Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

ORIGINAL ARTICLE

Effect of EDTA and $(NH_4)_2SO_4$ on Removing Cadmium Using Alfalfa Raised in Compost

Safiyeh Ghobakhloo[1],
Kamyar Yaghmaeian[2],
Amirhosein Mahvi[2],
Ramin Nabizadeh[3],
Mohammad hadi Dehghani[3],
Yasaman Ghaffari[1]

[1]MSc in Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received April 3, 2016 ; Accepted November 2, 2017)

Abstract

Background and purpose: Nowadays, Presence of heavy metals such as cadmium in agricultural soils, is regarded as a serious threat to human health in recent years. Phytoremediation is a method by which heavy metal accumulate in plant tissues, hence elimination of these elements from contaminated soils would be possible. The aim of this study was to investigate the removal of cadmium from soil-compost by alfalfa using EDTA and $(NH_4)_2SO_4$.

Materials and methods: The effect of changes on initial concentration of cadmium (10 to 200 mg of cadmium per kg of soil-compost) and the ratio of EDTA (5 to 15 mg per kg of soil-compost) to $(NH_4)_2SO_4$ (200 mg per kg of soil-compost) on the removal of cadmium were investigated. Concentration of cadmium was determined by ICP. Analysis of data was performed in R software based on central composite design (CCD) model and SPSS.

Results: The highest concentration of cadmium uptake was observed in the root of alfalfa. Application of EDTA in higher doses had significant effect on absorption in plant root ($P< 0.05$). Lower concentrations of EDTA (<10 mg/kg) considerably increased cadmium in aerial parts. Increase in EDTA dosage in highly contaminated soil, was effective in transmission of cadmium from soil-compost into the roots, but accumulation of cadmium did not have a considerable increase in areal parts of the alfalfa.

Conclusion: Phytoremediation has proved to be effective in removing cadmium from agricultural soil. It is a safe, an eco-friendly technology, and requires inexpensive reagents. According to this investigation, adding $(NH_4)_2SO_4$ with EDTA can be effective in improving Phytoremediation process.

Keywords: cadmium, Alfalfa, EDTA, $(NH_4)_2SO_4$, compost

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (160): 45-55 (Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۰ اردیبهشت سال ۱۳۹۷ (۵۵-۴۵)

تعیین پتانسیل حذف کادمیوم توسط گیاه یونجه پرورش یافته در کمپوست با اعمال EDTA و $(NH_4)_2SO_4$

صفیه قباخلو[۱]
کامیار یغماییان[۲]
امیر حسین محوی[۲]
رامین نبی زاده[۳]
محمد هادی دهقانی[۳]
یاسمن غفاری[۱]

چکیده

سابقه و هدف: درسال‌های اخیر حضور فلزات سنگین هم‌چون کادمیوم در محیط های آلوده هم‌چون خاک‌های کشاورزی و کمپوست به عنوان تهدید جدی برای سلامتی انسان مطرح شده است. گیاه پالایی روشی است که با انباشت عناصر سنگین درگیاهان، خروج این عناصر از محیط‌های آلوده را امکانپذیر می کند. هدف از انجام این مطالعه بررسی وضعیت حذف کادمیوم موجود در خاک-کمپوست به‌وسیله گیاه یونجه به همراه کاربرد کلات‌کننده‌های EDTA و $(NH_4)_2SO_4$ است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تاثیر متغیرهای غلظت اولیه کادمیوم (۱۰ تا ۲۰۰میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک‌کمپوست)، و نسبت EDTA (۵ تا ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک-کمپوست) به $(NH_4)_2SO_4$ (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک-کمپوست)، بر میزان حذف کادمیوم بررسی گردید. غلظت کادمیوم با استفاده از دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار R و بر مبنای طرح مرکب مرکزی و SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها: با توجه به نتایج به‌ست آمده از این پژوهش بیش‌ترین غلظت کادمیوم جذب شده در یونجه در ریشه آن مشاهده شد. افزودن EDTA تاثیر معنی‌داری در جذب کادمیوم در ریشه را نشان داد و این نشان دهنده انتقال بیشتر کادمیوم از خاک-کمپوست به گیاه می‌باشد($p<۰/۰۵$). در مطالعه حاضر کاربرد غلظت‌های کم‌تر از ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم EDTA تا حدودی باعث افزایش چشمگیر فلز مذکور در اندام هوایی گیاه گردید. بنابراین در سطح زیاد آلودگی ، افزایش دوز EDTA نقش موثری در انتقال کادمیوم از خاک-کمپوست به ریشه داشت اما تجمع فلز مذکور در اندام هوایی گیاه چندان افزایش چشمگیری نداشت.

استنتاج: گیاه پالایی یک روش موثر در حذف کادمیوم از خاک‌های کشاورزی است. هم‌چنین یک تکنولوژی ایمن و سازگار با محیط زیست می باشد که مواد مصرفی آن نیز کم هزینه است. با توجه به مطالعه صورت گرفته افزودن $(NH_4)_2SO_4$ به همراه EDTA سبب بهبود فرایند گیاه پالایی می شود.

واژه های کلیدی: کادمیوم، یونجه، EDTA، $(NH_4)_2SO_4$، کمپوست

مقدمه

امروزه تجمع فلزات سنگین در محیط زیست به عنوان یکی از چالش‌های مهم زیست محیطی محسوب می‌گردد. زیرا این فلزات قابلیت تجزیه بیولوژیکی نداشته و به دلیل دارا بودن اثرات موتاژنیک و کارسینوژنیک

مولف مسئول: کامیار یغماییان- تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت،گروه مهندسی بهداشت محیط E-mail: kyaghmaeian@gmail.com
۱. کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۱/۲۷ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۸/۱۲

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

بر انسان و سایر موجوات زنده آن‌ها را با خطرات جدی مواجه می‌سازد. فلزات سنگین موجود در خاک از سه مسیر تنفس، بلع و جذب پوستی به انسان منتقل شده و در بافت چربی، بافت عصبی و سیستم غدد درون ریز تجمع پیدا می‌کنند و باعث اختلال در سیستم ایمنی بدن و متابولیسم سلولی می‌شوند(۱). از سوی دیگر ورود کنترل‌نشده این آلاینده‌ها به واسطه تخلیه پساب‌های کشاورزی و صنعتی، دفع زباله‌ها و هم‌چنین افزایش مصرف کود کمپوست حاوی این فلزات در زمین‌های کشاورزی سبب تغییر کیفیت فیزیکی شیمیایی و بیولوژیکی خاک شده و در نتیجه گیاهانی که آن منطقه رشد می‌کنند مقادیر بالایی از فلزات سنگین را جذب خود کرده و ز این طریق وارد زنجیره غذایی شده و آسیب‌های جدی را بر سلامت انسان اعمال می‌کنند(۲). موارد گوناگونی از وجود آلودگی به فلزات سنگین در جهان گزارش گردیده است. Smith در سال ۲۰۰۹ نشان داد، تمام انواع کمپوست مواد زائد شهری حاوی فلزات سنگین بوده و حتی مقادیر آن‌ها بالاتر از غلظت‌های زمینه موجود در خاک است و طبیعتا این امر غلظت آن‌ها را در خاک‌های اصلاح شده نیز افزایش می‌دهد(۳). در ارتباط با کاربرد کمپوست در خاک یکی از عناصر اصلی نگران‌کننده کادمیوم می‌باشد. به دلیل این‌که کادمیوم یک فلز بسیار سمی می‌باشد و تجمع طولانی مدت کادمیوم در خاک برای گیاهان مضر است و در صورت جذب شدن در گیاهان خوراکی وارد زنجیره غذایی شده و احتمال آسیب به اندام‌های مختلف بدن از جمله ریه‌ها، کلیه‌ها،کبد، طحال و استخوان و ابتلا به سرطان را در انسان افزایش خواهد داد(۴). سالیانه حدود ۳۸۰۰۰ تن کادمیوم به خاک‌های جهان اضافه می‌شود(۵). با توجه به مطالب مذکور جلوگیری از آلودگی خاک وکمپوست مواد زائد شهری به فلز کادمیوم قبل از استفاده از آن امری ضروری به نظر می‌رسد. فناوری گیاه پالایی یک تکنولوژی در حال توسعه، سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه است که با بهره‌گیری از زندگی گیاهان سبز برای استخراج فلزات سنگین آلاینده از محیط آلوده (خاک، کمپوست،..) استفاده می‌شود(۶). یکی از انواع مکانیسم‌های گیاه پالایی فرایند جذب و تجمع فلزات سنگین در گیاهان است. موفقیت روش گیاه جذب که بتواند فلزات را به طور موثری از خاک جذب کند، وابسته به عملکرد گیاه و میزان انتقال عناصر از بخش ریشه به قسمت‌های هوایی می‌باشد. بنابراین این روش ممکن است به علت سرعت رشد اندک گیاه و هم‌چنین تحرک اندک و زیست فراهمی کم فلزات سنگین سال‌ها زمان لازم داشته باشد. به همین دلیل گیاه پالایی به همراه مواد شیمیایی و مواد آلی برای افزایش حلالیت و زیست فراهمی فلزات سمی و بهبود راندمان پالایش عناصر آلاینده توسط گیاهان می‌باشد(۷). استفاده از کمپوست را به عنوان ماده آلی می‌توان رویکردی موفق در فرایند گیاه پالایی مطرح نمود. به این ترتیب که تحمل به مسمومیت با فلزات را با افزایش کیفیت رشد گیاه و تولید زیست توده بیش‌تر افزایش داده در نتیجه فلز بیشتری از محیط رشد آلوده حذف می‌گردد. در میان کلات‌کننده‌های شیمیایی، EDTA[1] به عنوان ماده‌ای که حلالیت فلزات را در خاک افزایش می‌دهد معرفی شده است(۹،۸). یافته‌های محققان زیادی اثبات می‌کند که کمپلکس فلز با EDTA در خاک می‌تواند حلالیت فلز را به خوبی افزایش دهد و ضریب انتشار فلز را در خاک زیاد کند لذا پتانسیل گیاه برای برداشت فلز افزایش می‌یابد(۷). در تحقیقی که توسط سالت انجام شد کاربرد ۵ میلی‌مول EDTA بر کیلوگرم خاک در بهبود گیاه پالایی گیاه خردل هندی بسیار موثر تشخیص داده شد(۱۰).

Duo و همکاران در سال ۲۰۰۵ دریافتند، کاربرد EDTA تجمع فلزاتسمی بوسیله دو گونه علف به طور قابل توجهی افزایش داده است.

1. Ethylenediamine teteraactic acid

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

به عنوان یک استخراج‌کننده ضعیف، $(NH_4)_2SO_4$ به طور عمده فلزات با قابلیت تبادل و محلول در آب را استخراج می‌کند. بنابراین ممکن است در دسترس بودن فلز از طریق استفاده از کودهای آمونیوم با حفظ pH متعادل در خاک افزایش یابد. Komárek و همکاران (2008) گزارش دادند که کاربرد آمونیم باعث افزایش حلالیت فلزات Cd و Zn در آب می‌شود. ژوانگ و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که غلظت Zn در ساقه Viola baoshanensis به طور قابل توجهی ، از ۴۷۹ تا ۷۹۹ میلی‌گرم در کیلو گرم، با استفاده از $(NH_4)_2SO_4$ افزایش یافته است.

Marku Puschenreiter و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند، کاربرد EDTA و $(NH_4)_2SO_4$ غلظت کادمیوم در ساقه‌های گیاه Hybridus به‌طور قابل توجهی از ۳/۸۰ به۱۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داده است(۱۱). $(NH_4)_2SO_4$ عمدتاً محلول در آب است و با بخش‌هایی از فلزات مبادله می‌شود و به عنوان یک استخراج کننده ضعیف در این مطالعه استفاده شد.

در پژوهش حاضر گیاه یونجه را به علت ریشه عمیق (۹ تا ۱۶ فوت)، ریزوسفر فعال و توانایی آن برای جذب فلزات سنگین و برداشت‌های مکرر در طول سال انتخاب گردید. یونجه، منبع خوبی از بافت‌های گیاهی است و به‌همین دلیل قادر به تحمل و رشد در خاک‌های آلوده می‌باشد(۱۲).

Gardea-Torresdey در سال ۲۰۰۹ نشان داده‌اند که یونجه یک منبع بالقوه بیومتریال برای حذف و بازیابی یونهای فلزات سنگین است(۱۳).

هدف از مطالعه حاضر، تعیین پتانسیل حذف کادمیوم توسط گیاه یونجه پرورش یافته از کمپوست زباله شهری تهران با اعمال EDTA و $(NH_4)_2SO_4$ و همچنین بررسی جذب یونجه در محیط کشت خاک- کمپوست تعیین گردید که به روش رویه پاسخ طراحی گردید. روش رویه پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه سازی فرایندها به کار می‌رود که شامل مدل‌های مختلف CCD،Box Benkhen و... می‌شود(۱۴). طرح مرکب مرکزی Central Composite Design (CCD) یکی ازمدل‌هایی است که به طور گسترده‌ای در زمینه طراحی آزمایش و آنالیز چندگانه متغییرها به کار می‌رود .استفاده از این روش سبب کاهش تعداد آزمایش و نهایتاً صرفه جویی در زمان و هزینه می‌گردد.

مواد و روش ها

خصوصیات کمپوست و خاک

کمپوست مورد آزمایش از کارخانه کمپوست زباله شهری کهریزک تهران تهیه گردید. اندازه‌گیری EC در این خاک‌ها نشان داد که این خاک‌ها جز خاک‌های شور بوده و از نظر ماده آلی فقیر می‌باشند (کم‌تر از یک درصد). بافت خاک نیز ماسه‌ای و سیلتی است و جز خاک‌های تقریبا قلیایی هستند (pH>۷) (۱۵). در جدول شماره ۱: مشخصات فیزیکو شیمیایی خاک و کمپوست مورد مطالعه آورده شده است.

جدول شماره ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کمپوست وخاک

پارامترها	خاک	کمپوست
Hp	۷/۲	۷/۵
EC(ds^-)	۱/۷۶	۱۵,۱
مواد آلی(MO) (درصد)	۰/۶۲	۳۰-۲۵درصد
رس (درصد)	۲۵/۹	-
سیلت (درصد)	۲۱/۷	-
ماسه (درصد)	۵۰/۴	-
محتوای رطوبت (درصد)	۳۴	۴۵
(Cd) mg kg	۱/۱	۰/۶
ظرفیت نگهداری آب (درصد)	-	٪۱۵۰
Total K (درصد)	-	۰/۳-۰/۲درصد
Available P (درصد)	-	۰/۳-۰/۲ درصد
Total N (درصد)	-	۱/۷-۱/۵درصد

مواد شیمیایی

مواد مورد استفاده در این آزمایش $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$، EDTA، $(NH_4)_2SO_4$، HNO_3 (65%)، H_2SO_4 (97%)، $HClO_4$ (70%)، H_2O_2 (10%) بودند که تمام آن‌ها از شرکت از مرک آلمان تهیه گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

طراحی آزمایش

در این مطالعه، از روش سطح پاسخ برمبنای طراحی (CCD) جهت طراحی آزمایش و هم‌چنین ارزیابی اثر متغیرهای مستقل بر عملکرد پاسخ استفاده شد. متغیرهای موجود در این مطالعه شامل غلظت اولیه کادمیوم، نسبت EDTA به $(NH_4)_2SO_4$ بودند که آزمایش با تعداد ۲۱ آزمایش انجام گرفت.

کشت گیاه یونجه

نمک کادمیوم در غلظت‌های ۱۰، ۳۷/۸۲، ۱۰۵، ۱۷۲/۱۸ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک-کمپوست از طریق اسپری به نمونه‌های خاک-کمپوست اضافه گردید. کلات‌کننده EDTA با ۴ سطح ۵، ۶/۴۶ ، ۱۰و۱۵ میلی‌گرم EDTA بر کیلوگرم خاک- کمپوست و $(NH_4)_2SO_4$ به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به همراه آب آبیاری به نمونه‌های مورد نظر اضافه شد. یک از نمونه‌ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و فاقد کلات‌کننده‌های EDTA و $(NH_4)_2SO_4$ می‌باشد.

پس از مدت زمان ۲ هفته تماس فلز با خاک-کمپوست، نمونه‌ها به گلدان‌ها انتقال داده شدند. آزمایش گلدانی به تعداد ۲۱ نمونه تحت شرایط گلخانه‌ای (متوسط درجه حرارت روزانه ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۷ درجه سانتی‌گراد در طول شب و متوسط رطوبت نسبی ۷۵درصد) اجرا شد.

بذرهای یونجه رقم محلی برای جلوگیری از آلودگی‌های قارچی پس از ضدعفونی سطحی به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰درصد H_2O_2 با آب مقطر شستشو گردید. به تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان کاشته شد. ۳ گیاه در ۶ کیلوگرم خاک-کمپوست با نسبت (۱ :۲/۵) در گلدان‌های پلاستیکی رشد داده شدند. برای جلوگیری از، از دست دادن مواد مغذی و عناصر به خارج از گلدان، سینی‌های پلاستیکی زیر هر گلدان قرار داده شد و شیرابه جمع‌آوری شده به گلدان‌های مربوطه برگشت داده شد. آبیاری با آب شهری و براساس نیاز گیاه انجام گرفت. به علت خاصیت ضد رشدی EDTA، ۱۵روز قبل از برداشت گیاه EDTA به همراه $(NH_4)_2SO_4$ در ۱ مرحله به همراه آبیاری به گلدان‌ها اضافه گردید. کاشت و برداشت گیاه پس از ۱۲ هفته انجام شد.

استخراج و تجزیه تحلیل فلز کادمیوم در تیمارهای کمپوست، خاک و گیاه

گیاهان پس از برداشت به دو قسمت ریشه و اندام هوایی جدا شدند. نمونه‌ها ابتدا با آب شیر و سپس با آب مقطر شستشو شدند و در فور با حرارت ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیدند تا وزن آن‌ها به حد ثابتی برسد. وزن‌های خشک شده ثبت و به وسیله آسیاب برقی پودر شدند. نمونه‌های گیاهی به روش سه اسید در مخلوط HNO_3 ، H_2SO_4 ، $HClO_4$ و ۳۰ درصد H_2O_2 هضم گردید.

نمونه‌های خاک و کمپوست درون گلدان ها، با مخلوط کردن خاک درون هر گلدان، میزان کافی از آن جهت تعیین میزان غلظت کادمیوم برداشته شد و از روش ارائه شده توسط انجمن سلامت عمومی آمریکا با تیزاب سلطانی (نسبت۳ به ۱ $HClO_4$ غلیظ به HNO_3 غلیظ) هضم هضم شد (solid waste analysis by :dr p.k Bahra کتاب). در عصاره‌های به دست آمده از گیاه و خاک-کمپوست، غلظت یون های کادمیوم به وسیله دستگاه ICP مدل (TAS-990) و در طول موج ۲۱۴/۴۳۸ نانومتر تجزیه تحلیل شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (آزمون های t و Anova) و هم‌چنین نرم‌افزار R انجام شد. با توجه به کمی بودن عامل مورد آزمایش، برای تجزیه داده‌ها، تجزیه سطح پاسخ[1] انجام گرفت. سطح معناداری آزمون‌ها آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. جهت درک بهتر اثرات منفرد و برهم‌کنش متغیرها از پلات‌های دو بعدی استفاده شد.

1. Response Surface Analysis

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

یافته ها

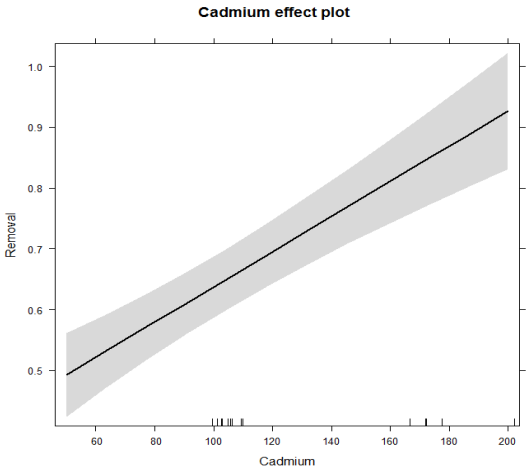
مقادیر باقیمانده کادمیوم در خاک

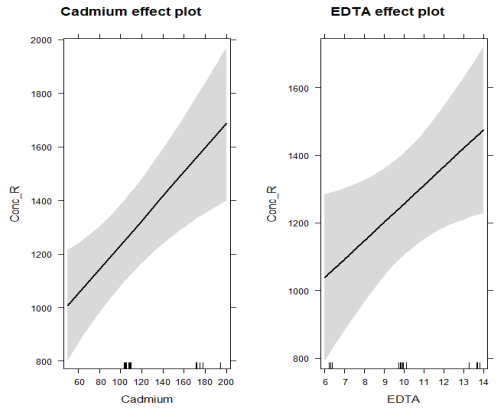
نتایج حاصل از تجزیه سطح پاسخ نشان‌دهنده تاثیر معنادار میزان کادمیوم تلقیح شده و درصد کادمیوم حذف شده در خاک-کمپوست است($p<۰/۰۵$). همچنین بین دو متغیر EDTA و درصد کادمیوم جذب شده در خاک-کمپوست ارتباط معنی‌ادار آماری وجود دارد ($p>۰/۰۵$)، (جدول شماره۲). تصاویر شماره ۱ و۲ تغییرات مقدار عنصر کادمیوم و EDTA قابل دسترس خاک-کمپوست را به صورت مجزا نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم در خاک-کمپوست میزان حذف این عنصر در خاک-کمپوست افزایش یافته است هرچند که این تغییرات برای عامل کادمیوم از نوع خطی است و شیب این تغییرات تند به دست آمد. بیش‌ترین مقدار جذب در بیشترین غلظت از عنصر کادمیوم به دست آمد. براساس نتایج جدول شماره ۱ دو متغیر کادمیوم تلقیح شده و EDTA اثرات متقابل در حذف کادمیوم در خاک- کمپوست دارند.

جدول شماره ۲: برآورد پارامترهای خطای استاندارد و p-value درصد کادمیوم جذب شده در خاک

pr(>|t|)	t -value	SE	estimate	
۰/۰۰۰۱	۴/۷۲۸	۰/۰۹۱	۰/۴۳۱	Intercept
۰/۰۰۰۱	۷/۱۱۷	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۲	Cd
۰/۰۲	-۲/۵۶	۱/۴۲۷	-۳/۶۵۵	EDTA

Signif. codes: ۰‘***’ ۰,۰۰۱‘**’ ۰,۰۱ ’*‘





تصویر شماره ۱: تغییرات میزان سطوح کادمیوم اولیه بر درصد کادمیوم حذف شده در خاک. شکل 1: تغییرات میزان سطوح کادمیوم اولیه و EDTA بر درصد کادمیوم جذب شده در ریشه

میزان جذب کادمیوم در ریشه گیاه یونجه

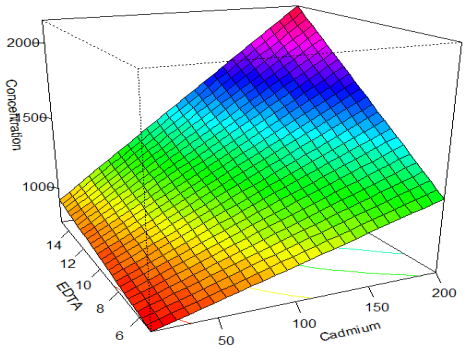
نتایج تجزیه سطح پاسخ بیانگر تاثیر معنادار هر دو عامل کادمیوم و EDTA بر میزان جذب عنصر کادمیوم در ریشه یونجه بود($p<۰/۰۵$)، (جدول شماره۳). هم‌چنین میان کادمیوم تلقیح شده و کادمیوم جذب شده در ریشه، و EDTA تلقیح شده و کادمیوم جذب شده در ریشه رابطه آماری معنادار وجود دارد ($p<۰/۰۵$). براساس مدل هر دو متغیر (کادمیوم تلقیح شده و EDTA) اثرات متقابل در جذب کادمیوم در اندام ریشه‌ای داشتند($p<۰/۰ ۵$). تصویر شماره ۳ تغییرات میزان جذب کادمیوم ریشه را در سطوح مختلف کادمیوم و EDTA نشان می دهد. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم و EDTA در خاک میزان جذب این عنصر در ریشه افزایش می‌یابد، که این تغییرات برای هر دو عامل کادمیوم و EDTA از نوع درجه دوم است. بیش‌ترین مقدار جذب نیز در بیش‌ترین غلظت از عنصر به دست آمد.

جدول شماره ۳: برآورد پارامترهای خطای استاندارد و p-value جذب کادمیوم در ریشه

pr(>|t|)	t-value	Std.E	estimate	
۰/۰۰۱	۱۷/۳۵	۷۲/۴۲۴	۱۲۵۶/۹۵۸	intercept
۰/۰۰۱	۳/۶۷	۱۱۷/۳۳۶	۴۳۰	Cd
۰/۰۳	۲/۳۲	۱۱۷/۲۶۶	۲۷۲/۶۸۶	EDTA
۰/۴۳	۰/۷۹	۲۳۴/۳۶۸	۱۸۶/۹۷۵	Cd/EDTA

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018



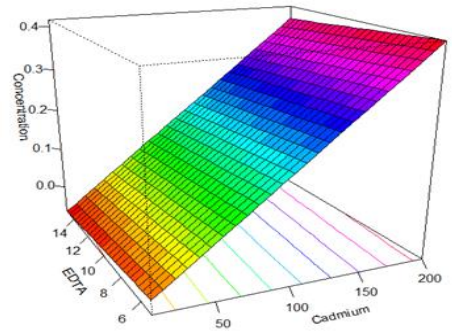
تصویر شماره ۳: تغییرات میزان سطوح کادمیوم اولیه و EDTA بر جذب کادمیوم ریشه

میزان جذب کادمیوم در اندام هوایی گیاه یونجه

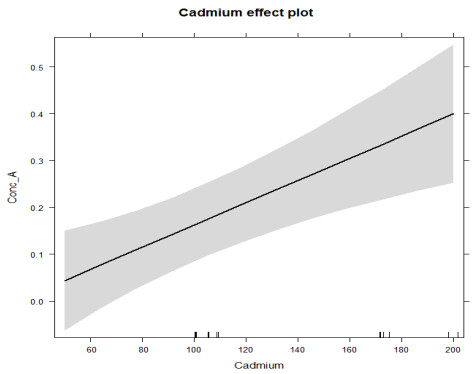
آنالیز سطح پاسخ حاکی از تاثیر معنی‌دار شدن عامل کادمیوم بر مقدار جذب کادمیوم در اندام هوایی گیاه یونجه بود (p<۰/۰۱)، در حالی‌که عامل EDTA بر کادمیوم جذب شده در اندام هوایی بی تاثیر و بی‌معنی است (**Error! Reference source not found.**). براساس نتایج **Error! Reference source not found.**، میان کادمیوم تلقیح شده و کادمیوم جذب شده در اندام هوایی، ارتباط آماری معنی دار وجود دارد (p<۰/۰۱). اما بین دو متغیر EDTA و کادمیوم جذب شده در اندام هوایی ارتباط معنی‌دار آماری وجود ندارد (p>۰/۰۱). در حالی‌که دو متغیر کادمیوم تلقیح شده و EDTA اثرات متقابل در جذب کادمیوم در اندام هوایی دارند. تصاویر شماره ۵ و ۶ تغییرات میزان جذب در سطوح مختلف کادمیوم و EDTA را در اندام هوایی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم در خاک-کمپوست میزان جذب این عنصر در اندام هوایی افزایش یافته که این عامل از نوع خطی است اما در حالیکه افزایش غلظت EDTA در جذب عنصر در اندام هوایی بی تاثیر بوده است.

جدول شماره ۴: برآورد پارامترهای خطای استاندارد p-value کادمیوم جذب شده در اندام هوایی

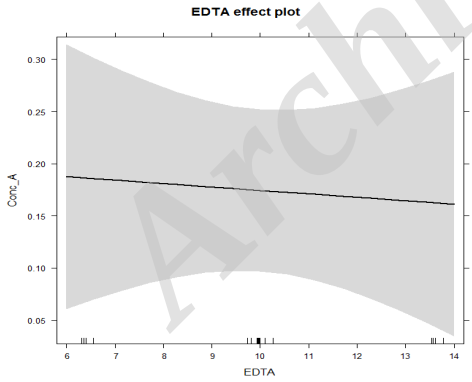
	estimate	SE	t-value	pr(>|t|)
intercept	۰/۱۷۴	۰/۰۳۶	۴/۷۲۹	۰/۰۰۱
Cd	۰/۲۲	۰/۰۵۹	۳/۷۷۴	۰/۰۱
EDTA	-۰/۰۱	۰/۰۵۹	-۰/۲۷۴	۰/۱



تصویر شماره ۴: تغییرات میزان سطوح کادمیوم اولیه و EDTA بر جذب کادمیوم اندام هوایی



تصویرشماره ۵: تغییرات میزان سطوح کادمیوم اولیه برجذب کادمیوم اندام هوایی



تصویر شماره ۶: تغییرات میزان سطوح EDTA بر جذب کادمیوم اندام هوایی

بحث

گیاه یونجه به علت ریشه عمیق(۹ تا ۱۶ فوت)، ریزوسفر فعال و توانایی آن برای جذب فلزات سنگین، قدرت تحمل فلزات سنگین، رشد سریع و برداشت

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

مکرر در طول سال در بسیاری از فرایند های گیاه پالایی به‌کار برده شده است(۱۲). مقادیر اندازه‌گیری شده درصد حذف کادمیوم در خاک نیز به خوبی بیانگر قابل دسترس شدن بیش‌تر این عنصر در گیاه با افزایش سطوح آلودگی درخاک-کمپوست است. تغییرات میزان جذب کادمیوم در ریشه گیاه یونجه همان‌گونه که در نمودار شماره ۲ و تصویر شماره ۳ مشاهده می‌شود در تمام غلظت‌ها برای عامل کادمیوم و EDTA از نوع خطی و درجه دوم است. این امر نشان می‌دهد که در نمونه‌هایی که حاوی تیمار کادمیوم و EDTA بیش‌تر بوده میزان جذب کادمیوم در ریشه افزایش یافته است بنابراین افزایش جذب بیش‌ترین وابستگی را به مقادیر کادمیوم و EDTA در خاک-کمپوست داشته است.

تصاویر شماره ۴،۵ و۶ تغییرات میزان سطوح کادمیوم و EDTA بر جذب کادمیوم در اندام هوایی را نشان می‌دهد. با مقایسه این اشکال با مقادیر به دست آمده از میزان جذب کادمیوم در ریشه به خوبی می‌توان دریافت که اندام هوایی (ساقه+ برگ) مقادیر بسیار کم‌تری از عنصر کادمیوم مورد مطالعه را نسبت به ریشه‌ها جذب کرده است که این میزان جذب همانگونه که تصویر شماره ۴ نشان می‌دهد با افزایش کادمیوم تا حدودی تحت تاثیر است اما با افزایش EDTA تغییر چندانی مشاهده نشده است. بطور مثال با توجه به غلظت‌های متفاوت EDTA ، افزایش دوز EDTA تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک-کمپوست سبب افزایش جذب در اندام هوایی گردید. اما با افزایش غلظت EDTA به بالاتر از این مقدار مقدار جذب در اندام هوایی گیاه تقریباً رو به کاهش است. این نشان می‌دهد، در خاک هایی که حاوی تیمار کادمیوم بیش‌تر بوده میزان جذب کادمیوم در اندام هوایی بیش‌ترین وابستگی را به مقادیر کادمیوم در خاک-کمپوست داشته است و EDTA تاثیری در میزان جذب نخواهد داشت. بعضی پژوهشگران گزارش کردند که EDTA می‌تواند فلزات موجود در اندام های گیاهی را تا ۱۰۰ برابر افزایش دهد(۲۰) الیکا و همکاران(۲۰۰۷) گزارش دادند، مقدار EDTA بیش‌تر از ۲/۵ میلی‌مول باعث کاهش کادمیوم و روی در ریشه و اندام هوایی کنگر می‌گردد. در این مطالعه کاربرد غلظت‌های کم‌تر از ۲/۵ میلی مول EDTA باعث افزایش چشمگیر فلزات مذکور را در اندام‌های گیاهی به همراه داشت(۲۱). در توضیح این مسئله می‌توان بیان کرد که 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(۲۳،۲۲)، ولی گاها این ماده در غلظت‌های کم هم برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست توده گیاه، نکروز و حتی مرگ گیاه می‌شود به‌طور مثال چن و همکاران (۲۰۰۴)، علائم ناشی از سمیت EDTA را 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 به دلیل انباشت این عناصر و خروج ضعیف آن‌ها از سیتوپلاسم پایین می‌آورد(۲۴).

استفاده از نمک های آمونیوم برای کمک به گیاه پالایی خاک–کمپوست آلوده شده به فلز توسط Dushenkov و همکاران در (۱۹۹۹) سال انجام شد. آن‌ها ثابت کردند نمک‌های آمونیوم غلظت ^{137}Cs در گیاهان افزایش داده است. کاربرد $(NH_4)_2SO_4$ علاوه بر کمک به فرایند گیاه پالایی، رشد گیاه به‌عنوان کود ترویج می‌دهد. نتایج بدست آمده در مطالعه Shulan Zhao و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که به منظور کاهش خطر آبشویی EDTA و فلزات یا به عبارتی افزایش کارایی گیاه پالایی کادمیوم در محیط کشت‌های با شرایط مشابه بهترین شیوه کاربرد EDTA در ترکیب با $(NH_4)_2SO_4$ به‌کار برده شد. نتایج این تحقیق نشان داد، کاربرد EDTA همراه با $(NH_4)_2SO_4$ به طور قابل توجهی راندمان‌توت را درحذف کادمیوم ازمحیط‌کشت کمپوست

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

افزایش داده است و با برداشت گونه گیاهی بعد از کاشت حداکثر پالایش خاک صورت خواهد گرفت(۱۱).

تفاوت زیاد بین غلظت کادمیوم در ریشه و برگ بیانگر محدودیت در انتقال داخلی فلزات از ریشه به سمت اندام هوایی میباشد. از طرفی گیاهان مختلف با توجه به نوع ترشحات ریشه‌ای، وزن ریشه و سطح ریشه رفتار متفاوتی در خصوص فعالیت‌های میکروبی برای حذف آلاینده‌ها دارند، و بیش از همه این موارد نقش خود گونه گیاهی را مهم‌ترین عامل در کاهش این عناصر می‌دانند. با توجه به مطالعه حاضر می‌توان ریشه این گیاه را به عنوان نمایه‌ای در جذب فلز دانست که می‌تواند مربوط به بیش اندوزی[3] این گیاه و همچنین قابلیت دسترسی این فلز در کمپوست و خاک اطراف ریشه باشد. تجمع کم‌تر فلز در بافت‌های اندام هوایی منجر به فاکتور انتقال بسیار پایین گردید و این نشان‌دهنده پتانسیل کم‌تر گونه یونجه برای استخراج گیاهی[4] کادمیوم از محیط کشت‌های آلوده است(۱۸). بلادی و همکاران(۱۳۸۹) در تحقیقی تحت عنوان ارزیابی توزیع فلز سنگین سرب و مس توسط گونه یونجه اظهار داشتند، جذب مس و سرب در اندام هوایی بیش‌تر از اندام ریشه‌ای گیاه مورد مطالعه بود(۱۹). برخی از مطالعات عامل اصلی افزایش تحرک و جذب شدن فلز کادمیوم در گیاه را رشد در محیط کشت کمپوست و تشکیل کمپلکس‌های محلول با مواد آلی می‌دانند(۷،۱۱).

Peng (۲۰۰۵) و Yang (۲۰۰۵) گزارش دادند کاربرد کمپوست یا کود می‌تواند زیست فراهمی و تحرک فلز مس را در گیاه جو افزایش دهد. در این مطالعات فلز مس به مقدار بیش‌تری در دانه ها و گیاه جو تیمار شده با ورمی کمپوست نسبت به کود معدنی یافت شد(۱۶). مطالعه Salati و همکاران(۲۰۰۹) نشان داد، خاک تیمار شده با مواد زائد شهری جذب فلزات سنگین را به دلیل داشتن مواد آلی در گیاه ذرت بطور قابل توجهی افزایش داده است(۱۷). ترکیبات چنگالی کلات‌ها همچون کمپوست عوامل موثر در افزایش جذب عناصر از خاک توسط گیاه به حساب می‌آیند(۱۱). 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 کلات ها توسط ریشه گیاهان قابل جذب بوده و می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیر محلول به فازهای تبادلی انتقال داده و در نهایت میزان جذب فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند. Jadia و Fulekar (۲۰۰۸) در مطالعه خود نشان داد افزایش مقاومت یونجه به سمیت فلزات سنگین (مس، روی، سرب و کادمیوم) با افزودن مواد مغذی همچون ورمی کمپوست امکانپذیر می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، افزایش جذب در تیمارهای کمپوست را می‌توان به تاثیر مثبت مواد آلی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک مرتبط دانست. مواد آلی با بهبود خصوصیات ذکر شده موجب افزایش حلالیت عناصر و در نتیجه افزایش جذب عناصر کم مصرف و پر مصرف شده، به همین دلیل رشد و تکامل گیاه بهتر صورت گرفته و موجب بهبود راندمان پالایش می‌گردد. نتایج به‌ست آمده از جذب فلز کادمیوم نشان داد، میزان جذب فلز کادمیوم در اندام ریشه ای گیاه با میزان غلظت فلز مزبور در خاک-کمپوست، ارتباط مستقیم و خطی دارد. توجه به این نکته ضروری است که گیاهان به طور کامل باید از خاک خارج شوند، چون طبق نتایج قسمت اعظمی از فلز جذب شده توسط گیاه در ریشه تجمع می‌یابد. افزودن $(NH_4)_2SO_4$ به همراه EDTA سازگار با محیط زیست است و خطر تجزیه غیر قابل بیولوژیکی EDTA با کاهش دوز آن پایین خواهد آورد. پس از پالایش کمپوست از فلز می‌توان از آن برای تولید محصولات زراعی جهت محافظت از خاک و بازدهی محصول استفاده کرد(۱۲).

1. Hyperaccumulator
2. Phytoextraction

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران می‌باشد و نویسندگان وظیفه خود می‌دانند از کادر آزمایشگاه های شیمی و میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران که امکان اجرای این مطالعه را فراهم نمودند تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Ravankhah N, Mirzaei R, Masoum S. Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Soil. J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(136): 109-120 (Persian).
2. Saraskanroudi F, Sadri F, Golalizadeh D. Phytoremediation of heavy metal (Lead, Zinc and Cadmium) frompolluted soils by Arasbaran protected area native plants. Journal of Water & Soil Resources Conservation 2012; 1(4): 53-66 (Persian).
3. Zhao S, Lian F, Duo L. EDTA-assisted phytoextraction of heavy metals by turfgrass from municipal solid waste compost using permeable barriers and associated potential leaching risk. Bioresour Technol 2011; 102(2): 621-626.
4. Jiwan S, Ravi P, Kalamdhad Ajay S. Effect of natural zeolite on bioavailability and leachability of heavy metals during rotary drum composting of green waste. Res J Chem Environ 2013; 17(8): 26-34.
5. Mohajer R, Salehi MH, Mohammadi J. Lead and Cadmium Concentration in Agricultural Crops (Lettuce, Cabbage, Beetroot, and Onion) of Isfahan Province, Iran. IJHE 2014; 7(1): 1-10.
6. Wang Y, Yan A, Dai J, Wang N, Wu D. Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in Chlorophytum comosum: a popular ornamental plant and potential Cd hyperaccumulator. Environ Monit Assess 2012; 184(2): 929-937.
7. Moslehi A, Feizian M. EDTA and municipal solid waste compost effects on Pb and Cd phytoremediation management by sunflower. Soil Management Journal 2014; 3(2): 9-21.
8. Amouei A, Mahvi A, Naddafi K, Hajian K. Effect of chemical additives on the availability of heavy metals (Pb, Cd, Zn) in soil. JBUMS 2005; 7(4): 26-31 (Persian).
9. Shen ZG, Li XD, Wang CC, Chen HM, Chua H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. J Environ Qual 2002; 31(6): 1893-1900.
10. Salt DE, PickeringJI, Prince R, Gelba D, Smith RD, Raskin I. Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian mustard. Environ Sci Technol 1997; 31(6): 1636-1644.
11. Zhao S, Shang X, Duo L. Accumulation and spatial distribution of Cd, Cr, and Pb in mulberry from municipal solid waste compost following application of EDTA and (NH4) 2SO4. Environ Sci Pollut Res Int 2013; 20(2): 967-975.
12. Jadia CD, Fulekar M. Phytotoxicity and Remediation of heavy metals by Alfalfa (Medicago sativa) in soil-vermicompost media. Adv in Nat Appl Sci 2008; 2(3): 141-151.
13. Gardea-Torresdey JL, Tiemann KJ, Gamez G, Dokken K, Cano-Aguilera I, Furenlid LR, et al. Reduction and accumulation of gold

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 16:29 +0430 on Wednesday July 4th 2018

(III) by Medicago sativa alfalfa biomass: X-ray absorption spectroscopy, pH, and temperature dependence. Environ Sci Technol 2000; 34(20): 4392-4396.

14. Ghaffari Y, Mahvi A, Kazemiza L, Mesdaghinia, Nabizadeh R Alimohammadi M. Evaluation of Fenton Process Efficiency in Removal ofTetracycline from Synthetic Wastewater. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(147): 291-305 (Persian).
15. Peralta-Videa JR, Gonzalez JH, Torresdey JL, Dela Rosa G. Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. Adv Environ Res 2004; 8(3): 679-685.
16. Yang XE, Peng HY, Jiang LY, He ZL. Phytoextraction of copper from contaminated soilby Elsholtzia splendens as affected by EDTA, citric acid, and compost. Int J Phytoremediation 2005; 7(1): 69-83.
17. Salati S, Quadri G, Tambone F, Adani F. Fresh organic matter of municipal solid waste enhances phytoextraction of heavy metals from contaminated soil. Environ Pollut 2010; 158(5): 1899-1906.
18. Abedi J, Vosoughi M, Yaghmai S, Borghei M. Effect of microbial population on oil pollution treatment plants using agropyron, lulium, poxinilia and fescue. Soil Conference, Environment and Sustainable Development; 2006 Nov 8-9; karaj, Iran. 2006.
19. Paknejad F, Hbibi D, Kashani A, Baledi M. Evaluation of lead and copper distribution in Alfalfa (Medicago sativa L Hamadani cultivar and the role of two antioxidant enzymes. Agriculture and Plant Breeding Magazine 2010; 6(4): 73-84.
20. Huang J, Cunningham S. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. New Phytologist 1996; 134(1): 75-84.
21. Hernández-Allica J, Garbius C, Barrutia O, Becerril JM. EDTA-induced heavy metal accumulation and phytotoxicity in cardoon plants. Environmental and Experimental Botany 2007; 60(1): 26-32.
22. Lim TT, Tay JH, Wang JY. Wang, Chelating-agent-enhanced heavy metal extraction from a contaminated acidic soil. Journal of Environmental Engineering 2004; 130(1): 59-66.
23. Zhuang P, Lan CY, Xie Z, Shu WS. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. Plant and Soil 2005; 276(1-2): 153-162.
24. Chen Y, Li X, Shen Z. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. Chemosphere 2004; 57(3): 187-196.
25. Nouri J, Lorestani B, Yousefi N, Khorasani A, Hasani AH Seif M, et al. Phytoremediation potential of native plants grown in the vicinity of Ahangaran lead–zinc mine (Hamedan, Iran). Environ Earth Sci 2011; 62(3): 639-644.
26. Zacchini M, Pietrini F, Scarascia Mugnozza G, Lori V, Pietrosanti L, Massacci A. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. Water Air Soil Pollut 2009; 197(1-4): 23-34.

Archive of SID

www.SID.ir