نشریه آب و خاک
جلد ۲۴، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۳۸۹، ص. ۱۱۵۰-۱۱۴۲

Journal of Water and Soil
Vol. 24, No. 6, Jan-Feb 2011, p. 1142-1150

افزایش کارآیی استخراج سرب از خاک بوسیله شاهی (*Barbara verna*) با استفاده از اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک

ابراهیم بابائیان[۱] - مهدی همایی[۲*]

تاریخ دریافت:۸۸/۱۲/۲
تاریخ پذیرش:۸۹/۶/۶

چکیده

پالایش گیاهی، یکی از روش‌های آلودگی‌زدایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است. استفاده از اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک در حضور گونه-های گیاهی مقاوم با دوره رشد کوتاه، می‌تواند باعث افزایش کارآیی استخراج گیاهی شود. هدف از این پژوهش، ارزیابی کارآیی EDTA و NTA در افزایش غلظت سرب محلول در خاک و مقایسه اثرات آن‌ها بر مقدار جذب سرب توسط گیاه شاهی بود. بدین منظور، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۳ سطح سرب (صفر، ۱۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب)، EDTA و NTA با غلظت‌های صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) بود. نتایج بدست آمده نشان داد EDTA کارآیی بیشتری نسبت به NTA در انتقال سرب به شاخساره دارد. بیشترین مقدار سرب در شاخساره، ۱۰۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در غلظت ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA و سطح ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب خاک بدست آمد. همچنین در حضور EDTA، غلظت سرب محلول در خاک افزایش بیشتری نسبت به NTA و شاهد نشان داد. کاربرد اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک باعث افزایش ضریب استخراج گیاهی گردید. بیشترین مقدار شاخص آبشویی کمپلکس‌های سرب از خاک (*MLPI*) ۰/۸۷ و در غلظت ۵ میلی‌مولار EDTA بدست آمد. در غلظت‌های بالای سرب و اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک، علائم سمیت به‌صورت خشکیدگی، نکروز و پیچیدگی حاشیه برگ‌ها مشاهده گردید. بنابراین به‌دلیل مقاومت بالای گیاه در برابر سرب، به‌نظر می‌رسد شاهی در حضور اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک می‌تواند به‌عنوان گیاهی سرب‌اندوز در فناوری استخراج گیاهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، استخراج گیاهی، شاهی، سرب، اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک

مقدمه

آلودگی خاکها به فلزات سنگین، یکی از مهمترین مسائل زیست محیطی در دنیا محسوب می‌شود. پیامد این آلودگی، تهدیدی مهم برای سلامتی انسان خواهد بود. در بحث آلودگی‌زدایی این خاک‌ها، پایداری و مقاومت زیاد فلزات سنگین نسبت به تجزیه پذیری، از جمله مسائل چالش‌برانگیز بشمار می‌آید. استفاده از روش‌های سنتی پالایش در بازیابی مکان‌های آلوده، عمدتاً به‌دلیل داشتن هزینه بالا و عدم سازگاری با زیست‌بوم چندان کارآمد نیستند (۱). با معرفی روش پالایش گیاهی[۳] در طی دهه‌های اخیر، به‌دلیل داشتن مزایایی از جمله هزینه اندک، اجرای ساده و اثرات جانبی اندک بر زیست‌بوم، توجه زیادی به استفاده از این روش در آلودگی‌زدایی آب، خاک و رسوبات معطوف شده است (۲۲).

یکی از روش‌های مهم در پالایش گیاهی، استخراج گیاهی[۴] است. در این روش، آلاینده‌های فلزی پس از جذب شدن توسط ریشه‌ها به شاخساره گیاه انتقال داده می‌شوند. این ویژگی در برخی گیاهان دیده می‌شود که به گیاهان بیش‌اندوز[۵] معروف هستند. بیشتر گیاهان بیش‌اندوزی که تاکنون شناسایی شده‌اند، عملکرد اندک داشته و در جذب فلزات، اختصاصی عمل می‌کنند. این ویژگی باعث ایجاد محدودیت در استفاده کاربردی از این گیاهان شده است (۱۶). از این رو مطالعات اخیر بر روی استفاده از گونه‌های گیاهی که عملکرد بالا و رشد سریع دارند، متمرکز شده است. علاوه بر این، زیست فراهمی

۱و۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
(*- نویسنده مسئول: Email:mhomaee@modares.ac.ir)

3- Phytoremediation
4- Phytoextraction
5- Hyperaccumulator Plants

فلزات در محیط ریشه نیز لازمه‌ی موفقیت پالایش گیاهی است (۱۳). ویژگی‌های شیمیایی مهم خاک مانند پ–هاش، ظرفیت تبادل کاتیونی، مقدار رس و ماده آلی نیز در این زمینه نقش مهمی دارند. استفاده از برخی عوامل کمپلکس کننده علاوه بر افزایش فراهمی فلز در خاک، باعث انتقال بیشتر آن به شاخساره گیاه و افزایش کارآیی استخراج گیاهی می‌شود (۲۸). پژوهش‌ها نشان داده ترکیباتی مانند EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید)، CDTA (ترانس ۱و۲ دی آمینو سیکلو هگزان تترا استیک اسید) و EDDHA (اتیلن دی آمین دی هیدروکسی فنیل استیک اسید) علاوه بر تأثیر مهمی که در رهاسازی فلزات به درون فاز محلول خاک دارند، باعث تسهیل در انتقال فلز در آوند چوبی و انتقال به شاخساره گیاه می‌شوند (۱).

EDTA به عنوان یکی از مهمترین آمینو پلی کربوکسیلیک اسیدهای سنتزی، از بهترین و ارزانترین عوامل کلات‌کننده محسوب می‌شود (۲). نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان داده است که EDTA در غلظت سه میلی‌مولار، غلظت سرب محلول در خاک را ۲۳ برابر و جذب آن را توسط خردل هندی ۲۶ برابر افزایش داد (۸). علی‌رغم کارآیی بالای EDTA در متحرک نمودن فلزات در خاک، وجود کمپلکس‌های فلز– EDTA به‌دلیل پایداری زیاد در محیط می‌تواند برای گیاهان و زیواچه‌های[1] خاک سمی باشد (۱۰). از طرف دیگر، خطر انتقال این ترکیبات به آب‌های سطحی و زیرزمینی نیز افزایش خواهد یافت (۱۸).

در چند سال اخیر، برخی ترکیبات زیست تجزیه پذیر مانند EDDS (اتیلن دی آمین دی سوسینیک اسید) در فناوری پالایش گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۴). پژوهش‌ها حاکی از آن است که در غلظت ۱۰ میلی‌مولار EDDS غلظت سرب، روی و کادمیوم در کلم به ترتیب ۱۰۲، ۴/۷ و ۳/۵ برابر افزایش نشان داده است (۱۰).

از آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدهای طبیعی دیگر می‌توان NTA (نیتریلو تری استیک اسید) را نام برد. این ترکیب به‌دلیل تجزیه پذیر بودن در محیط خاک، اثر سمیتی به مراتب کمتر از EDTA دارد. پژوهش‌ها نشان داده NTA در غلظت ۴ میلی‌مولار، با افزایش ۷۸ برابری در غلظت کادمیوم محلول، جذب آن را توسط خردل هندی ۳ برابر بهبود بخشید (۹).

افزودن عوامل کمپلکس کننده به منظور افزایش فراهمی فلز در خاک و اندوزش در گیاه، در مراحل انتهایی رشد گیاه صورت می‌گیرد. معمولاً چند روز قبل از برداشت گیاه، این ترکیبات به خاک اضافه می‌شوند. دلیل آن این است که در این مرحله، دوره رشد گیاه کامل شده و کاهش ناشی از اثر سمیت در عملکرد گیاه مشاهده نمی‌شود.

1- Microorganisms

البته در این مورد گزارش‌های ضد و نقیضی ارائه شده است. در این ارتباط می‌توان به پژوهش‌های انجام شده توسط شن و همکاران (۲۳) اشاره نمود. نتایج تحقیقات آنها نشان داد، کاربرد EDTA، HEDTA و DTPA با غلظت $^{-1}$ mmol kg ۱/۵ یک هفته قبل از برداشت گیاه، هیچگونه تأثیری در کاهش وزن خشک کلم (*B. rapa*) نداشته است. در حالی‌که برخی مطالعات به کاهش شدید در عملکرد آفتابگردان (*H. annuus*) در اثر استفاده از EDTA ($^{-1}$mmol kg ۱/۳۹) و HEDTA ($^{-1}$mmol kg ۱/۴۵) اشاره دارد (۴).

سرب به عنوان یکی از مهمترین آلاینده‌های فلزی در خاک، به‌دلیل تحرک اندک عمدتاً در سطح خاک تجمع می‌یابد. سرب عنصری سمی و فاقد هرگونه نقش بیولوژیک است. علیرغم این مسئله، مطالعات اندکی در مورد اثر اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک طبیعی و سنتزی بر فراهمی سرب در خاک و افزایش کارآیی پالایش گیاهی آن انجام گرفته است. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف EDTA و NTA بر فراهمی سرب در خاک و جذب و انتقال آن به شاخساره گیاه شاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

خاکی زراعی با بافت لومی شنی از عمق ۳۰–۰ سانتیمتری جمع‌آوری و پس از عبور از الک‌های ۱۰ و ۵ میلی‌متری، با غلظت‌های مختلف سرب شامل: صفر، ۱۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب آلوده گردید. روش آلوده نمودن خاک به صورت پخش نیترات سرب جامد بر روی لایه‌ای نازک از خاک به ضخامت ۰/۵ سانتیمتر بود. پس از همگن نمودن، خاک مورد نظر وارد گلدان‌هایی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتیمتر شد. به‌منظور ایجاد تعادل میان خاک و آلاینده، نمونه‌ها به مدت ۴۰ روز در شرایط مناسب رطوبتی (یک هفته در رطوبت نزدیک اشباع و ۵ هفته در رطوبت ظرفیت زراعی) و حرارتی (۲۰±۲°C) گلخانه قرار داده شدند. تعداد ۳۰ عدد بذر شاهی (*Barbara verna*) در هر گلدان کاشته شد. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به تعداد ۲۰ عدد در هر گلدان تنک شدند. در طول دوره رشد رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی نگهداری شد. همچنین به منظور جلوگیری از تنش تغذیه‌ای، مقادیر مناسبی از کودهای پرمصرف و کم‌مصرف به خاک اضافه گردید. در پایان دوره رشد (۴۵ روز) و یک هفته قبل از برداشت گیاه، اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک شامل EDTA و NTA با غلظت‌های صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم به خاک اضافه شدند. ریشه و شاخساره گیاهان پس از برداشت از یکدیگر جدا و با اسید کلریدریک ۰/۰۱ مولار و آب مقطر شسته، آون خشک (۴۸ ساعت، دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) و آسیاب شدند. نمونه‌های گیاهی هضم شده (با استفاده از اسید نیتریک، اسید پرکلریک و اسید سولفوریک با نسبت حجمی

۱:۴:۴۰) و پس از صاف نمودن، غلظت سرب در عصاره‌های گیاهی و همچنین غلظت سرب محلول در خاک با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۱۱). برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک همچون فراوانی نسبی اندازه ذرات به روش هیدرومتر، پ–هاش در گل اشباع، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، کربن آلی به روش واکلی بلاک، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش جایگزینی کاتیون‌ها با استات سدیم، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور آگاهی از آلودگی اولیه خاک به سرب، مقدار سرب کل با روش هضم بوسیله اسید نیتریک ۴ مولار تعیین شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش در جدول (۱) ارائه شده است. این خاک دارای بافت لومی شنی، پ–هاش نسبتاً خنثی، غیر شور، مقدار کربن آلی اندک، ظرفیت تبادل کاتیونی نسبتاً بالا و مقدار سرب کل کم (حد آستانه آلودگی سرب در خاک،۱۵۰–۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش شده است (۳)) می‌باشد. همچنین غلظت عناصر غذایی اندازه‌گیری شده نیز در حد نسبتاً مناسبی است. ویژگی‌های مذکور سبب می‌شود غلظت سرب محلول در خاک تا حدودی کاهش یابد.

اثر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر غلظت سرب محلول در خاک

همان‌طور که در شکل (۱) نشان داده شده است، با افزایش غلظت سرب در خاک و در حضور EDTA و NTA، غلظت سرب محلول در خاک به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. در حالی که در عدم حضور این دو، غلظت سرب محلول بسیار اندک است. دلیل آن را می‌توان به این صورت بیان نمود که در عدم حضور آمینوپلی-کربوکسیلیک اسید، بخش اعظم سرب به صورت اشکال غیر محلول در خاک تبدیل می‌شود، بنابراین دسترسی گیاه به آن کاهش پیدا می-کند. بیشترین مقدار سرب محلول در خاک ۶۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم در غلظت ۱۰ میلی‌مولار EDTA و بالاترین سطح آلاینده در خاک بدست آمد. این مقدار در غلظت ۵ میلی‌مولار EDTA، برابر ۶۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. NTA نسبت به EDTA در افزایش غلظت سرب محلول تأثیر کمتری داشت. به طوریکه در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار آن، این افزایش به ترتیب ۱۱۷ و ۲۳۶ برابر شاهد ($1/45\ mg\ kg^{-1}$) بود. دلایل آن را می‌توان به وجود کمپلکس‌های قوی و پایدار میان EDTA و سرب ($Log\ K$=۱۸/۳) (۲۴)، پتانسیل تحرک بالای کمپلکس‌های EDTA-Pb در خاک (۱۴) و خصوصیت زیست‌تجزیه‌پذیری NTA و مقاومت بالای EDTA نسبت به تجزیه در خاک دانست (۹). نتایج برخی تحقیقات نیز تأکید بر نقش مهم‌تر EDTA نسبت به NTA در قابل دسترس نمودن سرب برای گیاه دارد. پژوهش‌ها نشان داده در غلظت ۵ میلی‌مولار EDTA، غلظت سرب و کادمیوم محلول در خاک به ترتیب ۴۹۶ و ۱۱۴ برابر افزایش می‌یابد (۹). در حالی‌که در غلظت ۲۰ میلی‌مولار NTA، غلظت کادمیوم و روی محلول به ترتیب ۸ و ۳۰۰ برابر افزایش نشان داده است (۲۰). غلظت اندک سرب محلول در خاک پس از یک هفته از زمان افزودن NTA، می‌تواند به‌دلیل تجزیه زیستی بالای این ترکیب باشد. مطالعات نشان داده پس از ۲۸ روز از افزودن EDDS به خاک، تفاوت معنی‌داری بین غلظت فلزات محلول در خاک در حضور این ترکیب و شاهد وجود نداشته است (۱۵).

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

متغیر اندازه گیری شده	واحد	مقدار
بافت	_	لومی شنی
ظرفیت زراعی	%	۱۹
اسیدیته گل اشباع	_	۷/۶۵
هدایت الکتریکی	$ds\ m^{-1}$	۰/۸۱
ظرفیت تبادل کاتیونی	$cmol\ kg^{-1}$	۱۴/۳
کربن آلی	%	۰/۴۲
فسفر قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۱۲
پتاسیم قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۳۵۴
منیزیم قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۳۲۵
آهن قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۲/۴
روی قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۰/۵۶
سرب کل	$mg\ kg^{-1}$	۱۰/۵

مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشد.

اثر اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک بر انتقال سرب از خاک به شاخساره

اثر غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر مقدار انتقال سرب به شاخساره شاهی در شکل (۲) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، در حضور و عدم حضور این ترکیبات، با افزایش سطح سرب در خاک، غلظت سرب در شاخساره افزایش می‌یابد. منتها این افزایش غلظت، در حضور آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها به مراتب بیشتر از عدم حضور آنها است. در عدم حضور EDTA و NTA، غلظت سرب در شاخساره شاهی در آلودگی‌های ۱۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب ۲۹ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاهی بدست آمد.

بیشترین غلظت سرب در شاخساره (۴۲/۳±) ۱۰۷۵ میلی‌گرم در

کیلوگرم ماده خشک در سطح ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلاینده و در حضور غلظت ۱۰ میلی‌مولار EDTA بدست آمد که ۱۳ برابر شاهد (عدم حضور EDTA و NTA) افزایش نشان داد (شکل ۲). در حالیکه در غلظت ۵ میلی‌مولار EDTA، غلظت سرب شاخساره (±۳۲) ۷۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم (یعنی ۹ برابر شاهد) بود. مقدار سرب انتقال یافته به شاخساره در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار NTA به ترتیب (±۲۶) ۴۵۵ و (±۲۹) ۵۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری شد. این مقدار جذب به ترتیب ۵/۷ و ۶/۸ برابر شاهد بود. ملاحظه می‌شود که در تمامی سطوح سرب در خاک، EDTA نسبت به NTA تأثیر بیشتری در انتقال سرب به شاخساره دارد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که در طی یک چرخه استخراج گیاهی و در بالاترین سطح آلودگی خاک، مقدار سرب انتقال یافته به شاخساره شاهی در حضور EDTA بین ۱۱۵ تا ۱۵۷ درصد و در حضور NTA بین ۱۶۰ تا ۲۶۷ درصد سرب محلول در خاک است. این مقادیر در مقایسه با نتایج حاصل از برخی پژوهش‌ها قابل مقایسه است. به طور مثال، بررسی‌ها نشان داده است که EDTA می‌تواند باعث افزایش غلظت سرب در شاخساره خردل هندی (*B. juncea*) تا ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک این گیاه شود. این مقدار معادل زدودن ۹۰ کیلوگرم سرب در هکتار در طی یک دوره رشد گیاه، در خاک آلوده‌ای به غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک است (۱).

ساختار شیمیایی آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها متفاوت از یکدیگر است. EDTA و NTA به ترتیب دارای ۶ و ۳ مکان برای تشکیل کمپلکس با سرب هستند. بنابراین، EDTA توانایی بیشتری برای تشکیل کمپلکس با سرب دارد. همچنین، EDTA توانایی بالاتری نسبت به NTA در رهاسازی فلزات از ذرات خاک و قابل دسترس نمودن آن برای گیاه دارد. این بدلیل تمایل بیشتر سرب به EDTA ($Log\ K$=۱۸/۳) نسبت به NTA ($Log\ K$=۱۱/۳) است (۲۴).

ورود هر یون به درون سلول‌های ریشه و انتقال آن به آوند چوب از دو مسیر سیمپلاست (انتقال از سلولی به سلول دیگر از محل پلاسمالما) و آپوپلاست (انتقال از فضای بین دیواره خارجی سلول) انجام می‌شود. انتقال یون از مسیر آپوپلاست به‌دلیل غیر اختصاصی بودن جذب، سریع‌تر از مسیر سیمپلاست صورت می‌گیرد. در حضور آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها، انتقال فلز به صورت غیر اختصاصی و از مسیر آپوپلاست انجام می‌شود. در صورتی که در عدم حضور این ترکیبات، جذب فلز به صورت اختصاصی و از مسیر سیمپلاست خواهد بود. پس از عبور فلز از مسیر آپوپلاست و گذشتن از سلولهای لایه آندودرم و نوار کاسپاری در ریشه، وارد آوند چوب شده و به شاخساره گیاه انتقال می‌یابد (۱۹). ردیابی EDDS در ریشه، آوند چوبی و شاخساره گیاه آفتابگردان دلیلی بر این ادعا است که کمپلکس‌های موجود پس از ورود به آوند چوبی به اندام‌های هوایی انتقال پیدا می‌کنند (۲۷). به نظر می‌رسد کمپلکس‌های EDTA-Pb نسبت به NTA-Pb تحرک بیشتری در مسیر آپوپلاستی دارند، لذا غلظت سرب در شاخساره در حضور EDTA بیشتر است.

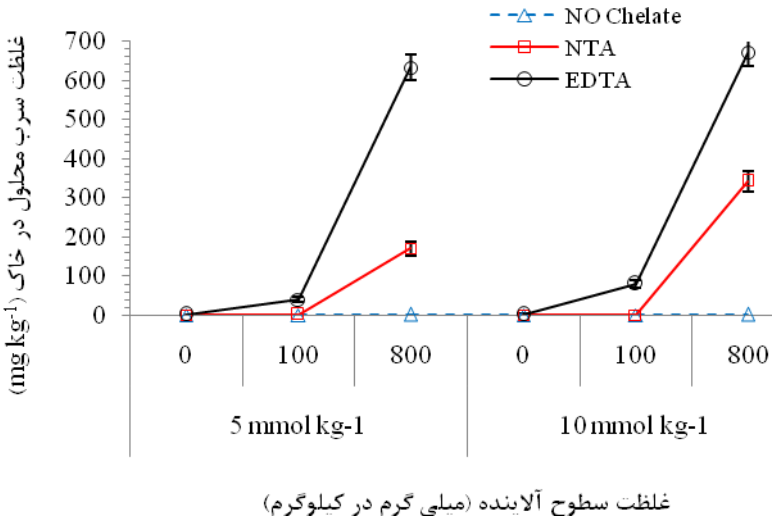
به عقیده برخی پژوهشگران، سرب علاوه بر کلوئیدهای خاک قادر است با دیواره سلولی بافت‌های گیاهی نیز پیوند کووالانسی بسیار قوی برقرار کند (۱۲). بنابراین در عدم حضور کی‌لیت، غلظت اندک سرب در شاخساره می‌تواند به‌دلیل پیوند سرب با مکان‌های تبادلی دیواره سلولی آوند چوبی و همچنین رسوب به صورت کربنات‌های سرب بر روی آن باشد (۶ و ۲۱). برای اینکه غلظت کمپلکس‌های EDTA-Pb در آوند چوبی و شاخساره به بیشترین مقدار ممکن برسد، آستانه‌ای مناسب از غلظت EDTA در محلول خاک نیاز است (۲۶). بر این اساس به نظر می‌رسد غلظت اندک کمپلکس‌های NTA-Pb در شاخساره به‌دلیل بالا بودن غلظت آستانه NTA در محلول خاک باشد.

برهمکنش کمپلکس‌های NTA–فلز با ماتریکس ریشه قوی‌تر از EDTA است . از طرفی، EDTA آزاد باعث نابودی موانع فیزیولوژیکی موجود در ریشه از طریق حذف کاتیونهای Fe^{2+} و Ca^{2+} که نقش مهمی در خاصیت انتخاب پذیری غشای پلاسمایی سلولهای ریشه دارند، می‌شود (۱۹). در حالیکه هیچ‌گونه گزارشی درمورد اثر سمیت NTA آزاد بر سلول‌های ریشه گزارش نشده است. NTA بدلیل زیست تجزیه پذیر بودن پیامدهای نامطلوب به نسبت کمتری نسبت به EDTA بر ریزجانداران خاک دارد (۲۴).

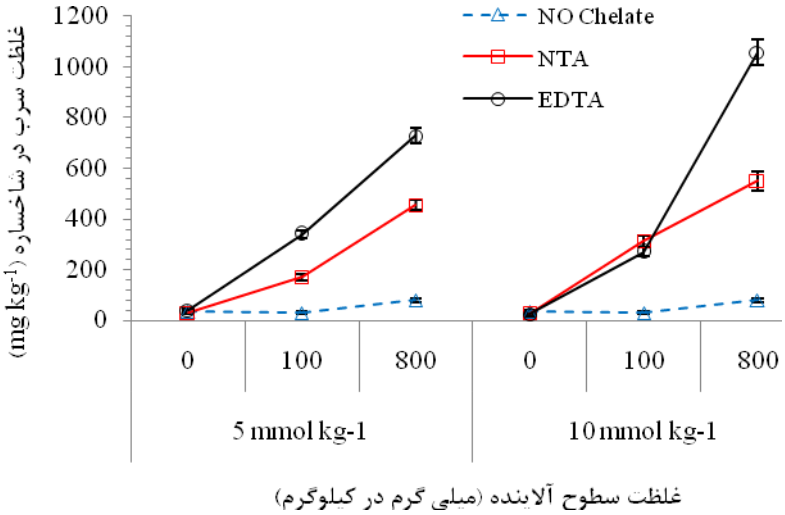
در غلظت‌های بالای سرب و آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدها، علائم سمیت به صورت خشکیدگی، نکروز و پیچیدگی حاشیه برگها مشاهده گردید. این علائم به‌دلیل جذب سریع کمپلکس‌های سرب و یا فرم آزاد EDTA و NTA در شاخساره و اختلال در فتوسنتز و کلروفیل سازی برگ است (۱۷).

به نظر برخی پژوهشگران، استخراج گیاهی فلز از خاک در دو مرحله انجام می‌شود. در ابتدا یون‌های فلزی درون ریشه تجمع می‌یابند. پس از افزودن عوامل کمپلکس کننده به خاک و وارد شدن به درون سلولهای ریشه، با فلزات تشکیل کمپلکس داده و از طریق آوند چوبی به شاخساره انتقال می‌یابند (۷). افزودن آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدها به خاک در زمانی است که گیاه در مرحله حداکثر (پایانی) رشد باشد. در این مرحله بدلیل تعرق بالای گیاه، مقدار قابل توجهی از کمپلکس‌های فلزی طی جریان توده‌ای[1] به سمت ریشه حرکت نموده و توسط ریشه جذب می‌شود (۱۴). افزایش ۵/۷ تا ۱۳ برابری غلظت سرب در شاخساره شاهی در حضور EDTA و NTA، می‌تواند در طرح‌های پالایش گیاهی کوتاه مدت و واقع بینانه مدنظر قرار گیرد.

1- Mass Flow



شکل ۱- اثر کاربرد غلظت‌های مختلف آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر غلظت سرب محلول در خاک

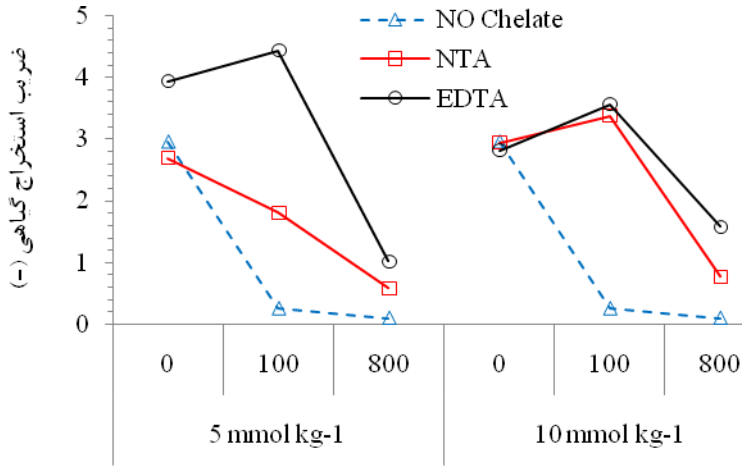


شکل۲- اثر کاربرد غلظت‌های مختلف آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر انتقال سرب به شاخساره شاهی

اثر آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر ضریب استخراج گیاهی

به منظور ارزیابی توانایی گیاه در مقدار انتقال فلز در اندام‌های قابل برداشت خود (شاخساره) از خاک، از شاخصی به نام ضریب استخراج گیاهی استفاده می‌شود.

این شاخص از نسبت غلظت فلز در شاخساره گیاه (میلی‌گرم فلز در کیلوگرم ماده خشک گیاهی) به غلظت باقی‌مانده فلز در محلول خاک (میلی‌گرم فلز در کیلوگرم خاک) بدست می‌آید. ضریب استخراج، یک شاخص مهم در فلزاندوز بودن گیاه محسوب می‌شود. همان‌گونه که در شکل (۳) مشاهده می‌شود در حضور و عدم حضور اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک، با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار ضریب استخراج گیاهی کاهش پیدا می‌کند. از طرفی، این کاهش با افزایش غلظت EDTA (بر خلاف NTA) نیز اتفاق می‌افتد. این موضوع به این دلیل است که با افزایش سطوح فلز و EDTA در خاک، غلظت سرب محلول افزایش می‌یابد. این افزایش غلظت در خاک بیشتر از توانایی شاهی در جذب سرب و انتقال آن به شاخساره است. از این‌رو، نسبت این دو مقدار که بیانگر ضریب انتقال سرب به گیاه است، کاهش پیدا می‌کند. به‌طور کلی، در حضور آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدها (بویژه EDTA)، مقدار ضریب استخراج بزرگتر از یک است. بیشترین مقادیر ضریب استخراج برابر ۴/۴، ۳/۶ و ۳/۴ به ترتیب در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار EDTA و ۱۰ میلی‌مولار NTA و در سطح آلودگی ۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک بدست آمد.



شکل۳- اثر کاربرد غلظت‌های مختلف سرب و آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر ضریب استخراج گیاهی

فراوانی کمپلکس‌های Pb-EDTA بدلیل پایداری زیاد (۱۸/۳ =$Log\ K_S$) و زیست تجزیه‌پذیری اندک نسبت به NTA که زیست تجزیه‌پذیری بالایی دارد، در خاک بیشتر است. پژوهش‌ها نشان داده سلول‌های دیواره آوند چوب بدلیل داشتن ظرفیت تبادل کاتیونی بالا باعث ایجاد تأخیر در حرکت کاتیونهای فلزی به قسمت‌های بالای گیاه می‌شوند. در حضور آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها، بویژه EDTA، انتقال کمپلکس‌های فلزی به اندام‌های هوایی گیاه تسهیل یافته و از رسوب و پیوند فلز بر دیواره و مکانهای تبادلی آوند چوب جلوگیری می‌شود (۶ و ۲۱). پژوهشگران اثر EDTA و EDDS را بر توانایی استخراج گیاهی دو گیاه ذرت و لوبیا مورد مطالعه قرار دادند. یافته‌های آنها نشان داد، EDTA کارآیی بیشتری در انتقال سرب از ریشه به شاخساره‌ی این گیاهان دارد. آنها علت آن را ناشی از تمایل بیشتر سرب به تشکیل کمپلکس با EDTA بیان نمودند (۹).

اثر آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر آبشویی سرب از خاک

به منظور ارزیابی خطر آبشویی کمپلکس‌های سرب- کی‌لیت از خاک، شاخصی به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$MLPI = \frac{C_{Soil}}{C_{Plant}}$$

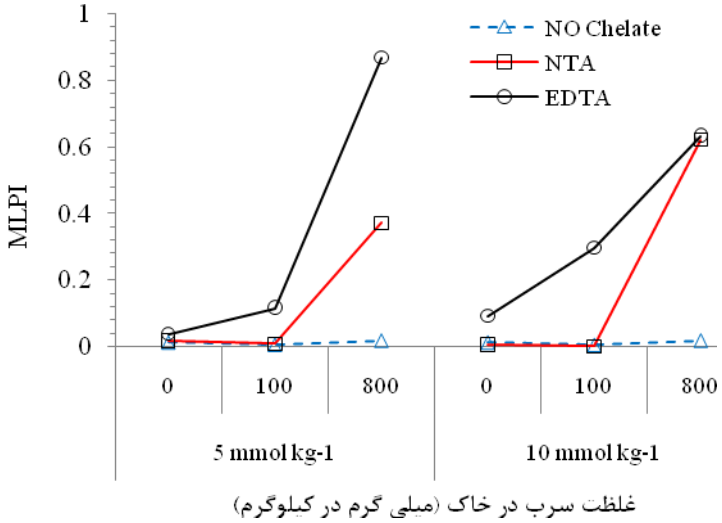
که در آن، $MLPI$[1] شاخص پتانسیل آبشویی سرب از خاک (بدون بعد)، C_{Plant} غلظت فلز در شاخساره گیاه (میلی‌گرم فلز بر کیلوگرم ماده خشک گیاهی) و C_{Soil} غلظت فلز در محلول خاک (میلی‌گرم فلز بر کیلوگرم خاک) می‌باشد. شکل (۴)، اثر کاربرد آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها را بر پتانسیل آبشویی سرب از خاک نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سرب در خاک این شاخص افزایش می‌یابد. با کاربرد آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدها پتانسیل آبشویی سرب از خاک افزایش می‌یابد. اما این افزایش در حضور EDTA نسبت به NTA بیشتر است. بیشترین مقدار این شاخص برابر ۰/۸۷ در غلظت ۵ میلی‌مولار EDTA و بالاترین سطح آلودگی خاک بدست آمد. در حالی‌که در حضور NTA، بیشترین مقدار این شاخص برابر ۰/۶۲ و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار آن بدست آمد. بنابراین خطر آبشویی کمپلکس‌های Pb-EDTA از خاک بیشتر از کمپلکس‌های Pb-NTA است. این عمدتاً به‌دلیل زیست تجزیه-پذیری اندک و ثابت پایداری بالای (۱۸/۳ =$Log\ K_S$ Pb-EDTA) در خاک نسبت به Pb-NTA (۱۱/۳ =$Log\ K_S$) است (۲۴). برخی پژوهشگران معتقدند، مقدار زیست تجزیه‌پذیری ترکیبات کمپلکس-کننده عمدتاً به نوع فلز همراه بستگی دارد و هیچ ربطی به ثابت پایداری این ترکیبات با فلز ندارد. در تأیید این مطلب پژوهش‌ها نشان داده، زیست تجزیه‌پذیری Pb-EDDS در مقایسه با Zn-EDDS بسیار بیشتر است در صورتی که هر دو کمپلکس ثابت پایداری تقریباً یکسانی دارند (۲۵).

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که استفاده از اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک موجب افزایش غلظت سرب محلول در خاک و سپس جذب توسط ریشه و انتقال آن به شاخساره شاهی می‌شود. بنابراین، مصرف این ترکیبات باعث افزایش بازده و کاهش

1- Metal Leaching Potential Index

زمان آلودگی‌زدایی سرب از خاک می‌شود. در این رابطه تأثیر EDTA بیشتر از NTA بود. به‌رغم مزایای استفاده از آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدها در فناوری پالایش گیاهی، توجه به این نکته ضروری است که مصرف گونه‌هایی با زیست تجزیه‌پذیری کم‌تر مانند EDTA، ممکن است باعث افزایش خطر آبشویی و انتقال فلزات سنگین به آبهای زیرزمینی شود. در این شرایط می‌توان از گونه‌های تجزیه‌پذیرتر مانند NTA استفاده نمود. مصرف این ترکیبات به صورت چند مرحله‌ای و در زمان‌های مناسب از دوره رشد که گیاه حداکثر جذب فلزات از خاک را دارد، می‌تواند این خطر را کاهش دهد. همچنین اعمال مدیریت آبیاری مناسب با اهمیت بوده و می‌تواند آبشویی ناخواسته‌ی فلزات سنگین را کنترل نماید.



شکل٤- اثر کاربرد غلظت‌های مختلف آمینوپلی‌کربوکسیلیک اسیدها بر شاخص پتانسیل آبشویی سرب از خاک

منابع

1- Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulink 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.

2- Blaylock M.J. 1999. Field demonstrations of phytoremediation of lead contaminated soils. In: phytoremediation of trace elements. G.S. Banuelos and N.E. Terry. (eds.). Ann Arbor Press. Ann Arbor, MI.

3- Cariny T. 1995. The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. P. 219.

4- Chen H., and Cutright T. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by Helianthus annuus. Chemosphere, 45: 21-28.

5- Chiu K.K., Ye Z.H., and Wong M.H. 2005. Enhanced uptake of AS, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanoides* and Zea mays using chelating agents. Chemosphere, 60: 1365-1375.

6- Dushencov V., Kumar, P.B.A.N., Motto, H., and Raskin, I. 1995. Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from agueous streams. Environmental Science and Technology. 29: 1239-1245.

7- Ensley B.D., Blaylock M.J., Dushenkove S., Kumar N.P.B.A., and Kapulnik Y. 1999. Inducing hyperaccumulating of metals in plant roots. Up patent 5917117. Date issued: 29 june 1999.

8- Epstein A.L., Gussman C.D., Blaylock M.J., Yermiyahu U., Huang J.W., Kapulink Y., and Orser C.S. 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-contaminated soil. Plant and Soil, 208: 87-94.

9- Evangelou M., Ebel M., and Schaeffer A. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. Chemosphere, 68: 989-1003.

10- Greman H., Vodnik D., Velikonja-Blota S., and Lestan D. 2003. EDDS as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. Journal of Environmental Quality, 32: 500-506.

11- Gupta P.K. 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer analysis. Agrobios. New Delhi, Indian. P. 438.

12- Huang J.W., Chen W.B., and Cunningham S.D. 1997. Phytoremediation of lead contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Science and Technology, 31: 800-805.

13- Kayser A., Wenger K., Keller A., Attinger W., Felix H.R., Gupta S.K., and Schulin R. 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil:the use of NTA and sulfur amendments. Environmental Science and Technology, 34:1778-1783.

14- Luo C., Shen Z., and Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS.

Chemosphere, 59: 1-11.
15- Meers E., Ruttens A., Hopgood M.J., Samson D., and Tack F.M.G. 2005. Comparision of EDTA and EDDS as potential aoil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. Chemosphere, 58: 1011-1022.
16- Mulligan C.N., Young R.N., and Gibbs B.F. 2001. Removal of heavy metal from contaminated soil and groundwater: An evaluation. Engineering Geology, 60: 193-207.
17- Navari-Izzo F., and Quartacci M.F. 2001. Phytoremediation of metals. Tolerance mechanisms against oxidative stress. Minerva Biotechnology, 13:73-83.
18- Nowack B. 2002. Environmental chemistry of aminopolycarboxylic chelating agents. Environmental Science and Technology, 36:4009-4016.
19- Nowack B., Schulin R., and Robinson B.H. 2006. Critical assessment of chelate-enhanced metal phytoextraction. Environmental Science and Technology, 40:5225-5232.
20- Quartacci M.F., Baker A.J.M., and Navari-Izzo F. 2005. Nitriloacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (Brassica juncea (L.) Czernj, Brassicaceae). Chemosphere, 59: 1249-1255.
21- Romheld V., and Marschner H. 1981. Effect of Fe stress on utilization of Fe chelates by efficient and inefficient plant species. Journal of Plant Nutrition, 3: 551-560.
22- Salt D.E., Smith R.D., and Raskin I. 1998. Phytoremediation ANNU. Rev. Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 49: 643-668.
23- Shen Z.G., Li X.D., Wang C.C., Chen H.M., and Chua H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soil with high biomass plant species. Environmental Quality, 31: 1893-1900.
24- Sillen L.G., and Martell A.E. 1964. Stability constants of metal ion complexes. Special Publication No. 17. The Chemical Society. Londan.
25- Vandevivere P., Saveyn H., Verstraete W., Feijtel T.C.J., and Schowanek, D. 2001. Biodegradation of metal-[S,S]-EDDS complex. Environmental Science and Technology, 35:1765-1770.
26- Vassil A.D., Kapulnik Y., Raskin I., and Salt D.E. 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation in Indian mustard. Plant Physiology, 117:447-453.
27- Wenger K., Tandy S., and Nowack B. 2005. Effects of chelating agents on trace metal speciation and uptake. In: Nowack, B., VanBriesen, J. (Eds.), Biochemistry of chelating agents. ACS Symposium Series No. 910. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 204-224.
28- Wu J., Hsu F., and Cunningham S. 1999. Chelate–assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation constrains. Environmental Science and Technology, 33: 1898- 1904.

Journal of Water and Soil
Vol. 24, No. 6, Jan-Feb 2011, p. 1142-1150

نشریه آب و خاک
جلد ۲۴، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۳۸۹، ص. ۱۱۵۰-۱۱۴۲

Enhancing Lead Phytoextraction of Land Cress *(Barbara verna)* Using Aminopolycarboxylic Acids

E. Babaeian[1] – M. Homaee[2]*

Received: 21-2-2010
Accepted: 28-8-2010

Abstract

Enhancing phytoextraction with aminopolycarboxylic acids (APCAs) associated with fast growing and metal tolerant plants species has been proposed for the clean-up of heavy metal contaminated soils. The objectives of this study were to assess the efficiency of EDTA and NTA for desorbing Pb from soil and to compare their effects for enhancing of Pb extraction with Land Cress (*Barbara verna*). The experimental factors were including 0, 100 and 800 mg Pb kg^{-1} soil, EDTA and NTA (0, 5 and 10 mmol kg^{-1} soil). The results indicated that EDTA was much more efficient for enhancing root to shoot Pb translocation. In 800 mg Pb kg^{-1} soil, as a result of 10 mmol EDTA kg^{-1} soil, a value of 1075 mg Pb kg^{-1} DW shoot was obtained. The soils treated with EDTA showed higher values of soluble Pb concentration than NTA and no chelate. Also, MLPI was higher (0.87) in presence of 5 mm EDTA kg^{-1} concentration. In high concentrations of Pb and APCAs, both EDTA and NTA caused acute symptoms on leaves which showed wilting, necrotic areas and curling of borders. Finally, Land Cress due to high lead resistance can be introduced as a Pb hyperaccumulator to chelate-induced phytoextraction technology.

Keywords: Soil Contamination, Phytoextraction, Land Cress (*Barbara Verna*), Lead, Aminopolycarboxylic Acids

1,2- MSc Student and Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University of Tehran
(*-Corresponding Author Email: mhomaee@modares.ac.ir)