

ارزیابی روش کاربرد EDTA در کاهش ریسک آبخوایی سرب به آب‌های زیرزمینی با استفاده از *Hordeum bulbosum* L.

مهديه ابراهیمی^۱، نصراله اصلی‌نژاد^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۲۰

مقاله برگرفته از پژوهش گلخانه‌ای - آزمایشگاهی می‌باشد.

چکیده

مطالعه حاضر به منظور افزایش کارایی گیاه‌استخراجی گونه (*Hordeum bulbosum* L. جو پیاردار) در خاک‌های (بافت خاک لومی رسی) آلوده به سرب با استفاده از اتیلن دی‌امین تترا استیک اسید (EDTA) (غلظت ۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم)، تعیین بهترین زمان تیمار و شیوه کاربرد EDTA جهت کاهش خطر آبخوایی سرب به آب‌های زیرزمینی انجام شد. از خاک‌های غیرآلوده بدون EDTA و آلوده بدون EDTA به‌عنوان شاهد استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تیمار 5EDTA حداکثر (۸۹۰/۷۰) میلی‌گرم در کیلوگرم در اندام‌های زیرزمینی و (۷۲۰/۶۵) میلی‌گرم در کیلوگرم در اندام‌های هوایی) میزان برداشت سرب صورت گرفت؛ بنابراین در مرحله دوم تحقیق تیمار ۵ میلی‌مول در کیلوگرم جهت ارزیابی بهترین زمان برداشت گیاه در دوره‌های زمانی ۲۰ روز (رشد رویشی)، ۸۰ روز (مرحله گلدهی) ۱۴۰ روز (مرحله بذردهی) استفاده شد. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، غلظت سرب در بافت‌های گیاهی افزایش داشت، اما بین مرحله گلدهی و بذردهی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (p<0/05) و بهترین زمان برداشت گیاه، به‌منظور دستیابی به حداکثر برداشت سرب از خاک دوره گلدهی است. در مرحله سوم جهت کاهش خطر آبخوایی سرب، غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم در سه روش یک‌بار، دوبار متوالی و سه‌بار متوالی به خاک اضافه شد. نتایج نشان داد که تحت کاربرد EDTA به‌صورت یک‌بار، میزان سرب خاک به حداقل رسید. داده‌ها نشان داد که حداکثر میزان سرب در اندام‌های گیاهی در کاربرد روش یک‌بار به‌دست آمد، درحالی‌که غلظت فلز در اندام‌های گیاهی بین روش دوبار و سه‌بار متوالی تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت. به‌طورکلی، بهینه گیاه‌استخراجی گونه *H. bulbosum* و کاهش خطر آبخوایی سرب در کاربرد غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA با روش یک‌بار اضافه کردن و برداشت گیاه ۸۰ روز بعد از کاشت به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، گیاه‌استخراجی، EDTA، *Hordeum bulbosum* L.

^۱ استادیار، دانشکده آب و خاک، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه زابل، ایران، تلفن تماس: ۰۹۱۳۱۴۶۴۸۹۳
Email: maebrahimi2007@uoz.ac.ir (نویسنده مسئول)

^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد بیابان‌زدایی، دانشکده آب و خاک، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه زابل، ایران، تلفن تماس: ۰۹۱۷۹۱۴۳۹۵۶
Email: Aslinejad@yahoo.com

مقدمه

بخش‌های زیادی از خاک آلوده به فلزات سنگین هستند که این موضوع سبب بروز مشکلاتی در رشد، تولید مثل و توسعه موجودات زنده (فریتچ و همکاران، ۲۰۱۰؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۸) و همچنین تهدید بزرگی برای سلامت اکوسیستم‌ها و بشر محسوب می‌شود (تانگ و همکاران، ۲۰۰۹). در این خصوص گیاه‌استخراجی^۱ یکی از روش‌های موثر پالایش خاک است که از گیاهان بیش‌اندوز^۲ برای استخراج فلزات سنگین از خاک و آب-های آلوده استفاده می‌کند (سو و همکاران، ۲۰۰۹).

با وجود کارایی گیاه‌استخراجی در پالایش خاک، تنها بخشی از فلزات سنگین از خاک حذف شده و قابل دسترس برای گیاهان می‌باشند. یکی از دستاوردها در خصوص افزایش کارایی گیاه‌استخراجی کاربرد مواد به‌ساز و استفاده از گیاهان با زیست‌توده بالا است (لستن و همکاران، ۲۰۰۸). انواع مختلفی از مواد به‌ساز در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته‌اند (اوانگلو و همکاران، ۲۰۰۷) که یکی از مهم‌ترین این مواد اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA^۳) است (گرسمن و همکاران، ۲۰۰۱، تورگات و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طور مثال هوانگ و همکاران (۱۹۹۷) در مقایسه پنج ماده به‌ساز شامل EDTA، دی اتیلن تترا آمین پنتا استیک اسید (DTPA^۴)، سیکلو هگزین دی تریلو تترا استیک اسید (CDTA^۵)، نیتریلو تری استیک اسید (NTA^۶) و اتیلن گلیکو تترا استیک اسید (EGTA^۷) گزارش کردند که بهترین ماده به‌ساز برای کاهش سرب موجود در خاک EDTA است.

اما نکته مهم در استفاده از این ماده انتخاب غلظت مناسب است، زیرا در غلظت‌های بالا، خطر آبیویی کمپلکس فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی وجود دارد (شیباتا و همکاران، ۲۰۰۷؛ ویو و همکاران، ۲۰۰۴)، به‌همین دلیل علی‌رغم کارایی EDTA در افزایش پتانسیل گیاه‌استخراجی، خطر آبیویی این ماده به آب‌های زیرزمینی کاربرد آن را محدود کرده است. به‌طور مثال لومی و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که کاربرد ۲/۷

میلی‌مول در کیلوگرم EDTA باعث افزایش غلظت فلزات در محلول خاک شده، ولی چندین هفته این ماده در محلول خاک باقی ماند. همچنین الکو ترا و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بعد از ۵ ماه از کاربرد EDTA، کمپلکس کلات-فلز در خاک به‌صورت پایدار باقی می‌ماند. به‌عبارت بهتر به‌منظور کاهش ریسک آبیویی فلزات سنگین به آب‌های زیرزمینی و کاهش تاثیرات منفی EDTA، انتخاب غلظت مناسب و همچنین شیوه کاربرد آن عوامل کلیدی در افزایش کارایی این ماده محسوب می‌شوند. هدف از تحقیق حاضر بررسی غلظت مناسب مورد استفاده EDTA، زمان مناسب برداشت گیاه و شیوه مناسب کاربرد EDTA جهت حداکثر پالایش خاک و کاهش آبیویی سرب در خاک‌های آلوده به این فلز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گلدان‌ها

خاک مورد استفاده در این پژوهش از نمونه‌های خاک گلخانه (بافت لومی رسی) دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل فراهم گردید. کارایی گونه *Hordeum bulbosum* L. (جو) پیازدار، خانواده گرامینه، چندساله، ارتفاع حداقل ۱۰۰ سانتی‌متر، تکثیر با بذر و پیاز) در جذب سرب در آزمایشات قبلی بررسی شد (ابراهیمی، ۲۰۱۲). سپس برای بررسی تاثیر بهترین غلظت EDTA (Na₂EDTA) جهت افزایش میزان جذب سرب از خاک توسط گیاه، معادل ۵۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب (PbNO₃) قبل از کشت به نمونه‌های خاک (بافت لومی رسی (دی، ۱۹۸۲)، مقدار نیتروژن کل (۰/۱۴٪) (بلک، ۱۹۶۵)، فسفر کل (۰/۴۹٪) (اولسون و سامرز، ۱۹۸۲)، پتاسیم کل (۰/۳۳٪) (بری و همکاران، ۱۹۴۶)، اسیدپته (۸/۲۰)، مدل دستگاه (691, Metrohm AG Herisau Switzerland) (تاماس، ۱۹۹۶) و هدایت الکتریکی (۳/۵۰) دیسی‌زیمنس بر متر، مدل دستگاه (DDS-307, Shanghai, China) (روادز، ۱۹۹۶) اضافه و نمونه‌های خاک آلوده شدند. سپس بذور گیاه (۱۵ عدد) در هر گلدان (۵ کیلوگرم خاک، به ابعاد ۱۵×۱۰×۶۰ سانتی‌متر) کشت گردید. EDTA در غلظت‌های (۱/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم) با ۵ تکرار طی رشد گیاه به‌مدت ۶۰ روز به فواصل ۱۰ روز یک‌بار به‌صورت اسپری به خاک اضافه شد. در کنار هر تیمار یک

¹Phytoextraction²Hyperaccumulator³Ethylene diamine tetra acetic acid⁴Diethylene triamine pentaacetic acid⁵Cyclohexylene ditriolo tetraacetic acid⁶Nitrilo triacetic acid⁷Ethylene glycol tetraacetic acid

آلوده و تیمار شده با اپتیمم غلظت EDTA مشخص شده از مراحل قبلی، انجام شد. سپس گیاه و خاک آلوده در هر گلدان در ابتدای رشد (۲۰ روز از زمان کاشت)، گلدهی (۲ ماه پس از برداشت اول) و بذردهی (۲ ماه پس از برداشت دوم) برداشت شد و با توجه به غلظت سرب در اندام‌های زیرزمینی، هوایی و خاک بهترین زمان برداشت گیاه بررسی گردید.

برای بررسی کاهش خطر آبتیومی سرب-کلات به آب‌های زیرزمینی، با توجه به نتایج مرحله دوم، اپتیمم غلظت EDTA انتخاب و به سه روش یک‌بار (Single)، دوبار متوالی با غلظت یکسان (Double)، سه‌بار متوالی با غلظت یکسان (Triple) به خاک اضافه گردید. در این مرحله در هر بار اضافه کردن EDTA در روز مشخص شده، نمونه خاک گلدان (یک چهارم خاک گلدان از انتها) ۷ روز پس از هربار اضافه کردن، برداشت شده و برای اندازه‌گیری مقدار سرب موجود در خاک و بافت‌های گیاهی آماده شد. هدف از انجام این مرحله این بود که مشخص شود در کدام یک از سه روش به‌کار رفته با توجه به اپتیمم غلظت EDTA، بهترین امکان برای کاهش خطر آبتیومی کلات-فلز وجود دارد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها (آزمون Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس‌ها (آزمون Levene)، به منظور بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت در افزایش جذب و تفاوت بین زمان‌های برداشت و تفاوت در روش‌های کاربرد EDTA، داده‌ها مورد تجزیه واریانس چندطرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ قرار گرفتند و برای مقایسات میانگین از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک تحت

تیمارهای متفاوت EDTA

نتایج حاصل از افزودن EDTA به خاک گلدان‌های مورد آزمایش (جدول ۱) نشان داد که افزایش غلظت EDTA، باعث افزایش نسبی هدایت الکتریکی خاک و افزایش قابلیت دسترسی سرب موجود در خاک گردید.

تیمار خاک غیرآلوده-بدون (C) EDTA و تیمار خاک آلوده-بدون (W) EDTA در نظر گرفته شد. کشت در شرایط گلخانه‌ای (دمای 23 ± 5 درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت و آبیاری گیاهان با آب لوله‌کشی شهری (آب شیرین) (ایت علی و همکاران، ۲۰۰۴) و به‌صورت یک روز در میان به مدت ۶۰ روز (رسیدن به حد قابل قبول از رشد گیاه) انجام شد.

گونه گیاهی کشت شده بعد از رسیدن به حد نصاب رشد، برداشت شد و پس از آماده‌سازی در آزمایشگاه (شستشو با آب مقطر و خشک شدن در آون (مدل دستگاه، MEMMERT UNB 400)، غلظت سرب در اندام‌های گیاهی اندازه‌گیری (مدل دستگاه، GBC Avanta, Australia) 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 (دو لیانگ و همکاران، ۲۰۰۳) و غلظت سرب موجود در خاک با روش عصاره‌گیری با دی اتیلن تترا آمین پنتا استیک اسید (DTPA) (لیندسی و نورول، ۱۹۷۸)، توسط دستگاه جذب اتمی (مدل دستگاه، GBC Avanta, Australia) تعیین شد. غلظت سرب در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه در شرایط کنترل و خاک آلوده اندازه‌گیری گردید و با توجه به شاخص‌های BCF^۱ (فاکتور تجمع: غلظت فلز در مواد گیاهی برداشت شده به غلظت فلز در محلول خاک) (زید و همکاران، ۱۹۹۸)، TF^۲ (فاکتور انتقال: غلظت فلز در بخش‌های هوایی گیاه به غلظت فلز در ریشه) (متینا و همکاران، ۲۰۰۳) و TI^۳ (شاخص تحمل: وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک آلوده به وزن خشک گیاه رشد کرده در خاک غیرآلوده) (ویلیکینز، ۱۹۷۸) و زیست‌توده گیاه بهترین غلظت EDTA در افزایش جذب سرب بررسی شد.

بعد از انجام آزمایشات مرحله اول، با توجه به فاکتورهای ماده خشک گیاه و غلظت سرب خاک و اندام‌های گیاهی، در خاک‌های با شرایط قبل مناسب‌ترین زمان برداشت گیاه جهت حداکثر کاهش میزان سرب در خاک بررسی شود. بدین منظور کشت گیاه در خاک‌های

^۱Bio Concentration Factor

^۲Translocation Factor

^۳Tolerance Index

میلی مول در کیلوگرم خاک منجر به افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی گیاه شد و تیمار EDTA ۱۰ باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرب در اندام‌های گیاه گردید. لی و چن (۲۰۰۵) در بررسی گیاه‌پالایی کمپلکسی از فلزات سنگین توسط گیاه *Dianthus chinensis* با کاربرد غلظت‌های ۲ و ۵ میلی‌مول EDTA گزارش کردند که غلظت ۵ میلی‌مول به‌شکل قابل ملاحظه‌ای باعث افزایش فراهمی فلزات در اندام‌های گیاهی می‌شود. واسیل و همکاران (۱۹۹۸) در بررسی گیاه‌پالایی *Brassica juncea* بیان داشتند که رابطه مثبت بین غلظت EDTA در خاک و سرب در برگ گیاه وجود دارد. این محققان اظهار داشتند که در خاک آلوده در حضور EDTA سرب به‌صورت ترکیب فلز-کلات قابل استخراج است؛ اما EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های بالای این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه (مرگ سلول‌های ریشه) و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (لو و همکاران، ۲۰۰۶). همان‌طور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد حداقل وزن خشک گیاهی (۶/۴۲ گرم)، حداقل جذب سرب در اندام‌های زیرزمینی (۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و اندام‌های هوایی (۵۰۰/۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار EDTA ۱۰ اندازه‌گیری شد (جدول ۱) که کاملاً این مطلب را تایید می‌نماید که این ماده در غلظت‌های بالا باعث کاهش جذب فلزات سنگین از خاک می‌شود.

بررسی انجام شده نشان داده است که pH و EC خاک در فراهمی عناصر و جذب آن‌ها توسط گیاهان موثر هستند. همچنین بعضی از تراوشات ریشه گیاهان و ترکیبات چنگالی کلات‌ها عوامل موثر بر افزایش جذب عناصر از خاک توسط گیاهان به‌حساب می‌آیند (نایت و همکاران، ۱۹۹۷). به‌طوری‌که افزایش قابلیت دسترسی فلزات بعد از کاربرد EDTA ممکن است به‌دلیل کاهش قلیائیت خاک (اسیدیته ۸ به پایین) باشد. مادرید و همکاران (۲۰۰۳) افزایش قابلیت دسترسی عناصر سمی بعد از اضافه کردن EDTA به خاک را گزارش کردند. از طرفی سارکر و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود بر روی افزایش فراهمی سرب با استفاده از EDTA و EDDS گزارش کردند که افزایش pH از ۷/۲ به ۸/۲ باعث (کاهش اسیدیته) کاهش فراهمی سرب در خاک می‌شود.

همچنین افزایش غلظت EDTA باعث کاهش نسبی pH خاک شد، ولی این افزایش همواره معنی‌دار نبود ($p < 0/05$). نظیر این نتیجه را تورگات و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی تاثیر اسیدسیتریک و EDTA در تیمارهای جداگانه در گیاه‌پالایی^۱ کادمیوم، کروم و نیکل توسط گونه *Helianthus annuus* به‌دست آوردند. این محققان نشان دادند که افزودن مقادیر ۱/۵ و ۳ میلی‌مول EDTA هرچند تاثیر معنی‌داری در اسیدیته خاک نداشت، ولی باعث کاهش pH خاک شد. همچنین موسپ و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تاثیر EDTA در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سمی توسط گونه *Taraxacum officinale* گزارش کردند که این ماده باعث کاهش pH و افزایش EC خاک در مقایسه با تیمار شاهد شد. در توجیه این مسئله می‌توان اظهار داشت که EDTA یک آمینو پلی کربوکسیلیک اسید^۲ است که به‌شکل وسیعی برای انحلال رسوبات آهنی ناشی از تبخیر آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. کارایی این ماده به‌علت دارا بودن ساختار شش وجهی است که با یون‌های کلسیم و آهن پیوند برقرار می‌کند (هریس، ۲۰۰۷)، به‌عبارت بهتر این ماده به‌دلیل داشتن چهار کربوکسیلات و دو آمینو در ساختار خود با یون‌های فلزی موجود در خاک پیوند برقرار می‌سازد. از جمله EDTA کمپلکس‌های قوی با Cu(II)، Mn(II)، Fe(III) و Pb(II) برقرار می‌سازد که منجر به آزادسازی یون‌های H⁺ می‌شود (هولمن، ۲۰۰۱)، بنابراین می‌توان افزایش اسیدیته خاک را با افزایش غلظت EDTA به‌دلیل رهاسازی بیشتر یون‌های هیدروژن نسبت داد. نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر این موضوع را به‌خوبی بیان می‌کند.

غلظت سرب در اندام‌های گیاهی تحت تیمارهای متفاوت EDTA (جدول ۱) نشان داد که بیشترین غلظت سرب در ریشه گیاه تحت تیمار EDTA ۵ مشاهده شد و افزایش سطح EDTA تا ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم باعث کاهش نسبی غلظت سرب در ریشه گیاه گردید. همچنین کمترین میزان غلظت سرب به‌ترتیب در تیمار غیرآلوده بدون EDTA و آلوده بدون EDTA اندازه‌گیری شد. غلظت سرب در اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) الگوی مشابه ریشه داشت، به‌طوری‌که افزایش EDTA تا سطح ۵

¹ Phytoremediation

² Aminopolycarboxylic acids

های زیاد ماده به‌ساز، به‌منظور بررسی چگونگی کاهش خطر آبهویی EDTA به آب‌های زیرزمینی تیمار ۵ میلی-مول انتخاب و بهترین زمان برداشت گیاه و شیوه کاربرد این ماده جهت افزایش کارایی گیاه‌استخراجی سرب و کاهش آبهویی کلات-فلز به آب‌های زیرزمینی در غلظت-

هرچند بیشترین قابلیت دسترسی سرب در خاک تحت تیمار ۱۰ میلی‌مول EDTA اندازه‌گیری شد، اما از آنجاکه در تیمار ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم EDTA، حداکثر جذب سرب در گیاه صورت گرفت و باتوجه به خطر آبهویی کلات-فلز به آب‌های زیرزمینی در غلظت-

جدول (۱): تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر وزن خشک گیاه (g) و غلظت سرب فراهم (mgkg⁻¹) در اندام‌های گیاهی و خاک

EC dSm ⁻¹	pH	وزن خشک گیاه (g)	سرب (خاک) mgkg ⁻¹	سرب (اندام هوایی) mgkg ⁻¹	سرب (اندام زیرزمینی) mgkg ⁻¹	تیمار
3/50±0/01 ^a	8/20±0/02 ^a	11/70±0/07 ^a	<0/02 ^d	<0/02 ^c	<0/02 ^e	C
4/00±0/01 ^b	8/00±0/02 ^a	10/60±0/07 ^a	571/00±11/00 ^b	400/33±10/00 ^b	540/45±13/00 ^d	W
4/70±0/01 ^c	7/90±0/02 ^{ab}	10/20±0/07 ^a	642/31±10/00 ^b	420/24±10/00 ^b	600/07±14/23 ^c	۱/۵ EDTA
4/80±0/01 ^c	7/60±0/02 ^b	7/33±0/05 ^b	720/65±11/00 ^a	550/72±11/50 ^a	890/70±14/00 ^a	5 EDTA
4/90±0/01 ^c	7/60±0/02 ^b	6/42±0/05 ^b	800/42±11/00 ^a	500/89±10/27 ^a	700/00±11/41 ^b	10 EDTA

C= خاک غیرآلوده بدون EDTA

W= خاک آلوده بدون EDTA

*حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (میانگین‌ها ± انحراف معیار) (p<0/05).

نکروز^۱ و حتی مرگ گیاه می‌شود. به‌طور مثال چن و همکاران (۲۰۰۴)، علائم ناشی از سمیت EDTA شامل نکروز را در گیاه آفتابگردان، خردل هندی، نخود و کلم گزارش کردند. این محققان در بیان دلیل این موضوع اظهار داشتند که افزایش مقدار EDTA به سلول‌های ریشه آسیب رسانده و مکانیسم تحمل گیاه را در برابر عناصر سمی به‌دلیل انباشت این عناصر و خروج ضعیف آن‌ها از سیتوپلاسم پایین می‌آورد.

همچنین EDTA از طریق ایجاد کمبود مواد غذایی باعث کاهش زیست‌توده گیاه می‌شود، زیرا این ماده با عناصر ضروری گیاه شامل کلسیم، منگنز و آهن ترکیب می‌شود (سالیدو و همکاران، ۲۰۰۳)، از طرفی کمبود عناصر غذایی ضروری در گیاه منجر به افزایش جذب فلزات در گیاه می‌شود، به‌طور مثال با افزایش کمبود آهن، افزایش جذب کادمیوم در بعضی گیاهان مشاهده شده است (آلکوترا و همکاران، ۲۰۰۴).

تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر وزن خشک گیاه

نتایج به‌دست آمده از مقایسه وزن خشک گیاه نشان داد که کاربرد EDTA باعث کاهش وزن خشک گیاه در مقایسه با تیمار بدون EDTA گردید (جدول ۱)، به‌طوری‌که وزن خشک گیاه حداکثر کاهش را در تیمار EDTA ۱۰ نشان داد. تورگات و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی که بر روی گیاه‌پالایی کادمیوم، نیکل و کروم توسط *Helianthus annuus* انجام دادند، نشان دادند که افزودن EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های زیاد این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه و درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود. یکی از دلایل کاهش زیست‌توده گیاه این است که سلول‌های ریشه گیاه در صورتی که مواد به‌ساز در غلظت زیاد استفاده شوند از بین می‌روند (لو و همکاران، ۲۰۰۶).

عملکرد EDTA افزایش تحرک فلزات در خاک و دیواره سلولی ریشه گیاه است که به انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی گیاه نیز کمک می‌کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۵)، ولی گاها این ماده در غلظت‌های کم هم برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه،

¹Necrosis

EDTA 10 بود. مقدار شاخص تحمل گیاه وقتی که عامل منفی بر رشد گیاه وجود ندارد برابر یک می‌باشد. این مقدار در صورت وجود عامل مثبت به بیشتر از یک افزایش داشته، ولی در صورت وجود عامل منفی به زیر یک کاهش می‌یابد (زیبر و همکاران، ۲۰۱۰). حداکثر مقدار کاهش شاخص تحمل، به ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مول در کیلوگرم مشاهده شد. هرچند با افزایش غلظت EDTA قابلیت دسترسی فلزات در خاک و اندام‌های گیاهی به خصوص ریشه افزایش داشت، ولی به دلیل تاثیر منفی بر خصوصیات گیاهی و شاخص تحمل گیاهان و خطر آبخشوی آن به آب‌های زیرزمینی غلظت‌های بالای این ماده پیشنهاد نمی‌شود.

تاثیر زمان تیمار بر غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک

نتایج حاصل از مرحله دوم تحقیق در بررسی بهترین زمان برداشت گیاه به منظور دستیابی به حداکثر کاهش سرب در خاک تحت تیمار ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که مقدار سرب در خاک با گذشت زمان کاهش پیدا کرد. حداکثر مقدار کاهش در دوره رشد زایشی اندازه‌گیری شد، ولی این کاهش در مقایسه با غلظت سرب در دوره گلدهی تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($p < 0/05$).

همچنین نتایج حاصل از تاثیر زمان برداشت بر جذب سرب در اندام‌های گیاهی (جدول ۳) نشان داد که حداقل سرب فراهم مربوط به دوره رشد رویشی است. غلظت سرب در کلیه اندام‌های گیاهی با گذشت زمان افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت ($p < 0/05$). هرچند حداکثر غلظت سرب فراهم در دوره رشد زایشی به دست آمد، ولی در مقایسه با دوره گلدهی به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p < 0/05$).

به طور کلی نتایج به دست آمده نشان داد که با گذشت زمان مقدار سرب در خاک کاهش داشت، هرچند که بین دوره‌های گلدهی و زایشی گیاه تفاوت معنی‌دار در غلظت فلز مورد بررسی در خاک وجود نداشت. دلیل این موضوع را می‌توان به افزایش قابلیت دسترسی سرب برای گیاه با گذشت زمان و کاهش مقدار آن در خاک نسبت داد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). شبیه این نتیجه را ویو و همکاران (۱۹۹۹) به دست آوردند. این محققان گزارش کردند که

تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر فاکتورهای تجمع، فاکتور انتقال و شاخص تحمل گیاه

مقادیر فاکتور تجمع اندام‌های زیرزمینی و هوایی گیاه (جدول ۲) نشان داد که افزایش غلظت EDTA باعث افزایش فاکتور تجمع (BCF) سرب در اندام‌های گیاه شد. بیشترین مقدار فاکتور تجمع مربوط به ریشه در تیمار EDTA ۵ بود. هرچند افزایش EDTA تا سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم افزایش فاکتور تجمع را در گونه‌ی گیاهی سبب شد، ولی این افزایش همواره سطح معنی‌داری نداشت ($p < 0/05$) و افزایش غلظت EDTA تا سطح ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم باعث کاهش فاکتور تجمع سرب در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه شد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فاکتور انتقال (TF) تحت تیمارهای متفاوت EDTA (جدول ۲) تفاوت معنی‌دار را تنها در سطح ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA نشان داد و حداقل مقدار فاکتور انتقال در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم اندازه‌گیری شد.

تانندی و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که قابلیت استخراج سرب و افزایش ظرفیت تجمع فلز در بافت‌های گیاهی به وسیله EDTA در غلظت‌های پایین بستگی به pH خاک دارد و در خاک‌های با pH اسیدی رابطه قوی بین فراهمی فلز در خاک و pH وجود دارد. این محققان نشان دادند که اضافه کردن EDTA و EDDS باعث افزایش قابل ملاحظه سرب در محلول خاک می‌شود. به طور کلی مهمترین فاکتور موثر در افزایش فراهمی سرب در خاک پیوند سرب-کلات است. در واقع، وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیبات کلات و فلزات سبب می‌شود فلزات کمتر در معرض کلونیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته، لذا مانع از رسوب و تثبیت آن‌ها در خاک می‌شود. از طرفی کلات‌ها توسط ریشه گیاهان قابل جذب بوده و می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیرمحلول به فازهای تبدیلی انتقال داده و در نهایت میزان انتقال فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند. (هوانگ و همکاران، ۱۹۹۷).

شاخص تحمل براساس وزن خشک گیاه به عنوان شاخص تاثیر سمیت سرب (جدول ۲) دامنه تغییرات ۰/۶۱-۱ را نشان داد. مقادیر پایین این شاخص نشان-دهنده حداکثر تاثیر سمیت فلز و ماده بهساز بر رشد گیاه می‌باشد. با افزایش غلظت EDTA مقدار این شاخص کاهش داشت، به طوری که حداکثر کاهش مربوط به تیمار

نتایج به دست آمده در این بخش از تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و کاهش آبشویی کمپلکس فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی وجود دارد و غلظت بهینه ماده بهساز و شیوه کاربرد برای افزایش کارایی پالایش خاک باید قبل از کاربرد این ماده تعیین شود. نتایج حاصل نشان داد که در شرایط مشابه تحقیق صورت گرفته، EDTA باید در غلظت ۵ میلی‌مول در کیلوگرم و به صورت یک‌بار به خاک اضافه شود. در این خصوص گرسمن و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که یک‌بار اضافه کردن (Single) ۲/۹ گرم در کیلوگرم EDTA باعث افزایش ۱۰۵ برابری غلظت سرب در گیاه *Brassica oleracea L.* در محیط گلخانه در مقایسه با افزایش ۴۴ برابری همین غلظت از EDTA در کاربرد به صورت چهار بار متوالی (Quaduplet) شد.

وانگ و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که کاربرد سه بار متوالی و پنج بار متوالی (Quintuplet) از EDDS در مقایسه با یک‌بار اضافه کردن، باعث کاهش قابل ملاحظه سرب در اندام‌های هوایی گونه *Sedum alfredii* شد. همچنین این محققان گزارش کردند که حداکثر سرب قابل استخراج در اندام‌های این گونه با کاربرد ۲/۵ میلی مول از این ماده به صورت Single به دست آمد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج این محققان مطابقت داشت، به طوری که حداکثر سرب فراهم در اندام‌های گیاهی در کاربرد به صورت یک‌بار (Single) اندازه‌گیری شد و شیوه کاربرد دوبار و سه بار متوالی EDTA تاثیر منفی در فراهمی فلز مذکور داشتند.

خلاف نتیجه حاضر را شن و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی تاثیر رژیم‌ها و شیوه‌های متفاوت کاربرد EDTA جهت کاهش خطر آبشویی سرب در گیاه‌پالایی گونه *Brassica rapa L.* به دست آوردند این محققان اظهار داشتند که کاربرد EDTA به صورت Triple حداکثر فراهمی سرب را در اندام‌های گونه مورد بررسی و حداکثر کاهش آبشویی سرب را در مقایسه با کاربرد به صورت Single و Double داشت.

مقدار سرب فراهم در خاک با گذشت زمان از ۶ ساعت به ۱۲۰ ساعت کاهش پیدا کرد. از طرفی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با گذشت زمان غلظت سرب در اندام‌های گیاهی (جدول ۳) افزایش داشت. نتایج به دست آمده در این بخش با نتایج چو و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که غلظت مس در اندام‌های هوایی *Vetiveria zizanioides* به حداکثر مقدار خود بعد از ۱۶ روز از کاربرد HEIDA^۱ رسید. همچنین وانگ و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که با برداشت گیاه *Sedum alfredii* ۱۴ روز بعد از اضافه کردن EDDS^۲ در خاک‌های با غلظت پایین سرب و ۱۰ روز در خاک‌های آلوده به غلظت‌های بالای این فلز، حداکثر مقدار سرب فراهم در اندام‌های گیاه برداشت شد.

تاثیر روش کاربرد EDTA بر غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و خاک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نمونه‌های خاک (جدول ۴) نشان داد که روش‌های متفاوت کاربرد EDTA تاثیر معنی‌دار بر فراهمی سرب موجود در خاک دارد ($p < 0.05$), به گونه‌ای که در اضافه کردن به صورت یک‌بار (Single) کاهش غلظت سرب مورد بررسی در خاک حداکثر مقدار بود و در کاربرد EDTA به صورت دوبار متوالی (Double) مقدار سرب ۸۵/۳۴ درصد کاهش داشت. این کاهش در روش سه بار متوالی (Triple) ۸۳/۴۴ درصد محاسبه شد، ولی در کاربرد EDTA به صورت دوبار و سه بار متوالی تفاوت معنی‌داری اندازه‌گیری نشد.

نتایج حاصل از تاثیر روش‌های کاربرد متفاوت EDTA بر غلظت سرب در بخش‌های زیرزمینی و هوایی گیاه (جدول ۴) نشان داد که حداکثر مقدار سرب در اندام‌های گیاهی در کاربرد EDTA به صورت یک‌بار (Single) بود و در کاربرد EDTA به صورت دوبار متوالی (Double) غلظت سرب در اندام‌های گیاه کاهش قابل ملاحظه‌ای داشت و حداقل مقدار سرب بافت‌های گیاهی در کاربرد به صورت سه بار متوالی (Triple) بود، ولی بین این روش و کاربرد به صورت دوبار متوالی تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد ($p < 0.05$).

^۱ - Hydroxyethylenediaminetriacetic acid

^۲ - Ethylenediaminedissuccinic acid

جدول (۲): تاثیر تیمارهای متفاوت EDTA بر فاکتورهای تجمع (BCF)، فاکتور انتقال (TF) و شاخص تحمل گیاه (TI)

تیما	TI	TF	BCF	BCF
تیما	تیما	تیما	اندام هوایی	اندام زیرزمینی
C	-	-	-	-
W	1/00±0/01 ^a	0/74±0/01 ^a	0/73±0/01 ^a	0/94±0/01 ^a
۱/۵ EDTA	0/82±0/01 ^a	0/70±0/01 ^a	0/76±0/01 ^a	0/94±0/01 ^a
5 EDTA	0/76±0/01 ^b	0/64±0/01 ^b	0/77±0/01 ^a	1/23±0/01 ^b
10 EDTA	0/61±0/01 ^c	0/71±0/01 ^a	0/62±0/01 ^b	0/87±0/01 ^c

*حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است (میانگین ها ± انحراف معیار) (p<0/05).

جدول (۳): تاثیر زمان تیمار EDTA (mmolkg⁻¹) بر غلظت سرب فراهم (mgkg⁻¹) در اندام های گیاهی و خاک

	رشد زایشی	گلدهی	رشد رویشی
اندام زیرزمینی	751/19±10/50 ^a	734/99±10/23 ^a	650/54±9/00 ^b
اندام هوایی	730/53±8/46 ^a	690/12±8/12 ^a	432/00±7/33 ^b
خاک	433/09±6/03 ^b	500/47±6/31 ^b	720/11±8/50 ^a

*حروف مشترک در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین زمان های متفاوت برداشت است (میانگین ها ± انحراف معیار) (p<0/05).

جدول (۴): تاثیر روش کاربرد EDTA بر فراهمی سرب در خاک و اندام های گیاهی

روش کاربرد	ریشه (mgkg ⁻¹)	اندام هوایی (mgkg ⁻¹)	خاک (mgkg ⁻¹)
Single	900/90±11/00 ^a	520/22±9/77 ^a	۶۶۰/۰۰±۱۰/۵۵ ^a
Double	720/27±10/26 ^b	440/73±9/77 ^b	۷۷۳/۳۵±۸/۳۳ ^b
Triple	714/09±10/26 ^b	400/00±9/77 ^b	۷۹۰/۹۰±۷/۶۶ ^b

*حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین روش های کاربرد EDTA است (میانگین ها ± انحراف معیار) (p<0/05).

نتیجه گیری

گیاهی چون *H. bulbosum* L. همراه باشد، می تواند برای رسیدن به هدف پاکسازی خاک های آلوده مورد توجه باشد و غلظت ۵ میلی مول در کیلوگرم جهت افزایش کارایی گیاه استخراجی (با در نظر گرفتن خطر آبیاری این ماده) در شرایط مشابه پیشنهاد می شود. بررسی بهترین زمان تیمار حاکی از این بود که با گذشت زمان میزان سرب موجود در خاک کاهش داشت، اما از آنجاکه بین دوره های گلدهی و زایشی گیاه در غلظت سرب در اندام های گیاهی و خاک تفاوت معنی دار وجود نداشت، بهترین زمان برداشت گیاه جهت حداکثر کارایی پالایش خاک دوره رشد فعال پیشنهاد می شود.

همچنین نتایج به دست آمده از تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و پالایش خاک آلوده وجود دارد. به طوری که EDTA باید در غلظت ۵ میلی مول در کیلوگرم و شیوهی کاربرد به صورت یک بار در شرایط مشابه به خاک اضافه شود. به طور کلی به منظور

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت EDTA مقدار سرب در خاک افزایش داشت و اپتیمم فراهمی سرب در تیمار ۵ EDTA مشاهده شد، ولی تحقیقات نشان داده است که EDTA هر چند تاثیر بارزی در انحلال فلزات در خاک و افزایش قابلیت دسترسی آن ها در خاک دارد، ولی این ماده در مقایسه با دیگر مواد به ساز در خاک ماندگاری بیشتری داشته که در خاک های با مقادیر بالای فلزات سمی این ماندگاری بیشتر است و این موضوع کاربرد آن را برای پالایش خاک محدود می سازد، بنابراین هر چند فراهمی فلزات در خاک با افزودن EDTA افزایش می یابد، اما کاربرد آن در غلظت های بالا منجر به مخاطرات زیست محیطی و افزایش خطر آلودگی آب های زیرزمینی می شود. افزودن EDTA به خاک توانست به فراهمی فلز مورد بررسی کمک نماید، بنابراین در صورتی که استفاده از کلات EDTA با کاشت

گیاهی در مرحله انتهایی رشد فعال (۸۰ روز بعد از کاشت) پیشنهاد می‌شود.

رسیدن به حداکثر پالایش خاک و کاهش خطر آبیاری فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی استفاده از غلظت ۵ میلی‌مول و شیوه کاربرد به صورت یکبار و برداشت گونه‌ی

منابع

1. Ait Ali, N., M. Pilar Bernal and A. Mohammed. ۲۰۰۴. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of Cadmium, Copper, and Zinc. *Aquatic Botany*, ۸۰: ۱۶۳-۱۷۶.
2. Alkorta, I., J. Hernández-Allica, J.M. Becerril, I. Amezaga, I. Albizu, M. Onaindia and C. Garbisu. ۲۰۰۴. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Rev. Environmental Science Biotechnology*, ۳: ۵۵-۷۰.
3. Berry, J.W., D.G. Chappell and R.B. Barnes. ۱۹۴۶. Improved Method of Flame Photometry. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* ۱۸(۱): ۱۹-۲۴.
4. Black, C.A. ۱۹۶۵. Methods of soil chemical analysis and microbiological properties. *Agronomy No. ۹*. American Society of Agronomy, Madison.
5. Chen, Y.H., X.D. Li and Z.G. Shen. ۲۰۰۴. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA Assisted phytoextraction process. *Chemosphere*, 57: 187-196.
6. Chiu, K.K., Z.H. Ye and M.H. Wong. ۲۰۰۵. Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents. *Chemosphere*, ۶۰: ۱۳۶۵-۱۳۷۵.
7. Day, P. R. ۱۹۸۲. In *Methods of soil Analysis*, part ۲; Page, A. L., et al., Eds.; Agronomy Monograph ۹۱ American Society of Agronomy: Madison, WI. pp: ۹۵۱-۹۳۵.
8. Du Laing, G., F.M.G. Tack and M.G. Verloo. ۲۰۰۳. Performance of selected destruction methods for the determination of heavy metals in reed plants (*Phragmites australis*). *Analytica Chimica Acta*, ۴۹۷(۸): ۱۹۱-۱۹۸.
9. Ebrahimi, M. ۲۰۱۲. Germination, growth and uptake of heavy metals in Contaminated Soils (*Hordeum bulbosum* L.). *Journal of Rangeland Science*, ۲(۳): ۵۶۵-۵۵۷.
10. Evangelou, M.W.H., E. Mathias and A. Schaeffer. ۲۰۰۷. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. *Chemosphere*, ۶۸: ۹۸۹-۱۰۰۳.
11. Fritsch, C., P. Giraudoux, M. Coeurdassier, F. Douay, F. Raoul, C. Pruvot, C. Waterlot, A. de Vaufleury and R. Scheifler. ۲۰۱۰. Spatial distribution of metals in smelterimpacted soils of woody habitats: influence of landscape and soil properties, and risk for wildlife. *Chemosphere*, ۸۱: ۱۴۱-۱۵۵.
12. Grčman, H., S. Velikonja-Bolta, D. Vodnik, B. Kos and D. Lestan. ۲۰۰۱. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. *Plant and Soil*, ۲۳۵: ۱۰۵-۱۱۴.
13. Harris, D.C. ۲۰۰۷. *Quantitative Chemical Analysis*, ۷th ed., W. H. Freeman and Compagny, New York.
14. Holleman, A. F and E. Wiberg. ۲۰۰۱. *Inorganic Chemistry*. San Diego: Academic Press. ISBN ۵-۳۵۲۶۵۱-۱۲-۰.
15. Huang, J.W., J. Chen, W.R. Berti and S.D. Cunningham. ۱۹۹۷. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, ۳۱: ۸۰۰-۸۰۵.
16. Knight, B., F.J. Zhao, S.P. McGrath and A.G. Shen. ۱۹۹۷. Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thalasspi caerulescens* in contaminated soils and its effect on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution. *Plant and Soil*, ۱۹۷: ۷۱-78.
17. Lai, H.Y and Z.S. Chen. ۲۰۰۵. The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metalcontaminated soil using Rainbow Pink (*Dianthus chinensis*). *Chemosphere*, ۶۰: ۱۰۶۲-۱۰۷۱.
۱۸. Lestan, D., C.L. Luo and X.D. Li. ۲۰۰۸. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. *Environmental Pollution*, ۱۵۶: ۳-۱۳.
19. Lindsay, W.L and W.A. Norvell. ۱۹۷۸. Development of DTPA soil test for Zinc, Iron, manganese and copper. *Soil Science American Journal*, ۴۲: ۴۲۸-۴۲۱.
۲۰. Liu, J.N., Q.X. Zhou, T. Sun, L.Q. Ma and Wang, S. ۲۰۰۸. Growth responses of three ornamental plants to Cd and Cd-Pb stress and their metal accumulation characteristics. *Journal of Hazardous Materials*, ۱۵۱: ۲۶۱-۲۶۷.
21. Lombi, E., F.J. Zhao, S.J. Dunham and S.P. McGrath. 2001. Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Environmental Quality*. 30: 1919-1926.
22. Luo, C., Z.G. Shen, X. Li and A.J.M. Baker. ۲۰۰۶. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. *Chemosphere*, ۶۳: ۱۷۷۳-۱۷۸۴.
23. Madrid, F., M.S. Liphadzi and M.B. Kirkham. ۲۰۰۳. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *Journal of Hydrology*, ۲۷۲: ۱۰۷-۱۹.
24. Mattina, M.J., W. Lannucci-Berger, C. Musante and J.C. White. ۲۰۰۳. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. *Journal of Environmental Pollution*. ۱۲۴: ۳۷۸-۳۷۵.

25. Mossop, K.F., M.D. Christine, M.U. Allan, A.S. Charles, A. S and J.H. Stephen. ۲۰۰۹. Effect of EDTA on the fractionation and uptake by *Taraxacum officinale* of potentially toxic elements in soil from former chemical manufacturing sites. *Plant and Soil*, ۳۲۰: ۱۱۷-۱۲۹.
26. Olsen, S.R and L.E. Sommers. ۱۹۸۲. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part ۲. Chemical and Microbiological Properties*, second ed., Agronomy No. ۹. ASA, SSSA, Madison, WI, pp. ۴۰۳-۴۳۰.
۲۷. Rhoades, J.D. ۱۹۹۶. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy, pp. ۴۳۵-۴۱۷ (Page, A.L., Ed). Madison, WI.
28. Salido, A. L., K.L. Hasty, J.M. Lim and D.J. Butcher. ۲۰۰۳. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Journal of Phytoremediation*, ۲(۵): ۸۹-۱۰۳.
29. Sarkar, D., S.A. Syam, K.M.S. Sumathi and D. Rupali. ۲۰۰۸. Chelant-aided enhancement of lead mobilization in residential soils. *Environmental Pollution*, ۱۵۶: ۱۱۳۹-۱۱۴۸.
30. Shen, Z.G., X.D. Li, C.C. Wang, H.M. Chen and H. Chua. ۲۰۰۲. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. *Environmental Quality*, 31: 1893-1900.
31. Shibata, M., T. Konno, R. Akaike, Y. Xu, R.F. Shen and J.F. Ma. ۲۰۰۷. Phytoremediation of Pb contaminated soil with polymercoated EDTA. *Plant and Soil*, ۲۹۰: ۲۰۱-۲۰۸.
32. Tandy, S., K. Bossart, R. Mueller, J. Ritschel, L. Hauser, R. Schulin and B. Nowack. ۲۰۰۴. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. *Environmental Science and Technology*, ۳۸: ۹۳۷-۹۴۴.
33. Tang, J., T.F. Xiao, S.J. Wang, J.L. Lei, M.Z. Zhang, Y.Y. Gong, H.J. Li, Z.P. Ning and L.B. He. ۲۰۰۹. High cadmium concentrations in areas with endemic fluorosis: a serious hidden toxin. *Chemosphere*, ۷۶: ۳۰۰-۳۰۵.
۳۴. Thomas, G.W. ۱۹۹۶. Soil pH and soil acidity. P ۴۹۰-۴۷۵. In: Sparks et al. (eds.) *Methods of soil analysis*, part ۳. Agron. Mongr. ۹. ۲nd ed. ASA and SSSA, Madison, WI.
35. Turgut, C., M. Katie and J.C. Teresa. ۲۰۰۵. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. *Chemosphere*, ۵۸: ۱۰۸۷-۱۰۹۵.
36. Turgut, C., M.K. Pepe and T.J. Curright, T.J. ۲۰۰۴. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Journal of Environmental. Pollution*, 131: 147-154.
37. Vassil, A.D., Y. Kapulnik, I. Raskin and D. Salt. ۱۹۹۸. The role of EDTA in Pb transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiology*, ۱۱۷: ۴۵۳-۴۴۷.
38. Wang, X., Y. Wang, Q. Mahmood, E. Islam, X. Jin, T. Li, X. Yang and L. Dan. ۲۰۰۹. The effect of EDDS addition on the phytoextraction efficiency from Pb contaminated soil by *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials*, ۱۶۸: ۵۳۰-۵۳۵.
39. Wilkins, D.A. ۱۹۷۸. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *The New Phytologist*. ۸۰: ۶۳۳-۶۲۳.
40. Wu, J., F.C. Hua and S.D. Cunningham. ۱۹۹۹. Chelate-assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation constraints. *Environmental Science and Technology*. 33: 1898-1904.
4۱. Wu, L.H., Y.M. Luo, X.R. Xing and P. Christie. ۲۰۰۴. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agriculture Ecosystems Environment*, ۱۰۲: ۳۰۷-۳۱۸.
42. Xu, J., H.X. Yin and Li, X. ۲۰۰۹. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. *Plant Cell Reports*, ۲۸: ۳۲۵-333.
43. Zaier, H., G. Tahar, B.R. Kilani, L. Abdelbasset, R. Salwa and J. Fatima. ۲۰۱۰. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. *Bioresource Technology*, ۱۰۱: ۳۹۷۸-۳۹۸۳.
44. Zayed, A., S. Gowthaman and N. Terry. ۱۹۹۸. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. I. Duckweed. *Environmental Quality*, ۲۷: ۷۱۵-۷۲۱.
45. Zhuang, P., Z.H. Ye, C.Y. Lan, Z.W. Xie and W.S. Shu. ۲۰۰۵. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using Three Plant Species. *Plant and Soil*, ۲۷۶: ۱۶۲-۱۵۳.

Evaluation of EDTA application method to reduce Pb leaching risk into ground waters using *Hordeum bulbosum* L.

Mahdieh Ebrahimi¹, Nasrollah Aslinezhad²

Abstract

This study was conducted to increase phytoextraction efficiency of *Hordeum bulbosum* L. in lead contaminate soil (Loamy Clay) in the EDTA-assisted, Ethylen ediamine tetra acetic acid (1.5, 5, 10 mmol kg⁻¹), assessing optimum of treatment time and method of EDTA application to reduce Pb leaching risk into ground waters. Uncontaminated soil without EDTA (C) and contaminated soil without EDTA (W) used as the controls. The results revealed that the greatest Pb uptake (890.70 mgKg⁻¹ in underground organs and 720.65 mgkg⁻¹ in above ground organs) was observed in 5EDTA treatment. Therefore, 5mmolkg⁻¹ was used in second step for assessing harvest time for 20(Vegetative stage), 80 (Flowering stage) and 140(Seed production) days. Results showed that the concentration of Pb in plant tissues was increased with passage of time, but between flowering stage and seed production there was no significant difference ($p < 0/05$) and the best harvest time in order to achieve maximum removal of the metal was flowering stage. In third step to reduce leaching risk of Pb-EDTA, 5 mmolkg⁻¹ EDTA in three ways of single, double (two successive) and triple (three successive) were added to the soil. The results showed that under single dosage application, Pb content in the soil reached at its minimum concentration. The data indicated that the maximum Pb concentration in the plant organs was calculated at the single dosage while metal concentration in the plant organs did not vary considerably when double and triple dosage were added. Overall, optimum phytoextraction of *H. bulbosum* and Pb leaching risk reduction was observed when 5 mmol kg⁻¹ EDTA was added in single dosage, 80 days after the plant cultivation

Keywords: Heavy Metals, EDTA, Phytoextraction, *Hordeum bulbosum* L.

¹ Assistant Professor, University of Zabol; Corresponding author email : maebrahimi2007@uoz.ac.ir

² M. Sc Student of Combating Desertification, University of Zabol; Aslinejad@yahoo.com