

افزایش کارایی استخراج گیاهی سرب از خاک بوسیله هویج با کاربرد کیلیت‌های طبیعی و سنتزی

ابراهیم بابائیان^۱ - مهدی همایی^{۲*} - رسول راهنمایی^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۷

چکیده

استخراج گیاهی یکی از روش‌های آلودگی‌زدایی سرب از خاک محسوب می‌شود. استفاده از عوامل کیلیت‌کننده در خاک می‌تواند کارایی این روش را افزایش دهد. در این پژوهش، اثر کاربرد کیلیت‌های طبیعی و سنتزی بر کارایی استخراج سرب از خاک توسط هویج مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل: (۱) ۶ سطح سرب: صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب، (۲) کیلیت: EDTA^۴، NTA^۵ و اسید اگزالییک و (۳) غلظت کیلیت: صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم خاک بود. نتایج نشان داد EDTA به طور مؤثری باعث افزایش غلظت سرب در محلول خاک شد، به گونه‌ای که در غلظت ۱۰ میلی‌مول آن، سرب قابل استخراج از خاک ۴۶۳ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. با افزایش غلظت کیلیت‌ها، غلظت سرب در شاخساره و ریشه نیز افزایش یافت. بیشترین مقدار سرب در شاخساره و ریشه در غلظت ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA و سطح ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب خاک به ترتیب ۳۴۲ و ۳۰۱ میلی‌گرم بدست آمد. با افزایش غلظت سرب و کیلیت، پتانسیل استخراج گیاهی سرب از خاک افزایش یافت، به طوری که بیشترین مقدار سرب استخراج شده از خاک در طول دوره رشد هویج، در بالاترین سطح آلودگی خاک و غلظت EDTA برابر ۱۳۶۷ گرم در هکتار بدست آمد. نتایج این پژوهش نشان داد که هویج توانایی زیادی در جذب و تجمع سرب در اندام‌های خود دارد و بنابراین می‌تواند به عنوان گیاهی سرب‌اندوز در فناوری پالایش گیاهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، اسید اگزالییک، سرب، EDTA، NTA

مقدمه

خواهد بود مقدار زیادی از آن را جذب نماید (۱۸). منابع ورود این فلز به خاک عمدتاً شامل سنگ‌های آذرین و متامورفیک پوسته زمین، لجن فاضلاب و پساب‌های صنعتی، کیت‌های الکترونیکی، صنایع باتری سازی، معدن کاوی، ذوب فلزات و رسوب سرب حاصل از سوخت اتومبیل‌ها بر روی سطح خاک است.

در حال حاضر روش رایج کنترل آلودگی آب و خاک، روش‌های مهندسی است. این روش‌ها شامل خاکبرداری خاک آلوده، مخلوط نمودن خاک آلوده با خاک غیر آلوده و یا غیر متحرک نمودن آلاینده‌های فلزی از طریق افزودن برخی ترکیبات شیمیایی به خاک است. اما هزینه‌های زیاد این روش‌ها و مشکلات اجرایی آنها موجب شده که پژوهشگران برای یافتن روش‌های باصرفه‌تر و ساده‌تر کنترل آلودگی آب و خاک تحقیق نمایند (۱۹). گیاه‌پالایی روشی بیولوژیک است که در آن از گیاهان سبز به منظور آلودگی‌زدایی آب و خاک

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین، به دلیل عدم تجزیه‌پذیری و پایداری زیاد، از مهمترین مسائل زیست‌محیطی در جهان بشمار می‌آید. سرب، یکی از گسترده‌ترین آلاینده‌های فلزی در خاک بشمار می‌آید. تاکنون هیچ‌گونه نقش بیولوژیکی برای سرب شناخته نشده است و به دلیل داشتن اثرات مسموم‌کننده بر انسان و سایر موجودات، جزو عناصر سمی محسوب می‌شود. سرب به دلیل تحرک اندک، عمدتاً در افق‌های سطحی خاک (عمق ۲ تا ۵ سانتیمتری) تجمع می‌یابد و در صورت حضور به شکل قابل جذب در محیط ریشه، گیاه قادر

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
* - نویسنده مسئول :
(Email: mhomae@modares.ac.ir)

4-EthyleneDiamineTetraAcetate

5-Nitrilo Triacetic Acid

خاک دارد. پژوهش‌ها نشان داده است که NTA در غلظت ۴ میلی-مولار غلظت کادمیوم محلول را ۷۸ برابر و جذب آن را توسط خردل هندی ۳ برابر تسهیل می‌بخشد (۱۱).

در پژوهشی فتاحی کیاسری و همکاران (۱) قابلیت گیاه‌پالایی سه گیاه آفتابگردان، ذرت و پنبه را در حضور اسید سولفوریک و EDTA در خاک‌های آلوده به فلز سرب مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد EDTA اثر معنی‌داری بر جذب سرب در ریشه و اندام هوایی گیاهان به‌ویژه ذرت داشت.

ترشح اسیدهای آلی توسط ریشه‌های گیاه علاوه بر اثراتی که بر روی فعالیت میکروبی و رشد ریشه‌ها دارد، باعث انجام واکنش‌های اسید و باز و تشکیل کمپلکس در ریزوسفر می‌شود (۲۲). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، اسیدهای آلی علاوه بر نقش مهم در فراهمی فلزات سنگین و عناصر غذایی، از طریق ایجاد پیوند با فلزات از اثرات سمیت آنها در سلول می‌کاهند (۲۰). نتایج بررسی هانگ و همکاران (۱۷) نشان می‌دهد در غلظت‌های بالای اسید سیتریک (mmol.kg^{-1}) (۲۰) فراهمی اورانیوم در خاک ۲۰۰ برابر و میزان جذب آن توسط گیاهان خانواده براسیکاسه ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد. در حالی‌که حتی در غلظت‌های بسیار بالاتر آن، جذب روی، مس، کادمیوم و نیکل توسط آفتابگردان در مقایسه با شاهد افزایش چندانی نیافته است (۲۳). برخی پژوهشگران معتقدند کاربرد اسیدهای آلی نسبت به اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک در استخراج گیاهی اولویت دارد، زیرا این ترکیبات به دلیل زیست‌تجزیه‌پذیری بالا، در نهایت به دی‌اکسید کربن و آب تبدیل شده (۳۵) و اثرات جانبی کمتری بر محیط دارند. افزودن کی‌لیت‌ها به منظور افزایش فراهمی فلز در خاک و اندوزش در گیاه در مراحل انتهایی رشد گیاه صورت می‌گیرد. معمولاً چند هفته قبل از برداشت گیاه، کی‌لیت‌ها به خاک اضافه می‌شود. دلیل آن این است که در این مرحله، دوره رشد گیاه کامل شده و کاهش رشد ناشی از اثر سمیت در میزان وزن خشک گیاه مشاهده نمی‌شود. البته در این مورد گزارش‌های ضد و نقیضی ارائه شده است. در این ارتباط می‌توان به پژوهش‌های انجام شده توسط شنو همکاران (۲۹) اشاره نمود. نتایج تحقیقات آنها نشان داد، کاربرد EDTA، HEDTA و DTPA یک هفته قبل از برداشت با غلظت $1/5 \text{ mmol kg}^{-1}$ ، هیچگونه کاهش در وزن خشک کلم ندارد. در حالیکه مطالعات دیگر به کاهش شدید در وزن خشک آفتابگردان در اثر استفاده از EDTA (mmol kg^{-1}) و HEDTA ($1/39 \text{ mmol kg}^{-1}$) اشاره نموده‌اند (۶). بنابراین، بنا به ضرورت افزایش کارایی آلودگی‌زدایی خاک از سرب توسط روش‌های بیولوژیک و نیز معرفی گونه جدید گیاهی برای این منظور، پژوهشی با هدف بررسی کارایی سه نوع کی‌لیت از سه گروه مختلف با غلظت‌های متفاوت بر مقدار استخراج سرب از خاک توسط هویج انجام گردید.

استفاده می‌شود. این روش به دلیل اجرای ساده‌تر، هزینه کم‌تر، اثرات جانبی اندک‌تر و از همه مهمتر سازگاری با زیست‌بوم، نسبت به روش‌های مهندسی ارجحیت دارد (۲۸).

استخراج گیاهی^۱ از مهمترین روش‌ها در پالایش گیاهی محسوب می‌شود و به عنوان کارآمدترین و مناسب‌ترین روش در آلودگی‌زدایی فلزات سنگین از خاک شناخته شده است (۱۲). موفقیت استخراج گیاهی تابع زیست‌توده گیاه، مقدار فراهمی فلز در محیط ریشه، میزان جذب توسط ریشه و میزان انتقال آن از ریشه به شاخساره گیاه است. گیاهانی که در استخراج گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند، گیاهان بیش‌اندوز^۲ نام دارند. ضعف عمده این گیاهان، زیست‌توده کم، سرعت رشد اندک، جذب اختصاصی برخی از فلزات و وابستگی شدید به شرایط اقلیمی است. بنابراین کارایی چندانی در استخراج گیاهی نخواهند داشت (۲۴). این مسئله پژوهشگران را بر آن داشت تا از گیاهانی که علاوه بر بیوماس زیاد، بومی مناطق نیز باشند، استفاده کنند (۳). محدودیتی که این گیاهان با آن مواجه‌اند، کارایی پایین در جذب فلز و انتقال آن به شاخساره است. بنابراین باید به طریقی این کارایی را در این گیاهان بهبود بخشید. استفاده از برخی عوامل کمپلکس‌کننده علاوه بر افزایش فراهمی فلز در خاک، باعث انتقال بیشتر آن به شاخساره گیاه شده و به گیاه ویژگی فلزاندوزی می‌دهد (۳۳). این عوامل کمپلکس‌کننده شامل سه گروه اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک سنتزی، طبیعی و اسیدهای آلی با وزن ملکولی اندک می‌باشند. اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) یکی از مهمترین عوامل کمپلکس‌کننده سنتزی محسوب می‌شود (۴). اثر این ترکیب بر میزان فراهمی فلز در خاک به غلظت آن و نوع فلز بستگی دارد. نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان داده که EDTA در غلظت ۳ میلی‌مولار، غلظت سرب محلول در خاک را ۲۳ برابر و جذب آن توسط خردل هندی را ۲۶ برابر (۱۰) و در غلظت ۵ میلی‌مولار، غلظت سرب محلول در خاک را ۴۹۶ برابر و جذب آن توسط ذرت را ۲۷ برابر افزایش می‌دهد (۱۱). توجه به این نکته ضروری است که گرچه EDTA باعث افزایش فراهمی فلزات در خاک می‌شود، اما اثرات جانبی آن بر جوامع میکروبی خاک را نباید از نظر دور داشت. بررسی‌ها نشان داده است که EDTA علاوه بر محدود نمودن فعالیت‌های میکروبی خاک (۱۴)، باعث کاهش شدید در وزن خشک اندام هوایی گیاه (۱۰) نیز می‌شود. علت این مسئله عمدتاً پایداری زیاد و زیست‌تجزیه‌پذیری اندک EDTA در محیط گزارش شده است (۳۲). از جمله آمینو پلی‌کربوکسیلیک اسیدهای طبیعی می‌توان به NTA (نیتریلو تری استیک اسید) اشاره نمود. این کی‌لیت بدلیل تجزیه‌زیستی در محیط، اثر سمیتی به مراتب کمتر از EDTA در

1-Phytoextraction

2-Hyperaccumulator Plants

مواد و روش‌ها

نمونه‌ای از خاک زراعی با بافت لومی شنی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری جمع‌آوری شد. نمونه خاک هوا خشک گردید و به‌منظور حفظ ساختمان خاکدانه‌ها و شرایط طبیعی از الک‌های ۵ میلی‌متری عبور داده شد. نمونه‌ای از خاک مذکور به آزمایشگاه منتقل و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی معمول آن شامل فراوانی نسبی اندازه ذرات به روش هیدرومتر (۱۳)، پ-هاش در گل اشباع، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، کربن آلی به روش واکلی بلاک (۳۱)، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش جایگزینی کاتیون‌ها با استات سدیم (۷)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی-سازی با اسید کلریدریک (۲) و سرب کل به روش اسید نیتریک ۴ مولار اندازه‌گیری شد (۱۵).

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۶ سطح سرب (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به صورت نیترات سرب) و سه نوع کیلیت (-EDTA، Na₂: اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید سدیم‌دار، NTA-H₃): نیتریلو تری استیک اسید و اسید اگزالیک) در ۴ غلظت (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) بود. برای آلوده کردن خاک، نیترات سرب جامد بر روی لایه‌ای از خاک به ضخامت ۰/۵ سانتی‌متر پخش و کاملاً مخلوط گردید. مقدار ۱۷ کیلوگرم از خاک آلوده به گلدان‌هایی با قطر بالای ۲۵، قطر پایینی ۲۲ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر اضافه شد. به منظور ایجاد تعادل شیمیایی میان فلز و ذرات خاک، خاک به مدت ۹ هفته در شرایط مناسب رطوبتی (۲ هفته در شرایط رطوبت اشباع و ۷ هفته در شرایط رطوبت ظرفیت زراعی (از طریق اشباع نمودن خاک و سپس اجازه خروج آب ثقلی از ته گلدان سرپوشیده و توزین آن در فواصل زمانی مختلف تا حدی که تغییرات وزن بسیار اندک باشد) و حرارتی (دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد) در گلخانه قرار گرفت. از آنجاکه به دلیل اعمال سطوح مختلف سرب به خاک، مقدار ازت خاک (به فرم نیترات) نیز متفاوت خواهد شد، در حین عمل تعادل، مقدار نیترات در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به عنوان مبنا در نظر گرفته شد و برای سطوح بالا عمل آبشویی و برای سطوح پایین مقداری کود نیترات پتاسیم برای جبران کمبود نیترات اضافه گردید. به منظور جلوگیری از تنش تغذیه‌ای، غلظت عناصر غذایی (N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, B) در خاک اندازه‌گیری و بر اساس غلظت بهینه این عناصر، کوددهی انجام شد (۱). پس از ۹ هفته تاحدودی تعادل بین خاک و آلاینده ایجاد گردیده است. در این مرحله بذر هویج (رقم ناتس موننتا) به تعداد ۱۰ عدد در هر گلدان و در عمق ۱/۵ سانتی‌متری کاشته شد. پس از سه هفته گیاهچه‌های مقاوم به تعداد ۵ عدد در هر گلدان با فاصله ۱۰ سانتیمتر از یکدیگر تنک شدند.

آبیاری گلدان‌ها بر اساس نیاز آبی هویج (بین ۲۰۰ تا ۶۰۰ میلی‌متر در هفته) در هر مرحله از رشد انجام شد. همچنین همه مراقبت‌های لازم جهت جلوگیری از صدمه آفات و بیماری‌ها اعمال گردید. در انتهای دوره رشد و ۱۰ روز پیش از برداشت گیاه، کیلیت‌ها به صورت محلول به گلدان‌ها افزوده شد. در انتهای دوره‌ی رشد، نمونه‌های گیاهی برداشت و شاخساره و ریشه اصلی از یکدیگر جدا شدند. نمونه‌ها در ابتدا با آب مقطر و سپس با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار شسته و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت آون خشک و با استفاده از آسیاب برقی با محفظه فایبرگلاس و تیغه استیل آسیاب شد. به‌منظور جلوگیری از آلودگی نمونه‌ها، پس از آسیاب نمودن هر نمونه، محفظه کاملاً با آب مقطر شسته و سپس خشک گردید. عصاره‌گیری هر یک از اندام‌های گیاه با روش اکسیداسیون تر (۱۵) (هضم ۲ گرم نمونه گیاهی توسط امتزاجی از اسیدهای نیتریک، پرکلریک و سولفوریک با نسبت‌های حجمی ۴۰:۴:۱) و غلظت سرب محلول با عصاره‌گیر کلرید کلسیم ۰/۱ مولار (توزین ۱۰ گرم خاک هوا خشک، افزودن ۲۵ میلی‌لیتر عصاره‌گیر، تکان دادن به مدت ۲ ساعت، سانتریفیوژ و در نهایت صاف نمودن محلول با کاغذ صافی واتمن ۴۲) بوسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. مدت زمان آلودگی‌زدایی سرب از خاک (۲۱) و پتانسیل استخراج گیاهی (۸) به ترتیب از روابط ۱ و ۲ محاسبه گردید.

$$T_{\text{Decontamination}} = \frac{Pb_{[\text{Total}]}}{Pb_{[\text{Plant}]} \times T_{\text{Plant}}} \quad (1)$$

$$P_{\text{Phytoextraction}} = \frac{\{Pb_{[\text{Shoot+Taproot}]} \times Y_{[\text{Shoot+Taproot}]}\}}{1000} \quad (2)$$

که در آن‌ها، $Pb_{[\text{Total}]}$ غلظت سرب کل در خاک (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، $Pb_{[\text{Shoot+Taproot}]}$ مجموع غلظت سرب در شاخساره و ریشه اصلی (بر حسب میلی‌گرم سرب در کیلوگرم ماده خشک گیاهی)، $Pb_{[\text{Plant}]}$ مقدار سرب جذب شده توسط گیاه (میلی‌گرم سرب در کیلوگرم ماده خشک گیاهی) در طول دوره رشد، $T_{\text{Decontamination}}$ زمان مورد نیاز برای استخراج کامل سرب از خاک (سال)، T_{Plant} تعداد دفعات کشت گیاه در یک سال، $P_{\text{Phytoextraction}}$ پتانسیل استخراج گیاهی (کیلوگرم سرب در هکتار در سال) و $Y_{[\text{Shoot+Taproot}]}$ مقدار زیست‌توده کل گیاه (تن در هکتار در سال) می‌باشند. برای محاسبه $Y_{[\text{Shoot+Taproot}]}$ متوسط مجموع وزن خشک شاخساره و ریشه اصلی به ازای یک بوته در هر گلدان محاسبه گردید. سپس با توجه به فاصله بین بوته‌ها در هر گلدان (۱۰ سانتیمتر) و بین ردیف‌ها در مزرعه (به‌طور متوسط ۵۰ سانتیمتر)، تعداد بوته‌های گیاه در هر هکتار برابر با ۲۰ هزار بوته بدست آمد. از حاصلضرب تعداد بوته‌ها در عملکرد خشک هر بوته، مقدار زیست‌توده گیاه در یک هکتار قابل محاسبه است. بنابراین با در اختیار داشتن

حالی که در عدم حضور کی‌لیت، غلظت سرب محلول ناچیز است. دلیل آن این است که در عدم حضور کی‌لیت، بخش اعظم سرب به صورت اشکال غیر محلول در خاک تبدیل می‌شود، بنابراین دسترسی گیاه به آن کاهش پیدا خواهد نمود. همچنین از آنجایی که خاک‌های آهکی ظرفیت بافری زیادی دارند، افزودن اگزالیک اسید حتی در غلظت‌های بالا آن هم پس از ۱۰ روز، اثر قابل توجهی بر کاهش پ-هاش و بدنبال آن افزایش حلالیت سرب در خاک ندارد. 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 ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار EDTA، به ترتیب برابر ۵۰۶ و ۶۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. به عبارتی غلظت سرب محلول در خاک در سطوح مذکور به ترتیب ۳۴۹، ۴۳۶ و ۴۶۳ برابر شاهد افزایش یافته است. NTA نسبت به EDTA در افزایش غلظت سرب محلول تأثیر کمتری دارد. به‌طوریکه در حضور غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار آن، این افزایش به ترتیب ۷۸، ۱۱۷ و ۲۳۶ برابر شاهد بود. توالی کی‌لیت‌ها در افزایش غلظت سرب محلول در خاک به ازای تمامی سطوح آلاینده به صورت EDTA >> NTA > Oxalic acid > No Chelate \approx بدست می‌آید. سه دلیل عمده را می‌توان برای این توالی عنوان نمود. دلیل اول وجود کمپلکس‌های قوی و پایدار میان EDTA و فلز سرب ($\log K = 18/3$) در پ-هاش معمول خاک است (۳۰). دلیل دوم، پتانسیل تحرک بالای کمپلکس‌های EDTA-Pb در خاک‌های سبک بافت (۲۱) و دلیل سوم، ویژگی زیست‌تجزیه‌پذیری NTA و اسید اگزالیک و در مقابل، مقاومت بالای EDTA نسبت به تجزیه در خاک است (۱۱). پژوهش‌ها حاکی از آن است که تنها ۰/۱ درصد از مقدار کل سرب در خاکهای آلوده در بخش محلول خاک و در دسترس گیاهان فلزاندوز قرار می‌گیرد. بنابراین با افزودن کی‌لیت‌ها به خاک، مقدار سرب محلول را می‌توان به بیش از ۱۰۰ برابر افزایش داد (۲۶).

استخراج گیاهی سرب

جذب سرب در ریشه اصلی

اثر سطوح مختلف سرب و کی‌لیت بر مقدار جذب سرب در ریشه اصلی هویج در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، در حضور و عدم حضور کی‌لیت، با افزایش سطح سرب در خاک، غلظت سرب در ریشه اصلی افزایش پیدا می‌کند. با این تفاوت که در حضور کی‌لیت‌ها این افزایش جذب به مراتب بیشتر از عدم حضور کی‌لیت است.

م توسط مجموع غلظت سرب در شاخساره و ریشه اصلی به ازای یک بوته، می‌توان پتانسیل استخراج گیاهی را محاسبه نمود. به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده گردید.

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است. این خاک دارای بافت لومی سنی، پ-هاش کمی قلیایی، غیر شور، مقدار کربن آلی اندک، ظرفیت تبادل کاتیونی نسبتاً بالا و مقدار سرب اولیه پایین‌تر از حد مجاز (۱۵۰-۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (۵) می‌باشد. همچنین غلظت عناصر غذایی اندازه‌گیری شده نیز در حد نسبتاً مناسبی است (۱). ویژگی‌های مذکور سبب می‌شود حلالیت سرب در خاک تا حدودی کاهش یابد.

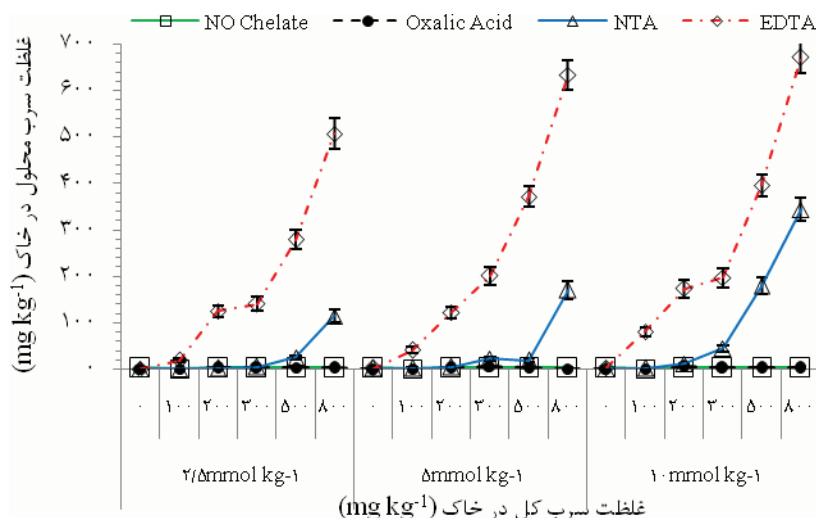
جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

مقدار	خصوصیت
۱۲/۲	رس (درصد)
۲۱/۱	سیلت (درصد)
۶۶/۷	شن (درصد)
۲۲	رطوبت اشباع (درصد)
۱۹	ظرفیت مزرعه (درصد)
۷/۶۵	اسیدیته گل اشباع
۰/۸۱	قابلیت هدایت الکتریکی (dS m^{-1})
۱۴/۳	ظرفیت تبادل کاتیونی (cmol kg^{-1})
۱۴/۲	مواد خنثی شونده (درصد)
۰/۴۲	کربن آلی (درصد)
۱۲	فسفر قابل جذب (mg kg^{-1})
۳۵۴	پتاسیم قابل جذب (mg kg^{-1})
۳۲۵	منیزیم قابل جذب (mg kg^{-1})
۲/۴	آهن قابل جذب (mg kg^{-1})
۰/۵۶	روی قابل جذب (mg kg^{-1})
۱۰/۵	سرب کل (mg kg^{-1})

مقادیر میانگین سه تکرار است

غلظت سرب محلول

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، بین مقادیر غلظت سرب محلول در خاک و نوع کی‌لیت و غلظت‌های مختلف آن در هر یک از سطوح آلاینده اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بطوری‌که با افزایش سطح سرب در خاک، در حضور همه غلظت‌های EDTA و NTA، مقدار سرب قابل دسترس برای گیاه افزایش پیدا می‌کند. در

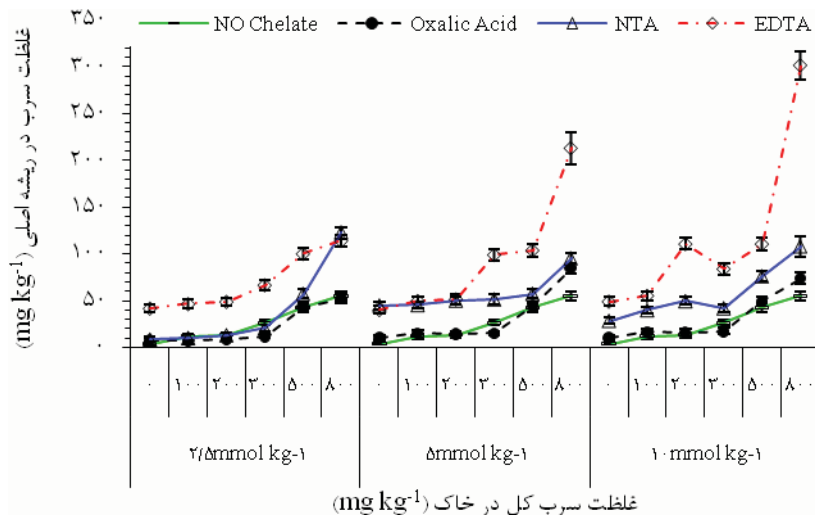


شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف EDTA، NTA و اسید اگزالیک در سطوح مختلف آلاینده‌ی سرب بر مقدار غلظت سرب در محلول خاک

کی‌لیت‌ها در افزایش مقدار جذب سرب در ریشه اصلی به ازای سطوح مختلف آلاینده در خاک به سه صورت مختلفه $EDTA > NTA > Oxalic\ acid > No\ Chelate$ بدست آمد.

سه دلیل عمده را می‌توان برای این توالی عنوان نمود. دلیل نخست مربوط به تفاوت در ساختمان شیمیایی کی‌لیت‌ها می‌باشد. EDTA، NTA و اسید اگزالیک به ترتیب دارای ۶، ۳ و ۲ مکان برای تشکیل پیوند با فلز سرب هستند. بنابراین، EDTA توانایی بیشتری برای تشکیل کمپلکس با سرب و افزایش حلالیت آن در خاک دارد. دلیل دوم مربوط به پایداری زیاد ($\text{Log } K = 18/3$) کمپلکس‌های سرب با EDTA نسبت به NTA ($\text{Log } K = 11/3$) و اسید اگزالیک ($\text{Log } K = 5/2$) در خاک است (۳۰).

بیشترین جذب سرب در ریشه اصلی برابر با $30.1/0 (\pm 15/5)$ میلی‌گرم در کیلوگرم در بالاترین سطح آلودگی خاک و در حضور غلظت ۱۰ میلی‌مولار EDTA بدست آمد (شکل ۳). در حالی که این مقدار جذب در غلظت ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار EDTA به ترتیب برابر $113/7 (\pm 6/7)$ و $212/6 (\pm 16/8)$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. همچنین بیشترین مقدار جذب ریشه‌ای سرب در غلظت‌های ۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌مولار NTA به ترتیب $122/5 (\pm 6/2)$ ، $95/0 (\pm 5/6)$ و $107/5 (\pm 10/5)$ میلی‌گرم در کیلوگرم و در حضور اسید اگزالیک به ترتیب $51/7 (\pm 4/5)$ ، $84/4 (\pm 5/6)$ و $74/0 (\pm 5/9)$ میلی‌گرم در کیلوگرم بدست آمد. نتایج بدست آمده در این پژوهش هم‌خوانی بسیار خوبی با یافته‌های محققان پیشین دارد (جدول ۲). بنابراین، توالی



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف EDTA، NTA و اسید اگزالیک در سطوح مختلف آلاینده‌ی سرب بر مقدار جذب سرب در ریشه اصلی

میلی گرم در کیلوگرم اندازه گیری شد. در تمامی سطوح سرب در خاک، EDTA نسبت به NTA و اسید اگزالیک بیشترین تأثیر را در افزایش انتقال سرب به شاخساره در سطوح مختلف سرب در خاک به صورت EDTA > NTA > Oxalic acid > No Chelate بدست آمد. همان گونه که بیان شد، دلایل این توالی مربوط به تفاوت در ساختمان شیمیایی کیلیت‌ها، پایداری زیاد کمپلکس‌های EDTA-Pb و خاصیت هیدروفیل بودن کمپلکس‌های EDTA-Pb در خاک است (۳۰). بنابراین در عدم حضور کیلیت، غلظت اندک سرب در شاخساره می‌تواند به دلیل پیوند سرب با مکان‌های تبادل دیواره سلولی آوند چوب و همچنین رسوب به صورت کربنات‌های سرب بر روی دیواره سلول باشد (۹ و ۲۷). در جدول ۲ به برخی از پژوهش‌ها اشاره شده است که نتایج بدست آمده در این تحقیق را تأیید می‌نماید.

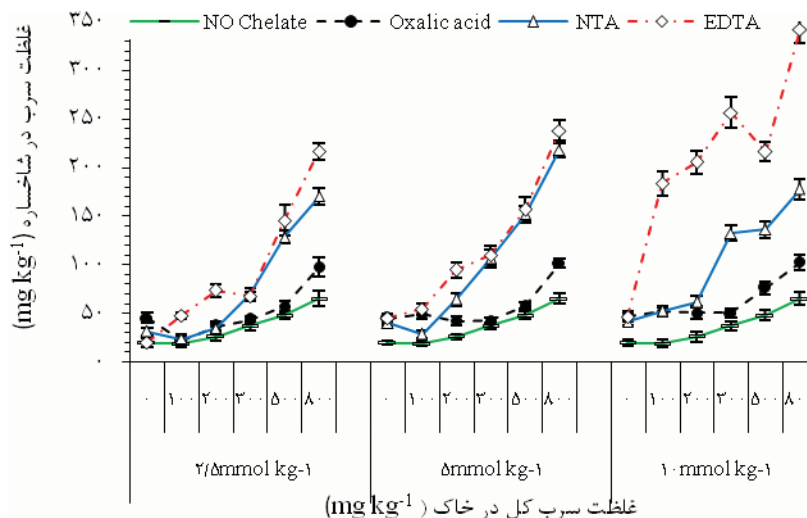
پتانسیل استخراج گیاهی

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سرب در خاک، پتانسیل استخراج گیاهی سرب افزایش می‌یابد، این افزایش در حضور کیلیت بسیار بیشتر است. در هر یک از سطوح آلاینده در خاک، EDTA نسبت به سایر کیلیت‌ها بیشترین تأثیر را در استخراج گیاهی سرب از خاک دارد. بطوری که در غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار آن و در بالاترین سطح آلودگی خاک، مقدار سرب استخراج شده از خاک در یک هکتار و در طول دوره رشد هویج به ترتیب برابر با $0.703 \pm 0.17/6$ ، $0.958 \pm 0.20/1$ و $1.208 \pm 0.25/3$ گرم بدست آمد.

دلیل سوم، خاصیت هیدروفیل بودن کمپلکس‌های EDTA-Pb در خاک است. 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 پلاسما) و آپوپلاست (انتقال از فضای بین دیواره خارجی سلول) انجام می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده ترکیبات هیدروفیل نظیر EDTA-Pb بیشتر از مسیر آپوپلاست انتقال پیدا می‌کند (۱۶)، لذا غلظت سرب در ریشه اصلی در حضور EDTA بیشتر ساین است. نتایج بدست آمده در اینجا بایافته‌های حاصل از پژوهش‌های مختلف انطباق دارد (جدول ۲).

انتقال سرب به شاخساره

در شکل ۳، اثر غلظت‌های مختلف سرب و کیلیت بر مقدار انتقال سرب به شاخساره هویج نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش سطح سرب در خاک، غلظت سرب در شاخساره افزایش می‌یابد. این افزایش غلظت در حضور کیلیت‌ها به مراتب بیشتر از عدم حضور آن‌ها است. به طوری که بیشترین غلظت سرب در شاخساره $342/0 \pm 13/9$ میلی‌گرم در کیلوگرم در سطح ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلاینده و غلظت ۱۰ میلی‌مولار EDTA بدست آمد (شکل ۴). این مقدار در غلظت ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار EDTA به ترتیب $217 \pm 8/7$ و $238 \pm 10/2$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. در حالی که بیشترین مقدار سرب انتقال یافته به شاخساره در غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار NTA به ترتیب $170/0 \pm 8/2$ ، $177/8 \pm 10/9$ و $218/0 \pm 10/9$ میلی‌گرم در کیلوگرم و در حضور اسید اگزالیک به ترتیب $97/8 \pm 9/8$ ، $101/8 \pm 4/9$ و $103/0 \pm 7/9$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف EDTA، NTA و اسید اگزالیک در سطوح مختلف آلاینده سرب بر مقدار انتقال سرب به شاخساره

جدول ۲- پژوهش‌های انجام شده در زمینه استخراج گیاهی در حضور کی‌لیت‌های مختلف

منبع	نوع گیاه	جذب فلز سنگین (برابر)	مقدار فلز قابل دسترس گیاه در خاک (برابر)	فلز سنگین	غلظت کی‌لیت (mmol kg^{-1})	عامل کمپلکس کننده
Blaylock و همکاران، ۱۹۹۷	خردل هندی (<i>B. ajuncea</i>)	۱۰۰۰	۱۰۰	Pb	۵	EGTA
Blaylock و همکاران، ۱۹۹۷	خردل هندی (<i>B. ajuncea</i>)	۱۰۰۰	۱۰۰	Pb	۵	DTPA
Huang و همکاران، ۱۹۹۷	ذرت (<i>Z. Mays</i>)	۲۶/۵	۲۳۵	Pb	۱/۴۵	HEDTA
Blaylock و همکاران، ۱۹۹۷	خردل هندی (<i>B. ajuncea</i>)	۱۰۰۰	۱۰۰	Pb	۵	CDTA
Quartacci و همکاران، ۲۰۰۵	خردل هندی (<i>Juncea.B</i>)	۲	۸	Cd	۱۰	NTA
Wu و همکاران، ۲۰۰۴	خردل هندی (<i>B. Juncea</i>)	۲/۲	تغییرات اندک	Pb	۳	Citric Acid

NTA > Oxalic acid > No Chelate > بدست آمد.

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از کی‌لیت‌ها (بویژه EDTA) باعث افزایش غلظت سرب محلول در خاک و به دنبال آن جذب در ریشه و انتقال به شاخساره گیاه می‌شود. همچنین، مصرف کی‌لیت‌ها منجر به افزایش پتانسیل استخراج گیاهی سرب از خاک و کاهش زمان آلودگی‌زدایی خاک می‌گردد. به رغم مزایای استفاده از کی‌لیت‌ها در فناوری پالایش گیاهی، به این نکته نیز باید توجه نمود که مصرف برخی کی‌لیت‌های زیست تجزیه‌ناپذیر مانند EDTA، ممکن است باعث افزایش خطر آبشویی و انتقال فلزات سنگین به آب‌ها سطحی و زیرزمینی شود. در صورت طولانی بودن دوره رشد گیاه بهتر است کی‌لیت‌ها به صورت چند مرحله‌ای و در زمان‌های مناسب از رشد که گیاه حداکثر جذب فلزات از خاک را دارد، استفاده شود تا خطر آبشویی فلزات سنگین کاهش یابد. استفاده از NTA به جای EDTA می‌تواند تا حدودی این مشکلات را نداشته باشد.

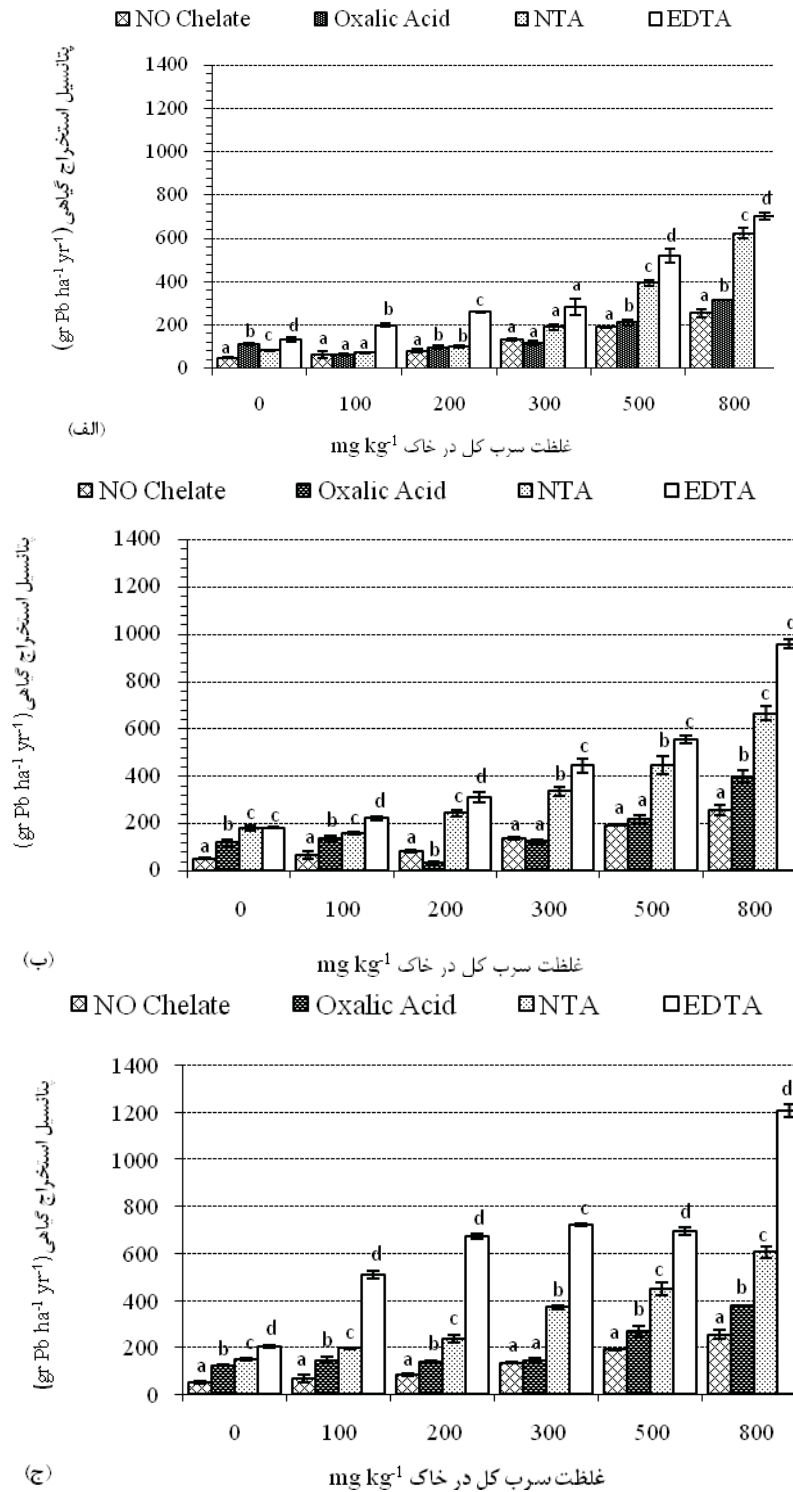
سپاسگزاری

بدینوسیله از پیشنهادات ارزشمند آقایان دکتر مسعود داوری و دکتر حبیب خداوردی‌لو اعضای محترم هیأت علمی دانشگاه کردستان و ارومیه سپاسگزاری می‌نمایم.

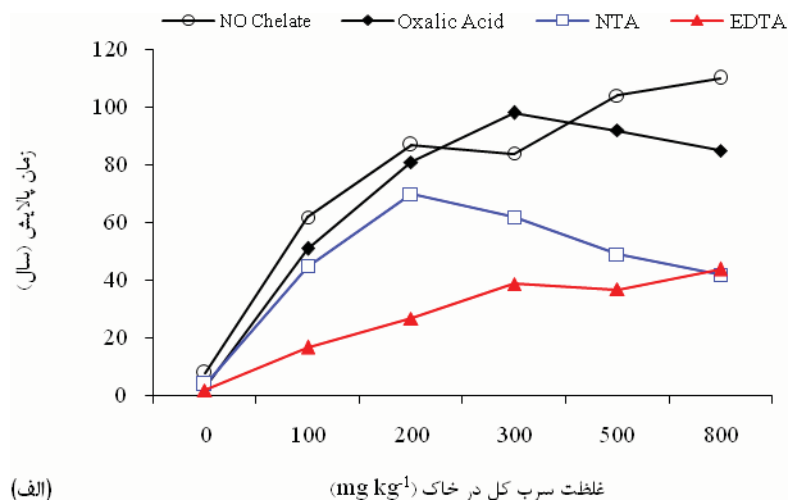
افزایش غلظت سرب در گیاه در اثر کاربرد کی‌لیت‌ها (بویژه EDTA) و همچنین بیوماس بالای گیاه، از دلایل زیاد بودن استخراج گیاهی سرب از خاک است. این مقادیر در حضور NTA به ترتیب برابر $622 (\pm 24/1)$ ، $665 (\pm 30)$ و $606 (\pm 25/2)$ و در حضور اسید اگزالیک به ترتیب برابر با $317 (\pm 2/5)$ ، $395 (\pm 28/5)$ و $376 (\pm 3/5)$ گرم سرب در هکتار بدست آمد.

زمان پالایش گیاهی

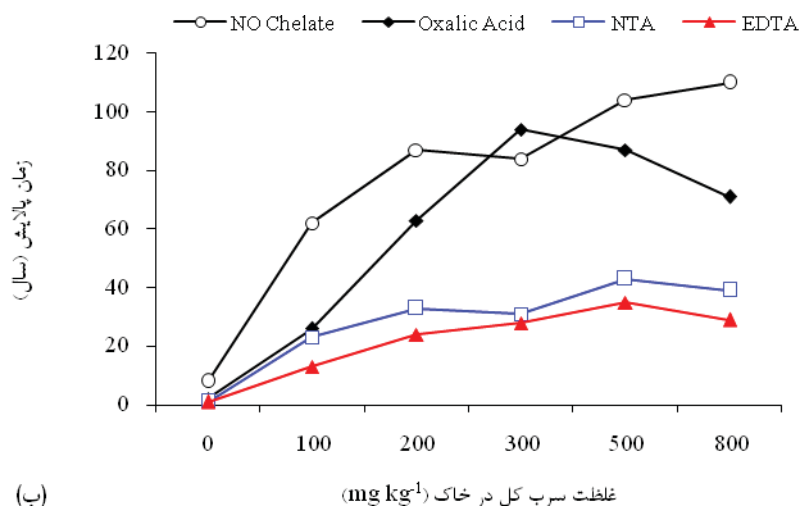
زمان پالایش بیانگر مدت زمانی است که به طول می‌انجامد تا آلودگی خاک رفع شده و به سطح قابل قبولی برسد. بدین منظور بر اساس طول دوره رشد، تعداد دفعات کشت گیاه در سال، مقدار جذب گیاهی سرب و غلظت سرب باقیمانده در خاک اقدام به تعیین زمان آلودگی‌زدایی سرب از خاک گردید. در شکل ۵، این زمان به ازای غلظت‌های مختلف سرب و کی‌لیت‌ها محاسبه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش سطح سرب در خاک بر زمان پالایش افزوده می‌شود، این افزایش در عدم حضور کی‌لیت بیشتر است. به دیگر سخن در حضور کی‌لیت، زمان پالایش کاهش پیدا می‌کند تا اینکه در حضور EDTA به کمترین مقدار در هر سطح سرب برسد. بیشترین زمان پالایش در بالاترین سطح آلاینده، در تیمار بدون کی-لیت برابر ۱۱۰ سال بدست آمد. در حالی که این مقدار در بالاترین سطح EDTA، NTA و اسید اگزالیک به ترتیب برابر ۲۰، ۴۵ و ۷۱ سال بود. بنابراین در حضور EDTA، زمان پالایش نسبت به شاهد حدود ۸۰ درصد کاهش پیدا می‌کند. ترتیب کارایی کی‌لیت‌ها در کاهش زمان آلودگی‌زدایی خاک توسط گیاه هویج به صورت EDTA



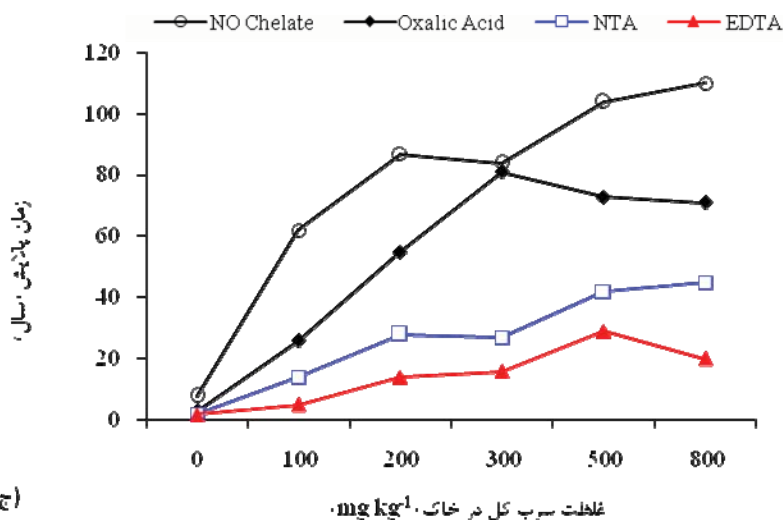
شکل ۴ - مقایسه میانگین اثر غلظت‌های ۲/۵ (الف)، ۵ (ب) و ۱۰ (ج) میلی‌مولار کی‌لیت‌ها بر پتانسیل استخراج گیاهی سرب از خاک (آزمون LSD، سطح معنی‌دار ۵ درصد)



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۵- اثر غلظت‌های ۲/۵ (الف)، ۵ (ب) و ۱۰ (ج) میلی مولار کی لیت‌ها بر زمان پالایش سرب از خاک

منابع

- ۱- فتاحی کیاسری ا، فتوت ا، آستارایی ع. و حق نیا غ. ۱۳۸۹. اثر اسید سولفوریک و EDTA بر گیاه‌پالایی سرب در خاک توسط سه گیاه آفتابگردان، ذرت و پنبه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک. سال چهارم، شماره ۵۱، ص ۶۸-۵۷.
- ۲- ملکوتی م.ج. ۱۳۸۷. روش جامع تشخیص و ضرورت مصرف بهینه کودهای شیمیایی. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.
- 3- Allison L.E., and Moodie C.D. 1965. Carbonate. PP. 1379-1396. In: C. A. Black et al. (Ed), Methods of soil Analysis. Part 2, Monograph No. 9, Agron., Madison, WI.
- 4- 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.
- 5- 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.
- 6- Cariny T. 1995. The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher, P. 219.
- 7- Chen H., and Cutright T. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*. Chemosphere, 45: 21-28.
- 8- Chapman H.D. 1965. Cation exchange capacity. PP. 891-901. In: C. A. Black et al. (Ed). Methods of soil Analysis. Part 2, Monograph No. 9, Agron., Madison, WI.
- 9- Doumet S., Lamperi L., Checchini L., Azzarello E., Mugnai S., Mancuso S., Petruzzelli G., and Del Bubba M. 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. Chemosphere, 72: 1481-1490.
- 10- Dushenkov V., Kumar P.B.A.N., Motto H., and Raskin I. 1995. Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. Environmental Science and Technology, 29: 1239-1245.
- 11- 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 Soil, 208: 87-94.
- 12- 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.
- 13- Garbisu C., and Alkorta I. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant based technology for the removal of metals from the environment. Bioresour. Technology, 77: 229-236.
- 14- Gee G.W., and Or D. 2002. Particle-size analysis. In: Dane, J.H., Topp, G.C. (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part 4 SSSA Book Series No. 5. Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI, pp. 255-293.
- 15- Greman H., Velikonja-Bolta S., Vodnik D., Kos B., and Lestan D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. Plant Soil, 235: 105-114.
- 16- Gupta P.K. 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer analysis. Agrobios. New Delhi, Indian. P. 438.
- 17- 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.
- 18- Huang J.W., Blaylock M.J., Kapulnick Y., and Ensley B.D. 1998a. Phytoremediation of uranium contaminated soils: role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. Environmental Science and Technology, 32: 2004-2008.
- 19- Kabata-Pendias A., and Pendias H. 2000. Trace elements in soil and plants. 3th ed., CRC Press, Boca Raton, New York.
- 20- Lasat M.M. 2001. The use of plants for removal of toxic metals from contaminated soil. Available at www.Clui-in.org/techfocus.hwc.
- 21- Lee J., Reeves R.D., Brooks R.R., and Jaffre T. 1977. Isolation and identification of a citrate-complex of nickel from nickel-accumulating plants. Phytochemistry, 16: 1502-1505.
- 22- Luo C., Shen Z., and Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. Chemosphere, 59: 1-11.
- 23- Marschner B., Henke U., and Wessolek G. 1995. Effects of ameliorative additives on the adsorption and binding forms of heavy metals in a contaminated topsoil from a former sewage farm. Z. Pflanz. Bodenkunde. 158: 9-14.
- 24- Meers E., Ruttens A., Hopgood M.J., Samson D., and Tack F.M.G. 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. Chemosphere, 58: 1011-1022.
- 25- Mulligan C.N., Yong R.N., and Gibbs B.F. 2001. Remediation technologies for metal contaminated soils and ground water: an evaluation. Eng. Geol. 60: 193-207.
- 26- Quartacci M.F., Baker A.J.M., and Navari-Izzo F. 2005. Nitroacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czernj, Brassicaceae). Chemosphere, 59: 1249-1255.
- 27- Raskin I., and Ensley B.D. 2000. Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, Inc., New York. P. 304.
- 28- Romheld V., and Marschner H. 1981. Effect of Fe stress on utilization of Fe chelates by efficient and inefficient plant species. J. Plant Nutrition, 3: 551-560.

- 29- Salt D.E., Smith R.D., and Raskin I. 1998. Phytoremediation ANNU. Rev. Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 49: 643-668.
- 30- 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.
- 31- Sillen L.G., and Martell A.E. 1964. Stability constants of metal ion complexes. Special Publication No. 17. The Chemical Society. London
- 32- Walkley A.J., and Black I.A. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37, 29-38.
- 33- Wasay S.A., Barrington S.F., and Tokunaga S. 1998. Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acids and chelating agents. Environmental Technology, 19: 369-379.
- 34- 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.
- 35- Wu L.H., Luo Y.M., Xing X.R., and Christie P. 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. Agriculture, Ecosystems and Environment, 102:307-318.
- 36- Yan F., Schubert S., and Mengel K. 1996. Soil pH increase due to biological decarboxylation of organic onions. Soil Biology and Biochemistry, 28: 617-624.

Enhancing Phytoextraction of Lead Contaminated Soils by Carrot (*Daucus carrota*) Using Synthetic and Natural Chelates

E. Babaeian¹- M. Homae^{2*}- R. Rahnemaie³

Received: 20-11-2010

Accepted: 26-2-2012

Abstract

Phytoextraction is a remediation technology for contaminated soils with lead (Pb). The application of chelating agents can be resulted in high efficiency in this method. In current study, the effect of synthetic and natural chelates application on efficiency of lead phytoextraction from soil by carrot was investigated. The experiment factors were 1) six levels of Pb (0, 100, 200, 300, 500 and 800 mg Pb kg⁻¹ soil, added as Pb(NO₃)₂), 2) chelates (EDTA, NTA and oxalic acid, and 3) chelate concentration (0, 2.5, 5 and 10 mmol kg⁻¹ soil). The results indicated that EDTA effectively increased the Pb content in soil solution. At the highest applied rate (10 mmol EDTA kg⁻¹), it resulted in 463-fold increase in extractable Pb, compared to the control treatment. Pb content in the shoot and taproot increased with the chelates application rates. The highest Pb content in the shoot (342.2±13.9 mg kg⁻¹) and root (310 ±15.5 mg kg⁻¹) occurred in 10 mmol kg⁻¹ EDTA when Pb level was 800 mg kg⁻¹. Pb phytoextraction potential increased with increasing the chelate and Pb concentration. Maximum Pb extraction from soil (1208±26.6 g ha⁻¹ yr⁻¹) during growth season occurred in 10 mmol kg⁻¹ EDTA, when soil Pb level was 800 mg kg⁻¹. It may be concluded that carrot can take up high amount of Pb and concentrate it in its roots and shoots. Thus, it can be introduced as a lead accumulator to phytoextract Pb from contaminated soils.

Keywords: Soil Contamination, Oxalic acid, Lead, EDTA, NTA

1,2,3- Former MSc Student, Professor and Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Respectively

(* - Corresponding Author Email: mhomaee@Modares.ac.ir)