تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر جوانه‌زنی بذر، ظهور نهال و قابلیت گیاه‌پالایی *Echinochloa crus galii* (L.) Beave در خاک‌های آلوده به سرب

مهدیه ابراهیمی[1*]

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۲/۱۵ – تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۹/۲۰

چکیده

آزمایش گلدانی به‌منظور بررسی تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک EDTA و DTPA بر خصوصیات مورفولوژیک گونهٔ *Echinochloa crus galii* (L.) Beave (جوانه‌زنی، زیست‌توده، طول ریشه و ساقه) طراحی شد. همچنین عامل تجمع (BCF)، عامل انتقال (TF) و شاخص تحمل (TI) برای تعیین کارآیی گیاه استخراجی گیاه اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خاک با ۰/۷۱ گرم در لیتر سرب ($PbNO_3$) مخلوط و بذرهای گیاه در خاک گلدان‌ها کاشته شدند. اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بعد از کاشت بذر به خاک اضافه شد. تیمارهای مورد استفاده شامل EDTA (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم) و DTPA (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم) بود و در تیمار شاهد (خاک غیرآلوده) EDTA و DTPA استفاده نشد. سرعت و درصد ظهور نهال، زیست‌توده، طول ریشه و ساقه از سطح خاک تا جوانه انتهایی گیاه به‌مدت زمان دو هفته محاسبه شد. سپس گونهٔ گیاهی بعد از ۶۰ روز برداشت و برای تعیین غلظت سرب در بافت‌های گیاهی به ریشه و اندام‌های هوایی تقسیم شد. نتایج به‌دست آمده از تحقیق نشان داد که کاربرد EDTA و DTPA تاثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر خصوصیات مورفولوژیک و تجمع سرب در گیاه دارند. داده‌های به‌دست آمده نشان داد که حداکثر جوانه‌زنی، طول ریشه، ساقه و زیست‌توده مربوط به تیمار شاهد بود، اما حداکثر عامل تجمع و انتقال به‌ترتیب به تیمار ۵EDTA و ۱۰DTPA مربوط بود. علاوه‌بر این تأثیر EDTA و DTPA بر شاخص تحمل گیاه نشان داد که با افزایش غلظت اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک شاخص تحمل کاهش یافت. به‌طورکلی نتایج نشان داد که گونهٔ مورد بررسی قابلیت تحمل سرب را دارد و EDTA و DTPA پتانسیل افزایش جذب سرب در گونه گیاهی مورد مطالعه را داشته ولی باتوجه به تأثیرات بازدارنده این مواد بر رشد گیاه و خطر آبشویی آنها به آب‌های زیرزمینی باید از غلظت‌های کم این مواد استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ویژگی‌های مورفولوژیک، اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک، پاکسازی خاک، *Echinochloa crus galii*.

۱- استادیار دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل

*: نویسندهٔ مسئول: maebrahimi2007@uoz.ac.ir

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

مقدمه

بخش‌های زیادی از خاک آلوده به فلزات سنگین هستند که این موضوع سبب بروز مشکلاتی در رشد، تولید مثل و توسعه موجودات زنده شده (۱۰) و همچنین تهدید بزرگی برای سلامت اکوسیستم‌ها و بشر محسوب می‌شود (۲۹). در این خصوص گیاه‌استخراجی[1] یکی از روش‌های موثر پالایش است که از گیاهان بیش‌اندوز[2] برای استخراج فلزات سنگین از خاک و آب‌های آلوده استفاده می‌کند (۳۳). با وجود کارآیی گیاه‌استخراجی در پالایش خاک، تنها بخشی از فلزات سنگین از خاک حذف شده و قابل دسترس برای گیاه می‌باشند. یکی از دستاوردها در زمینه افزایش کارآیی گیاه استخراجی، کاربرد مواد بهساز[3] و استفاده از گیاهان با زیست‌توده بالا است (۱۷). انواع مختلفی از مواد بهساز در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته‌اند که یکی از مهمترین این مواد اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک[4] EDTA[5] و DTPA[6] است (۱۱ و ۲۳).

اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های بالای این مواد برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش رشد و جوانه‌زنی، کاهش زیست‌توده گیاه و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شوند (۱۹). حتی گاها این مواد در غلظت‌های کم هم برای گیاه سمی بوده و باعث نکروز[7] و حتی مرگ گیاه می‌شوند (۶). علاه‌بر این، با وجود کارآیی این دسته مواد در افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی[8]، خطر آبشویی این مواد به آب‌های زیرزمینی کاربرد آن‌ها را محدود کرده است، بنابراین نکته مهم در استفاده از این مواد انتخاب غلظت مناسب است، تا ضمن کاهش تأثیرات آنها بر رشد گیاه، خطر آبشویی کمپلکس فلز-کلات[9] به آب‌های زیرزمینی کاهش یابد (۲۸). هدف از پژوهش حاضر ارزیابی تأثیر EDTA و DTPA در خصوصیات مورفولوژیکی (جوانه‌زنی، زیست‌توده، رشد ریشه و ساقه) گونهٔ *Echinochloa crus galii* (L.) *Beave* و افزایش توانایی این گیاه در خاک‌های آلوده به سرب در شرایط گلخانه‌ای است.

1- Phytoextraction
2- Hyperaccumulators
3- Chelating agents
4- Aminopolycarboxylic Acids
5- Ethylenediaminetetraacetic acid
6- Diethylenetrinitrilopentaacetic acid
7- Necrosis
8- Phytoremediation
9- Chelate

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گلدان‌ها: گونهٔ گیاهی مورد استفاده در این تحقیق (*E. crus galii*) گیاهی است از خانواده پوآسه به ارتفاع ۱۵۰-۳۰ سانتی‌متر که دارای سازگاری بسیار خوبی به شرایط آب و هوایی مختلف به‌ویژه مناطق با شرایط آب و هوایی معتدل و گرم است و عمدتا به‌عنوان علف هرز مزارع برنج محسوب می‌شود. این گیاه دارای پتانسیل بالایی برای جذب و استخراج فلزات سنگین از خاک‌های آلوده می‌باشد (۱۵).

خاک مورد استفاده در این پژوهش از نمونه‌های خاک گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل فراهم شد. برای ایجاد آلودگی معادل ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب، حدود ۰/۷۱ گرم در لیتر $PbNO_3$ قبل از کشت به خاک (بافت لومی رسی[10] (۸) و مقدار نیتروژن کل[11] (۰/۱۴٪) (۴)، فسفر کل[12] (۰/۴۹٪) (۲۶)، پتاسیم کل[13] (۰/۳۳٪) (۳)، اسیدیته (۸/۲۰) (۳۰) و هدایت الکتریکی (۳/۵۰ دسی‌زیمنس بر متر) (۲۷) اضافه و نمونه‌های خاک آلوده شدند. بذور گونهٔ مورد مطالعه (۱۵ عدد) در هر گلدان (۱/۵ کیلوگرم خاک، به ابعاد ۶۰×۱۵×۲۰ سانتی‌متر) کشت شد. EDTA در غلظت‌های (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم) و DTPA (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم) با ۵ تکرار طی رشد گیاه به‌صورت اسپری به نمونه‌های خاک اضافه شد. در کنار هر تیمار یک تیمار خاک غیرآلوده-بدون EDTA و DTPA (C) در نظر گرفته شد. کشت در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت. آبیاری گیاهان با آب لوله‌کشی شهری و به‌صورت یک روز در میان به‌مدت ۶۰ روز انجام شد (۱).

ظهور نهال گونهٔ گیاهی براساس تعداد بذرهای جوانه-زده در هر گلدان و سرعت جوانه‌زنی براساس یادداشت-

10- Hydrometer Method
11- Kjeldahl method
12- Molybdenum blue method
13- Flame photometry method

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

برداری از تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر گلدان در هر روز تا ۱۴ روز برحسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز، از رابطه زیر محاسبه شد:

$RG = \sum ND/\sum N$ (۲۰)

که در آن، D: عدد روزی که بذر جوانه زده است، N: تعداد بذور جوانه زده و R: سرعت جوانه‌زنی است.

گونهٔ گیاهی کشت شده بعد از رسیدن به‌حد نصاب رشد (۶۰ روز)، برداشت و زیست‌توده گیاهی محاسبه شد سپس نمونه‌های گیاهی در آزمایشگاه (شستشو با آب مقطر و خشک شدن در آون (model:MEMMERT UNB 400) آماده‌سازی و غلظت فلز قابل استخراج در اندام‌های گیاهی اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌های خاک گلدان‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. غلظت سرب نمونه‌های گیاهی با استفاده از روش اکسایش توسط اسید نیتریک، اسید کلریدریک و آب اکسیژنه (۹) و غلظت سرب نمونه‌های خاک با روش عصاره‌گیری با DTPA (۱۸)، توسط دستگاه جذب اتمی (model:GBC Avanta, Australia) تعیین شد. غلظت سرب در بخش‌های هوایی و ریشه گیاه در شرایط کنترل و خاک آلوده اندازه‌گیری شد تا تاثیر غلظت‌های متفاوت EDTA و DTPA در افزایش جذب سرب و خصوصیات رشد و جوانه‌زنی گونهٔ *E. crus galii* بررسی شود.

بررسی غلظت فلزات در نمونه‌های خاک با ارجاع به روش ارائه شده توسط SRM۲۷۱۱ (مؤسسه استاندارد و تکنولوژی آمریکا) و برای نمونه‌های گیاهی با ارجاع به روش ارائه شده توسط BCR-۰۶۰ (مؤسسه استاندار مواد و اندازه‌گیری بلژیک) انجام شد.

محاسبه کارآیی گیاه استخراجی (BCF، TF و TI): بعد از مشخص کردن میزان سرب قابل استخراج در اندام‌های گیاهی و خاک، برای ارزیابی کارایی گیاه به‌منظور پالایش سرب، شاخص‌های BCF[1] (غلظت فلز در مواد گیاهی برداشت شده به غلظت فلز در محلول خاک) TF[2]،(۳۵) (غلظت فلز در بخش‌های هوایی گیاه به غلظت فلز در ریشه) (۲۱) و TI[3] (وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک آلوده به وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک غیرآلوده) (۳۲) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، به‌منظور بررسی وجود تفاوت بین غلظت‌های متفاوت EDTA و DTPA درخصوصیات رشد و جوانه‌زنی گیاه مورد بررسی، داده‌ها مورد تجزیهٔ واریانس یکطرفه (ANOVA) در قالب طرح کاملا تصادفی قرار گرفتند. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه محاسبه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS.20 انجام شد.

نتایج

اثر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر ظهور و رشد نهال: تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک به‌کار رفته بر خصوصیات ظهور و رشد نهال در جدول (۱) خلاصه شده است. EDTA و DTPA به‌طور مؤثری باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی و ظهور نهال گونهٔ گیاهی بررسی شد، اما تأثیر DTPA در کاهش جوانه‌زنی گیاه کمتر از EDTA بود. حداکثر کاهش سرعت و درصد ظهور نهال گیاه به‌ترتیب مربوط به تیمار ۱۰EDTA (۶۵/۱۷ و ۶۳/۶۴) و ۱۰DTPA (۸۰/۱۷ و ۷۴/۶۴) بود. علاوه‌بر این بین غلظت‌های متفاوت اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک در کاهش رشد ریشه و ساقه تفاوت معنی‌دار وجود داشت. حداکثر طول ریشه و ساقه گیاه در هر دو تیمار مربوط به تیمار کنترل بود و حداکثر کاهش رشد ریشه و ساقه گیاه به‌ترتیب در تیمارهای ۱۰EDTA و ۱۰DTPA اندازه‌گیری شد.

بررسی تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر وزن خشک گیاه نشان داد که تیمارهای بکار برده شده باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) وزن خشک گیاه شد. در تیمار EDTA کمترین وزن خشک به‌ترتیب مربوط به تیمارهای ۱۰ و ۵ میلی‌مول در کیلوگرم بود، اما بین این دو غلظت تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p<۰/۰۵$). نظیر این نتیجه برای تیمار DTPA مشاهده شد (جدول ۱).

1- Bio Concentration Factor
2- Translocation Factor
3- Tolerance Index

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

غلظت سرب قابل جذب در محلول خاک و اندام‌های گیاهی تحت تیمارهای متفاوت اسیدهای آمینوپلی کربوکسیلیک: نتایج حاصل از افزودن EDTA و DTPA به خاک گلدان‌های مورد آزمایش نشان داد که افزایش، غلظت اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک باعث افزایش نسبی EC و افزایش قابلیت دسترسی سرب در خاک شد (جدول ۲). همچنین افزایش غلظت اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک بکار رفته باعث کاهش نسبی pH خاک شد. حداکثر افزایش EC و کاهش pH در هر در تیمار مربوط به غلظت‌های ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم بود، هرچند تاثیر DTPA در کاهش هدایت الکتریکی و اسیدیته خاک کمتر از EDTA بود.

اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بکار رفته در مقایسه با تیمار کنترل باعث افزایش فراهمی فلزات در خاک شد، ولی این افزایش در حضور EDTA بیشتر از DTPA بود (جدول ۲). حداکثر غلظت سرب قابل استخراج در خاک هر دو تیمار مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم بود، اما در تیمار EDTA بین غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مول تفاوت معنی‌داری در افزایش غلظت سرب دیده نشد ($p<۰/۰۵$).

نتایج غلظت سرب در ریشه و اندام‌های هوایی گونهٔ گیاهی تحت تیمارهای متفاوت EDTA و DTPA در جدول (۳) خلاصه شده است. غلظت سرب قابل استخراج در ریشه گیاه بیشتر از اندام‌های هوایی بود. بیشترین غلظت سرب در ریشه گیاه به‌ترتیب در تیمار ۵EDTA و ۱۰DTPA اندازه‌گیری شد (جدول ۳). الگوی مشابه ریشه در اندام‌های هوایی مشاهده شد، به‌طوری‌که افزایش EDTA تا سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم خاک منجر به افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی گیاه شد. هرچند تیمار ۱۰EDTA باعث کاهش غلظت سرب در ساقه گیاه شد، ولی این کاهش تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p<۰/۰۵$). درحالی‌که افزایش DTPA تا سطح ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم باعث افزایش نسبی سرب در اندام‌های هوایی گیاه شد.

کارآیی گیاه استخراجی *E. crus galii* در حضور غلظت‌های متفاوت اسیدهای آمینوپلی کربوکسیلیک: مقادیر عامل تجمع (BCF) اندام‌های گیاه نشان‌دهنده حداکثر مقدار عامل تجمع در ریشه گیاه در هر دو تیمار بود (جدول ۴). هرچند افزایش EDTA تا سطح ۱۰میلی‌مول در کیلوگرم، نسبت به تیمار ۵EDTA کاهش عامل تجمع را در گونهٔ گیاهی سبب شد، ولی این کاهش معنی‌دار نبود، درحالی‌که افزایش غلظت DTPA باعث افزایش عامل تجمع گیاه شد.

مقدار عامل انتقال در تیمار EDTA تا سطح ۵ میلی-مول در کیلوگرم افزایش داشت، ولی در تیمار ۱۰ میلی-مول در کیلوگرم این عامل کاهش نسبی نشان داد. در تیمار DTPA با افزایش سطح، مقدار عامل انتقال (TF) افزایش نشان داد که این افزایش در غلظت ۱۰ میلی‌مول معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در کنار دو عامل ذکر شده، شاخص تحمل گیاه (TI) با افزایش غلظت مواد بکار برده شده، کاهش چشمگیری داشت. حداکثر مقدار شاخص تحمل گیاه در هر دو تیمار مربوط به تیمار کنترل بود.

جدول ۱- اثر کاربرد EDTA و DTPA بر خصوصیات ظهور نهال، زیست‌توده (وزن خشک)، طول ریشه و ساقه *E. crus galii*

	تیمار	سرعت جوانه‌زنی (درصد)	ظهور نهال (درصد)	طول ریشه (میلی‌متر)	طول ساقه (میلی‌متر)	وزن خشک (میلی‌گرم)
	C	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۸۶/۳۰±۱/۱۱^{a}	۴۹/۵۱±۱/۰۰^{a}	۶۳/۶۷±۱/۰۰^{a}
EDTA	۱/۵	۹۷/۲۳±۰/۰۰^{ab}	۹۵/۱۳±۱/۳۰^{ab}	۷۰/۴۲±۱/۱۰^{b}	۳۷/۰۰±۲/۰۰^{b}	۴۹/۷۲±۱/۳۰^{b}
	۵	۸۵/۲۴±۱/۷۰^{b}	۸۶/۳۳±۱/۵۵^{b}	۵۱/۰۰±۲/۳۰^{c}	۲۹/۰۰±۲/۰۱^{c}	۴۰/۵۵±۱/۲۲^{c}
	۱۰	۶۵/۱۷±۱/۱۱^{c}	۶۳/۶۴±۱/۴۲^{c}	۳۰/۵۰±۱/۲۰^{d}	۱۸/۱۰±۱/۰۰^{d}	۳۲/۰۰±۱/۲۱^{c}
	C	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۳/۵۰±۱/۰۰^{a}	۵۵/۴۱±۱/۰۰^{a}	۷۱/۵۰±۱/۰۰^{a}
DTPA	۱/۵	۹۹/۱۴±۰/۰۰^{a}	۹۷/۲۲±۱/۱۱^{a}	۸۷/۴۲±۱/۰۰^{b}	۴۷/۵۰±۱/۰۰^{b}	۶۶/۷۲±۱/۱۰^{b}
	۵	۹۰/۳۵±۱/۷۰^{b}	۸۷/۱۳±۱/۴۳^{b}	۶۷/۰۰±۱/۴۱^{c}	۴۰/۵۰±۱/۰۱^{b}	۵۵/۳۵±۱/۱۲^{c}
	۱۰	۸۰/۱۷±۱/۱۱^{c}	۷۴/۶۴±۱/۲۱^{c}	۵۳/۵۰±۱/۳۱^{d}	۲۹/۵۰±۰/۷۰^{c}	۵۱/۰۹±۱/۱۱^{c}

C: کنترل، *: در هر ستون تفاوت دو میانگین که دارای حروف مشترک نیست، از نظر آماری معنی‌دار است (p<٪۵). مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفته است (میانگین‌ها ±انحراف معیار)

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

جدول ۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک‌های تیمار شده با EDTA و DTPA

تیمار	pH	EC دسی‌زیمنس بر متر	Pb میلی‌گرم در کیلوگرم	تیمار	pH	EC دسی‌زیمنس بر متر	Pb میلی‌گرم در کیلوگرم
C	۸/۲۰±۰/۰۲^{a}	۳/۵۰±۰/۰۳^{a}	ND (۰/۰۲>)	C	۸/۲۰±۰/۰۲^{a}	۳/۵۰±۰/۰۳^{a}	ND (۰/۰۲>)
۱/۵EDTA	۷/۸۰±۰/۰۲^{ab}	۴/۲۱±۰/۰۳^{b}	۱۲۰/۰۰±۳/۵۰^{b}	۱/۵DTPA	۸/۰۰±۰/۰۲^{ab}	۳/۹۰±۰/۰۳^{ab}	۱۰۰/۶۱±۱/۴۲^{c}
۵EDTA	۷/۵۰±۰/۰۲^{bc}	۴/۷۶±۰/۰۳^{bc}	۱۶۸/۰۵±۳/۵۰^{a}	۵DTPA	۷/۷۰±۰/۰۲^{bc}	۴/۳۰±۰/۰۳^{bc}	۱۳۶/۳۲±۱/۵۰^{b}
۱۰EDTA	۷/۰۰±۰/۰۲^{c}	۴/۷۸±۰/۰۳^{c}	۱۷۰/۸۸±۳/۵۰^{a}	۱۰DTPA	۷/۲۰±۰/۰۲^{c}	۴/۵۰±۰/۰۳^{c}	۱۵۱/۲۲±۱/۶۴^{a}

ND: غیرقابل اندازه‌گیری (NOT Detected)، ※: در هر ستون تفاوت دو میانگین که دارای حروف مشترک نیست، از لحاظ آماری معنی‌دار است (p<٪۵). مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفته است (میانگین‌ها ±انحراف معیار).

جدول ۳- غلظت سرب اندام‌های گیاهی در انتهای دوره رشد تحت تیمارهای متفاوت EDTA و DTPA

تیمار EDTA	ریشه میلی‌گرم در کیلوگرم	ساقه میلی‌گرم در کیلوگرم	تیمار DTPA	ریشه میلی‌گرم در کیلوگرم	ساقه میلی‌گرم در کیلوگرم
C	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)	C	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)
۱/۵	۲۰۰/۰۰±۷/۱۰$^{B-a}$	۸۹/۱۱±۳/۰۰$^{B-b}$	۱/۵	۱۵۸/۰۰±۶/۰۰$^{C-a}$	۶۶/۲۱±۱/۵۰$^{C-b}$
۵	۲۳۶/۰۰±۷/۳۳$^{A-a}$	۱۱۰/۰۰±۳/۲۲$^{A-b}$	۵	۱۷۸/۷۸±۶/۰۹$^{B-a}$	۸۳/۲۱±۱/۵۵$^{B-b}$
۱۰	۲۳۰/۰۵±۸/۲۶$^{A-a}$	۱۰۴/۰۶±۳/۵۰$^{A-b}$	۱۰	۲۰۰/۲۴±۷/۱۰$^{A-a}$	۹۹/۵۰±۲/۰۰$^{A-b}$

※: در هر ردیف تفاوت میانگین غلظت سرب ریشه و اندام هوایی (حروف کوچک) که دارای حروف مشترک نیست، از نظر آماری معنی‌دار است (p<٪۵).

※: در هر ستون تفاوت میانگین غلظت‌های هر تیمار (حروف بزرگ)که دارای حروف مشترک نیست، از نظرآماری معنی‌دار است (p<٪۵).

※: مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفته است (میانگین‌ها ±انحراف معیار).

جدول۴- تأثیر EDTA و DTPA بر عامل تجمع (BCF)، عامل انتقال (TF) و شاخص تحمل (TI).

تیمار	عامل تجمع ریشه	عامل تجمع اندام هوایی	فاکتور انتقال	شاخص تحمل
C	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)
۱/۵EDTA	۱/۲۷±۰/۱۰$^{b-A}$	۰/۹۲±۰/۱۰$^{b-B}$	۰/۴۴±۰/۱۰^{a}	۱/۰۰±۰/۲۳^{a}
۵EDTA	۲/۲۳±۰/۲۲$^{a-A}$	۱/۳۹±۰/۱۰$^{a-B}$	۰/۴۶±۰/۱۰^{a}	۰/۸۵±۰/۲۰^{b}
۱۰EDTA	۲/۱۹±۰/۲۲$^{a-A}$	۱/۳۳±۰/۳۵$^{a-B}$	۰/۴۵±۰/۲۰^{a}	۰/۶۰±۰/۲۰^{c}
C	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)	ND (۰/۰۲>)
۱/۵DTPA	۱/۱۳±۰/۱۰$^{c-A}$	۰/۶۷±۰/۱۰$^{c-B}$	۰/۳۷±۰/۱۰^{b}	۱/۰۰±۰/۲۰^{a}
۵DTPA	۱/۹۶±۰/۱۲$^{b-A}$	۱/۰۵±۰/۱۰$^{b-B}$	۰/۴۱±۰/۱۰^{b}	۰/۹۰±۰/۲۱^{a}
۱۰DTPA	۲/۱۴±۰/۱۷$^{a-A}$	۱/۲۱±۰/۱۰$^{a-B}$	۰/۴۹±۰/۱۰^{a}	۰/۷۶±۰/۲۱^{b}

※: در هر ردیف تفاوت میانگین فاکتورهای تجمع ریشه و اندام هوایی (حروف بزرگ) که دارای حروف مشترک نیستند از لحاظ آماری معنی‌دار است (p<٪۵).

※: در هر ستون تفاوت میانگین غلظت‌های هر تیمار (حروف کوچک)که دارای حروف مشترک نیستند از لحاظ آماری معنی‌دار است (p<٪۵).

※: مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفته است (میانگین‌ها ±انحراف معیار).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از تأثیر اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک EDTA و DTPA بر خصوصیات ظهور نهال و رشد گونهٔ *E. crus galii* نشان داد که افزایش غلظت هر دو تیمار باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی و درصد ظهور نهال گیاه شد که دلیل این موضوع می‌تواند مربوط به افزایش قابلیت دسترسی فلزات سمی بعد از کاربرد EDTA و DTPA در خاک باشد (۲). تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که اسیدهای آمینوپلی کربوکسیلیک به‌دلیل افزایش دسترسی فلزات در خاک و تأثیرات سمی که خود این مواد دارند باعث کاهش رشد و جوانه‌زنی گیاهان می‌شوند (۴).

با وجود مطالعات موفق در زمینه کاربرد این دسته مواد در پالایش خاک‌های آلوده، محققان زیادی نگرانی خود را به‌علت افزایش غلظت زیاد فلزات سمی در خاک ناشی از کاربرد اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک اظهار کرده‌اند. تولید زیست‌توده گیاهان در مواجه با غلظت‌های زیاد اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک و فلزات سمی، کاهش جوانه‌زنی گیاه، کاهش فتوسنتز و خشک شدن

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

اندام‌های هوایی، به‌شکل چشمگیری کاهش پیدا می‌کند (۲۵).

نتایج به‌دست آمده از مقایسه وزن خشک اندام‌های گیاهی نشان داد که کاربرد اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک باعث کاهش وزن خشک گونهٔ گیاهی در مقایسه با تیمارهای کنترل شد. تورگات و همکاران[1] (۲۰۰۵) در آزمایشی که بر روی گیاه‌پالایی کادمیوم، نیکل و کروم توسط *Helianthus annuus* انجام دادند، گزارش کردند که افزودن EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های بالای این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (۳۱).

یکی از دلایل کاهش زیست‌توده گیاه این است که سلول‌های ریشه گیاه درصورتی‌که اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک در غلظت بالاتر از ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم استفاده شوند از بین می‌روند (۱۹). در توضیح این مسئله می‌توان بیان کرد که عملکرد اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک، افزایش تحرک فلزات در خاک و در دیواره سلولی ریشه گیاه است که به انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی گیاه نیز کمک می‌کند، ولی گاهی این مواد در غلظت‌های کم هم برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه، نکروز و حتی مرگ گیاه می‌شود. برای مثال چن[2] و همکاران (۲۰۰۴)، علائم ناشی از سمیت EDTA شامل نکروز را در گیاه آفتابگردان و خردل هندی گزارش کردند (۶).

نتایج حاصل از تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر خصوصیات خاک نشان داد که افزودن این مواد به خاک باعث کاهش pH خاک شد.. موسپ[3] و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تأثیر EDTA بر روی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سمی توسط *Taraxacum officinale* گزارش کردند که این ماده باعث کاهش pH و افزایش EC در مقایسه با تیمار شاهد شد (۲۴).

اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک EDTA و DTPA به-شکل وسیعی برای انحلال رسوبات آهکی ناشی از تبخیر آب مورد استفاده قرار می‌گیرند. کارآیی این مواد به‌علت دارا بودن ساختار چندوجهی است که با یون‌های کلسیم و آهن پیوند برقرار می‌کنند. به‌عبارت بهتر این مواد به‌دلیل داشتن کربوکسیلات و آمینو در ساختار خود با یون‌های فلزی موجود در خاک پیوند برقرار می‌سازند که منجر به آزادسازی یون‌های H^+ می‌شود (۱۲)، بنابراین می‌توان افزایش اسیدیته خاک را با افزایش غلظت این اسیدها به-دلیل رهاسازی بیشتر یون‌های هیدروژن نسبت داد. نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر این موضوع را به‌خوبی بیان می‌کند.

بررسی انجام شده نشان داد که pH و EC خاک در فراهمی عناصر و جذب آنها توسط گیاهان مؤثر است. بعضی از تراوشات ریشه گیاهان و همچنین ترکیبات چنگالی کلات‌ها عوامل موثر بر افزایش جذب عناصر از خاک توسط گیاهان به‌حساب می‌آیند (۱۶)، به‌طوری‌که افزایش قابلیت دسترسی فلزات بعد از کاربرد EDTA و DTPA ممکن است به‌دلیل قلیائیت پایین خاک باشد. اربابی و همکاران (۱۳۹۱) افزایش قابلیت دسترسی سرب، روی و مس را بعد از اضافه‌کردن EDTA و DTPA به خاک گزارش کردند. در واقع، وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیبات کلات و فلزات سبب می‌شود فلزات کمتر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته، لذا مانع از رسوب و تثبیت آنها در خاک می‌شوند. از طرفی کلات‌ها توسط ریشه گیاهان قابل جذب بوده و می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیرمحلول به فازهای تبادلی انتقال داده و در نهایت میزان جذب فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند (۷). بلیلاک و همکاران[4] (۱۹۹۷) گزارش کردند که EDTA و DTPA باعث افزایش فراهمی سرب و کادمیوم در اندام‌های هوایی *Brassia juncea* شدند. نظیر این نتیجه را ژو و همکاران[5] (۲۰۱۱) در گیاه‌پالایی سرب توسط گونهٔ *Lolium multiflorum* ارائه دادند (۳۶).

یکی از عوامل اثرگذار در افزایش جذب فلزات از خاک توسط گیاه، کاهش pH خاک است. بعضی از خصوصیات خاک نظیر pH و غلظت کل فلز، کارآیی اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک را مؤثر می‌سازد (۱۳). نتایج خاک

1- Turgut
2- Chen
3- Mossop
4- Blaylock
5- Zhao

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

تحت تیمار اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک، کاهش pH خاک را نشان داد، لذا می‌توان کاهش pH را دلیلی بر جذب فلزات در غلظت‌های بالا بیان کرد.

نتایج حاصل از محاسبه عامل تجمع (BCF) سرب گونهٔ گیاهی حاکی از افزایش این عامل در مقایسه با تیمار شاهد بود، به‌طوری‌که بیشترین عامل تجمع مربوط به ریشه گیاه در مقایسه با اندام هوایی بود. مک‌گراف و ژو[1] (۲۰۰۳) گزارش کردند که یک گیاه با عامل تجمع برابر ۴۰ می‌تواند غلظت فلزات را در عمق ۲۰ سانتی‌متری خاک به نصف کاهش دهد، درصورتی‌که این گیاه تولیدی برابر ۵ تن در هکتار داشته باشد، اما گیاه با عامل تجمع برابر ۲۰ باید حداقل تولید ۱۰ تن در هکتار داشته باشد (۲۲).

هرچند با افزایش غلظت EDTA غلظت سرب قابل استخراج در اندام‌های گیاهی افزایش داشت اما، در غلظت ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA، غلظت سرب قابل استخراج در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه کاهش داشت. دلیل این موضوع این است که سلول‌های ریشه گیاه درصورتی‌که مواد بهساز در غلظت ۱۰ و بالاتر از ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم استفاده شوند از بین می‌روند (۱۹). علاوه‌بر عامل تجمع، یکی از عوامل مهم در انتخاب گونه‌های بیش‌اندوز، عامل انتقال (TF) است. مقادیر پایین این عامل نشان‌دهنده پتانسیل گیاه برای تجمع فلزات در اندام‌های زیرزمینی است. بعضی از گونه‌ها با دفع فلزات، جهت حفظ بخش‌های هوایی از آسیب ناشی از تجمع فلزات مانع از انتقال این عناصر به ساقه و برگ شده و غلظت فلز در بافت‌های فتوسنتزکننده به‌شکل قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (۱۴).

در گیاهانی که از سیستم ریشه‌صافی[2] برای پالایش خاک‌های آلوده بهره می‌برند، غلظت فلز در بافت‌های زیرزمینی مورد اهمیت است و غلظت فلزات در بخش‌های فتوسنتزکننده از اهمیت کمتری برخوردار است (۱). بررسی نتایج حاصل از مقدار فاکتور انتقال نشان داد با افزایش غلظت EDTA و DTPA مقدار این عامل کاهش پیدا کرد، هرچند این تفاوت همواره معنی‌دار نبود که نشان‌دهندهٔ پتانسیل *E. crus galii* برای تجمع فلزات در بخش‌های زیرزمینی است. بعضی گیاهان به‌عنوان دافع فلزات، جهت حفظ بخش‌های هوایی از آسیب ناشی از تجمع فلزات مانع از انتقال عناصر سمی به ساقه و برگ شده و غلظت فلز در بافت‌های فتوسنتزکننده به‌شکل قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (۱ و ۱۴)

بررسی تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر شاخص تحمل گونهٔ مورد بررسی (TI) نشان داد که با افزایش غلظت EDTA و DTPA این شاخص کاهش داشت. مقدار شاخص تحمل وقتی که عامل منفی بر رشد گیاه وجود ندارد برابر یک می‌باشد. این مقدار درصورت وجود عامل مثبت به بیشتر از یک افزایش داشته، ولی در صورت وجود عامل منفی به زیر یک کاهش می‌یابد (۳۴). حداکثر مقدار کاهش شاخص تحمل، به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مول در کیلوگرم در هر دو تیمار مشاهده شد.

نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که گونهٔ *E. crus galii* قابلیت استفاده برای پالایش خاک‌های آلوده به سرب را در حضور اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک EDTA و DTPA داراست و با افزایش غلظت EDTA و DTPA قابلیت دسترسی فلزات در خاک و اندام‌های گیاهی به‌خصوص ریشه افزایش نشان داد، ولی به‌دلیل تاثیر منفی این مواد بر خصوصیات گیاهی و شاخص تحمل گیاهان، غلظت‌های بالای این مواد برای افزایش کارایی پالایش خاک در خاک‌های آلوده به سرب پیشنهاد نمی‌شود. همچنین جهت کسب نتیجه بهتر، باتوجه به گلدانی بودن این تحقیق در شرایط گلخانه نیاز به بررسی بیشتر کارآیی این گیاه در شرایط مزرعه و مقایسه تأثیر سایر مواد بهساز برای افزایش جذب فلزات سنگین می‌باشد.

1- McGrath and Zhao
2 - Rhizofiltration

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

References

1. Ait Ali, N., M. Pilar Bernal & A. Mohammed, 2004. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of Cadmium, Copper, and Zinc. J. Aquatic Botany. 80:163-176.
2. Arbabi, K., 2013. Effects of EDTA and DTPA on phytoremediation potential seedling of *Prosopis cineraria* and *Eucalyptus camaldulensis* species for lead, copper and zinc absorption from contaminated soils. M.Sc thesis.University of Zabol, Faculty of Water and Soil Science, 115pp. (In Persian)
3. Berry, J.W., D.G. Chappell & R.B. Barnes, 1946. Improved Method of Flame Photometry. Ind. Industrial and Engineering Chemistry Analytical Edition, 18(1): 19-24.
4. Black, C.A., 1965. Methods of soil chemical analysis and microbiological properties. Agronomy No. 9. American Society of Agronomy, Madison.
5. Blaylock, M.J., D.E. Salt, S. Dushenkov, O. Zakharova, C. Gussman, Y. Kapulnik, B.D. Ensley & I. Raskin, 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. J. Environmental Science and Technology, 31: 860-865.
6. Chen, Y., X. Li & Z. Shen, 2004. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. Chemosphere. 57:187-196.
7. Clemens, S., M.G. Palmgren & U. Kramer, 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. J. Trends in Plant Science 7: 309-315.
8. Day, P. R, 1982. In Methods of soil Analysis, part 2; Page, A. L., et al., Eds.; Agronomy Monograph 91 American Society of Agronomy: Madison, WI. pp: 935-951.
9. Du Laing, G., F.M.G. Tack & M.G. Verloo, 2003. Performance of selected destruction methods for the determination of heavy metals in reed plants (*Phragmites australis*). J. Anallytic Chimic Acta. 497(8): 191-198.
10. Fritsch, C., P, Giraudoux, M, Coeurdassie, F. Douay, F. Raoul, C. Pruvot, C. Waterlot, A. Vaufleury & R. Scheifler, 2010. Spatial distribution of metals in smelterimpacted soils of woody habitats: influence of landscape and soil properties, and risk for wildlife. Chemosphere, 81: 141-155.
11. Grčman, H., S. Velikonja-Bolta, D. Vodnik, B. Kos & D. Lestan, 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. J. Plant Soil. 235:105-114.
12. Holleman, A.F., & E. Wiberg, 2001. Inorganic Chemistry. San Diego: Academic Press. 1924pp.
13. Jones, P.W. & D.R. Williams, 2001. Chemical speciation used to assess [S,S0]-ethylenediaminedissuccinic acid (EDDS) as a readily-biodegradable replacement for EDTA in radiochemical decontamination formulations. J. Applied Radiation and Isotopes. 54: 587-593.
14. Karpiscak, M.M., L.R. Whiteaker, J.F. Artiola & K.E. Foster, 2001. Nutrient and heavy metal uptake and storage in constructed wetland systems in Arizona. J. Water Science and Technology. 44: 455-462.
15. Kim, S.H., J.S. Park & I.S. Lee, 2009. Characterization of Cadmium binding ligands from roots of *Echinochloa crusgalli*, J. Plant Biology, 52: 167-170.
16. Knight, B., F.J, Zhao, S.P, McGrath & A.G. Shen, 1997. Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thalaspi caerrulescens* in contaminated soils and its effect on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution. J. Plant and Soil. 197:71-78.
17. Lestan, D., C.L. Luo & X.D. Li, 2008. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. J. Environmental Pollution, 156: 3-13.
18. Lindsay, W.L. & W.A. Norvell, 1978. Development of DTPA soil test for Zinc, Iron, manganese and copper. J. Soil Science Society of America.42: 421-428.
19. Luo, C., Z.G. Shen, X. Li & A.J.M. Baker, 2006. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. Chemosphere. 63:1773-1784.
20. Maguire, J.D., 1962. Speed of germination: Aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. J. Crop Science. 2: 176-177.
21. Mattina, M.J., W. Lannucci-Berger, C. Musante & J.C. White, 2003. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. J. Environmental Pollution. 124: 375-378.
22. McGrath, S.P. & Zhao, F.J., 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. J. Current Opinion in Biotechnology, 14: 277-282.
23. Meers, E., A. Ruttens, M.J. Hopgood, D. Samson, F.M.G. Tack, 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. Chemosphere. 58: 1011-1022.
24. Mossop, K.F., M.D. Christine, M.U. Allan, A.S. Charles & J.H. Stephen, 2009. Effect of EDTA on the fractionation and uptake by *Taraxacum officinale* of potentially toxic elements in soil from former chemical manufacturing sites. J. Plant Soil, 320:117-129.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]

25. Nascimento, C.W.A., D. Amarasiriwardena & B. Xing, 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. J. Environmental Pollution. 140: 114-123.
26. Olsen, S.R. & L.E. Sommers, 1982. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties, second ed., Agronomy No. 9. ASA, SSSA, Madison, WI, pp. 403-430.
27. Rhoades, J.D, 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: Methods of soil analysis, American Society of Agronomy, pp. 417-435 (Page, A.L., Ed). Madison, WI.
28. Shibata, M., T. Konno, R. Akaike, Y. Xu, R.F. Shen & J.F. Ma, 2007. Phytoremediation of Pb contaminated soil with polymercoated EDTA. J. Plant Soil 290:201-208.
29. Tang, J., T.F. Xiao, S.J. Wang, J.L. Lei, M.Z. Zhang., Y.Y. Gong, H.J. Li, Z.P, Ning & L.B. He, 2009. High cadmium concentrations in areas with endemic fluorosis: a serious hidden toxin. Chemosphere, 76: 300-305.
30. Thomas, G.W., 1996. Soil pH and soil acidity. P 475-490. In: Sparks et al. (eds.) Methods of soil analysis, part 3. Agron. Mongr. 9. 2nd ed. ASA and SSSA, Madison, WI.
31. Turgut, C., M. Katie & J.C. Teresa, 2005. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. Chemosphere. 58: 1087-1095.
32. Wilkins, D.A., 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. J. The New Phytologist. 80: 623-633.
33. Xu, J., H.X. Yin & X. Li, 2009. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. J. Plant Cell Reports. 28: 325-333.
34. Zaier,H., G, Tahar, B.R. Kilani, L. Abdelbasset, R. Salwa & J. Fatima, 2010. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. J. Bioresource Technology. 101: 3978-398
35. Zayed, A., S. Gowthaman & N. Terry, 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. I. Duckweed. J. Environmental Quality. 27: 715-721.
36. Zhao, H.Y., L.J. Lin, Q.L. Yan, Y.X. Yang, X.M. Zhu & J.R. Shao, 2011. Effects of EDTA and DTPA on Lead and Zinc Accumulation of Ryegrass. J. Environmental Protection, 2: 932-939.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2024-05-08]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1392.7.4.1.6]