

مقاله علمی-پژوهشی

کارایی نیتریلوتری استیک اسید در آبشویی و پالایش کادمیوم از خاک توسط گیاه ذرت

نرگس محراب^{۱*} - مصطفی چرم^۲ - مجتبی نوروزی مصیر^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۰

چکیده

با توجه به پیامدهای آلودگی فلزات سنگین در محیط زیست، آلودگی‌زدایی این فلزات از اهمیت بالایی برخوردار است. در این تحقیق کارایی کلات-کننده نیتریلوتری استیک اسید (NTA) بر آبشویی کادمیوم و جذب آن توسط گیاه ذرت در یک خاک آلوده در آزمایشی گلخانه‌ای بررسی گردید. در این مطالعه از سه سطح کادمیوم (۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سه سطح کلات NTA (۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌مول در لیتر در گلدان ۸ کیلوگرمی) در خاکی با بافت لومی در کشت و عدم کشت گیاه ذرت و تحت شرایط سه دور آبیاری استفاده گردید. NTA طی سه مرحله بصورت محلول به گلدان‌ها اضافه گردید. نتایج نشان داد که با افزایش سطح آلودگی کادمیوم و مقدار NTA مصرفی، میزان کادمیوم زه‌آب و همچنین جذب کادمیوم توسط گیاه ذرت افزایش یافت. سطوح مختلف کادمیوم و NTA در دور اول آبشویی اختلاف معنی‌داری در کادمیوم شسته شده نشان دادند و در دو دور بعدی تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده نشد. میزان کادمیوم آبشویی شده از خاک گلدان‌های بدون کشت گیاه در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم با کاربرد ۱۵ و ۳۰ میلی‌مول NTA نسبت به عدم کاربرد NTA به ترتیب ۸ و ۱۵/۴ برابر افزایش داشت. در صورتی که در تیمارهای مشابه در حضور گیاه ذرت، میزان آبشویی کادمیوم در خاک به ترتیب ۵/۸ و ۶ برابر نسبت به عدم کاربرد NTA افزایش نشان داد. کادمیوم جذب شده توسط گیاه ذرت در تیمارهای حاوی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در کاربرد ۳۰ میلی‌مول NTA حداکثر بوده و این مقدار ۵۷ درصد بیش از عدم کاربرد NTA اندازه‌گیری شد. NTA با کاهش در pH خاک و انحلال کربنات کلسیم از خاک بر افزایش کادمیوم آبشویی شده و کادمیوم جذب شده توسط گیاه اثر معنی‌داری نشان داد. این نتایج به‌خوبی اثر توأم NTA و گیاه ذرت در پالایش کادمیوم از خاک آلوده را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آبشویی، کادمیوم، گیاه‌پالایی، نیتریلوتری استیک اسید (NTA)

مقدمه

زنجیره‌های غذایی، معضلات بسیار جدی را برای سلامت و بهداشت انسان‌ها و حیوانات ایجاد می‌کند (۲۴). در سراسر جهان بیش از ۲۰ میلیون هکتار از زمین‌های آلوده به فلزات سنگین آرسنیک، کادمیوم، کروم، سرب و غیره وجود دارد که غلظت این فلزات از سطح استاندارد جهانی بالاتر است. تکنیک‌های مختلفی برای بهبود محل‌های آلوده به فلزات سنگین ارائه شده است. از جمله این تکنیک‌ها شستشوی خاک، استخراج الکتروکینتیک، تثبیت، گیاه‌پالایی و غیره می‌باشد (۲۱).

گیاه‌پالایی که دربرگیرنده‌ی استفاده از گیاهان برای زدودن، انتقال دادن، تثبیت کردن و یا تقلیل آلودگی‌ها در خاک، رسوبات و آب است، به مجموعه متنوعی از فن‌آوری‌های گیاه بنیان اطلاق می‌شود که از گیاهان طبیعی موجود و یا گیاهان ایجاد شده از طریق مهندسی ژنتیک جهت پاکسازی محیط‌های آلوده استفاده می‌کنند (۳۵). مهمترین فاکتور محدودکننده در گیاه‌پالایی فلزات سنگین از خاک، زیست‌فراهمی اندک آن‌ها برای گیاه است که موجب کاهش بازده پالایش گیاهی می‌شود. افزودن کلات‌های طبیعی و یا مصنوعی به

در عصر مدرن با صنعتی شدن کشورها، جلوگیری از ورود مواد سمی شیمیایی و فلزات آلاینده به محیط زیست غیرممکن است. این فلزات بر خلاف آلاینده‌های آلی، توسط عوامل زیستی قابل تجزیه نمی‌باشند و به همین علت، برای مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند (۳۱). تجمع فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی و منابع آب به دلیل خطر بالقوه ورود آن‌ها به زنجیره غذایی تهدیدی بزرگ برای سلامت انسان محسوب می‌گردد (۳۱). فلز کادمیوم به دلیل تحرک و پویایی زیاد در خاک و جذب توسط گیاه و سمیت قابل توجه دارای اهمیتی خاص است (۲۶). کادمیوم یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های خاک است با تجمع در محصولات زراعی مهم و متعاقباً ورود به

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه شهید چمران اهواز

(* - نویسنده مسئول: Email: narges_mehrab@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jsw.v34i3.78046

خاک، موجب افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین و در نتیجه افزایش جذب آن‌ها به وسیله گیاهان می‌شود (۹). در دهه‌های گذشته، ترکیبات شیمیایی مختلف به عنوان کلات‌کننده در فرآیندهای شستشوی خاک استفاده شده است. کلات‌کننده‌ها نسبت به اسیدها اثرات مضر کمتری بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک دارند و همچنین سبب حلالیت بالاتری از فلزات سنگین در محلول خاک می‌شوند (۱۷ و ۲۳). اما با این وجود استفاده از عوامل کلات‌کننده با تجزیه‌پذیری کم نظیر EDTA^۱ می‌تواند موجب آشوبی فلزات به درون آب‌های زیرزمینی شده و در نتیجه بقایای آن‌ها منبع آلودگی جدیدی را ایجاد خواهند نمود (۳۹). ممکن است که کاربرد هدفمند (مانند تزریق در ناحیه ریشه) مقادیر اندک عوامل کلات‌کننده تجزیه‌پذیر نظیر EDTA^۱ یا EDDS^۳ موجب کاهش خطر ورود فلزات به آب‌های زیرزمینی تا سطوح قابل قبول شود. لن و همکاران (۱۹) به مطالعه اثرات تجزیه‌زیستی کلات‌کننده‌های EDTA، EDDS (با سطوح ۰، ۱ و ۲ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) و APAM^۴ (۰، ۰/۰۷ و ۰/۱۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) در گیاه پالایی خاک‌های آلوده به کادمیوم (با سطوح ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) در pH=۷ پرداختند. آن‌ها بیان کردند که بیشترین میزان جذب کادمیوم توسط گیاه در تیمار ۲ میلی‌مول NTA بر کیلوگرم خاک بوده و NTA در ایجاد کلات با کادمیوم موفق‌تر از دو کلات‌کننده دیگر عمل کرد. علاوه بر این خریداری NTA از لحاظ اقتصادی هزینه کمتری نسبت به EDDS دارد. کلات‌کننده طبیعی NTA زمان تجزیه‌زیستی کوتاهی دارد و به شدت دوستدار محیط زیست است و حداکثر پس از دو هفته به CO₂ و NH₃ تجزیه می‌شود (۵). بنابراین NTA دارای پایداری کوتاه مدت در محیط خاک است. NTA می‌تواند یون‌های فلزی را از شکل محلول با تشکیل کمپلکس جدا کند و یک عامل کلات‌کننده مهم با کاربرد صنعتی است. این کلات‌کننده به عنون یک کربوکسیلیک اسید از یک نمک با برخی یون‌های فلزی (سدیم، پتاسیم و ...) تشکیل شده است. اما یون‌های فلزی زیادی می‌توانند از طریق گروه عامل‌های NTA با آن پیوند برقرار کنند (۲۵).

نتیجه جذب آن را افزایش می‌دهند. آن‌ها، گزارش نمودند که در حضور ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم کلات NTA مقدار کادمیوم جذب شده توسط گیاه خردل هندی دو برابر و مقدار کادمیوم عصاره‌گیری شده از خاک هشت برابر نسبت به حالت بدون کلات افزایش می‌یابد. سلیمانی و همکاران (۳۳)، از EDTA، NTA و اسید هومیک جهت شستشوی فلزات کادمیوم، مس و سرب از خاک آهکی ایران در pH=۷/۵ استفاده نمودند. آن‌ها گزارش نمودند که میزان آشوبی کادمیوم بیشترین و سرب (به دلیل تشکیل کمپلکس‌های قوی‌تر با اجزای خاک) کمترین مقدار بود. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که میزان آشوبی فلزات توسط EDTA و NTA مشابه بوده و این دو کلات‌کننده در استخراج فلزات سنگین بویژه کادمیوم موفق عمل کردند، در حالی که میزان استخراج با اسید هومیک بسیار کمتر از آن دو بوده است. مطالعات مختلفی بر تأثیر روش‌های کاربرد کلات‌کننده‌ها بر کاهش آشوبی فلزات سنگین و افزایش جذب آن‌ها توسط گیاهان انجام شده است. شن و همکاران (۳۲) تأثیر رژیم‌ها و شیوه‌های متفاوت کاربرد EDTA را برای کاهش خطر آشوبی سرب در گیاه پالایی گونه *B. rapa L.* مورد مطالعه قرار دادند. این محققان اظهار داشتند که کاربرد EDTA بصورت سه بار متوالی حداکثر فراهمی سرب را در اندام‌های گونه مورد مطالعه و حداکثر کاهش آشوبی سرب را در مقایسه با کاربرد بصورت یک یا دو بار متوالی داشت.

تاکنون مطالعات زیادی روی حذف و استخراج فلزات سنگین با کمک کلات EDTA انجام شده است ولی اطلاعات کمی در رابطه با استخراج فلزات سنگین با دیگر کلات‌کننده‌ها وجود دارد. EDTA یک کلات مصنوعی است که با توجه به ویژگی‌هایی که قبلاً ذکر گردید ممکن است سبب آلودگی محیط زیست گردد در حالی که NTA به عنوان یک کلات طبیعی و دوستدار محیط زیست می‌تواند با عنصر آلاینده کادمیوم پیوند کمپلکس ایجاد کند و از این طریق قابلیت جذب آن توسط گیاه را افزایش می‌دهد و یا سبب آشوبی این فلز از خاک می‌گردد. بنابراین اهداف اصلی در این پژوهش عبارتند از: (۱) ارزیابی روند آشوبی کادمیوم از خاک آلوده در حضور کلات NTA در شرایط کشت و عدم کشت گیاه ذرت، (۲) بررسی نقش NTA در جذب و پالایش کادمیوم از خاک آلوده توسط گیاه ذرت و اثرات آن بر برخی خصوصیات شیمیایی خاک و زه‌آب‌ها.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق، خاک کافی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری مزارع دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز جمع‌آوری و پس از خشک کردن خاک در هوا و عبور از الک دو میلی‌متری

در مقالات مختلف نشان داده شده است که NTA جهت افزایش انحلال فلزات سنگین، استخراج و آشوبی آن‌ها در pH متفاوت خاک قابل استفاده است (۱، ۱۹، ۳۰ و ۳۳)، با بررسی اثر کلات NTA و اسیدسیتریک روی جذب کادمیوم توسط گیاه خردل هندی در خاک با

- 1- Ethylenediaminetetraacetic acid
- 2- Nitritotriacetic acid
- 3- Ethylenediaminedisuccinic acid
- 4- Anionic Polyacrylamide

خاک اضافه گردد. مطابق اظهارات آن‌ها بهترین روش برای افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاه و کاهش آبشویی آن‌ها اضافه کردن NTA طی چند مرحله می‌باشد. از این رو از کلات‌کننده NTA به مقدار مورد نیاز محلول با غلظت ۱۵ و ۳۰ میلی‌مول در لیتر تهیه شد و به میزان یک لیتر طی ۳ مرحله همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه گردید. در این تحقیق از کلات NTA مرک آلمان با فرمول شیمیایی $(C_6H_9NO_6)$ با وزن مولکولی ۱۹۱/۱۴ گرم بر مول استفاده گردید. NTA یک آمینوتتری کربوکسیلیک اسید با نقطه ذوب ۲۴۱/۵ درجه سانتی‌گراد است. حلالیت NTA در آب با دمای ۲۲/۵ درجه سانتی‌گراد، برابر با ۱/۲۸ گرم در لیتر می‌باشد. همچنین pH محلول اشباع NTA برابر ۳-۲ می‌باشد (۱۳).

به منظور جمع‌آوری زه‌آب، گلدان‌ها بر روی سه‌پایه‌هایی قرار داده شدند و در انتهای هر یک از گلدان‌ها یک ظرف برای جمع‌آوری زه‌آب قرار داده شد. جهت آبیاری از آب تصفیه موجود در گلخانه با شوری ۳۵۰ میکروموس بر سانتی‌متر استفاده شد. پس از افزودن هر مرتبه آب آبیاری همراه با کلات‌کننده NTA به گلدان‌ها، در دور بعدی آبیاری میزان ۲۰ درصد بیش از مقدار رطوبت اشباع به گلدان‌ها آب داده شد تا مقداری آب بصورت زه‌آب از گلدان‌ها خارج گردد، در این پژوهش ۳ مرتبه عمل آبیاری به منظور جمع‌آوری زه‌آب صورت گرفت و زه‌آب در هر مرحله برای انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه منتقل گردید. در فاصله زمانی بین آبیاری‌ها رطوبت گلدان‌ها در حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی نگه داشته شد. اولین مرحله اضافه کردن کلات NTA به گلدان‌ها پس از گذشت ۴ هفته از جوانه‌زنی گیاه انجام شد و با فاصله زمانی منظم ۱۴ روز کلات NTA در دو مرحله دیگر به گلدان‌ها اضافه گردید. آبشویی گلدان‌ها هر مرتبه پس از گذشت ۷ روز از اضافه کردن NTA انجام شد. زمان آبشویی گلدان‌ها با توجه به زمان تجزیه زیستی NTA پس از اضافه کردن به خاک که مطابق منابع بطور متوسط ۲ تا ۷ روز می‌باشد، انتخاب گردید (۱ و ۱۹).

دوره رشد گیاهان ۱۰ هفته (تا قبل از گلدهی) در محیط گلخانه انجام شد و پس از گذشت این زمان بخش هوایی گیاه و ریشه از خاک جدا شد (۲۹). سپس گیاهان با دقت با آب شستشو شدند و در آون به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و سپس ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. گیاهان پس از خشک و آسیاب شدن با استفاده از اسید نیتریک و آب‌اکسیژنه هضم شده و برای اندازه‌گیری میزان کادمیوم در بافت گیاهی آماده گردیدند (۴۴). همچنین خاک هر گلدان پس از برداشت گیاه و اعمال دوره‌های آبشویی خشک شد و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد و جهت اندازه‌گیری درصد کربنات کلسیم (۲۲)، pH، EC_e و میزان کادمیوم قابل جذب (قابل استخراج با DTPA) (۲) به آزمایشگاه منتقل گردید. در ادامه غلظت کادمیوم زه‌آب‌ها، کادمیوم قابل جذب در خاک (قابل

برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت خاک (۸)، pH، هدایت الکتریکی عصاره اشباع (EC_e)، درصد مواد آلی (۳۷)، رطوبت ظرفیت زراعی (روش وزنی)، درصد اشباع (روش وزنی) (۴۱)، ظرفیت تبادل کاتیونی (۳۴)، نیتروژن کل (۶)، فسفر قابل جذب گیاه (۲۸)، کلسیم و منیزیم محلول در خاک به روش تیتراسیون و همچنین سدیم و پتاسیم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (جدول ۱). خاک جمع‌آوری شده به فلز کادمیوم آلوده گردید. جهت آلوده کردن خاک از نمک کلرید کادمیوم ($CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$) محلول‌هایی حاوی ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر تهیه شد و به مرور و طی چند روز به هر کیلوگرم از خاک به میزان یک لیتر اسپری گردید (۱۸). پس از تهیه خاک آلوده، خاک‌ها در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و به مدت سه هفته جهت طی کردن دوره خوابانیدن در اتاق دمای ثابت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نگهداری شدند (۱۵ و ۳۶). پس از طی شدن دوره خوابانیدن، نمونه های خاک جهت انجام آزمایشات کشت گلخانه‌ای ذرت و بررسی آبشویی کادمیوم در گلدان‌های ۸ کیلوگرمی قرار داده شدند.

این پژوهش با طرح آماری فاکتوریل در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با فاکتورهای؛ ۱- حضور گیاه ذرت (کشت گیاه و عدم کشت گیاه)، ۲- آلودگی فلز کادمیوم (در سه سطح ۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و ۳- کلات‌کننده NTA (در سه سطح ۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌مول در لیتر در گلدان ۸ کیلوگرمی) تحت شرایط سه دور آبیاری انجام شد. بنابراین این پژوهش شامل ۱۸ تیمار بود که در ۴ تکرار انجام گردید. جهت سهولت در انجام تجزیه آماری و تحلیل داده‌ها تیمارها به دو دسته تقسیم گردید (۹ تیمار گلدان‌های کشت شده و ۹ تیمار گلدان‌های کشت نشده). کودهای شیمیایی (NPK) مورد نیاز از منبع اوره، سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم بر اساس آزمون خاک و نیاز غذایی گیاه ذرت به گلدان‌هایی که مورد کشت قرار گرفتند اضافه گردید. کشت گیاه ذرت در نیمه اسفند تا اواخر اردیبهشت سال ۹۶ تحت شرایط کنترل دما و رطوبت در گلخانه دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. در هر گلدان ۱۰ بذر گیاه ذرت کشت شد که پس از جوانه‌زنی، تعداد گیاه در هر گلدان با حذف گیاهچه‌های ضعیف‌تر به ۳ بوته تقلیل داده شد. رطوبت گلدان‌ها در طی دوره رشد گیاه از طریق وزنی نزدیک به ۸۰ درصد ظرفیت زراعی نگه‌داشته شد (۱۵ و ۲۹). لازم به ذکر است که یک تکرار از گلدان‌ها جهت کنترل رطوبت به عنوان گلدان‌های تخریبی استفاده شد.

از آنجا که NTA دارای نیمه عمر پایین است و بسته به شرایط هوازی سریعاً تحت تجزیه میکروبی قرار می‌گیرد (۴۵) و از طرفی در این بازه زمانی کوتاه گیاه قادر به جذب بخش زیادی از فلزات که به شکل محلول در آمده‌اند نیست، زائو و همکاران (۴۵) پیشنهاد دادند که NTA در طول دوره رشد گیاه به چند بخش تقسیم شده و به

مقادیر pH و EC خاک‌های آلوده به کادمیوم (در دو سطح ۲۵ و ۵۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک) بعد از دوره خوابانیدن سه هفته و همچنین pH و EC محلول‌های NTA تهیه شده (۱۵ و ۳۰ میلی مول در لیتر) در جدول ۲ قابل مشاهده است. پس از دوره خوابانیدن خاک آلوده، pH این خاک‌ها کاهش و EC افزایش داشته است. همچنین مشاهده می‌شود که محلول‌های NTA تهیه شده دارای pH شدیداً اسیدی و EC نسبتاً بالا هستند (جدول ۲).

نتایج بررسی زه‌آب‌ها

در جدول ۳ نتایج تجزیه واریانس مربوط به کادمیوم، pH، EC و بیکربنات زه‌آب‌های جمع‌آوری شده از تیمارهای کشت شده و کشت نشده نشان داده شده است. اثرات متقابل تیمارها در دوره‌های مختلف آبیاری در خاک تحت کشت در شکل ۱ قابل مشاهده است. نتایج نشان داد که افزایش استفاده از کلات‌کننده بصورت مؤثری آبشویی کادمیوم از خاک را افزایش می‌دهد.

استخراج با DTPA) و همچنین میزان کادمیوم گیاه با دستگاه جذب اتمی (مدل Analytikjena contract AA 300) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد استفاده گردید. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک اولیه مورد مطالعه در جدول ۱ قابل مشاهده است. خاک مورد مطالعه دارای بافت لومی، درصد کربنات کلسیم بالا (۴۱ درصد) و درصد مواد آلی پایین (۰/۷۱ درصد) بود. همچنین مقدار کادمیوم قابل استخراج با DTPA در خاک اولیه ۰/۴۷ میلی گرم بر کیلوگرم خاک بود که پس از آلوده کردن خاک و در انتهای دوره خوابانیدن خاک آلوده به کادمیوم، میزان کادمیوم قابل استخراج با DTPA با دستگاه جذب اتمی در دو خاک با آلودگی ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک به ترتیب معادل ۱۵/۲ و ۳۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این مطالعه

Table 1- Physical and chemical properties of soil used in this study

ویژگی Property	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	مواد آلی OM	کربنات کلسیم معادل CCE	رطوبت اشباع θ_s	رطوبت ظرفیت زراعی θ_{FC}	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC	هدایت الکتریکی EC _e	pH
واحد Unit				%				cmol _e kg ⁻¹	dS m ⁻¹	-
مقدار Value	21.4	38.0	40.6	0.71	41.3	35.0	27.5	12.6	2.45	7.7
عناصر دردسترس Elements available	نیتروژن کل N _{tot}	فسفر قابل جذب NaHCO ₃ - extractable P		پتاسیم محلول Soluble K	سدیم محلول Soluble Na	کلسیم محلول Soluble Ca	منیزیم محلول Soluble Mg	کادمیوم کل Cd _{tot}	کادمیوم قابل استفاده DTPA- extractable Cd	
واحد Unit	g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹			meq L ⁻¹				mg kg ⁻¹	
مقدار Value	0.6	13.5		3.2	4.9	10.5	5.8	1.05	0.47	

جدول ۲- میزان pH و EC در خاک‌های آلوده به کادمیوم پس از دوره خوابانیدن و pH و EC محلول‌های NTA مورد استفاده

Table 2- The amount of pH and EC in Cd-contaminated soils after incubation period, and pH and EC of NTA solution used

		pH	EC dS m ⁻¹)
خاک آلوده به کادمیوم	25 (mg kg ⁻¹ soil) کادمیوم (Cd25)	7.32	2.63
Cd-contaminated soil	50 (mg kg ⁻¹ soil) کادمیوم (Cd50)	7.28	2.95
محلول NTA	15 (mg mol L ⁻¹) NTA (NTA15)	2.61	2.24
NTA solution	30 (mg mol L ⁻¹) NTA ((NTA30)	2.58	3.42

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر دور آبیاری، کادمیوم و NTA بر کادمیوم، pH، EC و بیکربنات زه‌آب خاک کشت شده و کشت نشده

Table 3- Variance analysis of effect irrigation round, Cd and NTA on Cd, pH, EC and HCO₃⁻ in drainage water of cultured and non-cultured soil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	خاک کشت شده Cultured soil				خاک کشت نشده Non-cultured soil			
		pH	EC	HCO ₃ ⁻	Cd	pH	EC	HCO ₃ ⁻	Cd
دور آبیاری (I) Irrigation round	2	2.02**	68.4**	26.5**	10.11**	2.22**	74.4**	6.7**	39.26**
کادمیوم Cd	2	0.03ns	9.7**	0.2ns	4.32**	0.03ns	7.3**	0.17ns	11.6**
NTA	2	1.02**	2.2**	43**	4.66**	1.02**	1.1**	42.9**	12.95**
Cd × I	4	0.14ns	0.02ns	0.8ns	4.04**	0.15ns	0.45 ns	0.7ns	11.1**
NTA × I	4	0.21*	0.05ns	1.7*	2.93**	0.21*	0.14 ns	1.5**	13.18**
NTA × Cd	4	0.01ns	0.11*	0.2ns	1.51**	0.01ns	0.17*	0.15ns	3.59ns
NTA × Cd × I	8	0.05ns	0.1ns	1.6*	1.17**	0.05ns	0.12ns	1.4**	3.46ns
خطا Error	54	0.07	0.37	0.7	0.21	0.08	0.37	0.4	1.79
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	-	0.41	1.56	1.8	9.01	0.42	1.38	2	13.45

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار، * معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد
ns Not significant, * Significant at 5% probability level, ** Significant at 5% probability level

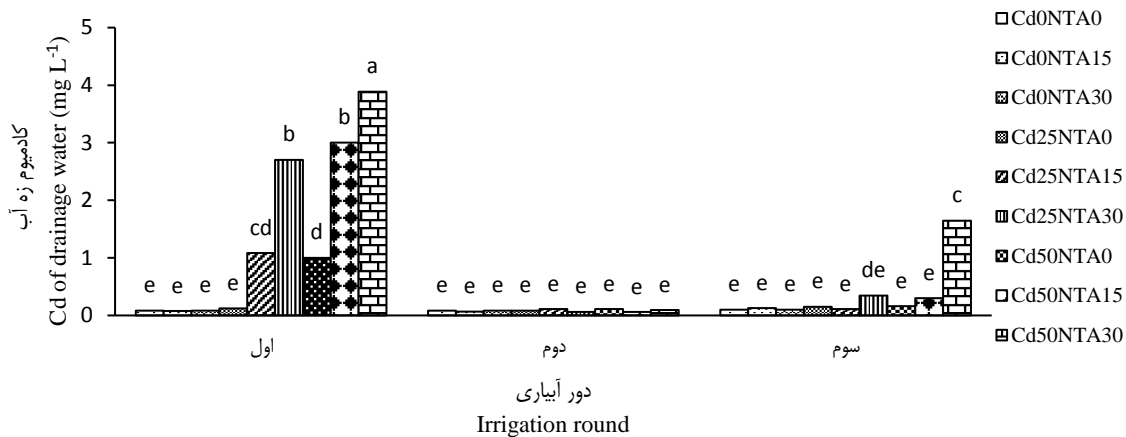
کادمیوم زه‌آب در تیمار سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم بصورت معنی‌داری بیشتر از دوره‌های دوم و سوم آبشویی بود (شکل ۲a) و نتایج مشابهی در کادمیوم زه‌آب با کاربرد تیمارهای NTA دیده شد (شکل ۲b). با توجه به اینکه مقدار NTA مصرفی به سه بخش تقسیم شده و قبل از هر مرحله آبشویی یک سوم NTA کل مصرفی به گلدان‌ها اضافه شده است، با این وجود دیده شد که افزودن کلات کننده NTA به گلدان‌ها فقط در دور اول آبشویی مؤثر بود و در دور دوم و سوم آبیاری تأثیر چشمگیری بر افزایش آبشویی کادمیوم نداشت (شکل ۱ و ۲). احتمالاً این امر به دلیل شسته شدن بخش زیادی از کادمیوم قابل استخراج از خاک در دور اول استفاده از کلات کننده NTA است. مقدار حداکثر کادمیوم شسته شده نسبت به کادمیوم قابل استخراج با DTPA خاک اولیه حدود ۸ درصد از خاک کشت شده و ۱۵ درصد از خاک کشت نشده در تیمار آلودگی ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم و کاربرد ۳۰ میلی‌مول NTA بود. احتمالاً به دلیل آهکی بودن خاک با گذشت زمان میزانی از کادمیوم در حضور کربنات کلسیم بالای خاک رسوب کرده و در دوره‌های بعدی آبشویی میزان کمتری از کادمیوم از خاک شسته شده است. یانایی و همکاران (۴۱) گزارش نمودند که در خاک‌های آهکی مناطق خشک رسوب کادمیوم توسط CaCO₃ و از طرفی pH بالای خاک سبب کاهش انحلال کادمیوم و جذب آن توسط گیاه می‌شود. همانطور که در ابتدای بخش نتایج گفته شد با آلوده کردن خاک به کادمیوم در دو سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و پس از سه هفته خوابانیدن مقدار کادمیوم قابل استخراج با DTPA در این خاک‌ها به ترتیب ۱۵/۲ و

با کاربرد ۳۰ میلی‌مول NTA در هر گلدان بیشترین مقدار کادمیوم در زه‌آب خاک کشت شده مشاهده گردید که در آلودگی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک این مقدار به حداکثر خود رسید (شکل ۱). کاربرد ۳۰ میلی‌مول NTA در مرحله سوم آبشویی نسبت به عدم کاربرد NTA در این مرحله موجب استخراج کادمیوم بیشتری در خاک‌های با آلودگی ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم گردید و این افزایش در سطح آلودگی ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم معنی‌دار بود (شکل ۱). این نتایج با یافته‌های وانگ و همکاران (۳۸) و زو و همکاران (۴۶) مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که مقدار فلزات سنگین استخراج شده علاوه بر نوع فلزات سنگین به مقدار این فلزات در خاک نیز بستگی دارد. همچنین مطالعات مختلف افزایش معنی‌دار انحلال کادمیوم با کاربرد NTA را گزارش نمودند. اختر و آیرام (۱) و نقی‌پور و همکاران (۲۷) با آزمایشات خود روی EDTA و NTA نشان دادند که با وجود اینکه EDTA کلاته‌کننده قوی‌تری برای فلزات سنگین است ولی در مورد فلز کادمیوم NTA کلات‌کننده بهتری دیده شد و مقدار استخراج کادمیوم با NTA بیشتر از EDTA بود. نقی‌پور و همکاران (۲۷) در آزمایش ستونی روی خاک لوم رسی جهت استخراج فلزات سنگین کادمیوم، سرب و روی با استفاده از دو کلات‌کننده NTA و EDTA نشان دادند که استخراج فلزات سنگین برای NTA و EDTA به ترتیب Cd > Zn > Pb و Cd > Zn > Pb بوده است.

اثر متقابل دور آبیاری و سطوح کادمیوم و همچنین دور آبیاری و سطوح NTA در خاک کشت نشده در شکل‌های ۲a و ۲b نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در دور اول آبیاری میزان

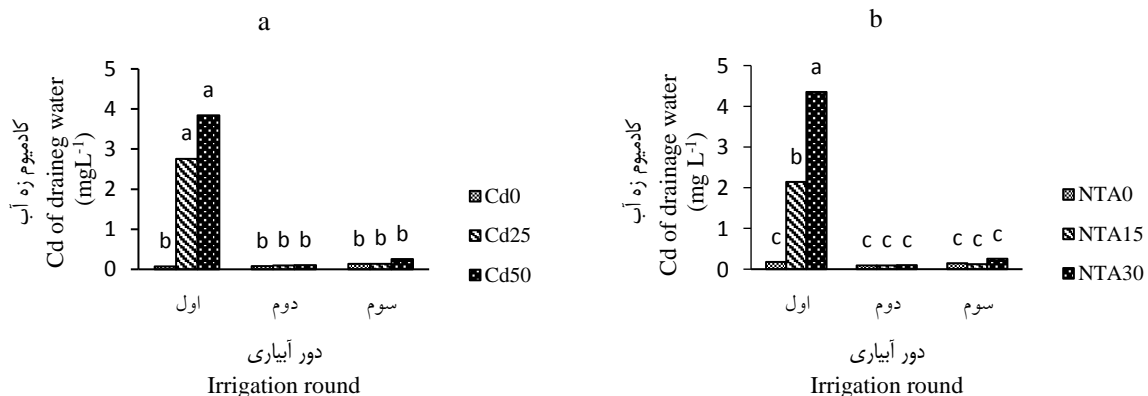
تأثیر NTA مصرفی بصورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳a و ۳b). مطابق مطالعات هنت‌ریچ و همکاران (۱۰) NTA که یک کلات سه دندانه است قادر است با کلسیم کلات نسبتاً قوی را تشکیل دهد. همچنین اندرسون و همکاران (۳) اظهارداشتند که NTA قدرت کلات‌کنندگی یون‌های کلسیم و منیزیم را دارد هر چند این کلات‌کنندگی با قدرت کمتری نسبت به فلزات کادمیوم، روی، مس، آهن صورت می‌پذیرد. بنابراین افزایش pH در زه‌آب‌ها با افزایش NTA مصرفی را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که NTA با تجزیه و محلول کردن کربنات کلسیم خاک و سپس تشکیل کلات با کلسیم سبب انتقال آن به زه‌آب و افزایش pH در زه‌آب شده است. از طرفی با افزودن کلات NTA به خاک یون بی‌کربنات بصورت معنی‌داری در این زه‌آب‌ها افزایش یافت (شکل ۴) و سبب افزایش معنی‌دار pH در این تیمارها شده است.

۳۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک اندازه‌گیری شد و از آنجا که در فواصل دوره‌های آبیاری شرایط رطوبتی و دمایی گل‌دان‌ها مناسب و نزدیک به دوره خوابانیدن نگه داشته شد (رطوبت در طی کشت حدود ۷۰-۸۰ درصد ظرفیت زراعی بود)، لذا علاوه بر خروج کادمیوم در خاک طی آبیاری، احتمال تبادل و تغییر در کادمیوم باقیمانده در خاک وجود داشته است و NTA قادر به محلول کردن کادمیوم نبوده است. مطابق یافته‌های هوانگ و همکاران (۱۲) و جلالی و روستایی (۱۴) با افزایش زمان خوابانیدن از اشکال محلول و قابل تبادل کادمیوم کاسته شده و به شکل باقیمانده در خاک افزوده می‌گردد. در آزمایش حاضر نیز احتمالاً با گذشت زمان NTA استفاده شده قادر به محلول کردن کادمیوم و استخراج آن نبوده است. اثرات متقابل مربوط به دور آبیاری و سطوح NTA مصرفی بر pH زه‌آب اثر معنی‌داری نشان داد (شکل ۳) و با افزایش دور آبیاری میزان pH زه‌آب‌ها در هر دو خاک کشت شده و کشت نشده تحت



شکل ۱- تأثیر متقابل دور آبیاری، سطوح کادمیوم و NTA بر غلظت کادمیوم زه‌آب خاک کشت شده

Figure 1- Contrast effect of irrigation round, Cd and NTA levels on Cd concentration in drainage water of cultured soil



شکل ۲- تأثیر متقابل دور آبیاری، سطوح کادمیوم (a) و NTA (b) بر غلظت کادمیوم زه‌آب خاک کشت نشده

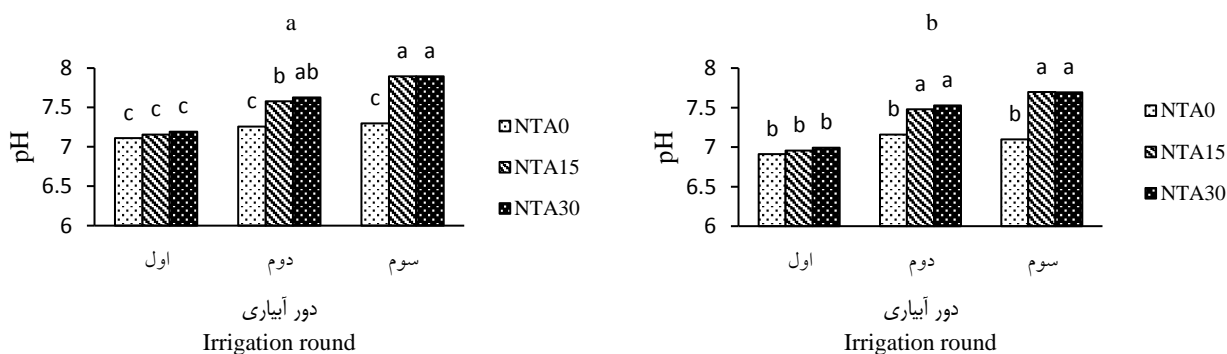
Figure 2- Contrast effect of irrigation round and Cd (a) and NTA (b) levels on Cd concentration in drainage water of non-cultured soil

تیمارها افزایش یافته است. از طرفی مقادیر EC نسبتاً بالای محلول های NTA مصرفی (جدول ۲)، مقادیر EC زه آبها را بصورت معنی-داری افزایش داده است. بنابراین آنچه سبب افزایش EC در زه آبها شده است استفاده از محلول های ۱۵ و ۳۰ میلی مول در لیتر NTA و همچنین وجود نمک CdCl₂ در تیمارهای آلوده به کادمیوم است. علاوه بر شوری ناشی از این ترکیبات، NTA قادر به کلات کردن کلسیم و منیزیم و برخی کاتیون های دیگر موجود در خاک است (۲۵) و با افزایش آن ها در زه آب EC افزایش می یابد. همچنین با افزایش دور آبیاری و احتمالاً افزایش آنیون ها و کاتیون های شسته شده مقدار شوری زه آبها افزایش یافته است. قابل ذکر است که کلات NTA پس از تجزیه تولید CO₂ و NH₃ می کند (۵) که در محیط حاوی آب احتمال تشکیل یون بیکرینات و آمونیوم وجود دارد و این یون ها بر افزایش pH و EC زه آبها مؤثر هستند.

نتایج پالایش کادمیوم توسط گیاه ذرت

با توجه به جدول ۴، اثرات اصلی و اثرات متقابل پارامترهای کادمیوم و NTA بر میزان کادمیوم و وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه معنی دار هستند.

با افزایش کاربرد NTA مصرفی و آلودگی به کادمیوم خاک، مقدار بیکرینات در زه آب افزایش یافت و در دور سوم آبیاری به حداکثر خود رسید (شکل ۴a و ۴b). تفاوت بین تیمارهای مختلف بر بیکرینات زه آب در دوره های آبیاری مختلف از خاک کشت شده نسبت به خاک کشت نشده بیشتر مشهود بود (شکل ۴a و ۴b). احتمالاً حضور ریشه گیاه در این تیمارها و شرایط خاص ریزوسفر از جمله ترشحات اسیدهای آلی و تغییر اسیدیته در آن ها نسبت به تیمارهای کشت نشده سبب تشدید انحلال کربنات کلسیم در خاک شده و به دنبال آن یون های بیکرینات در زه آب این تیمارها افزایش بیشتری داشته است. مطالعه نتایج EC در زه آبها نشان دارد که EC تیمارهای کشت شده (شکل ۵a) بیشتر از کشت نشده (شکل ۵b) بود. احتمالاً دلیل افزایش EC در این تیمارها استفاده از کودهای NPK در خاک و همچنین فعالیت ریشه و تبادلات یون های مختلف توسط ریشه گیاه است. بنابراین پس از آبشویی بخشی از کودها و عناصر مختلف دیگر، EC افزایش یافته است. مطابق شکل ۵ دلیل افزایش شوری زه آبها با افزایش مقدار سطوح آلودگی به کادمیوم و NTA را می تواند به شوری ایجاد شده از محلول های کادمیومی و NTA نسبت داد. به دلیل استفاده از نمک کلرید کادمیوم جهت آلوده کردن خاک در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم، میزان EC در زه آب این



شکل ۳- تأثیر متقابل دور آبیاری و سطوح NTA بر pH زه آب خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)

Figure 3- Contrast effect of irrigation round and NTA levels on pH in drainage water of cultured soil (a) non-cultured soil (b)

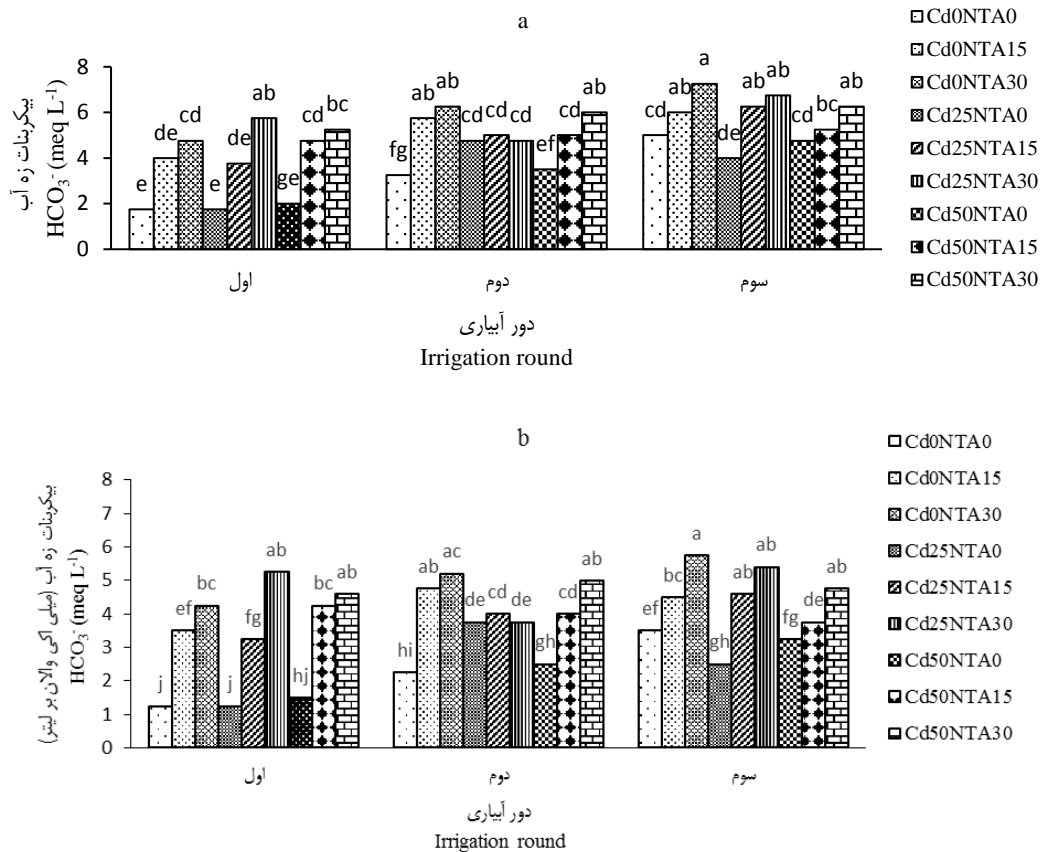
جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر کادمیوم و NTA بر غلظت کادمیوم و وزن خشک اندام هوایی و ریشه

Table 4- Variance analysis of effect Cd and NTA on Cd concentration and dry weight in shoot and root

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	غلظت کادمیوم Cd concentration		وزن خشک Dry weight	
		اندام هوایی Shoot	ریشه Root	اندام هوایی Shoot	ریشه Root
		کادمیوم (Cd)	2	15541.2**	119057.8**
NTA	2	1862.2**	8968.2**	24**	6.7**
NTA × Cd	4	619.1**	3495.9**	4.8*	0.98**
خطا (Error)	18	0.69	76.6	1.6	0.2
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	-	0.3	1	1.1	1.2

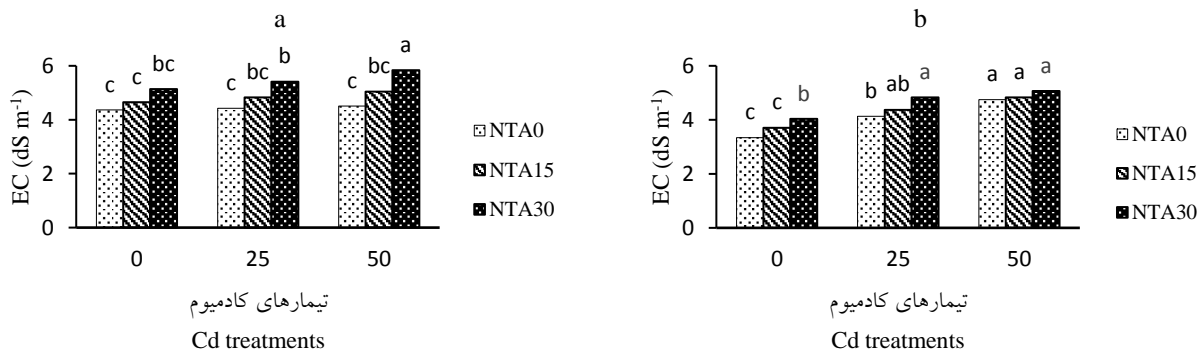
ns عدم وجود اختلاف معنی دار، * معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

ns Not significant, * Significant at 5% probability level, ** Significant at 5% probability level.



شکل ۴- تأثیر متقابل دور آبیاری، سطوح کادمیوم و NTA بر بیکربنات زه آب خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)

Figure 4- Contrast effect of irrigation round, Cd and NTA levels on HCO_3^- in drainage water of cultured soil (a) non-cultured soil (b)



شکل ۵- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر EC زه آب خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)

Figure 5- Contrast effect of Cd and NTA levels on EC in drainage water of cultured soil (a) non-cultured soil (b)

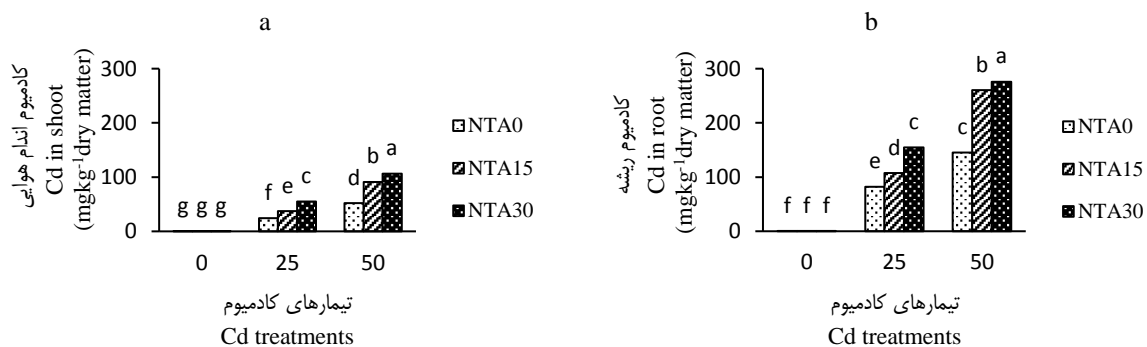
کیلوگرم کادمیوم نسبت به تیمار بدون کاربرد NTA در همان سطح کادمیوم بصورت معنی داری بیشتر است (شکل a و b). غلظت کادمیوم در اندام هوایی و ریشه گیاه در کاربرد ۳۰ میلی مول NTA نسبت به عدم کاربرد NTA به ترتیب ۲ و ۱/۸ برابر افزایش نشان داد. با توجه به اینکه در افزایش جذب کادمیوم توسط گیاه برخی

تأثیر متقابل تیمارهای کادمیومی و NTA در افزایش غلظت کادمیوم گیاه نشان داد که کاربرد NTA با افزایش سطوح آلودگی کادمیوم موجب افزایش معنی داری بر غلظت کادمیوم گیاه شده است (شکل ۶). میزان کادمیوم در اندام هوایی و ریشه در تیمارهایی با مقدار ۱۵ و ۳۰ میلی مول NTA و در سطح آلودگی ۵۰ میلی گرم در

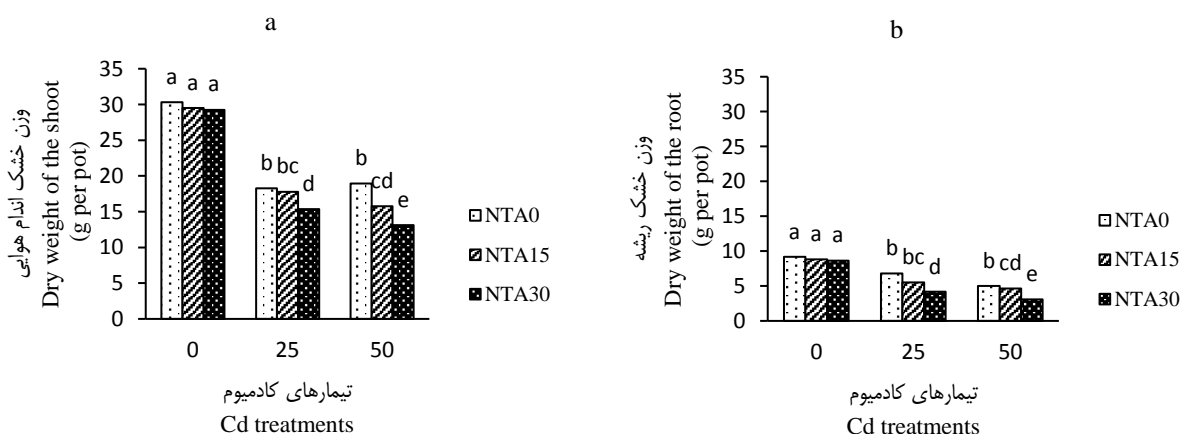
۳۰ میلی‌مول NTA نسبت به شاهد به ترتیب ۳۰ و ۴۰ درصد کاهش نشان‌داد (شکل ۷a و ۷b). مطالعات نشان داده است که کادمیوم از تقسیم و رشد سلول‌های منطقه مریستمی جلوگیری می‌کند و سبب چوبی‌شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد و به دنبال آن کاهش رشد ریشه می‌شود و در نهایت سبب کاهش وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی گیاه می‌گردد (۴۲). رشد یکی از بهترین شاخص‌ها برای ارزیابی پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی می‌باشد. کاهش وزن خشک گیاه ناشی از سمیت کادمیوم به علت کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش متابولیسم کربوهیدرات و ایجاد کلروز است و همچنین می‌تواند به دلیل جلوگیری از جذب عناصر و اختلال در سیستم غشایی ریشه باشد (۴۲). به دنبال کاهش رشد ریشه، میزان جذب آب و یون‌های معدنی کاهش می‌یابد. بابولا و همکاران (۴) گزارش نمودند که کادمیوم باعث برهم‌خوردن تعادل آبی و به دنبال آن احتمالاً سبب اختلال در ویژگی‌های تغذیه‌ای سلول شده که این‌ها یکی از مهمترین دلایل کاهش وزن خشک گیاه می‌باشد.

خصوصیات خاک نظیر pH و غلظت کل فلز بر کارایی مواد بهساز و کلات‌کننده مؤثر هستند (۲۰)، بنابراین این نتایج را می‌توان به سطح بالای کادمیوم در خاک نیز نسبت داد. مطالعات ونزل و همکاران (۴۰) نشان داد که اضافه کردن NTA باعث می‌شود که گیاه کلزا میزان روی و کادمیوم بیشتری را در خود ذخیره کند. زائو و همکاران (۴۵) نیز بیان کردند با بیشترین مقدار NTA مصرفی در آزمایش آن‌ها (۱۵ میلی‌مول در هر کیلوگرم خاک) و در طی سه مرحله به خاک بیشترین جذب کادمیوم در گیاه و کمترین میزان آبشویی آن از خاک مشاهده شده است. کایسر و همکاران (۱۶) با مطالعه اثر تزریق NTA در محیط ریزوسفر گیاه طی گیاه‌پالایی در خاک‌های آهکی بیان کردند که مقدار جذب کادمیوم، روی و مس در گیاه با استفاده از NTA افزایش می‌یابد.

مقادیر وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه با افزایش کادمیوم جذب شده در گیاه کاهش یافته است (شکل ۷). بطوری‌که وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم با کاربرد



شکل ۶- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر غلظت کادمیوم در اندام هوایی (a) و ریشه (b)
Figure 6- Contrast Effect of Cd and NTA levels on Cd concentration in shoot and root



شکل ۷- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر وزن خشک اندام هوایی (a) و ریشه (b)
Figure 7- Contrast Effect of Cd and NTA levels on dry weight of the shoot and root

جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر کادمیوم و NTA بر کادمیوم قابل جذب، pH، EC و کربنات کلسیم معادل در خاک کشت شده و کشت نشده
Table 5- Variance analysis of effect Cd and NTA on DTPA-extractable Cd, pH, EC and CCE of cultured and non-cultured soil

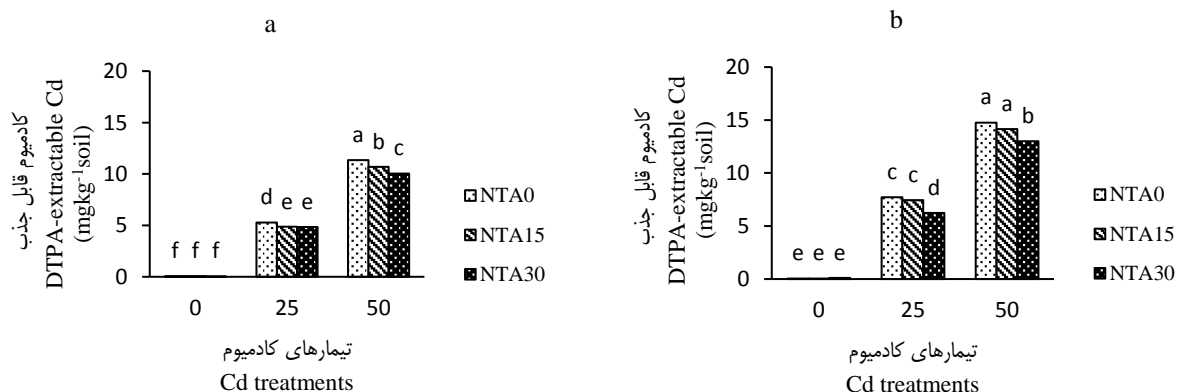
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	خاک کشت شده Cultured soil				خاک کشت نشده Non-cultured soil			
		pH	EC	کربنات	کادمیوم قابل	pH	EC	کربنات	کادمیوم قابل
				کلسیم CCE (%)	جذب DTPA- extractable Cd			کلسیم CCE (%)	جذب DTPA- extractable Cd
کادمیوم (Cd)	2	0.06**	0.8**	0.54**	255.28**	0.02*	0.23**	0.25**	434.97**
NTA	2	0.03*	0.07ns	0.34**	0.22**	0.03**	0.04*	14.8**	2.59**
NTA × Cd	4	0.02**	0.02*	0.27*	0.62**	0.02**	0.03*	0.05*	0.79*
خطا (Error)	18	0.01	0.01	0.08	0.024	0.01	0.01	0.03	0.245
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	-	0.2	3.01	0.15	0.6	0.08	1.6	0.08	1.34

ns عدم وجود اختلاف معنی دار، * معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد
ns Not significant, * Significant at 5% probability level, ** Significant at 5% probability level.

شده به دلیل جذب بخشی از کادمیوم قابل جذب توسط گیاه، میزان کادمیوم قابل جذب باقیمانده در خاک کمتر بوده است. NTA به دلیل اثری که بر روی کاهش pH خاک داشته (شکل ۹) و همچنین به دلیل تشکیل کلات با کادمیوم سبب شده است که کادمیوم با سهولت بیشتری به فرم محلول تبدیل شده و جذب گیاه شود و یا طی عمل آیشویی از خاک خارج گردد و به همین دلیل در تیمارهای کاربرد ۳۰ میلی مول NTA کمترین میزان کادمیوم قابل جذب در خاک مشاهده شد. بنابراین می توان گفت که کلات NTA در افزایش انحلال فلز سنگین کادمیوم موفق عمل کرده است و قابلیت دسترسی عنصر کادمیوم در خاک را افزایش داده است. این نتایج با مطالعات سلیمانی و همکاران (۳۳) مطابقت دارد. آن ها بیان کردند که با افزایش سطوح EDTA، NTA و اسید هومیک مصرفی میزان کادمیوم، سرب و مس شسته شده از خاک افزایش می یابد.

نتایج بررسی خاک

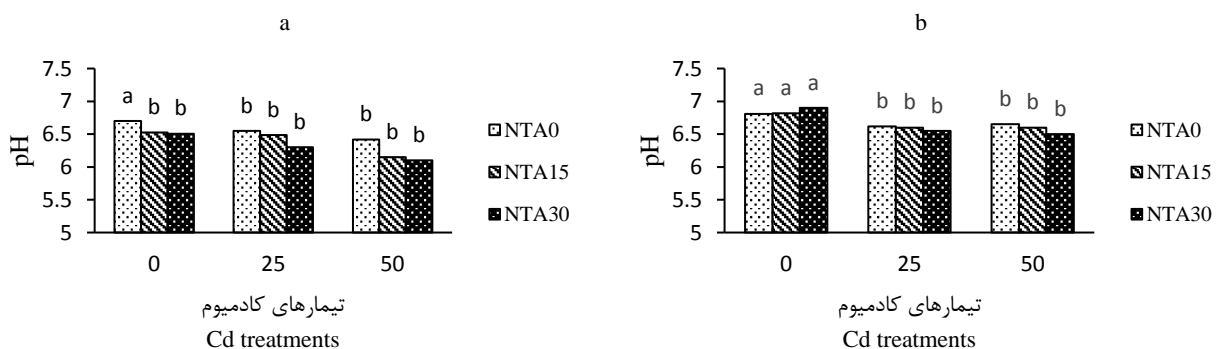
با توجه به جدول ۵، سطح معنی داری اثرات اصلی و اثرات متقابل غلظت کادمیوم و NTA بر میزان کادمیوم قابل جذب (استخراج شده با DTPA)، pH، EC و درصد کربنات کلسیم خاک قابل مشاهده است. کادمیوم قابل جذب (استخراج شده با DTPA) تحت تأثیر اثر متقابل کادمیوم و NTA در خاک کشت شده و کشت نشده به ترتیب در شکل های a8 و b8 نشان داده شده است. پس از کشت گیاه و عمل آیشویی، حداکثر میزان کادمیوم قابل جذب خاک در تیمار ۵۰ میلی گرم کادمیوم در عدم کاربرد NTA مشاهده گردید. در حالی که با کاربرد ۱۵ و ۳۰ میلی مول بر لیتر NTA در همین سطح از آلودگی، کاهش معنی داری در کادمیوم قابل جذب خاک مشاهده گردید (شکل a8). مشابه همین نتایج در خاک در عدم حضور گیاه دیده شد و در سطح آلودگی ۵۰ میلی گرم کادمیوم و عدم کاربرد NTA بیشترین کادمیوم قابل جذب اندازه گیری گردید (شکل b8). در خاک کشت



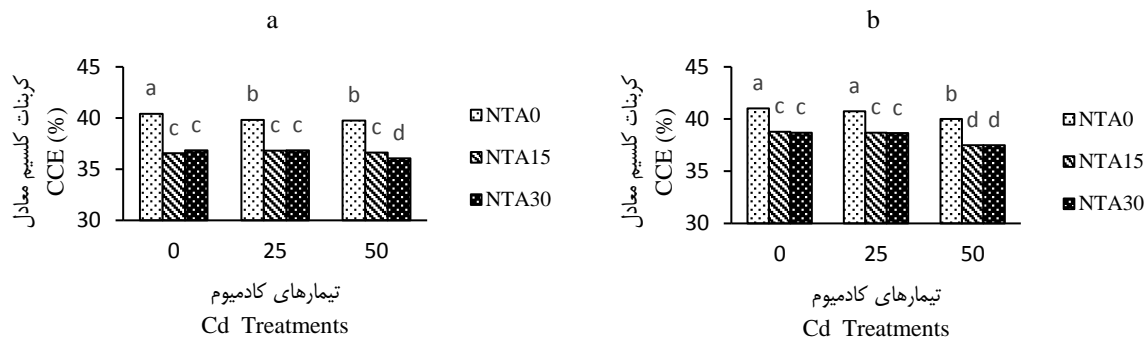
شکل ۸- میانگین اثر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر کادمیوم قابل جذب در خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)
Figure 8- Contrast effect of Cd and NTA levels on DTPA-extractable Cd in cultured soil (a) non-cultured soil (b)

دیده شد و EC در تیمارهای ۵۰ میلی گرم کادمیوم با کاربرد ۳۰ میلی مول NTA نسبت به خاک شاهد در خاک کشت شده ۱/۵ واحد و در خاک کشت نشده ۱ واحد افزایش نشان داد (شکل های a۱۱ و b۱۱). بطور کلی خاک کشت شده دارای pH کمتر و EC بیشتری نسبت به خاک کشت نشده بود. مقدار pH کمتر تیمارهای کشت شده را می توان به فعالیت ریشه گیاه و ترشح اسیدهای آلی در خاک نسبت داد و همچنین EC بالاتر این تیمارها احتمالاً به دلیل کوددهی تیمارهای تحت کشت است. با توجه به سه مرحله آبشویی تفاوت های pH و EC خاک در بین تیمارهای کشت شده با کشت نشده در انتهای آزمایش ها کمتر شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که pH و EC خاک در فراهمی و جذب فلزات سنگین توسط گیاهان مؤثر هستند، بطوری که قابلیت دسترسی کادمیوم بعد از کاربرد NTA و مراحل آبشویی خاک تحت تأثیر کاهش pH خاک افزایش یافته است. وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیبات کلات و فلزات سبب می گردد که فلزات کمتر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گیرند و در نتیجه مانع رسوب و تثبیت آن ها در خاک می شوند. از طرفی کلات ها توسط ریشه گیاهان قابل جذب هستند و می توانند فلزات را از فاز جامد و غیرمحلول به فازهای تبادل انتقال دهند (۷) و از این طریق جذب فلزات توسط گیاهان و همچنین پتانسیل آبشویی فلزات را در خاک افزایش دهند. بنابراین می توان گفت یکی از راهکارهای اثرگذار در افزایش جذب فلزات از خاک توسط گیاه، کاهش pH خاک است. به عبارتی برخی خصوصیات خاک نظیر pH و غلظت کل فلز، کارایی مواد بهساز را افزایش می- دهد (۲۰).

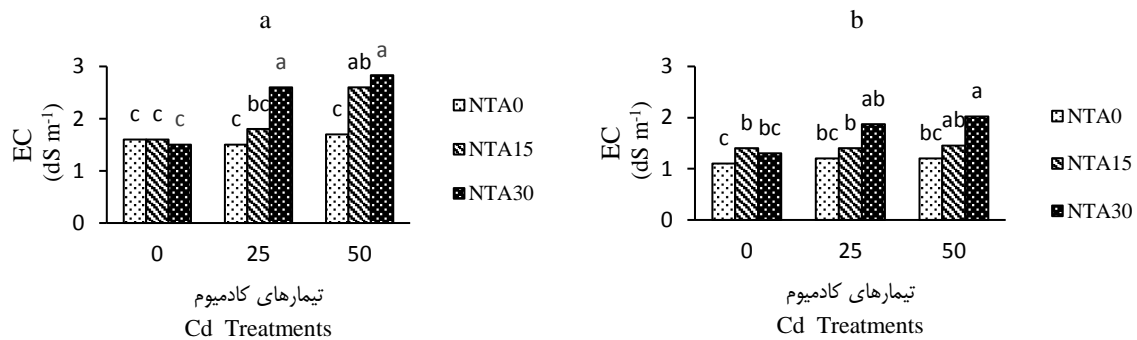
با توجه به نتایج شکل a۱۰، در خاک کشت شده کمترین درصد کربنات کلسیم با ۳۶ درصد در تیمار ۳۰ میلی مول NTA در سطح آلودگی ۵۰ میلی گرم کادمیوم دیده شد که نسبت به تیمار عدم کاربرد NTA و بدون آلودگی کادمیوم (با ۴۰ درصد کربنات کلسیم) میزان ۱۰ درصد کاهش نشان داد. این نشان دهنده انحلال بیشتر کربنات کلسیم خاک در استفاده از سطوح بالای تیمارهای مورد استفاده است. نتایج مشابه در شکل b۱۰ مربوط به خاک کشت نشده دیده شد با این تفاوت که کربنات کلسیم در این تیمارها کاهش کمتری نشان داد. این نتایج را می توان به عدم حضور ریشه گیاه در این تیمارها نسبت داد. احتمالاً ریشه گیاه با ترشحات خود و اسیدی تر کردن محیط خاک شرایط انحلال کربنات کلسیم و آبشویی آن را فراهم می نماید. در خاک کشت نشده نیز کمترین کربنات کلسیم با ۳۷/۵ درصد در تیمارهای ۱۵ و ۳۰ میلی مول NTA در سطح آلودگی ۵۰ میلی گرم کادمیوم مشاهده گردید. کلات NTA در افزایش انحلال فلز سنگین کادمیوم موفق عمل کرد و قابلیت دسترسی عنصر کادمیوم در خاک آهکی را با افزایش انحلال رسوبات آهکی به دنبال داشت (شکل ۱۰). این مواد به دلیل داشتن کربوکسیل و آمین در ساختار خود با یون های فلزی موجود در خاک پیوند برقرار می کنند که به آزادسازی یون های H+ منجر می شود (۱۱)، بنابراین می توان کاهش pH با کاربرد NTA در خاک را به دلیل رهاسازی بیشتر یون هیدروژن نسبت داد. نتایج تغییرات pH و EC خاک در پایان آزمایش ها نشان داد که کمترین pH در تیمارهای ۵۰ میلی گرم کادمیوم با کاربرد ۳۰ میلی مول NTA مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد حدود ۰/۶ واحد در هر دو خاک کشت شده و کشت نشده کاهش داشت (شکل های a۹ و b۹). در حالی که در مورد تغییرات EC خاک عکس این نتایج



شکل ۹- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر pH در خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)
 Figure 9- Contrast Effect of Cd and NTA levels pH in cultured soil (a) non-cultured soil (b)



شکل ۱۰- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر کربنات کلسیم معادل (درصد) در خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)
 Figure 10- Contrast Effect of Cd and NTA levels on CCE (%) in cultured soil (a) non-cultured soil (b)



شکل ۱۱- تأثیر متقابل سطوح کادمیوم و NTA بر EC (dS m⁻¹) در خاک کشت شده (a) و کشت نشده (b)
 Figure 11- Contrast Effect of Cd and NTA levels EC (dS m⁻¹) in cultured soil (a) non-cultured soil (b)

خطرناک باشد و از ادامه رشد گیاه جلوگیری نماید. با توجه به این نتایج می‌توان پیشنهاد کرد برای فلزات سنگین با تحرک بالا مانند کادمیوم در خاک با کاربرد کلات‌کننده NTA و با یک دور آبیاری، بخشی از کادمیوم خاک را شسته و با کمک زهکش از منطقه خارج نمود و همزمان شرایط جذب کادمیوم توسط گیاه طی گیاه‌پالایی را نیز فراهم نمود. ولی قابل ذکر است که در سطوح بالای آلودگی کادمیوم می‌توان با کاربرد NTA به میزان کمتر (۱۵ میلی‌مول) در گیاه‌پالایی کادمیوم در خاک افزایش قابل ملاحظه‌ای مشاهده نمود و از طرفی از پرداخت هزینه‌های اضافه جهت خریداری مقادیر بیشتر NTA برای نرخ مصرف بالاتر جلوگیری کرد. ولی چنانچه هدف آبخوبی و استخراج کادمیوم از خاک باشد، بسته به مقدار آلودگی استفاده از مقادیر بالاتر NTA توصیه می‌گردد. مطابق نتایج اثر پالایش کادمیوم توسط گیاه ذرت را در خاک افزایش داد و باعث خارج ساختن کادمیوم از خاک از طریق آبخوبی شد. بدین صورت با کمک NTA که یک کلات‌کننده طبیعی و دوستدار محیط زیست است و دارای قابلیت تجزیه پذیری کمتر از ۷ روز در خاک است می‌تواند کادمیوم خاک را از طریق آبخوبی خارج نمود و یا راندمان پالایش فلز سنگین کادمیوم در روش‌های گیاه‌پالایی را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

حذف و استخراج فلز سمی کادمیوم از خاک بستگی به غلظت کلات‌کننده مورد استفاده، غلظت فلز سنگین و دور آبیاری (نرخ آبخوبی) دارد. با افزایش دور آبیاری میزان کادمیوم شسته شده از خاک کاهش یافت. به دلیل تحرک بالای کادمیوم در خاک و بویژه استفاده از کلات‌کننده NTA در دور اول آبخوبی در مقایسه با دور دوم و سوم آبخوبی مقدار کادمیوم بیشتری در زه‌آب مشاهده شد. بدین صورت که در دور اول آبیاری ۹/۱۳ و ۳/۸۸ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم به ترتیب در عدم حضور گیاه و شرایط حضور گیاه در تیمارهای دارای سطح کادمیوم ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۳۰ میلی‌مول NTA شسته شد که این مقادیر به ترتیب معادل ۱۸ درصد و ۸ درصد کادمیوم کل خاک (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) است. در سطح کادمیوم ۵۰ میلی‌گرم با کاربرد ۳۰ میلی‌مول NTA نسبت به عدم کاربرد NTA جذب کادمیوم توسط گیاه ۵۷ درصد افزایش یافت ولی سبب کاهش شدید عملکرد وزن خشک گیاه شد. بطوری که وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه به ترتیب ۳۰ و ۴۰ درصد کاهش نشان‌داد. این سطح بالای جذب کادمیوم و کاهش عملکرد می‌تواند برای گیاه

منابع

- 1- Akhtar S., and Iram S. 2014. Effect of chelating agents on heavy metal extraction from contaminated soils. Research Journal Chemical Sciences 4(9): 70-87.
- 2- Allen S.E., Grimshaw H.M., and Rowland A.P. 1986. Chemical analysis. p. 285-344. In: Moore, P.D., Chapman, S.B. (ed.) Methods in Plant Ecology. Blackwell Scientific Publication, Oxford, London.
- 3- Anderson R.L., Bishop W.E., and Campbell R.L. 1985. A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrilotriacetic acid. Critical Reviews Toxicology 15(1): 1-102.
- 4- Babula P., Ryant P., and Adam V. 2009. The role of sulphur in cadmium ions detoxification demonstrated in invitro model: *Dionaea muscipula*. Environment Chemistry 7(4): 353-361.
- 5- Bai W. 2018. Effects of Application of NTA and EDTA on Accumulation of Soil Heavy Metals in *Chrysanthemum*. p. 1-7. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- 6- Brennan R.F., Armour J.D., and Reuter D.J. 1993. Diagnosis of zinc deficiency. p. 167-181. In A.D. Robson (ed.) Zinc in Soils and Plants, P206. Springer, Netherlands.
- 7- Clemens S., Palmgren M.G., and Kramer U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Journal of Trends in Plant Science 7(7): 309-315.
- 8- Day P.R. 1982. Particle fractionation and particle-size analysis. p: 935-951. In Methods of soil analysis. Page, A.L., R.H. Miller, D.R. Keeney (ed.). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- 9- Evangelou M., Ebel W.H.M., and Schaeffer A. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soils. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. Chemosphere 68(6): 989-1003.
- 10- Hentrich D., Tauer K., Espanol M., Ginebra M.P., and Taubert A. 2017. EDTA and NTA effectively tune the mineralization of calcium phosphate from bulk aqueous solution. Biomimetics 2(24): 1-21.
- 11- Holleman A.F., and Wiberg E. 2001. Inorganic Chemistry. San Diego, Academic Press. Berlin, New York.
- 12- Huang B., Li Z., Huang J., Chen G., Nie X., Ma W., Yao H., Zhen J., and Zeng G. 2015. Aging effect on the leaching behavior of heavy metals (Cu, Zn, and Cd) in red paddy soil. Environmental Science and Pollution Research 22(15): 11467-11477.
- 13- International Joint Commission. 1977. A report to the Great Lakes Research Advisory Board of the International Joint Commission on the health implications of NTA. Windsor, Canada.
- 14- Jalali M., and Rostaii L. 2011. Cadmium distribution in plant residues amended calcareous soils as a function of incubation time. Archives of Agronomy and Soil Science 57(2): 137-148.
- 15- Karimi R., Chorom M., Solhi S., Solhi M., and Safe A. 2012. Potential of *Vicia faba* and *Brassica arvensis* for phytoextraction of soil contaminated with cadmium, lead and nickel. African Journal of Agricultural Research 7(22): 3293-3301.
- 16- 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(9): 1778-1783.
- 17- Khalkhaliani Z.N., Mesdaghinia A., and Mahvi A. 2006. An experimental study of heavy metal extraction, using various concentration of EDTA in a sandy loam soils. Pakistan Journal of Biological Sciences 9(5): 837-842.
- 18- Konate A., He X., Zhang Z., Ma Y., Zhang P., Alugongo G.M., and Rui Y. 2017. Magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. Sustainability 9(5): 790-806.
- 19- Lan J., Zhang S., Lin H., Li T., Xu X., Li Y., Jia Y., and Gong G. 2013. Efficiency of biodegradable EDDS, NTA and APAM on enhancing the phytoextraction of cadmium by *Siegesbeckia orientalis* L. grown in Cd-contaminated soils. Chemosphere 91(9): 1362-1367.
- 20- Lim T.T., Tay J.H., and Wang J.Y. 2004. Chelating-agent enhanced heavy metal extraction from a contaminated acidic soil. Journal of Environmental Engineering 130(1): 59-66.
- 21- Liu L., Li W., Song W., and Guo M. 2018. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. Science of the Total Environment 633:206-219.
- 22- Loppert R.H., and Suarez D.L. 1996. Carbonate and gypsum. p. 437- 474. In D.L. Sparks et al. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3. ASA and SSSA, Madison, WI.
- 23- Mahvi A., Mesdaghinia A., and Naghipoor D. 2005. Comparison of heavy metals extraction in contaminated soils by various concentrations of EDTA. Journal of Biological Sciences 8(8): 1081-1085.
- 24- Majer B.J., Tscherko D., and Paschke A. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. Mutation Research 515(1-2): 111-124.
- 25- Martell A.E., and Smith R.M. 1974. Critical Stability Constants. Vol. 1, Amino Acids, New York, Plenum.
- 26- Mauskar J.M. 2007. Cadmium-an environment toxicant. Central Pollution Control Board. Ministry of Environment and Forests, Govt of India, Parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Delhi-110032.

- 27- Naghipour D., Jaafari J., Ashrafi S.D., and Mahvi A.H. 2017. Remediation of heavy metals contaminated silty clay loam soil by column extraction with Ethylenediaminetetraacetic Acid and Nitrilo Triacetic Acid. *Journal of Environmental Engineering* 143(8): 04017026.
- 28- Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Circ. 939. U. S. Gov. Print. Office, Washington, DC.
- 29- Ozkan A., Gunkaya Z., and Banar M. 2016. Pyrolysis of plants after phytoremediation of contaminated soil with lead, cadmium and zinc. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 96(3):415-419.
- 30- Quartacci M.F., Baker A.J.M., and Navari-Izzo F. 2005. Nitriooacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae). *Chemosphere* 59(9): 1249-1255.
- 31- Sarwar N., Imran M., Shaheen M.R., Ishaq W., Kamran A., Matloob A., Rehim A., and Hussain S. 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171: 710-721.
- 32- Shen Z.G., Li X.D., Wang C.C., Chen H.M., and Chua H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality* 31(6): 1893-1900.
- 33- Soleimani M., Hajabbasi M.A., Afyuni M., Akbar S., Jensen J.K., Holm P.E., and Borggaard O.K. 2010. Comparison of natural humic substances and synthetic ethylenediaminetetraacetic acid and nitrilotriacetic acid as washing agents of a heavy metal polluted soil. *Journal of Environmental Quality* 39(3): 855-862.
- 34- Sumner M.E., and Miller W.P. 1996. Cation exchange capacity, and exchange coefficients. p. 1201-1231. In D.L. Sparks (ed.), *Methods of soil analysis*. p1320. Part 2: Chemical properties, (3rd ed.) ASA, SSSA, CSSA, Madison, WI.
- 35- Thangavel P., and Subhram C.V. 2004. Phytoextraction: role of hyper accumulators in metal contaminated soils. *Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B* 70(1): 109-130.
- 36- Turan M., and Esringu A. 2007. Phytoremediation based on canola (*Brassica napus* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb, and Zn. *Plant, Soil and Environment*, 53(1): 7-15.
- 37- Walkley A., and Black I.A. 1934. Review examination of the degtjareff method determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Journal of Soil Science* 34: 29-38.
- 38- Wang G., Zhang S., Xu X., Li T., Li Y., Deng O., and Gong G. 2014. Efficiency of nanoscale zero-valent iron on the enhanced low molecular weight organic acid removal Pb from contaminated soil. *Chemosphere* 117: 617-624.
- 39- Wei S., Teixeira Da Silva J.A., and Zhou Q. 2008. Agro-improving method of phytoextracting heavy metal contaminated soil. *Journal of Hazard Materials* 150(3): 662-668.
- 40- Wenzel W.W., Unterbrunner R., Sommer P., and Pasqualina S. 2003. Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant and Soil*, 249(1): 83-96.
- 41- Wilcox L.V. 1951. A method for calculating the saturation percentage from the weight of a known volume of saturated soil paste. *Journal of Soil Science* 73 (3): 233-238.
- 42- Wu J., Hsu F., and Cunningham S. 1999. Chelate-assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation constrains. *Environmental Science and Technology*, 33(11): 1898-1904.
- 43- Yanai J., Zhao F.J., and McGrath S.P. 2006. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environmental Pollution* 139(1): 167-175.
- 44- Zhang L., Zhang L., and Song F. 2008. Cadmium uptake and distribution by different maize genotypes in maturing stag. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 39(9-10): 1517-1531.
- 45- Zhao S., Jia L., and Duo L. 2016. Combining nitrilotriacetic acid and permeable barriers for enhanced phytoextraction of heavy metals from municipal solid waste compost by lolium perenne and reduced metal leaching. *Journal of Environmental Quality* 45(3): 933-939.
- 46- Zou Z., Qiu R., Zhang W., Dong H., Zhao Z., Zhang T., Wei X., and Cai X. 2009. The study of operating variables in soil washing with EDTA. *Environmental Pollution* 157(1): 229-236.

Efficiency of *Nitrilo Triacetic Acid* (NTA) on Leaching and Refining of Cadmium from Soil by Maize

N. Mehrab^{1*} - M. Chorom² - M. Norouzi Masir³

Received: 14-01-2019

Accepted: 30-05-2020

Introduction: Decontamination of heavy metals (HMs), especially cadmium (Cd) which has high mobility in the soil, is very important due to the effects of HMs pollution on the soil, environment, and human. Numerous efforts have been made to develop technologies for the remediation of contaminated soils, including ex-situ washing with physical-chemical methods, and the in-situ immobilization of metal pollutants. These methods of clean up are generally very costly, and often harmful to properties of the soil (i.e., texture, organic matter, microorganisms). Recently, the phytoremediation of HMs from contaminated soils has attracted attention for its low cost of implementation and many environmental benefits. Several chelating agents, such as DTPA, EDTA, and NTA, have been studied for their ability to dissolve metals, leach heavy metals, and enhance the uptake of metals by plants. Although many researchers have reported that EDTA is excellent solubilizing agents for HMs from contaminated soils, it is quite persistent in the environment due to the low biodegradability. Hence recently the easily biodegradable chelating agent NTA has been proposed to enhance the uptake of HMs in phytoremediation as well as the leaching of HMs from the soil. Therefore, in the present study attempts are made to investigate the effect of applicability NTA in Cd leaching and the refining of Cd from contaminated-soil by maize.

Materials and Methods: In this research, the effect of NTA on Cd leaching and its absorption by maize in contaminated-soil in a greenhouse experiment were investigated. The experiment was a factorial experiment based on a completely randomized design. The treatments consisted of three levels of Cd contamination (0, 25 and 50 mg kg⁻¹soil) and three levels of NTA (0, 15 and 30 mmol per pot) in loamy soil and in the cultured and non-cultured conditions under three irrigation conditions. The soil was contaminated with *cadmium chloride* (CdCl₂.2.5H₂O). Nitrogen, phosphorus, and potassium (in the form of urea, triple superphosphate and potassium phosphate, respectively) were added to the pots. NTA was added in three steps to the pots. The first step of adding NTA was beginning 4 weeks after cultivation, occurring approximately once in 14 days. Also, 7 days after adding NTA, the pots were irrigated with an amount corresponding to 20% more water than the moisture of soil saturation condition. The drainage water collected from each irrigation event was kept in a refrigerator at 5°C prior to Cd analysis. The plants were cut about 5 mm above the soil surface after 10 weeks of maize growth and were dried for analyzing Cd in the plant. Analysis of variance was used to study the effects of different treatments of Cd and NTA on Cd contents in drainage water, plant, and soil. Statistical analysis were performed using SPSS. Means of treatments were compared using Duncan's Multiple Range Test (DMRT) and the graphs were plotted in Excel.

Results and Discussion: The contrasting impact between irrigation rounds and Cd treatments, as well as NTA treatments on Cd_{total} leached was significant (P<0.05). The highest Cd leached was in 50 mgCd kg⁻¹soil (Cd50) and 30 mmol NTA (NTA30) in the first irrigation round. In the next two rounds, the Cd leached from the soil was inconsiderable. Different levels of Cd and NTA showed a significant difference in Cd concentration in the first round of leaching. In non-cultivated pots, the amount of Cd leaching in Cd50NTA15 and Cd50NTA30 treatments increased by 8 and 15 times, respectively than that in Cd50NTA0 treatment. In the case of similar treatments in the presence of maize, the Cd leaching rate increased by 5.8 and 6 times, respectively, than that in (NTA0). Cd absorbed by maize in (Cd50, NTA30) was maximum and that measured 58% more than that in (Cd50, NTA0), while dry weight decreased significantly (30% in the shoot and 40% in the root). After the cultivation and leaching process, the maximum amount of DTPA-extractable Cd was observed in (Cd50, NTA0). While using (NTA15, NTA30) at the same level of Cd-contamination (Cd50), there was a significant decrease in DTPA-extractable Cd (due to the increase in Cd dissolved, Cd leached and Cd absorbed by plants). Due to pH

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, respectively.

(* - Corresponding Author Email: narges_mehrab@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jsw.v34i3.78046

between 2-3 and EC about 2.5-3.5 in NTA solutions, the application of NTA in soil decreased pH and increase EC in the soil. On the other hand, the decrease in pH of soil increased solubility of calcium carbonate equivalent (CCE), thereby reduced CCE in the soil. The results of this study showed that the soil pH was effective on HMs absorption by plants, therefore the availability of Cd after the use of NTA may be due to the decrease of alkalinity in the soil. The presence of organic-metal bonds in chelate-metal compounds causes metals to be less exposed to colloids, hydroxides, and oxides thus will prevent their stabilization in the soil. So it can be said that one of the effective methods for increasing the absorption of HMs from the soil by the plant is to reduce the pH of the soil. Some of the soil properties, such as pH and total heavy metal concentration, improves the efficiency of the chelator agent.

Conclusion: The results showed that an increase in the amount of Cd contamination and NTA applied increased Cd content in drainage water and Cd which was uptake by maize. Also, results showed well, the combined of maize planting and the use of NTA is successful in refining Cd from contaminated-soil. It seems that Adding NTA as a natural chelator in Iranian calcareous soils can increase the dissolution of Cd and extract it from the soil during a leaching period without contamination of the environment, as well as increase the efficiency of removing Cd by maize.

Keywords: Cadmium, Leaching, NTA, Phytoremediation