد کاربرد EDTA تا غلظت ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک به طور چشمگیری حلالیت مس را در خاک افزایش داده در حالی که کاربرد اسید سیتریک با غلظت فوق تاثیر کمتری بر مقادیر محلول در آب مس در خاک داشته است. لیزیج و همکاران (۱۴) عنوان داشتند کاربرد هر دو کلات اسید سیتریک و EDTA به ترتیب تا غلظتهای ۰/۵ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش سریع غلظت فلزات سنگین مس، روی، کادمیم و سرب در خاک (شکل محلول) شد. در این میان نقش کلات EDTA در افزایش مس و روی قابل استفاده خاک بیش از اسید سیتریک بود. دلایل مهم این امر را می‌توان به وجود کمپلکس قوی و پایدار میان EDTA و فلزات سنگین در پ.هاش معمول خاک (۲۴)، تحرک بالای کمپلکس‌های فلزات سنگین در خاکهای سبک بافت (۱۵) و زیست تجزیه پذیری بیشتر اسیدهای آلی از قبیل اسید سیتریک در مقایسه با EDTA نسبت به تجزیه در خاک (۹) نسبت داد.

وزن تر ریشه و اندام هوایی: با افزایش غلظت کلات EDTA تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک وزن تر ریشه در دو رقم سینگل-کراس۷۰۴ و تری‌وی‌کراس۶۴۷ کاهش معنی‌داری یافت. در حالی که در رقم سینگل‌کراس۶۷۷ افزایش غلظت EDTA تاثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه نداشت (جدول ۳). در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و سینگل‌کراس۶۷۷ با کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم اسید سیتریک، وزن تر ریشه افزایش یافته، اما با افزایش غلظت کاربردی به ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم وزن تر ریشه کاهش معنی‌داری پیدا کرد. کاربرد اسید سیتریک در رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ تاثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه نداشت. بیشترین وزن تر ریشه (۲۱/۱۹ گرم در گلدان) مربوط به رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ در تیمار شاهد و کمترین وزن تر ریشه مربوط به رقم سینگل‌کراس۷۰۴ با کاربرد ۱/۵میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA بود (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصله با افزایش غلظت EDTA تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک وزن تر اندام هوایی به طور معنی‌داری در تمام ارقام ذرت کاهش یافت. در حالی که کاربرد اسید سیتریک تاثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی در ارقام سینگل کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس ۶۴۷ نداشته و تنها منجر به کاهش وزن تر اندام هوایی رقم سینگل‌کراس ۶۷۷ در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در مقایسه با شاهد شده است (جدول ۳).

جدول ۲- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر غلظت مس و روی قابل استفاده خاک

Table 2- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the Cu and Zn concentrations in soil

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration (mmol kg^{-1})	غلظت مس خاک Cu concentration in soil (mg kg^{-1})				غلظت روی خاک Zn concentration in soil (mg kg^{-1})			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	234.9^{f}	239.1^{f}	236.5^{f}	339.4^{A}	15.5^{ef}	14.7^{i}	15.2^{gh}	15.8^{A}
	0.75	371.4^{b}	398.6^{a}	377.2^{b}		16.4^{b}	15.3^{gh}	15.8^{d}	
	1.5	395.8^{a}	401.9^{a}	399.5^{a}		17.1^{a}	16.2^{c}	16.2^{bc}	
اسید سیتریک Citric acid	0	235.5^{f}	238.8^{f}	236.9^{f}	316.3^{B}	15.5^{ef}	14.7^{i}	15.5^{gh}	15.4^{B}
	0.75	336.4^{de}	378.0^{b}	305.5^{d}		15.6^{de}	15.2^{gh}	15.3^{fg}	
	1.5	351.1^{c}	392.9^{a}	344.1^{cd}		16.1^{c}	15.5^{e}	15.7^{d}	
میانگین Mean		320.9^{B}	341.5^{A}	321.2^{B}		16.0^{A}	15.3^{C}	15.6^{B}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters

www.SID.ir

Archive of SID

کاربرد اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک منجر به تولید بیشترین وزن تر اندام هوایی در رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ (۱۲/۸۵ گرم در گلدان) شد. در حالی که استفاده از بیشترین غلظت EDTA منجر به کمترین وزن تر اندام هوایی در رقم سینگل کراس ۷۰۴ (۵/۰۳ گرم در گلدان) شد. بر اساس نتایج حاصله اسید سیتریک در مقایسه با EDTA کاهش وزن کمتری را در ریشه و اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد موجب شده و رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ در مقایسه با دو رقم دیگر بیشترین وزن تر ریشه و اندام هوایی را به خود اختصاص داده است (جدول ۳).

کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی در نتیجه کاربرد EDTA به دلیل افزایش فراهمی عناصر قابل استفاده مس و روی در خاک (جدول ۲) و بروز اثرات سمی ناشی از آنها بر رشد گیاه (۱۰) و از طرف دیگر تاثیر منفی EDTA بر فعالیت ریزجانداران خاک (۵) و همچنین رشد گیاه (۱۴، ۱۷ و ۲۵) می‌باشد. وجود همبستگی منفی و معنی‌دار ($P<0/05$) بین وزن تر ریشه و اندام هوایی با غلظت روی قابل استفاده خاک (به ترتیب ۰/۶۷- و ۰/۷۱-) به خوبی چنین مسئله‌ای را نشان می‌دهد. علت سمیت EDTA نیز پایداری زیاد و زیست تجزیه پذیری[1] اندک آن در محیط است (۲۰). این امر به خوبی در پژوهشهای انجام شده اثبات شده است. به‌طوری‌که چن و همکاران (۵) گزارش کردند کاربرد EDTA منجر به بروز علائم سمیت در گیاه خس خس (*Vetiveria zizaniodides*) در مقایسه با اسید سیتریک شد. در پژوهشی دیگر چرم و علیزاده (۸) عنوان کردند که EDTA از جمله کلات‌هایی است که با کلات کردن فلزات مختلف، قدرت جذب آنها را توسط گیاه افزایش داده و منجر به بروز علائم ناشی از سمیت آنها در رشد گیاه می‌گردد. کاهش رشد گیاه در نتیجه کاربرد EDTA در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در تحقیقات محمد و همکاران (۱۷) در گیاه *Typha angustifolia*، به مقدار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در پژوهشهای سینهال و همکاران (۲۵) در همیشه بهار و مقادیر ۷ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در آزمایشهای لیزیج و همکاران (۱۴) در آفتابگردان نیز مورد تایید قرار گرفته که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد. مهار رشد در حضور فلزات سنگین از جمله مس و روی به علت بعضی اختلالات از قبیل وضعیت آب سلولی، تقسیم سلولی میتوز و استحکام دیواره سلولی می‌باشد (۱۰). در این میان افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه با کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم اسید سیتریک و سپس کاهش آن در غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در دو رقم سینگل کراس ۷۰۴ و ۶۷۷ حاکی از اثر منفی سطوح بالای اسید سیتریک بر رشد گیاه است. در همین زمینه سینهال و همکاران (۲۵) عنوان کردند غلظتهای بالای EDTA و اسید سیتریک (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به کاهش معنی دار شاخصهای رشدی گیاه همیشه بهار از قبیل ارتفاع، وزن تر و همچنین میزان کلروفیل شد. بر اساس نتایج این پژوهش سمیت مس و روی در خاک، رشد اندام هوایی را بیشتر از ریشه کاهش داده است (جدول ۳). از جمله اثرات سمیت مس می‌توان به کاهش مقدار کلروفیل، تغییر در ساختار کلروپلاست و غشای-تیلاکوئید، تخریب گرانا و لاملای استروما اشاره کرد. مس ترکیب پیگمان‌ها و پروتئین‌های غشاهای فتوسنتزی را تغییر می‌دهد و باعث پراکسیداسیون چربی‌ها می‌گردد. این اثرات فرایندهای مهم سلولی از قبیل فتوسنتز و تنفس را مختل کرده و از رشد گیاه جلوگیری می‌کند (۲۹).

غلظت مس و روی ریشه و اندام هوایی

نتایج نشان داد با کاربرد EDTA تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، غلظت مس ریشه در تمام ارقام ذرت به طور معنی‌داری افزایش یافت. در حالی که در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و سینگل‌کراس ۶۷۷ کاربرد اسید سیتریک تنها تا غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، غلظت مس ریشه را افزایش داد. اما در این میان در رقم تری‌وی-کراس۶۴۷ کاربرد اسید سیتریک منجر به کاهش غلظت مس ریشه شد (جدول ۴). بررسی نتایج غلظت روی ریشه نشان داد که در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس۶۴۷ به ترتیب استفاده از EDTA و اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک توانسته غلظت روی ریشه را افزایش دهد. این در حالی بود که در رقم سینگل‌کراس۶۷۷ کاربرد هر دو کلات با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک غلظت روی ریشه را افزایش داد. در این میان بیشترین غلظت مس (۲۵۰۶/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روی ریشه (۱۱۵/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ به ترتیب با کاربرد ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک EDTA و ۰/۷۵ میلی‌مول برکیلوگرم خاک اسید سیتریک مشاهده شد (جدول ۴).

بر اساس نتایج حاصله با افزایش غلظت هر دو کلات EDTA و اسید سیتریک در تمام ارقام ذرت غلظت مس اندام هوایی به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس ۶۴۷ با افزایش غلظت هر دو کلات تا سطح غلظتی ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، غلظت روی در اندام هوایی ذرت به-طور معنی‌داری افزایش یافت. این در حالی بود که در رقم سینگل-کراس ۶۷۷ تنها کاربرد ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک اسید سیتریک غلظت روی اندام هوایی را افزایش داد. کاربرد EDTA در همین رقم نیز با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش غلظت روی اندام هوایی شد. در این میان تاثیر EDTA در افزایش غلظت مس ریشه و اندام هوایی و همچنین روی اندام هوایی

1- biodegradable

www.SID.ir

Archive of SID

از اسید سیتریک به طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۵). بیشترین غلظت مس (۳۵۵/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روی (۳۷/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اندام هوایی به ترتیب در ارقام تری‌وی‌کراس۶۴۷ و سینگل کراس ۷۰۴ با کاربرد ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک EDTA حاصل شد (جدول ۵).

جدول ۳- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر وزن تر ریشه و اندام هوایی ارقام ذرت

Table 3- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the root and shoot fresh weight of corn cultivars

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration (mmol kg^{-1})	وزن تر ریشه Root fresh weight (g pot^{-1})				وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g pot^{-1})			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	17.29^{efg}	21.19^{a}	15.40^{hijk}	16.20^{B}	8.22^{de}	11.11^{bc}	12.04^{ab}	8.13^{B}
	0.75	15.37^{hijk}	16.83^{efgh}	16.20^{fghij}		6.36^{fg}	8.90^{d}	7.80^{de}	
	1.5	12.00^{l}	16.57^{efghi}	14.97^{ijk}		5.03^{g}	6.84^{ef}	6.87^{ef}	
اسید سیتریک Citric acid	0	17.59^{def}	20.34^{ab}	15.71^{ghij}	17.84^{A}	8.20^{de}	11.60^{abc}	12.17^{ab}	10.74^{A}
	0.75	21.38^{a}	20.47^{bc}	18.09^{cde}		8.97^{d}	12.85^{a}	10.37^{c}	
	1.5	13.99^{k}	19.27^{bcd}	14.70^{jk}		8.07^{de}	12.15^{ab}	12.28^{ab}	
میانگین Mean		16.27^{B}	18.95^{A}	18.54^{B}		7.47^{B}	10.57^{A}	10.25^{A}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters.

جدول ٤- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر غلظت مس و روی ریشه ارقام ذرت

Table 4- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the Cu and Zn concentrations in root of corn cultivars

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration (mmol kg^{-1})	غلظت مس ریشه Cu concentration in root (mg kg^{-1})				غلظت روی ریشه Zn concentration in root (mg kg^{-1})			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	1232.8^{fg}	1545.5^{e}	1108.6^{g}	1733.2^{A}	102.5^{cd}	108.5^{abc}	78.7^{f}	97.5^{A}
	0.75	1630.2^{de}	1568.2^{e}	1753.3^{cd}		110.7^{ab}	93.7^{e}	111.7^{ab}	
	1.5	2349.4^{b}	2506.1^{a}	1904.4^{c}		91.4^{e}	92.4^{e}	88.3^{e}	
اسید سیتریک Citric acid	0	1254.3^{fg}	1542.2^{e}	1109.8^{g}	1297.5^{B}	102.0^{cd}	108.9^{abc}	77.9^{f}	99.2^{A}
	0.75	1514.0^{e}	1311.1^{f}	1205.6^{fg}		107.1^{bc}	115.8^{a}	102.1^{cd}	
	1.5	1311.1^{f}	1251.4^{fg}	1148.8^{g}		94.9^{de}	91.4^{e}	92.9^{e}	
میانگین Mean		1548.7^{B}	1625.6^{A}	1371.7^{C}		101.4^{A}	101.8^{A}	91.9^{B}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر غلظت مس و روی اندام هوایی ارقام ذرت

Table 5- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the Cu and Zn concentrations in shoot of corn cultivars

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration (mmol kg^{-1})	غلظت مس اندام هوایی Cu concentration in shoot (mg kg^{-1})				غلظت روی اندام هوایی Zn concentration in shoot (mg kg^{-1})			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	31.7^{ij}	68.0^{fg}	24.8^{j}	196.1^{A}	18.4^{i}	17.9^{i}	20.9^{gh}	24.4^{A}
	0.75	256.4^{b}	205.3^{d}	237.8^{c}		27.2^{c}	22.4^{fg}	22.1^{fg}	
	1.5	241.3^{bc}	355.6^{a}	344.4^{a}		37.6^{a}	29.0^{b}	24.1^{de}	
اسید سیتریک Citric acid	0	32.8^{ij}	67.4^{fg}	24.8^{j}	57.0^{B}	18.4^{i}	18.0^{i}	21.4^{g}	21.8^{B}
	0.75	46.0^{hi}	90.9^{e}	30.9^{ij}		23.3^{def}	23.7^{def}	22.6^{efg}	
	1.5	77.3^{efg}	81.2^{ef}	62.2^{gh}		24.5^{d}	25.0^{d}	19.4^{hi}	
میانگین Mean		114.2^{B}	144.7^{A}	120.8^{B}		24.9^{A}	22.7^{B}	21.7^{C}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters

افزایش غلظت مس و روی در ریشه و اندام هوایی ارقام ذرت را می‌توان به افزایش فراهمی آنها در نتیجه کاربرد کلاتهای EDTA و اسید سیتریک (جدول ۲) و سهولت انتقال آنها در گیاه نسبت داد. وجود همبستگی‌های مثبت و معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین غلظت مس قابل استفاده خاک با غلظت مس ریشه ($r= ۰/۵۳$) و اندام هوایی ($r=۰/۷۰$) به خوبی نقش کلاتهای مورد استفاده را در افزایش فراهمی مس در خاک نشان می‌دهد. به طور کلی کاربرد عوامل کلات کننده از قبیل EDTA و اسید سیتریک از طرفی با افزایش حلالیت فلزات سنگین در خاک منجر به افزایش غلظت فلزات در قسمتهای گیاهی قابل برداشت بالای خاک شده و از طرف دیگر انتقال عناصر را از ریشه به اندام هوایی بهبود می‌بخشد (۲۰). پس از جذب یونها توسط ریشه، دو مسیر موازی برای حرکت مواد از خلال پارانشیم پوست ریشه به سوی استوانه مرکزی (آوند چوبی) وجود دارد. یکی عبور از فضای بین سلولی یا آپوپلاست (دیواره‌های سلولی و فضاهای میان سلولی) و دیگری عبور از سیتوپلاسم یک سلول به سلول دیگر از خلال شبکه پلاسمودسماتا از کنار واکوئلها و بدون وارد شدن به آنها (۱۶). انتقال از مسیر آپوپلاستی سریع‌تر از مسیر سیمپلاستی صورت می‌گیرد. عوامل کلات‌کننده فلزات از طریق مسیر آپوپلاستی در گیاه انتقال داده می‌شوند. کاربرد عوامل کلات‌کننده نه تنها غلظت فلزات محلول را در خاک بالا می‌برد بلکه مسیر انتقال آنها در گیاه را از سیمپلاستی به آپوپلاستی تغییر داده و منجر به سهولت انتقال آنها در گیاه می‌شود (۱۹). همچنین EDTA آزاد در سلولهای ریشه باعث رفع موانع فیزیولوژیکی موجود در ریشه از طریق حذف کاتیونهای Fe^{2+} و Ca^{2+} که نقش مهمی در خاصیت انتخابی غشای سیتوپلاسمایی سلولهای ریشه دارند، می‌گردند (۱۹). در پژوهشهای متعدد انجام شده تاثیر مثبت کلاتها در افزایش غلظت عناصر سنگین در بافتهای گیاهی مورد تایید قرار گرفته (۴، ۹، ۱۷، ۱۸ و ۲۸) که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد.

در این میان نکته قابل توجه آنست که غلظت مس در اندام هوایی در محدوده سمیت قرار دارد (جدول ۵). برای بیشتر گونه‌های زراعی میزان بحرانی مس در برگ‌ها که سمی در نظر گرفته می‌شود، بیشتر از ۲۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک گیاهی است (۱۶). از طرف دیگر غلظت مس و روی در اندام هوایی (جدول ۵) در مقایسه با ریشه‌ها (جدول ۴) کمتر است. این امر نشاندهنده توانایی کم ارقام مورد استفاده در انتقال این عناصر از ریشه به قسمت هوایی است. در گیاهانی که میزان زیاد مس و روی دریافت می‌کنند میزان مس و روی ریشه‌ها متناسب با افزایش غلظت مس و روی در محیط ریشه افزایش می‌یابد، در صورتی که جابجایی آنها به اندام هوایی به شدت محدود می‌شود (۱۶). این مسئله در دیگر پژوهشهای انجام شده نیز گزارش شده است. به طور مثال ناسیمنتو و همکاران (۱۸) نشان دادند غلظت مس و روی در ریشه گیاه خردل هندی کشت شده در یک خاک آلوده به فلزات سنگین (مس، روی، نیکل، کادمیم و سرب) از مقادیر مشاهده شده در اندام هوایی بیشتر بود. آنها دلیل این مسئله را در محدودیت انتقال این عناصر از ریشه به اندام هوایی گیاه ذکر

www.SID.ir

Archive of SID

کردند که احتمالا به دلیل اتصال شکلهای یونی عناصر در جایگاههای مبادله کاتیونی ریشه و غیرمتحرک شدن آنها می‌باشد. در این میان نتایج حاکی از آنست که غلظت مس و روی ریشه و همچنین غلظت مس اندام هوایی در رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ نسبت به دو رقم دیگر بیشتر است که دلیل این مسئله تفاوت ژنتیکی بین این ارقام می‌باشد. تفاوت بین ارقام گیاهی ذرت در جذب سرب از خاک در مطالعات تفویضی و همکاران (۲۶) نیز مشاهده شده است.

جذب مس و روی توسط ریشه و اندام هوایی

نتایج حاصله نشان داد کاربرد غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک منجر به بروز پاسخ‌های متفاوتی در ارقام ذرت از نظر جذب مس و روی توسط ریشه و اندام هوایی شد. به طوری که در رقم سینگل کراس ۷۰۴ کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک بیشترین تجمع مس در ریشه را موجب شده اما در ارقام تری‌وی‌کراس ۶۴۷ و سینگل کراس ۶۷۷ به ترتیب عدم کاربرد و استفاده از EDTA به مقدار ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک بیشترین تجمع مس در ریشه را ایجاد کرد (جدول ۶). همچنین کاربرد اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و سینگل‌کراس ۶۷۷ بالاترین جذب مس توسط ریشه را رقم زده در حالی که در رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ بهترین نتیجه در عدم استفاده از اسید سیتریک بدست آمد (جدول ۶). نتایج جذب روی نیز توسط ریشه نیز حاکی از آنست که در ارقام سینگل-کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس۶۴۷ با افزایش غلظت EDTA تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، این شاخص کاهش یافت. اما در رقم سینگل‌کراس۶۷۷ بهترین نتیجه با کاربرد ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک EDTA حاصل شد (جدول ۶). با این وجود در هر سه رقم ذرت مورد بررسی بیشترین جذب روی توسط ریشه در غلظت ۰/۷۵ میلی-مول بر کیلوگرم خاک اسید سیتریک مشاهده شد. در این بین بیشترین جذب مس (۶۵۲۵/۷ میکروگرم در گلدان) و روی (۵۱۲/۳ میکروگرم در گلدان) توسط ریشه ذرت مربوط به رقم تری‌وی-کراس۶۴۷ به ترتیب در شاهد (بدون مصرف کلات‌کننده) و ۰/۷۵ میلی‌مول برکیلوگرم خاک اسید سیتریک حاصل شد (جدول ۶).

جذب مس و روی توسط اندام هوایی نیز تحت تاثیر نوع کلات مصرفی و غلظتهای آن قرار گرفت. به طوری که در ارقام تری‌وی-کراس ۶۴۷ و سینگل‌کراس۶۷۷ با افزایش غلظت EDTA و همچنین در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و سینگل‌کراس ۶۷۷ با افزایش غلظت اسید سیتریک تا ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک جذب مس توسط اندام هوایی افزایش پیدا کرد (جدول ۷). در حالی که در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس ۶۴۷ بیشترین جذب مس توسط ریشه به ترتیب با کاربرد EDTA و اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک حاصل شد.

جدول ٦- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر جذب مس و روی توسط ریشه ارقام ذرت

Table 6- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the Cu and Zn uptake by root of corn cultivars

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration (mmol kg^{-1})	جذب مس ریشه Cu uptake by root (µg pot^{-1})				جذب روی ریشه Zn uptake by root (µg pot^{-1})			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	3561.1^{fgh}	6525.7^{a}	2799.2^{i}	4823.7^{A}	300.9^{de}	461.3^{b}	197.7^{hi}	283.6^{B}
	0.75	4321.1^{cde}	5109.4^{b}	6230.7^{a}		294.4^{de}	305.4^{d}	398.6^{c}	
	1.5	4752.9^{bc}	6332.4^{a}	3780.8^{def}		185.8^{hi}	233.5^{fgh}	174.8^{i}	
اسید سیتریک Citric acid	0	3581.8^{efgh}	6493.6^{a}	2904.7^{hi}	4372.2^{B}	299.6^{de}	460.2^{b}	199.1^{hi}	335.2^{A}
	0.75	6023.5^{a}	5930.8^{a}	4498.8^{bcd}		426.5^{bc}	512.3^{a}	379.9^{c}	
	1.5	2998.4^{ghi}	3679.2^{efg}	3124.9^{fghi}		217.8^{ghi}	268.8^{def}	252.8^{efg}	
میانگین Mean		4225.8^{B}	5691.7^{A}	3906.6^{C}		287.5^{B}	373.6^{A}	269.3^{B}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters

www.SID.ir

Archive of SID

کاربرد EDTA تا سطح غلظتی ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش جذب روی توسط اندام هوایی در ارقام سینگل‌کراس ۷۰۴ و تری‌وی‌کراس ۶۴۷ شد در حالی که در رقم سینگل‌کراس ۶۷۷ تاثیر عکس داشت (جدول ۷). همچنین کاربرد اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک در تمامی ارقام مورد استفاده منجر به افزایش معنی‌دار جذب روی اندام هوایی در مقایسه با عدم کاربرد آن شد. اگرچه افزایش بیشتر غلظت آن تاثیر معنی‌داری بر جذب روی اندام هوایی نداشت. بیشترین جذب مس (۸۷۱/۱ میکروگرم در گلدان) و روی (۷۶/۶ میکروگرم در گلدان) توسط اندام هوایی در رقم تری‌وی‌کراس۶۴۷ با کاربرد غلظت ۱/۵ میلی‌مول برکیلوگرم خاک به ترتیب از کلاتهای EDTA و اسید سیتریک حاصل شد (جدول ۷).

همانطور که ملاحظه می‌شود استفاده از ترکیبات کلات‌کننده مثل EDTA و اسید سیتریک منجر به افزایش جذب مس و روی توسط ریشه و اندام هوایی شده البته تا آنجایی که به دلیل بروز اثرات سمی منجر به کاهش رشد گیاه و به تبع آن کاهش میزان جذب نشده باشد. در این میان تاثیر EDTA در افزایش جذب مس توسط ریشه و اندام هوایی بیش از اسید سیتریک بوده در حالی که در مورد روی نقش اسید سیتریک بیشتر بوده است. این مسئله در پژوهشهای انجام شده نیز تایید شده است. به طوری که در تحقیقات محمد و همکاران (۱۷) اسید سیتریک موثرتر از EDTA برای استخراج مس، کادمیم، سرب و کروم بوده اما در تحقیقات کارزوسکا و همکاران (۱۳) EDTA نقش موثرتری از اسید سیتریک برای استخراج مس و سرب داشته است. تاثیر مثبت هر دو کلات EDTA و اسید سیتریک در استخراج گیاهی مس، کادمیم، سرب و کروم از خاک توسط گیاه *Typha angustifolia* در پژوهشهای محمد و همکاران (۱۷)، کارزوسکا و همکاران (۱۳) در استخراج گیاهی مس و سرب توسط ذرت، سینهال و همکاران (۲۵) در استخراج گیاهی مس، سرب و کادمیم توسط همیشه بهار و لیزیج و همکاران (۱۴) در استخراج گیاهی مس، روی، سرب و کادمیم توسط آفتابگردان نیز گزارش شده است. افزایش حلالیت فلزات سنگین در خاک و تسریع در انتقال آنها از ریشه به اندام هوایی در نتیجه مصرف عوامل کلات کننده سازوکارهایی هستند که استخراج گیاهی فلزات سنگین را بهبود می‌بخشند. البته در این میان جذب کمتر مس و روی توسط اندام هوایی (جدول ۷) در مقایسه با ریشه (جدول ۶)، به دلیل غلظت کمتر مس و روی در اندام هوایی (جداول ۴ و ۵) است. محققان دلایل مختلفی را از قبیل نگهداری فلزات سنگین در مکانهای تبادل کاتیونی دیواره‌های آوندی سلولهای پارانشیم آوند چوب در ریشه و غیرمتحرک شدن آنها در واکوئلهای سلولهای ریشه را در این امر دخیل می‌دانند (۲۲).

جدول ۷- تاثیر غلظتهای مختلف EDTA و اسید سیتریک بر جذب مس و روی توسط اندام هوایی ارقام ذرت

Table 7- The effect of different concentrations of EDTA and citric acid on the Cu and Zn uptake by shoot of corn cultivars

نوع کلات Chelate type	غلظت کلات Chelate concentration ($mmol\ kg^{-1}$)	جذب مس اندام هوایی Cu uptake by shoot ($\mu g\ pot^{-1}$)				جذب روی اندام هوایی Zn uptake by shoot ($\mu g\ pot^{-1}$)			
		سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean	سینگل کراس۷۰۴ SC-704	تری‌وی کراس ۶۴۷ TVC-647	سینگل کراس۶۷۷ SC-677	میانگین Mean
EDTA	0	70.7^{hi}	194.6^{g}	67.5^{hi}	459.9^{A}	41.2^{g}	51.4^{f}	56.3^{def}	58.1^{B}
	0.75	548.1^{c}	591.8^{c}	573.6^{c}		58.2^{cd}	64.5^{bc}	53.3^{def}	
	1.5	486.4^{d}	871.1^{a}	737.1^{b}		75.5^{a}	70.9^{ab}	51.6^{ef}	
اسید سیتریک Citric acid	0	74.5^{hi}	196.0^{g}	66.4^{i}	162.1^{B}	41.1^{g}	52.5^{def}	53.9^{def}	60.3^{A}
	0.75	115.1^{h}	287.6^{e}	90.4^{hi}		58.1^{cde}	74.8^{a}	66.4^{b}	
	1.5	171.5^{g}	248.4^{ef}	209.3^{fg}		54.4^{def}	76.6^{a}	65.2^{b}	
میانگین Mean		244.1^{C}	398.2^{A}	290.7^{B}		54.7^{C}	65.1^{A}	57.8^{B}	

میانگین‌های با حروف مشابه (حروف کوچک) در هر ستون و ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است

Data in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at α =0.05 (LSD Test). The main effects are shown with capital letters

بر اساس نتایج این پژوهش اگرچه کاربرد EDTA منجر به کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه و اندام هوایی ارقام ذرت شد اما با افزایش جذب مس توسط ریشه و اندام هوایی منجر به افزایش استخراج مس از خاک توسط ذرت شد. همچنین تاثیر EDTA در

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج گیاهی مس از خاک بیشتر از اسید سیتریک بوده در حالی که در مورد روی نقش اسید سیتریک قابل توجه است. در میان ارقام مورد مطالعه رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ نسبت به دو رقم دیگر دارای توانایی بیشتری در استخراج مس و روی از خاک بود. از آنجایی که آلودگی مس در خاک مورد مطالعه از اهمیت بیشتری برخوردار بود، استفاده از رقم تری‌وی‌کراس ۶۴۷ و کاربرد EDTA با غلظت ۱/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک برای کاهش آلودگی مس از این خاک توصیه می‌شود. با این حال ذکر این نکته ضروری است که مصرف EDTA در دراز مدت به دلیل اثرات سمی بر ریزجانداران خاک و گیاهان به دلیل زیست تجزیه‌پذیری کمتر، قابل تداوم نبوده و استفاده از کلاتهایی با قابلیت زیست تجزیه پذیری بیشتر نظیر اسید سیتریک بهتر می‌باشد (۲۰). از طرف دیگر مصرف این ترکیبات به صورت چند مرحله‌ای و در زمانهای مناسب از دوره رشد که گیاه حداکثر جذب فلزات از خاک را دارد، می‌تواند با کاهش اثرات مضر آنها بر ریزجانداران و گیاهان خاک منجر به افزایش کارایی گیاه‌پالایی نیز گردد.

منابع

1- Ali Ehyayi M., and Behbehanizadeh A.A. Methods of Soil Analysis. Soil and Water Research Institute Press, Tehran.
2- Ali H., Khan E., and Anwar Sajad M. 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. Chemosphere, 91:869-881.
3- Babaeian E., Homaee M., and Rahnemaie R. 2012. Enhancing phytoextraction of lead contaminated soils by carrot (*Daucus carrota*) using synthetic and natural chelates. Journal of Water and Soil, 26:607-618. (in Persian with English abstract)
4- Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D., and Raskin I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environmental Science and Technology, 31:860-865.
5- Chen K.F., Yeh T.Y., and Lin C.F. 2012. Phytoextraction of Cu, Zn, and Pb enhanced by chelators with vetiver (*Vetiveria zizanioides*): hydroponic and pot experiments. ISRN Ecology, 2012:1-12.
6- Chen Y.X., Lin Q., Luo Y.M., He Y.F., Zhen S.J., Yu Y.L., Tian G.M., and Wong M.H. 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Chemosphere, 50:807-811.
7- Cheng G., Ma X., Sun X., and Zhao S. 2012. Effects of EDTA, EDDS and citric acid on growth of maize and uptake of lead by maize in contaminated soil. Advanced Materials Research, 534:227-280.
8- Chorom M., and Alizadeh A. 2009. Comparison of synthetic chelates and compost at enhancing phytoextraction of Cd, Ni and Pb from contaminated soil under canola cultivation. Journal of Water and Soil, 23:20-29. (in Persian with English abstract)
9- Duarte B., Freitas J., and Cacador I. 2011. The role of organic acids in assisted phytoremediation processes of salt marsh sediments. Hydrobiologia, 764:169-177.
10- El-tayeb M.A., El-enay A.E., and Ahmed N.L. 2006. Salycilic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regulation, 50:191-199.
11- Emami A. 1996. Methods of Plant Analysis. Soil and Water Research Institute Press, Tehran.
12- Kabata pendias A. 2010. Trace Elements in Soils and Plants. 4th edition. CRC Press.
13- Karczewska A., Orlow 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.
14- Lesage E., Meers E., Vervaeke P., Lamsal S., Hopgood M., Tack F.M., 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.
15- Luo C., Shen Z., and Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. Chemosphere, 59:1-11.
16- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. (2nd ed.). Academic Press, London.
17- Muhammad D., Chen F., Zhao J., Zhang G., and Wu F. 2009. Comparison of EDTA- and citric acid-enhanced phytoextraction of heavy metals in artificially metal contaminated soil by *Typha angustifolia*. International Journal of Phytoremediation, 11:558-574.
18- Nascimento C.W.A., Amarasiriwardena D., and Xing B. 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. Environmental Pollution, 140:114-123.
19- Nowack B., Schulin R., and Robinson B.H. 2006. Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. Environmental Science and Technology, 40:5225-5232.
20- Saifullah., Meers E., Qadir M., de Caritat P., Tack F.M.G., Du Laing G., and Zia M.H. 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction. Chemosphere, 74:1279-1291.

www.SID.ir

Archive of SID

21- Schmidt U. 2003. Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. Journal of Environmental Quality, 32:1939-54.
22- Seregin I.V., and Kozhevnikova A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology, 53:257-277.
23- Shu W.S., Ye Z.H., Lan C.Y., Zhang Z.Q., and Wong M.H. 2003. Acidification of lead/zinc mine tailings and its effect on heavy metal mobility. Environmental Introduction 26:389-394.
24- Sillen L.G., and Martell A.E. 1964. Stability constants of metal ion complexes. Special Publication No. 17. The Chemical Society. Londan.
25- Sinhal V.K., Srivastava A., and Singh V.P. 2010. EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta*). Journal of Environmental Biology, 31:255-259.
26- Tafvizi M., Savaghebi GH.R., and Motasharezadeh B. 2012. Study of lead (Pb) phytoextraction potential in different maize varieties. p. 86. Proceedings of the First National Conference of Phytoremidation, 16 Feb. 2012. International Center for Science, High Technology and Environmental Sciences. Kerman, Iran.
27- Taheri Pur A.A. 2013. Effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of copper and zinc by three corn cultivares. M.Sc. Dissertation, Soil Science Department, ShahreKord University.
28- Thayalakumaran T., Robinson B.H., Vogeler I., Scotter D.R., Clothier B.E., and Percival H.J. 2003. Plant uptake and leaching of copper during EDTA-enhanced phytoremediation of repacked and undisturbed soil. Plant and Soil, 254:415–423.
29- Wang H., Shun X.A., Wen B., Zhang S., and Wang Z.J. 2004. Responses of an oxidative enzymes to accumulation of copper in a copper hyper accumulator of communis. Environmental Contamination Toxicology, 47:185-192.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 6, Jan.-Feb. 2016, p. 1493-1505

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۶، بهمن – اسفند ۱۳۹۴، ص. ۱۵۰۵-۱۴۹۳

Effect of EDTA and Citric Acid on Phytoextraction of Copper and Zinc from a Naturally Contaminated Soil by Maize (*Zea mays* L.) Cultivars

A. Taheripur[1] - Sh. Kiani[2]* - A. Hosseinpur[3]

Received: 24-12-2013
Accepted: 17-08-2015

Introduction: Mining and smelting activities have contributed to increasing levels of copper (Cu) and zinc (Zn) in soils around of Sarcheshmeh copper mine (Kerman, Iran). Soil chemical analysis showed that the available of Cu and Zn (extracted with DTPA-TEA) were 260.1 and 9.2 mg kg^{-1} soil, respectively. Phytoextraction is one of the most popular and useful phytoremediation techniques for removal of heavy metals from polluted soils. For chemically-assisted phytoextraction, different chelating agents such as EDTA and citric acid are applied to soil to increase the availability of heavy metals in soil for uptake by plants. A pot experiment was conducted to elucidate the performance of chelating agents addition in improving phytoextraction of Cu and zinc Zn from a naturally contaminated soil by maize (*Zea mays* L.) cultivars.

Materials and Methods: A factorial experiment in a completely randomized design was carried out bythree factors of chelate type, chelate concentrations and maize cultivars with three replications in 2012 at ShahreKord University. Chelating agents were Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) and citric acid (CA). They were applied in concentration levels of 0, 0.75 and 1.5 mmole kg^{-1} soil with irrigation water. The three maize cultivars used were single cross 704 (SC-704), three v cross 647 (TVC-647), and single cross 677 (SC-677). The pots were 23 cm in diameter and 23 cm deep, and were filled with 4 kg of a silty loam, calcareous soil taken from the surface layer of Sarcheshmeh copper mine area. Maize plant s was grown under greenhouse conditions over 90 days. After the harvest, soil available Cu and Zn contents (extracted with DTPA-TEA) were determined by atomic absorption spectrophotometry (AAS). Plant samples (shoot and root) were dried for 48 h at 70ºC to determine their dry matter content (yield). Total Cu and Zn concentrations in root and shoot of maize were measured after digestion plant samples by AAS method. The shoot and root uptakes were calculated by multiplying Cu and Zn concentrations by dry mass. The effects of chelating agents and maize cultivars over the measured properties were evaluated using the two-ways ANOVA. The least significant difference (LSD) was used to compare means of treatments using SAS 8.02.

Results and Discussion: The results revealed that applying both chelates caused an increase of soil available Cu and Zn contents. The maximum of soil Cu (401.9 mg kg^{-1} soil) and Zn (17.1 mg kg^{-1} soil) were obtained by using EDTA with 1.5 mmole kg^{-1} soil in TVC-647 and SC-704 cultivars, respectively. This was due to formation of water-soluble complexes between EDTA with Cu and Zn in soil and help in their desorption from soil particles. EDTA was more effective than CA at increasing Cu and Zn available in the soil. The results indicated that EDTA-addition in 1.5 mmole kg^{-1} soil significantly reduced root and shoot fresh weight in all maize cultivars compared with the control (except root fresh weight in SC-677). This reduction was due to increasing soil available Cu and Zn contents and their toxic effects on plant growth as well as toxic impacts of EDTA on soil microorganisms and growth of plant.on the other hand0.75 mmole kg^{-1} soil CA addition induced significant increases in root fresh weight as compared to the control (except root fresh weight in TVC-647). Application of CA in concentration level of 0.75 mmole kg^{-1} soil led to the greatest quantity of shoot (12.85 g pot^{-1}) and root (21.38 g pot^{-1}) fresh weight in TVC-647 and SC-704 cultivars, respectively. Citric acid has a natural origin and is easily biodegraded in soil. It is not toxic to plants; therefore plant growth is not limited. The highest Cu concentration in root and shoot of maize (2506.1 and 335.6 mg kg^{-1} dry weight, respectively) were obtained in TVC-647 cultivar using 1.5 mmole kg^{-1} soil of EDTA – 62.2% and 422.9% greater than those obtained with control. The highest shoot Cu (871.1 µg pot^{-1}) and Zn (76.7 µg pot^{-1}) accumulations were recorded in TVC-647 cultivar using 1.5 mmole kg^{-1} soil of EDTA and CA, respectively.

Conclusion: Due to importance of Cu contamination in studying soil, it is suggested that EDTA-addition at 1.5 mmole kg^{-1} soil can be an appropriate chelator candidate for TVC-647 maize cultivar for environmentally

1, 2 and 3- Former MSc. Student, Assistant Professor and Professor of Soil Science, College of Agriculture, ShahreKord University, Respectively
(*- Corresponding Author Email: shkiani2002@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

safe phytoextraction of Cu in soil. It is noticed that application of EDTA in soil for long time has not recommended for phytoextraction of heavy metals. Because EDTA is non biodegradable substance and can leach into ground-water and causes other environmental hazardous risks.

Keywords: Phytoremediation, Sarcheshmeh Copper Mine, Soil Pollution

www.SID.ir