ارزیابی روش کاربرد EDTA در کاهش ریسک آبشویی سرب به آب‌های زیرزمینی با استفاده از *Hordeum bulbosum* L.

مهدیه ابراهیمی،[۱] نصراله اصلی‌نژاد[۲]

تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۰۷/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۲۰

مقاله برگرفته از پژوهش گلخانه‌ای-آزمایشگاهی می‌باشد.

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور افزایش کارایی گیاه‌استخراجی گونه *Hordeum bulbosum* L. (جو پیاردار) در خاک‌های (بافت خاک لومی رسی) آلوده به سرب بااستفاده از اتیلن دی امین تترا استیک اسید (EDTA) (غلظت ۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم)، تعیین بهترین زمان تیمار و شیوه کاربرد EDTA جهت کاهش خطر آبشویی سرب به آب‌های زیرزمینی انجام شد. از خاک‌های غیرآلوده بدون EDTA و آلوده بدون EDTA به‌عنوان شاهد استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تیمار 5EDTA حداکثر (۸۹۰/۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در اندام‌های زیرزمینی و ۷۲۰/۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در اندام‌های هوایی) میزان برداشت سرب صورت گرفت. بنابراین در مرحله دوم تحقیق تیمار ۵ میلی‌مول در کیلوگرم جهت ارزیابی بهترین زمان برداشت گیاه در دوره‌های زمانی ۲۰ روز (رشد رویشی)، ۸۰ روز (مرحله گلدهی) ۱۴۰ روز (مرحله بذردهی) استفاده شد. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، غلظت سرب در بافت‌های گیاهی افزایش داشت، اما بین مرحله گلدهی و بذردهی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p<0/05$)، و بهترین زمان برداشت گیاه، به‌منظور دستیابی به حداکثر برداشت سرب از خاک دوره گلدهی است. در مرحله سوم جهت کاهش خطر آبشویی سرب، غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم در سه روش یک‌بار، دوبار متوالی و سه‌بار متوالی به خاک اضافه شد. نتایج نشان داد که تحت کاربرد EDTA به‌صورت یک‌بار، میزان سرب خاک به حداقل رسید. داده‌ها نشان داد که حداکثر میزان سرب در اندام‌های گیاهی در کاربرد روش یک‌بار به‌دست آمد، درحالی‌که غلظت فلز در اندام‌های گیاهی بین روش دوبار و سه‌بار متوالی تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت. به‌طورکلی، بهینه گیاه‌استخراجی گونه *H. bulbosum* و کاهش خطر آبشویی سرب در کاربرد غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA با روش یک‌باراضافه کردن و برداشت گیاه ۸۰ روز بعد از کاشت به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، EDTA، گیاه‌ستخراجی، *Hordeum bulbosum* L.

[۱] استادیار، دانشکده آب و خاک، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه زابل، ایران، تلفن تماس: ۰۹۱۳۱۴۶۴۸۹۳
Email: maebrahimi2007@uoz.ac.ir (نویسنده مسئول)

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد بیابان‌زدایی، دانشکده آب و خاک، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه زابل، ایران، تلفن تماس: ۰۹۱۷۹۱۴۳۹۵۶
Email: Aslinejad@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بخش‌های زیادی از خاک آلوده به فلزات سنگین هستند که این موضوع سبب بروز مشکلاتی در رشد، تولید مثل و توسعه موجودات زنده (فریتچ و همکاران، ۲۰۱۰؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۸) و همچنین تهدید بزرگی برای سلامت اکوسیستم‌ها و بشر محسوب می‌شود (تانگ و همکاران، ۲۰۰۹). در این خصوص گیاه‌استخراجی[1] یکی از روش‌های موثر پالایش خاک است که از گیاهان بیش‌اندوز[2] برای استخراج فلزات سنگین از خاک و آب‌های آلوده استفاده می‌کند (سو و همکاران، ۲۰۰۹).

باوجود کارایی گیاه‌استخراجی در پالایش خاک، تنها بخشی از فلزات سنگین از خاک حذف شده و قابل دسترس برای گیاهان می‌باشند. یکی از دستاوردها درخصوص افزایش کارایی گیاه‌استخراجی کاربرد مواد بهساز و استفاده از گیاهان با زیست‌توده بالا است (لستن و همکاران، ۲۰۰۸). انواع مختلفی از مواد بهساز در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته‌اند (اوانگلو و همکاران، ۲۰۰۷)که یکی از مهمترین این مواد اتیلن دی امین ترا استیک اسید (EDTA[3]) است (گرسمن و همکاران، ۲۰۰۱، تورگات و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طور مثال هوانگ و همکاران (۱۹۹۷) در مقایسه پنج ماده بهساز شامل EDTA، دی اتیلن ترا آمین پنتا استیک اسید (DTPA[4])، سیکلو هگزیلن دی تریلو ترا استیک اسید (CDTA[5])، نیتریلو تری استیک اسید (NTA[6]) و اتیلن گلیکو ترا استیک اسید (EGTA[7]) گزارش کردند که بهترین ماده بهساز برای کاهش سرب موجود در خاک EDTA است.

اما نکته مهم در استفاده از این ماده انتخاب غلظت مناسب است، زیرا در غلظت‌های بالا، خطر آبشویی کمپلکس فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی وجود دارد (شیباتا و همکاران، ۲۰۰۷؛ ویو و همکاران، ۲۰۰۴)، به‌همین دلیل علی‌رغم کارایی EDTA در افزایش پتانسیل گیاه‌استخراجی، خطر آبشویی این ماده به آب‌های زیرزمینی کاربرد آن‌را محدود کرده است. به‌طور مثال لومبی و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که کاربرد ۲/۷ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA باعث افزایش غلظت فلزات در محلول خاک شده، ولی چندین هفته این ماده در محلول خاک باقی ماند. همچنین الکوترا و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بعد از ۵ ماه از کاربرد EDTA، کمپلکس کلات-فلز در خاک به‌صورت پایدار باقی می‌ماند. به‌عبارت بهتر به‌منظور کاهش ریسک آبشویی فلزات سنگین به آب‌های زیرزمینی و کاهش تاثیرات منفی EDTA، انتخاب غلظت مناسب و همچنین شیوه کاربرد آن عوامل کلیدی در افزایش کارایی این ماده محسوب می‌شوند. هدف از تحقیق حاضر بررسی غلظت مناسب مورد استفاده EDTA، زمان مناسب برداشت گیاه و شیوه مناسب کاربرد EDTA جهت حداکثر پالایش خاک و کاهش آبشویی سرب در خاک‌های آلوده به این فلز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گلدان‌ها

خاک مورد استفاده در این پژوهش از نمونه‌های خاک گلخانه (بافت لومی رسی) دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل فراهم گردید. کارایی گونه *Hordeum bulbosum* L. (جو پیازدار، خانواده گرامینه، چندساله، ارتفاع حداقل ۱۰۰ سانتی‌متر، تکثیر با بذر و پیاز) در جذب سرب در آزمایشات قبلی بررسی شد (ابراهیمی، ۲۰۱۲). سپس برای بررسی تاثیر بهترین غلظت EDTA (Na_2EDTA) جهت افزایش میزان جذب سرب از خاک توسط گیاه، معادل ۵۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب ($PbNO_3$) قبل از کشت به نمونه‌های خاک (بافت لومی رسی (دی، ۱۹۸۲)، مقدار نیتروژن کل (۰/۱۴٪) (بلک، ۱۹۶۵)، فسفر کل (۰/۴۹٪) (اولسون و سامرز، ۱۹۸۲)، پتاسیم کل (۰/۳۳٪) (بری و همکاران، ۱۹۴۶)، اسیدیته (۸/۲۰، مدل دستگاه 691, Metrohm AG Herisau Switzerland) (تاماس، ۱۹۹۶) و هدایت الکتریکی (۳/۵۰ دیسی‌زیمنس بر متر، مدل دستگاه DDS-307, Shanghai, China) (روادز، ۱۹۹۶) اضافه و نمونه‌های خاک آلوده شدند. سپس بذور گیاه (۱۵ عدد) در هر گلدان (۵ کیلوگرم خاک، به ابعاد ۶۰×۱۰×۱۵ سانتی‌متر)کشت گردید. EDTA در غلظت-های (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم) با ۵ تکرار طی رشد گیاه به‌مدت ۶۰ روز به فواصل ۱۰ روز یک‌بار به-

[1] Phytoextraction
[2] Hyperaccumolator
[3] Ethylen ediamine tetra acetic acid
[4] Diethylene triamine pentaacetic acid
[5] Cyclohexylene ditrilo tetraacetic acid
[6] Nitrilo triacetic acid
[7] Ethylene glycol tetraacetic acid

Archive of SID
www.SID.ir

صورت اسپری به خاک اضافه شد. در کنار هر تیمار یک تیمار خاک غیرآلوده-بدون EDTA (C) و تیمار خاک آلوده-بدون EDTA (W) درنظر گرفته شد. کشت در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۵±۲۳ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت و آبیاری گیاهان با آب لوله‌کشی شهری (آب شیرین) (ایت علی و همکاران، ۲۰۰۴) و به‌صورت یک روز در میان به‌مدت ۶۰ روز (رسیدن به حد قابل قبول از رشد گیاه) انجام شد.

گونه گیاهی کشت شده بعد از رسیدن به‌حد نصاب رشد، برداشت شد و پس از آماده‌سازی در آزمایشگاه (شستشو با آب مقطر و خشک شدن در آون (مدل دستگاه، MEMMERT UNB 400)، غلظت سرب در اندام‌های گیاهی اندازه‌گیری (مدل دستگاه، GBC Avanta, Australia) شد. پس از آن نمونه‌های خاک گلدان‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. غلظت سرب نمونه-های گیاهی با استفاده از روش اکسایش توسط اسید نیتریک، اسید کلریدریک و آب اکسیژنه (دو لیانگ و همکاران، ۲۰۰۳) و غلظت سرب موجود در خاک با روش عصاره‌گیری با دی اتیلن تترا آمین پنتا استیک اسید (DTPA) (لیندسی و نورول، ۱۹۷۸)، توسط دستگاه جذب اتمی (مدل دستگاه، GBC Avanta, Australia) تعیین شد. غلظت سرب در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه در شرایط کنترل و خاک آلوده اندازه‌گیری گردید و باتوجه به شاخص‌های BCF[1](فاکتور تجمع: غلظت فلز در مواد گیاهی برداشت شده به غلظت فلز در محلول خاک) (زید و همکاران، ۱۹۹۸)، TF[2] (فاکتور انتقال: غلظت فلز در بخش‌های هوایی گیاه به غلظت فلز در ریشه) (متینا و همکاران، ۲۰۰۳) و TI[3] (شاخص تحمل: وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک آلوده به وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک غیرآلوده) (ویلیکینز، ۱۹۷۸) و زیست‌توده گیاه بهترین غلظت EDTA در افزایش جذب سرب بررسی شد.

بعد از انجام آزمایشات مرحله اول، باتوجه به فاکتورهای ماده خشک گیاه و غلظت سرب خاک و اندام‌های گیاهی، در خاک‌های با شرایط قبل مناسب‌ترین زمان برداشت گیاه جهت حداکثر کاهش میزان سرب در خاک بررسی شود. بدین منظور کشت گیاه در خاک‌های آلوده و تیمار شده با اپتیمم غلظت EDTA مشخص شده از مراحل قبلی، انجام شد. سپس گیاه و خاک آلوده در هر گلدان در ابتدای رشد (۲۰ روز از زمان کاشت)، گلدهی (۲ماه پس از برداشت اول) و بذردهی (۲ ماه پس از برداشت دوم) برداشت شد و با توجه به غلظت سرب در اندام‌های زیرزمینی، هوایی و خاک بهترین زمان برداشت گیاه بررسی گردید.

برای بررسی کاهش خطر آبشویی سرب-کلات به آب‌های زیرزمینی، با توجه به نتایج مرحله دوم، اپتیمم غلظت EDTA انتخاب و به سه روش یک‌بار (Single) ، دوبار متوالی با غلظت یکسان (Double) ، سه‌بار متوالی با غلظت یکسان (Triple) به خاک اضافه گردید. در این مرحله در هر بار اضافه کردن EDTA در روز مشخص شده، نمونه خاک گلدان (یک چهارم خاک گلدان از انتها) ۷ روز پس از هربار اضافه کردن، برداشت شده و برای اندازه‌گیری مقدار سرب موجود در خاک و بافت‌های گیاهی آماده شد. هدف از انجام این مرحله این بود که مشخص شود در کدام یک از سه روش به‌کار رفته با توجه به اپتیمم غلظت EDTA، بهترین امکان برای کاهش خطر آبشویی کلات -فلز وجود دارد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها (آزمون Kolmogorov–Smirnov) و همگنی واریانس‌ها (آزمون Levene)، به‌منظور بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت در افزایش جذب و تفاوت بین زمان‌های برداشت و تفاوت در روش‌های کاربرد EDTA، داده‌ها مورد تجزیه واریانس چندطرفه در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۶ قرار گرفتند و برای مقایسات میانگین از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک تحت تیمارهای متفاوت EDTA

نتایج حاصل از افزودن EDTA به خاک گلدان‌های مورد آزمایش (جدول ۱) نشان داد که افزایش غلظت EDTA، باعث افزایش نسبی هدایت الکتریکی خاک و افزایش قابلیت دسترسی سرب موجود در خاک گردید.

[1]Bio Concentration Factor
[2]Translocation Factor
[3]Tolerance Index

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین افزایش غلظت EDTA باعث کاهش نسبی pH خاک شد، ولی این افزایش همواره معنی‌دار نبود ($p<0/05$). نظیر این نتیجه را تورگات و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی تاثیر اسیدسیتریک و EDTA در تیمارهای جداگانه در گیاه‌پالایی[1] کادمیوم، کروم و نیکل توسط گونه *Helianthus annuus* به‌دست آوردند. این محققان نشان دادند که افزودن مقادیر ۱/۵ و ۳ میلی‌مول EDTAهرچند تاثیر معنی‌داری در اسیدیته خاک نداشت، ولی باعث کاهش pH خاک شد. همچنین موسپ و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تاثیرEDTA در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سمی توسط گونه *Taraxacum officinale* گزارش کردند که این ماده باعث کاهش pH و افزایش EC خاک در مقایسه با تیمار شاهد شد. در توجیه این مسئله می‌توان اظهار داشت که EDTA یک آمینو پلی کربوکسیلیک اسید[2] است که به‌شکل وسیعی برای انحلال رسوبات آهکی ناشی از تبخیر آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. کارایی این ماده به‌علت دارا بودن ساختار شش وجهی است که با یون‌های کلسیم و آهن پیوند برقرار می‌کند (هریس، ۲۰۰۷)، به‌عبارت بهتر این ماده به‌دلیل داشتن چهار کربوکسیلات و دو آمینو در ساختار خود با یون‌های فلزی موجود در خاک پیوند برقرار می‌سازد. ازجمله EDTA کمپلکس‌های قوی با Cu(II)، Mn(II)، Fe(III)، Pb(II) و Co(III) برقرار می‌سازد که منجر به آزادسازی یون‌های H^+ می‌شود (هولمن، ۲۰۰۱)، بنابراین می‌توان افزایش اسیدیته خاک را با افزایش غلظت EDTA به‌دلیل رهاسازی بیشتر یون‌های هیدروژن نسبت داد. نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر این موضوع را به‌خوبی بیان می‌کند.

غلظت سرب در اندام‌های گیاهی تحت تیمارهای متفاوت EDTA (جدول ۱) نشان داد که بیشترین غلظت سرب در ریشه گیاه تحت تیمار ۵EDTA مشاهده شد و افزایش سطح EDTA تا ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم باعث کاهش نسبی غلظت سرب در ریشه گیاه گردید. همچنین کمترین میزان غلظت سرب به‌ترتیب در تیمار غیرآلوده بدون EDTA و آلوده بدون EDTA اندازه‌گیری شد. غلظت سرب در اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) الگوی مشابه ریشه داشت، به‌طوری‌که افزایش EDTA تا سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم خاک منجر به افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی گیاه شد و تیمار ۱۰EDTA باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرب در اندام‌های گیاه گردید. لی و چن (۲۰۰۵) در بررسی گیاه‌پالایی کمپلکسی از فلزات سنگین توسط گیاه *Dianthus chinensis* با کاربرد غلظت‌های ۲ و ۵ میلی‌مول EDTA گزارش کردند که غلظت ۵ میلی‌مول به‌شکل قابل ملاحظه‌ای باعث افزایش فراهمی فلزات در اندام‌های گیاهی می‌شود. واسیل و همکاران (۱۹۹۸) در بررسی گیاه‌پالایی *Brassica juncea* بیان داشتند که رابطه مثبت بین غلظت EDTA در خاک و سرب در برگ گیاه وجود دارد. این محققان اظهار داشتند که در خاک آلوده در حضور EDTA سرب به‌صورت ترکیب فلز-کلات قابل استخراج است. اما EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می¬دهد، ولی غلظت¬های بالای این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست¬توده گیاه (مرگ سلول‌های ریشه) و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام¬های هوایی گیاه می¬شود (لو و همکاران، ۲۰۰۶). همان‌طور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد حداقل وزن خشک گیاهی (۶/۴۲ گرم)، حداقل جذب سرب در اندام-های زیرزمینی (۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و اندام‌های هوایی (۵۰۰/۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار ۱۰EDTA اندازه‌گیری شد (جدول ۱) که کاملا این مطلب را تایید می‌نماید که این ماده در غلظت‌های بالا باعث کاهش جذب فلزات سنگین از خاک می‌شود.

بررسی انجام شده نشان داده است که pH و EC خاک در فراهمی عناصر و جذب آن‌ها توسط گیاهان موثر هستند. همچنین بعضی از تراوشات ریشه گیاهان و ترکیبات چنگالی کلات‌ها عوامل موثر بر افزایش جذب عناصر از خاک توسط گیاهان به‌حساب می‌آیند (نایت و همکاران، ۱۹۹۷)، به‌طوری‌که افزایش قابلیت دسترسی فلزات بعد از کاربرد EDTA ممکن است به‌دلیل کاهش قلیائیت خاک (اسیدیته ۸ به پایین) باشد. مادرید و همکاران (۲۰۰۳) افزایش قابلیت دسترسی عناصر سمی بعد از اضافه کردن EDTA به خاک را گزارش کردند. از طرفی سارکر و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود بر روی افزایش فراهمی سرب با استفاده ازEDTA و EDDS گزارش کردند که افزایش pH از ۷/۲ به ۸/۲ باعث (کاهش اسیدیته) کاهش فراهمی سرب در خاک می‌شود.

[1] Phytoremediation
[2] Aminopolycarboxylic acids

Archive of SID
www.SID.ir

هرچند بیشترین قابلیت دسترسی سرب در خاک تحت تیمار ۱۰ میلی‌مول EDTA اندازه‌گیری شد، اما از آنجاکه در تیمار ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA، حداکثر جذب سرب در گیاه صورت گرفت و باتوجه به خطر آبشویی کلات-فلز به آب‌های زیرزمینی در غلظت‌های زیاد ماده بهساز، به‌منظور بررسی چگونگی کاهش خطر آبشویی EDTA به آب‌های زیرزمینی تیمار ۵ میلی‌مول انتخاب و بهترین زمان برداشت گیاه و شیوه کاربرد این ماده جهت افزایش کارایی گیاه‌استخراجی سرب و کاهش آبشویی فلز مذکور مورد آزمون قرار گرفت.

جدول (۱): تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر وزن خشک گیاه (g)و غلظت سرب فراهم ($mgkg^{-1}$) در اندام‌های گیاهی و خاک

تیمار	سرب (اندام زیرزمینی) $mgkg^{-1}$	سرب (اندام هوایی) $mgkg^{-1}$	سرب (خاک) $mgkg^{-1}$	وزن خشک گیاه (g)	pH	EC dSm^{-1}
C	‹0/02^{e}	‹0/02^{c}	‹0/02^{d}	11/70±۰/۰۷^{a}	8/20±0/02^{a}	3/50±0/01^{a}
W	540/45±13/00^{d}	400/33±10/00^{b}	571/00±11/00^{b}	10/60±۰/۰۷^{a}	8/00±0/02^{a}	4/00±0/01^{b}
۱/۵ EDTA	600/07±14/23^{c}	420/24±10/00^{b}	642/31±10/00^{b}	10/20±۰/۰۷^{a}	7/90±0/02^{ab}	4/70±0/01^{c}
5 EDTA	890/70±14/00^{a}	550/72±11/50^{a}	720/65±11/00^{a}	7/33±۰/۰۵^{b}	7/60±0/02^{b}	4/80±0/01^{c}
10 EDTA	700/00±11/41^{b}	500/89±10/27^{a}	800/42±11/00^{a}	6/42±۰/۰۵^{b}	7/60±0/02^{b}	4/90±0/01^{c}

C=خاک غیرآلوده بدونEDTA

W= خاک آلوده بدون EDTA

*حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (میانگین‌ها ±انحراف معیار) (p‹0/05).

تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر وزن خشک گیاه

نتایج به‌دست آمده از مقایسه وزن خشک گیاه نشان داد که کاربرد EDTA باعث کاهش وزن خشک گیاه در مقایسه با تیمار بدون EDTA گردید (جدول ۱)، به‌طوری‌که وزن خشک گیاه حداکثر کاهش را در تیمار ۱۰EDTA نشان داد. تورگات و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی که بر روی گیاه‌پالایی کادمیوم، نیکل و کروم توسط *Helianthus annuus* انجام دادند، نشان دادند که افزودن EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های زیاد این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود. یکی از دلایل کاهش زیست‌توده گیاه این است که سلول‌های ریشه گیاه درصورتی‌که مواد بهساز در غلظت زیاد استفاده شوند از بین می‌روند (لو و همکاران، ۲۰۰۶).

عملکرد EDTA افزایش تحرک فلزات در خاک و دیواره سلولی ریشه گیاه است که به انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی گیاه نیز کمک می‌کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۵)، ولی گاها این ماده در غلظت‌های کم هم برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه، نکروز[1] و حتی مرگ گیاه می‌شود. به‌طور مثال چن و همکاران (۲۰۰۴)، علائم ناشی از سمیت EDTA شامل نکروز را در گیاه آفتابگردان، خردل هندی، نخود و کلم گزارش کردند. این محققان در بیان دلیل این موضوع اظهار داشتند که افزایش مقدار EDTA به سلول‌های ریشه آسیب رسانده و مکانیسم تحمل گیاه را در برابر عناصر سمی به‌دلیل انباشت این عناصر و خروج ضعیف آن‌ها از سیتوپلاسم پایین می‌آورد.

همچنین EDTA از طریق ایجاد کمبود مواد غذایی باعث کاهش زیست‌توده گیاه می‌شود، زیرا این ماده با عناصر ضروری گیاه شامل کلسیم، منگنز و آهن ترکیب می‌شود (سالیدو و همکاران، ۲۰۰۳)، از طرفی کمبود عناصر غذایی ضروری در گیاه منجربه افزایش جذب فلزات در گیاه می‌شود، به‌طور مثال با افزایش کمبود آهن، افزایش جذب کادمیوم در بعضی گیاهان مشاهده شده است (آلکوترا و همکاران، ۲۰۰۴).

تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر فاکتورهای تجمع، فاکتور انتقال و شاخص تحمل گیاه

[1] Necrosis

Archive of SID
www.SID.ir

مقادیر فاکتور تجمع اندام‌های زیرزمینی و هوایی گیاه (جدول۲) نشان داد که افزایش غلظت EDTA باعث افزایش فاکتور تجمع (BCF) سرب در اندام‌های گیاه شد. بیشترین مقدار فاکتور تجمع مربوط به ریشه در تیمار ۵EDTA بود. هرچند افزایش EDTA تا سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم افزایش فاکتور تجمع را در گونه‌ی گیاهی سبب شد، ولی این افزایش همواره سطح معنی‌داری نداشت ($p<0/05$) و افزایش غلظت EDTA تا سطح ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم باعث کاهش فاکتور تجمع سرب در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه شد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فاکتور انتقال (TF) تحت تیمارهای متفاوت EDTA (جدول ۲) تفاوت معنی‌دار را تنها در سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA نشان داد و حداقل مقدار فاکتور انتقال در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم اندازه‌گیری شد.

تاندی و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که قابلیت استخراج سرب و افزایش ظرفیت تجمع فلز در بافت‌های گیاهی به‌وسیله EDTA در غلظت‌های پایین بستگی به pH خاک دارد و در خاک‌های با pH اسیدی رابطه قوی بین فراهمی فلز در خاک و pH وجود دارد. این محققان نشان دادند که اضافه کردن EDTA و EDDS باعث افزایش قابل ملاحظه سرب در محلول خاک می‌شود. به‌طورکلی مهمترین فاکتور موثر در افزایش فراهمی سرب در خاک پیوند سرب-کلات است. در واقع، وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیبات کلات و فلزات سبب می‌شود فلزات کمتر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته، لذا مانع از رسوب و تثبیت آن‌ها در خاک می‌شود. از طرفی کلات‌ها توسط ریشه گیاهان قابل جذب بوده و می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیرمحلول به فازهای تبادلی انتقال داده و درنهایت میزان انتقال فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند. (هوانگ و همکاران، ۱۹۹۷).

شاخص تحمل براساس وزن خشک گیاه به‌عنوان شاخص تاثیر سمیت سرب (جدول ۲) دامنه تغییرات ۰/۶۱-۱را نشان داد. مقادیر پایین این شاخص نشان‌دهنده حداکثر تاثیر سمیت فلز و ماده بهساز بر رشد گیاه می‌باشد. با افزایش غلظت EDTA مقدار این شاخص کاهش داشت، به‌طوری‌که حداکثر کاهش مربوط به تیمار EDTA 10 بود. مقدار شاخص تحمل گیاه وقتی‌که عامل منفی بر رشد گیاه وجود ندارد برابر یک می‌باشد. این مقدار درصورت وجود عامل مثبت به بیشتر از یک افزایش داشته، ولی درصورت وجود عامل منفی به زیر یک کاهش می‌یابد (زیبر و همکاران، ۲۰۱۰). حداکثر مقدار کاهش شاخص تحمل، به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مول در کیلوگرم مشاهده شد. هرچند با افزایش غلظت EDTA قابلیت دسترسی فلزات در خاک و اندام‌های گیاهی به‌خصوص ریشه افزایش داشت، ولی به‌دلیل تاثیر منفی بر خصوصیات گیاهی و شاخص تحمل گیاهان و خطر آبشویی آن به آب‌های زیرزمینی غلظت‌های بالای این ماده پیشنهاد نمی‌شود.

تاثیر زمان تیمار بر غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک

نتایج حاصل از مرحله دوم تحقیق در بررسی بهترین زمان برداشت گیاه به‌منظور دستیابی به حداکثر کاهش سرب در خاک تحت تیمار ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که مقدار سرب در خاک با گذشت زمان کاهش پیدا کرد. حداکثر مقدار کاهش در دوره رشد زایشی اندازه‌گیری شد، ولی این کاهش در مقایسه با غلظت سرب در دوره گلدهی تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($p<0/05$).

همچنین نتایج حاصل از تاثیر زمان برداشت بر جذب سرب در اندام‌های گیاهی (جدول ۳) نشان داد که حداقل سرب فراهم مربوط به دوره رشد رویشی است. غلظت سرب در کلیه اندام‌های گیاهی با گذشت زمان افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت ($p<0/05$). هرچند حداکثر غلظت سرب فراهم در دوره رشد زایشی به‌دست آمد، ولی در مقایسه با دوره گلدهی به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p<0/05$).

به‌طورکلی نتایج به‌دست آمده نشان داد که با گذشت زمان مقدار سرب در خاک کاهش داشت، هرچند که بین دوره‌های گلدهی و زایشی گیاه تفاوت معنی‌دار در غلظت فلز مورد بررسی در خاک وجود نداشت. دلیل این موضوع را می‌توان به افزایش قابلیت دسترسی سرب برای گیاه با گذشت زمان و کاهش مقدار آن در خاک نسبت داد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). شبیه این نتیجه را ویو و همکاران (۱۹۹۹) به‌دست آوردند. این محققان گزارش کردند که مقدار سرب فراهم در خاک با گذشت زمان از ۶ ساعت به

Archive of SID

www.SID.ir

۱۲۰ ساعت کاهش پیدا کرد. از طرفی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با گذشت زمان غلظت سرب در اندام‌های گیاهی (جدول ۳) افزایش داشت. نتایج به‌دست آمده در این بخش با نتایج چو و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که غلظت مس در اندام‌های هوایی *Vetiveria zizanioides* به حداکثر مقدار خود بعد از ۱۶ روز از کاربرد HEIDA[1] رسید. همچنین وانگ و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که با برداشت گیاه *Sedum alfredii* ۱۴ روز بعد از اضافه کردن EDDS[2] در خاک‌های با غلظت پایین سرب و ۱۰ روز در خاک‌های آلوده به غلظت‌های بالای این فلز، حداکثر مقدار سرب فراهم در اندام‌های گیاه برداشت شد.

تاثیر روش کاربرد EDTA بر غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نمونه‌های خاک (جدول ۴) نشان داد که روش‌های متفاوت کاربرد EDTA تاثیر معنی‌دار بر فراهمی سرب موجود در خاک دارد ($p<0/05$)، به‌گونه‌ای که در اضافه کردن به‌صورت یک‌بار (Single) کاهش غلظت سرب مورد بررسی در خاک حداکثر مقدار بود و در کاربرد EDTA به‌صورت دوبار متوالی (Double) مقدار سرب ۸۵/۳۴ درصد کاهش داشت. این کاهش در روش سه‌بار متوالی (Triple) ۸۳/۴۴ درصد محاسبه شد، ولی در کاربرد EDTA به‌صورت دوبار و سه‌بار متوالی تفاوت معنی‌داری اندازه‌گیری نشد.

نتایج حاصل از تاثیر روش‌های کاربرد متفاوت EDTA بر غلظت سرب در بخش‌های زیرزمینی و هوایی گیاه (جدول ۴) نشان داد که حداکثر مقدار سرب در اندام‌های گیاهی در کاربرد EDTA به‌صورت یک‌بار (Single) بود و در کاربرد EDTA به‌صورت دوبار متوالی (Double) غلظت سرب در اندام‌های گیاه کاهش قابل ملاحظه‌ای داشت و حداقل مقدار سرب بافت‌های گیاهی در کاربرد به‌صورت سه‌بار متوالی (Triple) بود، ولی بین این روش و کاربرد به‌صورت دوبار متوالی تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد ($p<0/05$).

نتایج به‌دست آمده در این بخش از تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و کاهش آبشویی کمپلکس فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی وجود دارد و غلظت بهینه ماده بهساز و شیوه کاربرد برای افزایش کارایی پالایش خاک باید قبل از کاربرد این ماده تعیین شود. نتایج حاصل نشان داد که در شرایط مشابه تحقیق صورت گرفته، EDTA باید در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم و به‌صورت یک‌بار به خاک اضافه شود. در این خصوص گرسمن و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که یک‌بار اضافه کردن (Single) ۲/۹ گرم در کیلوگرم EDTA باعث افزایش ۱۰۵ برابری غلظت سرب در گیاه *Brassica oleracea* L. در محیط گلخانه در مقایسه با افزایش ۴۴ برابری همین غلظت از EDTA در کاربرد به‌صورت چهار بار متوالی (Qadruplet) شد.

وانگ و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که کاربرد سه بار متوالی و پنج بار متوالی (Quintuplet) از EDDS در مقایسه با یک‌بار اضافه کردن، باعث کاهش قابل ملاحظه سرب در اندام‌های هوایی گونه *Sedum alfredii* شد. همچنین این محققان گزارش کردند که حداکثر سرب قابل استخراج در اندام‌های این گونه با کاربرد ۲/۵میلی مول از این ماده به‌صورت Single به‌دست آمد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج این محققان مطابقت داشت، به‌طوری‌که حداکثر سرب فراهم در اندام‌های گیاهی در کاربرد به‌صورت یک‌بار (Single) اندازه‌گیری شد و شیوه کاربرد دوبار و سه‌بار متوالی EDTA تاثیر منفی در فراهمی فلز مذکور داشتند.

خلاف نتیجه حاضر را شن و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی تاثیر رژیم‌ها و شیوه‌های متفاوت کاربرد EDTA جهت کاهش خطر آبشویی سرب در گیاه‌پالایی گونه *Brassica rapa* L. به‌دست آوردند این محققان اظهار داشتند که کاربرد EDTA به‌صورت Triple حداکثر فراهمی سرب را در اندام‌های گونه مورد بررسی و حداکثر کاهش آبشویی سرب را در مقایسه با کاربرد به‌صورت Single و Double داشت.

[1]- Hydroxyethylenediaminetriacetic acid
[2]- Ethylenediaminedissuccinic acid

Archive of SID
www.SID.ir

جدول (۲): تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر فاکتورهای تجمع (BCF)، فاکتور انتقال (TF)و شاخص تحمل گیاه (TI)

تیمار	TI	TF	BCF اندام هوایی	BCF اندام زیرزمینی
C	-	-	-	-
W	1/00±0/01[a]	0/74±0/01[a]	0/73±0/01[a]	0/94±0/01[a]
۱/۵ EDTA	0/82±0/01[a]	0/70±0/01[a]	0/76±0/01[a]	0/94±0/01[a]
5 EDTA	0/76±0/01[b]	0/64±0/01[b]	0/77±0/01[a]	1/23±0/01[b]
10 EDTA	0/61±0/01[c]	0/71±0/01[a]	0/62±0/01[b]	0/87±0/01[c]

*حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (میانگین‌ها ±انحراف معیار) ($p<0/05$).

جدول (۳): تاثیر زمان تیمار ۵EDTA ($mmolkg^{-1}$) بر غلظت سرب فراهم ($mgkg^{-1}$) در اندام‌های گیاهی و خاک

	رشد رویشی	گلدهی	رشد زایشی
اندام زیرزمینی	650/54±9/00[b]	734/99±10/23[a]	751/19±10/50[a]
اندام هوایی	432/00±7/33[b]	690/12±8/12[a]	730/53±8/46[a]
خاک	720/11±8/50[a]	500/47±6/31[b]	433/09±6/03[b]

*حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین زمان‌های متفاوت برداشت است (میانگین‌ها ±انحراف معیار) ($p<0/05$).

جدول (۴): تاثیر روش کاربرد ۵EDTA بر فراهمی سرب در خاک و اندام‌های گیاهی

روش کاربرد	ریشه ($mgkg^{-1}$)	اندام هوایی ($mgkg^{-1}$)	خاک ($mgkg^{-1}$)
Single	900/90±11/00[a]	520/22±9/77[a]	۶۶۰/۰۰±۱۰/۵۵[a]
Double	720/27±10/26[b]	440/73±9/77[b]	۷۷۳/۳۵±۸/۳۳[b]
Triple	714/09±10/26[b]	400/00±9/77[b]	۷۹۰/۹۰±۷/۶۶[b]

*حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین روش‌های کاربرد EDTA است (میانگین‌ها ±انحراف معیار) ($p<0/05$).

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت EDTA مقدار سرب در خاک افزایش داشت و اپتیمم فراهمی سرب در تیمار EDTA ۵ مشاهده شد، ولی تحقیقات نشان داده است که EDTA هرچند تاثیر بارزی در انحلال فلزات در خاک و افزایش قابلیت دسترسی آن‌ها در خاک دارد، ولی این ماده در مقایسه با دیگر مواد بهساز در خاک ماندگاری بیشتری داشته که در خاک‌های با مقادیر بالای فلزات سمی این ماندگاری بیشتر است و این موضوع کاربرد آن‌را برای پالایش خاک محدود می‌سازد، بنابراین هرچند فراهمی فلزات در خاک با افزودن EDTA افزایش می‌یابد، اما کاربرد آن در غلظت‌های بالا منجربه مخاطرات زیست‌محیطی و افزایش خطر آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شود. افزودن EDTA به خاک توانست به فراهمی فلز مورد بررسی کمک نماید، بنابراین درصورتی‌که استفاده از کلات EDTA با کاشت گیاهی چون *H. bulbosum* L. همراه باشد، می‌تواند برای رسیدن به هدف پاکسازی خاک‌های آلوده مورد توجه باشد و غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم جهت افزایش کارایی گیاه‌استخراجی (با درنظر گرفتن خطر آبشویی این ماده) در شرایط مشابه پیشنهاد می‌شود. بررسی بهترین زمان تیمار حاکی از این بود که با گذشت زمان میزان سرب موجود در خاک کاهش داشت، اما از آنجاکه بین دوره‌های گلدهی و زایشی گیاه در غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک تفاوت معنی‌دار وجود نداشت، بهترین زمان برداشت گیاه جهت حداکثر کارایی پالایش خاک دوره رشد فعال پیشنهاد می‌شود.

همچنین نتایج به‌دست آمده از تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و پالایش خاک آلوده وجود دارد. به‌طوری‌که EDTA باید در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم و شیوه‌ی کاربرد به‌صورت یک‌بار در شرایط مشابه به خاک اضافه شود. به‌طورکلی به‌منظور رسیدن به حداکثر پالایش خاک و کاهش خطر آبشویی فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی استفاده از غلظت ۵ میلی-مول و شیوه کاربرد به‌صورت یک‌بار و برداشت گونه‌ی گیاهی در مرحله انتهای رشد فعال (۸۰ روز بعد از کاشت) پیشنهاد می‌شود.

منابع

1.Ait Ali, N., M. Pilar Bernal and A. Mohammed. ۲۰۰۴. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of Cadmium, Copper, and Zinc. Aquatic Botany, ۸۰:۱۶۳–۱۷۶.

2.Alkorta, I., J. Hernández-Allica, J.M. Becerril, I. Amezaga, I. Albizu, M. Onaindia and C. Garbisu. ۲۰۰۴. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Rev. Environmental Science Biotechnology, ۳:۵۵–۷۰.

3.Berry, J.W., D.G. Chappell and R.B. Barnes.۱۹۴۶. Improved Method of Flame Photometry. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.۱۸ (۱): ۱۹–۲۴.

4.Black, C.A. ۱۹۶۵. Methods of soil chemical analysis and microbiological properties. Agronomy No. ۹. American Society of Agronomy, Madison.

5.Chen, YH., X.D. Li and Z.G. Shen.۲۰۰۴. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA Aassisted phytoextraction process. Chemosphere, 57: 187-196.

6.Chiu, K.K., Z.H. Ye and M.H. Wong. ۲۰۰۵ .Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents. Chemosphere, ۶۰:۱۳۶۵–۱۳۷۵.

7. Day, P. R. ۱۹۸۲. In Methods of soil Analysis, part ۲; Page, A. L., et al., Eds.; Agronomy Monograph ۹۱ American Soceity of Agronomy: Madison, WI. pp: ۹۵۱-۹۳۵.

8. Du Laing, G., F.M.G. Tack and M.G. Verloo. ۲۰۰۳. Performance of selected destruction methods for the determination of heavy metals in reed plants (*Phragmites australis*). Analytica Chimica Acta, ۴۹۷(۸): ۱۹۱–۱۹۸.

9.Ebrahimi, M.۲۰۱۲. Germination, growth and uptake of heavy metals in Contaminated Soils (*Hordeum bulbosum* L.). Journal of Rangeland Science, ۲(۳): ۵۶۵-۵۵۷.

10.Evangelou, M.W.H., E. Mathias and A. Schaeffer. ۲۰۰۷. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. Chemosphere, ۶۸:۹۸۹–۱۰۰۳.

11.Fritsch, C., P. Giraudoux, M. Coeurdassier, F. Douay, F. Raoul, C. Pruvot, C. Waterlot, A. de Vaufleury and R. Scheifler. ۲۰۱۰. Spatial distribution of metals in smelterimpacted soils of woody habitats: influence of landscape and soil properties, and risk for wildlife. Chemosphere, ۸۱: ۱۴۱–۱۵۵.

Archive of SID

www.SID.ir

12.Grčman, H., S. Velikonja-Bolta, D. Vodnik, B. Kos and D. Lestan. ۲۰۰۱. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. Plant and Soil, ۲۳۵:۱۰۵–۱۱۴.

13.Harris, D.C. ۲۰۰۷. Quantitative Chemical Analysis, ۷th ed., W. H. Freeman and Compagny, New York.
14.Holleman, A. F and E. Wiberg. ۲۰۰۱. Inorganic Chemistry. San Diego: Academic Press. ISBN -۱۲-۰ ۵-۳۵۲۶۵۱.
15.Huang, JW., J. Chen, W.R. Berti and S.D. Cunningham.۱۹۹۷. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Science and Technology, ۳۱: ۸۰۰–۸۰۵.
16.Knight, B., F.J. Zhao, S.P. McGrath and A.G. Shen. ۱۹۹۷. Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thalaspi caerrulescens* in contaminated soils and its effect on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution. Plant and Soil,۱۹۷:۷۱-78.
17.Lai, H.Y and Z.S. Chen. ۲۰۰۵. The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metalcontaminated soil using Rainbow Pink (*Dianthus chinensis*). Chemosphere, ۶۰: ۱۰۶۲–۱۰۷۱.
۱۸.Lestan, D., C.L. Luo and X.D. Li. ۲۰۰۸. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. Environmental Pollution, ۱۵۶:۳–۱۳.
19. Lindsay,W.L and W.A. Norvell. ۱۹۷۸. Development of DTPA soil test for Zinc, Iron, manganese and copper. Soil Science American Journal, ۴۲: ۴۲۸-۴۲۱.
۲۰.Liu, J.N., Q.X. Zhou, T. Sun, L.Q. Ma and Wang, S.۲۰۰۸. Growth responses of three ornamental plants to Cd and Cd–Pb stress and their metal accumulation characteristics. Journal of Hazardous Materials, ۱۵۱: ۲۶۱–۲۶۷.
21-Lombi, E., F.J. Zhao, S.J. Dunham and S.P. McGrath. 2001. Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. . Environmental Quality. 30: 1919–1926.

22.Luo, C., Z.G. Shen, X. Li and A.J.M. Baker. ۲۰۰۶. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. Chemosphere, ۶۳: ۱۷۷۳–۱۷۸۴.
23.Madrid, F., M.S. Liphadzi and M.B. Kirkham.۲۰۰۳. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. Journal of Hydrology,۲۷۲: ۱۰۷–۱۹.
24.Mattina, M.J., W. Lannucci-Berger, C. Musante and J.C, White. ۲۰۰۳. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. Journal of Environmental Pollution. ۱۲۴: ۳۷۸-۳۷۵.
25.Mossop, K.F., M.D. Christine, M.U. Allan, A.S. Charles, A. S and J.H. Stephen. ۲۰۰۹. Effect of EDTA on the fractionation and uptake by *Taraxacum officinale* of potentially toxic elements in soil from former chemical manufacturing sites. Plant and Soil, ۳۲۰،۱۱۷–۱۲۹.
26.Olsen, S.R and L.E, Sommers.۱۹۸۲. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part ۲. Chemical and Microbiological Properties, second ed., Agronomy No. ۹. ASA, SSSA, Madison, WI, pp. ۴۰۳–۴۳۰.
۲۷.Rhoades, J.D. ۱۹۹۶. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: Methods of soil analysis, American Society of Agronomy, pp. ۴۳۵-۴۱۷ (Page, A.L., Ed). Madison, WI.
28.Salido, A. L., K.L, Hasty, J.M. Lim and D.J. Butcher. ۲۰۰۳. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). Journal of Phytoremediation, ۲(۵): ۸۹-۱۰۳.
29.Sarkar, D., S.A. Syam, K.M.S. Sumathi and D. Rupali. ۲۰۰۸. Chelant-aided enhancement of lead mobilization in residential soils. Environmental Pollution, ۱۵۶:۱۱۳۹–۱۱۴۸.
30.Shen, Z.G., X.D. Li, C.C. Wang, H.M. Chen and H. Chua. ۲۰۰۲. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. Environmental Quality,31: 1893-1900.
31. Shibata, M., T. Konno, R. Akaike, Y. Xu, R.F. Shen and J.F. Ma. ۲۰۰۷. Phytoremediation of Pb contaminated soil with polymercoated EDTA. Plant and Soil, ۲۹۰:۲۰۱–۲۰۸.
32.Tandy, S., K. Bossart, R. Mueller, J. Ritschel, L. Hauser, R. Schulin and B. Nowack. ۲۰۰۴. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. Environmental Science and Technology, ۳۸: ۹۳۷–۹۴۴.
33.Tang, J., T.F. Xiao, S.J. Wang, J.L. Lei, M.Z. Zhang, Y.Y. Gong, H.J. Li, Z.P. Ning and L.B. He. ۲۰۰۹. High cadmium concentrations in areas with endemic fluorosis: a serious hidden toxin. Chemosphere, ۷۶: ۳۰۰–۳۰۵.
۳۴.Thomas, G.W.۱۹۹۶. Soil pH and soil acidity. P ۴۹۰-۴۷۵. In: Sparks et al. (eds.) Methods of soil analysis, part ۳. Agron. Mongr. ۹. ۲nd ed. ASA and SSSA, Madison, WI.
35.Turgut, C., M. Katie and J.C. Teresa. ۲۰۰۵. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. Chemosphere, ۵۸: ۱۰۸۷–۱۰۹۵.
36.Turgut, C., M.K. Pepe and T.J. Curight,T.J. ۲۰۰۴. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. Journal of Environmental. Pollution, 131: 147-154.

Archive of SID

www.SID.ir

37.Vassil, A. D., Y. Kapulnik, I. Raskin and D. Salt. ۱۹۹۸. The role of EDTA in Pb transport and accumulation by Indian mustard. Plant Physiology, ۱۱۷: ۴۵۳-۴۴۷.

38.Wang, X., Y. Wang, Q. Mahmood, E. Islam, X. Jin, T. Li, X. Yang and L. Dan. ۲۰۰۹. The effect of EDDS addition on the phytoextraction efficiency from Pb contaminated soil by *Sedum alfredii* Hance. Journal of Hazardous Materials,۱۶۸ :۵۳۰–۵۳۵.

39.Wilkins, D. A. ۱۹۷۸. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. The New Phytologist. ۸۰: ۶۳۳-۶۲۳.

40.Wu, J., F.C. Hua and S.D. Cunningham. ۱۹۹۹. Chelate-assisted Pb phytoextraction:Pb avalibility, uptake and translocation constraints. Environmental Science and Technology. 33: 1898-1904.

41. Wu, LH., Y.M. Luo, X.R. Xing and P. Christie. ۲۰۰۴. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. Agriculture Ecosystems Environment, ۱۰۲:۳۰۷–۳۱۸.

42. Xu, J., H.X. Yin and Li, X. ۲۰۰۹. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. Plant Cell Reports, ۲۸: ۳۲۵-333.

43.Zaier, H., G. Tahar, B.R. Kilani, L. Abdelbasset, R. Salwa and J. Fatima. ۲۰۱۰. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. Bioresource Technology, ۱۰۱: ۳۹۷۸–۳۹۸۳.

44.Zayed, A., S. Gowthaman and N. Terry. ۱۹۹۸. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. I. Duckweed. Environmental Quality, ۲۷: ۷۱۵–۷۲۱.

45.Zhuang, P., Z.H. Ye, C.Y. Lan, Z.W. Xie and W.S. Shu. ۲۰۰۵. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using Three Plant Species. Plant and Soil, ۲۷۶: ۱۶۲-۱۵۳.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluation of EDTA application method to reduce Pb leaching risk into ground waters using *Hordeum bulbosum* L.

Mahdieh Ebrahimi[1], Nasrollah Aslinezhad[2]

Abstract

This study was conducted to increase phytoextraction efficiency of *Hordeum bulbosum* L. in lead contaminate soil (Loamy Clay) in the EDTA-assisted, Ethylen ediamine tetra acetic acid (1.5, 5, 10 mmol kg^{-1}), assessing optimum of treatment time and method of EDTA application to reduce Pb leaching risk into ground waters. Uncontaminated soil without EDTA (C) and contaminated soil without EDTA (W) used as the controls. The results revealed that the greatest Pb uptake (890.70 $mgKg^{-1}$ in underground organs and 720.65 $mgkg^{-1}$ in above ground organs) was observed in 5EDTA treatment. Therefore, 5$mmolkg^{-1}$ was used in second step for assessing harvest time for 20(Vegetative stage), 80 (Flowering stage) and 140(Seed production) days. Results showed that the concentration of Pb in plant tissues was increased with passage of time, but between flowering stage and seed production there was no significant difference ($p<0/05$) and the best harvest time in order to achieve maximum removal of the metal was flowering stage. In third step to reduce leaching risk of Pb-EDTA, 5 $mmolkg^{-1}$ EDTA in three ways of single, double (two successive) and triple (three successive) were added to the soil. The results showed that under single dosage application, Pb content in the soil reached at its minimum concentration. The data indicated that the maximum Pb concentration in the plant organs was calculated at the single dosage while metal concentration in the plant organs did not vary considerably when double and triple dosage were added. Overall, optimum phytoextraction of *H. bulbosum* and Pb leaching risk reduction was observed when 5 mmol kg^{-1} EDTA was added in single dosage, 80 days after the plant cultivation

Keywords: Heavy Metals, EDTA, Phytoextraction, *Hordeum bulbosum* L.

Archive of SID

[1] Assistant Professor, University of Zabol; Corresponding author email : maebrahimi2007@uoz.ac.ir
[2] M. Sc Student of Combating Desertification, University of Zabol; Aslinejad@yahoo.com

www.SID.ir