

## مقایسه آثار افزودن اسید سیتریک و کیلیت‌های مصنوعی بر افزایش پالایش گیاهی کادمیوم از خاک

زهرا عربی<sup>۱</sup>، مهدی همایی<sup>۲\*</sup> و محمد اسماعیل اسدی<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۴/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۳)

### چکیده

در این پژوهش، آثار افزودن کیلیت طبیعی اسید سیتریک و کیلیت‌های مصنوعی HEDTA و EGTA در محلول کردن کادمیوم در خاک‌هایی که به طور مصنوعی آلوده شده‌اند و نیز توانایی آنها در افزایش پالایش گیاهی کادمیوم توسط گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) از خانواده (Brassicaceae) با یکدیگر مقایسه و بررسی شد. این آزمایش با استفاده از یک طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای غلظت برای کادمیوم با استفاده از نمک کلرید کادمیوم دارای غلظت ۰، ۵، ۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بودند. در پایان فصل رشد، کیلیت‌ها با غلظت‌های ۰، ۲۰ و ۴۰ (mMkg<sup>-1</sup>) به ترتیب برای HEDTA و EGTA و اسید سیتریک به هر گلدان اضافه شدند. برای به دست آوردن شدت جذب آلاینده‌ها، ده روز پس از افزودن کیلیت‌ها از گیاهان و خاک گلدان‌ها نمونه برداری و غلظت کادمیوم در آنها اندازه‌گیری شد. در تمام تیمارها، کادمیوم محلول خاک در مقایسه با تیمار شاهد، بیشتر بوده است. مقادیر به دست آمده نشان داد که کیلیت‌های مصنوعی نسبت به اسید سیتریک که یک کیلیت طبیعی است حلالیت را بیشتر افزایش می‌دهد. در این میان HEDTA تأثیر بسیار مشهودتری بر افزایش حلالیت کادمیوم داشته است به طوری که غلظت کادمیوم محلول در خاک بعد از اضافه کردن HEDTA در غلظت‌های ۰، ۵، ۲۰، ۶۰، ۱۰۰ (mgkg<sup>-1</sup>) به ترتیب ۰/۰۵، ۳/۴۸، ۱۳/۲۲، ۳۳/۸، ۳۷/۸۲ (mgkg<sup>-1</sup> soil) بوده است. برای تمام تیمارها با افزایش میزان کادمیوم خاک، غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی افزایش یافته است. میزان کادمیوم در اندام هوایی تربچه در مقایسه با ریشه بیشتر بوده که می‌تواند به دلیل زیست‌فراهمی بیشتر فلز و هم‌چنین حلالیت زیاد آن باشد. در تمام تیمارهایی که HEDTA به آنها اضافه شده میزان تجمع کادمیوم در ساقه و ریشه‌های تربچه بیشتر از سایر کیلیت‌هاست.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آلی سبک طبیعی، پالایش گیاهی، تربچه، کادمیوم، کیلیت مصنوعی

۱. دانش‌آموخته دکتری خاک‌شناسی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲. استاد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳. استادیار پژوهشی بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mhomae@modares.ac.ir

## مقدمه

از آغاز انقلاب صنعتی تا کنون، آلاینده‌های خطرناک زیادی توسط بشر وارد محیط زیست شده است که شامل انواع مختلفی از ترکیبات آلی و فلزات سنگین بوده و خطرات زیست محیطی و بهداشتی زیادی برای انسان، حیوان و گیاه دارند. آلودگی خاک با فلزات سنگین اغلب به دلیل فعالیت‌های بشری مانند حفاری معادن، تشعشعات صنعتی، تراوشات زباله‌های صنعتی، استفاده از لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی، کوددهی و استفاده از آفت‌کش‌هاست (۲۳).

یکی از راه‌های بهسازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، پالایش گیاهی است. پالایش گیاهی، استفاده از گیاهان به منظور حذف آلاینده‌ها از محیط و یا کم کردن خطر آنها می‌باشد که به عنوان یک فناوری جدید جهت آلودگی‌زدایی معرفی شده است (۶). از آنجا که بیشتر فلزات موجود در خاک، غیر قابل دسترس برای گیاه هستند، برای استخراج بهتر آنها در فرآیند پالایش گیاهی باید آنها را به فرم محلول درآورد. در این میان، استفاده از ترکیبات آلی مانند کی‌لیت‌ها می‌تواند زیست‌فراهمی فلزات سنگین را افزایش دهد (۲۸). کی‌لیت‌ها با تشکیل ترکیبات کمپلکس، مانع رسوب فلزات سنگین و در نتیجه افزایش پتانسیل تجمع آنها در گیاهان می‌شوند. در یک دهه اخیر استفاده از اسیدهای آمینو کربوکسیلیک پایدار (Persistent Aminopolycarboxylic Acids (APCA<sub>s</sub>)) مانند اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA)) در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است. هم‌چنین مطالعات زیادی در خصوص استفاده از اسیدهای آلی سبک (Low Molecular Weight Organic Acids (LMWOA)) انجام شده است (۱۰).

از جمله این ترکیبات (Natural Low Molecular Weight Organic Acids) NLMWOA، اسید سیتریک، اسید اکسالیک یا اسید مالیک هستند که به دلیل ویژگی کمپلکس‌کنندگی آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند و نقش مؤثر در حلالیت فلزات

سنگین (۱۸، ۲۲ و ۲۴) و تحرک مواد غذایی معدنی دارند (۱۷) و (۳۲). جذب کادمیوم در خردل هندی (*B. juncea*) با افزایش (Ethylene Bis(oxyethylenetrinitrilo) Tetraacetic Acid) EGTA به میزان  $10 \text{ gkg}^{-1}$  افزایش پیدا کرد. اما DTPA (trans- CDTA، (Diethylene Triamino Pentaacetic Acid) EDTA و 1,2-cyclohexylene dinitrilo tetraacetic acid) تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشتند (۵) نتایج بررسی میزان تأثیر کی‌لیت‌ها در تجمع سرب در دو گیاه نخود (*Z. mays L. cv. Fiesta*) و ذرت (*P. sativum L. cv. Sparkle*) به صورت زیر است (۱۳):

EDTA>HEDTA(hydroxyethylene diamine tetraacetic acid)>DTPA>EGTA>EDDHA (ethylene diamine-N,N,N-bis(o-hydroxyphenyl)acetic acid)

در پژوهشی دیگر تأثیر  $10$  و  $20 \text{ mMkg}^{-1}$  اسید سیتریک برای حذف کادمیوم به وسیله گیاه خردل هندی (*B. juncea*) بررسی شد. نتایج نشان داد در غلظت  $10 \text{ mMkg}^{-1}$  تغییر معنی‌داری وجود ندارد ولی در غلظت  $20 \text{ mMkg}^{-1}$  حدود  $1/5$  برابر افزایش زیست‌فراهمی کادمیوم، برای گیاه خردل هندی دیده شد (۲۷). تحقیقات انجام شده در خصوص جذب مس در ساقه‌های تنباکو (*N. tabakum*) نشان داد که تأثیر اضافه کردن  $62/5 \text{ mMkg}^{-1}$  اسید سیتریک و اسید تارتاریک به ترتیب ۲ و  $5/0$  برابر بوده است (۱۰). در آزمایشی مشابه افزایش NLMWOA تأثیری بر جذب سرب نداشت و هیچ افزایش معنی‌داری در غلظت Zn، Cu، Cd و Pb در ساقه‌ها بعد از افزودن  $5 \text{ mMkg}^{-1}$  اسید سیتریک مشاهده نشد (۲۱).

در این پژوهش، اثر کی‌لیت‌های مصنوعی (HEDTA و EGTA) و کی‌لیت‌های طبیعی (اسید سیتریک) در محلول کردن کادمیوم در خاک‌های آلوده و نیز توانایی آنها در افزایش استخراج گیاهی کادمیوم از خاک‌هایی که به طور مصنوعی آلوده شده‌اند، توسط گیاه تربچه (*Raphanus sativus L.*) از خانواده (Brassicaceae) مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### ۱- تعیین ویژگی‌های خاک

نمونه‌برداری از خاک منطقه‌ای در جنوب تهران که با فاضلاب آبیاری می‌شدند صورت گرفت. برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری نمونه مرکب تهیه گردید. ابتدا نمونه‌ها در معرض هوا خشک شده و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک شامل ویژگی‌های فراوانی نسبی ذرات خاک (رس، سیلت، شن) به روش هیدرومتری، هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک ( $EC_e$ ) با دستگاه هدایت‌سنج، اسیدیته گل اشباع خاک ( $pH_e$ ) با استفاده از دستگاه پ.هاش‌سنج، ماده آلی خاک به روش واکلی و بلک (Walkley and Black) اندازه‌گیری شد. برای تعیین ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)، ۲/۵ گرم نمونه خاک با محلول استات سدیم نرمال به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از ۳ بار شستشو با محلول استات سدیم نرمال برای جایگزینی همه مکان‌های تبدالی با سدیم، نمونه‌ها ۳ بار با الکل شستشو و سانتریفوژ شدند تا اضافی استات سدیم حذف شود. سپس نمونه‌ها با محلول استات آمونیوم نرمال ۳ مرتبه شستشو داده شدند تا  $NH_4^+$  جایگزین  $Na^+$  مکان‌های تبدالی شود. سپس  $Na^+$  موجود در محلول توسط دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد. مواد خنثی شونده برحسب کربنات کلسیم، وزن مخصوص ظاهری به روش کلوخه و پارافین و کادمیوم اولیه خاک به روش DTPA، برای کلیه نمونه‌ها تعیین شد (۲). رطوبت ظرفیت زراعی خاک ( $\theta_{FC}$ ) به روش دستگاه صفحات فشاری در مکش ۳۳ کیلو پاسکال هم در نمونه‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

در خاک که ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم است، انتخاب شد به گونه‌ای که دامنه‌ای از غلظت صفر تا چندین برابر غلظت مجاز را پوشاند (۲۹). بنابراین، غلظت‌ها ۰، ۵، ۲۰، ۶۰، ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک انتخاب شدند. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم کلرید کادمیوم ( $CdCl_2 \cdot H_2O$ ) برای آلوده کردن جرم مشخص خاک هر گلدان محاسبه و سپس جرم محاسبه شده به خاک به صورت اسپری پاشیده و کاملاً با آن مخلوط شد. گلدان‌های مورد استفاده در این پژوهش دارای ارتفاع ۱۰، قطر بالای ۱۱/۵ و قطر پایین ۸ سانتی‌متر هستند. خاک آلوده با تراکمی معادل ۱۳۰۰ کیلوگرم بر متر مکعب در سه تکرار برای هر غلظت در گلدان‌ها ریخته شد. برای انجام این پژوهش از یک طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد.

### ۳- کاشت گلدان‌ها و اضافه کردن کیلیت‌ها به خاک

خاک‌های آلوده تقریباً تا رطوبت اشباع آبیاری و دو ماه رها شدند تا حد امکان برهم‌کنش‌های آلاینده و خاک انجام شده و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد. پس از ۲ ماه اقدام به کشت گلدان‌ها گردید. گلدان‌ها در گلخانه‌ای تحت کنترل، با نور طبیعی و دمای  $24/30^\circ C$  و رطوبت ۷۰/۸۵ درصد به ترتیب در حین شب و روز نگهداری شدند. پس از رشد نهایی گیاهان که حدود سه ماه به طول انجامید، کیلیت‌ها با غلظت‌های ۶، ۲۰ و  $20 \text{ (mMkg}^{-1}\text{)}$  به ترتیب برای HEDTA، EGTA و اسید سیتریک به هر گلدان اضافه شدند. یک تیمار شاهد بدون کیلیت نیز در نظر گرفته شد.

### ۴- برداشت گیاهان و آماده‌سازی نمونه‌ها

ده روز پس از افزودن کیلیت، برای به دست آوردن شدت جذب آلاینده‌ها در پایان فصل رشد، از گیاهان و خاک گلدان‌ها نمونه‌برداری شد. اندام هوایی گیاهان از محل طوقه برداشت شدند. ریشه‌ها نیز به طور جداگانه از طریق قرار دادن گلدان‌ها

### ۲- آماده کردن خاک جهت کشت گلدانی

خاک مورد نیاز برای هر گلدان با توجه به ابعاد گلدان و در نظر گرفتن وزن مخصوص ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب محاسبه شد. غلظت کادمیوم با توجه به حدود غلظت مجاز آن

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

پارامتر اندازه‌گیری در خاک	مقدار اندازه‌گیری شده
%Sand	۳۷/۴
%Silt	۳۳/۷
%Clay	۲۸/۹
بافت خاک	لوم رسی
%O.C	۱/۳
EC(dS/m)	۲/۳۴
pH	۷/۸
%CaCO <sub>3</sub>	۱۵/۵
CEC(cmole/kg)	۱۶
Cd(mgkg <sup>-1</sup> )	۰/۰۵
%θ <sub>FC</sub>	۲۴/۹۵
ρ <sub>b</sub> (g/cm <sup>3</sup> )	۱/۳۵

#### ۶- اندازه‌گیری کادمیوم در گیاه

برای عصاره‌گیری کادمیوم کل، از گیاه از روش اکسیداسیون تر استفاده شد. در این روش هضم با مخلوط اسید نیتریک، اسید پرکلریک و اسید سولفوریک با نسبت حجمی ۱:۴:۴۰ صورت گرفت (۱). جهت اندازه‌گیری کادمیوم در گیاه از دستگاه ICP-MS مدل JW 138 ULTRACE استفاده شد.

#### ۷- آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۳) استفاده شد. در این پژوهش روش آماری مناسب استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه می‌باشد.

#### نتایج و بحث

##### ۱- اثر کی‌لیت‌های مصنوعی و طبیعی به کار رفته بر حلالیت

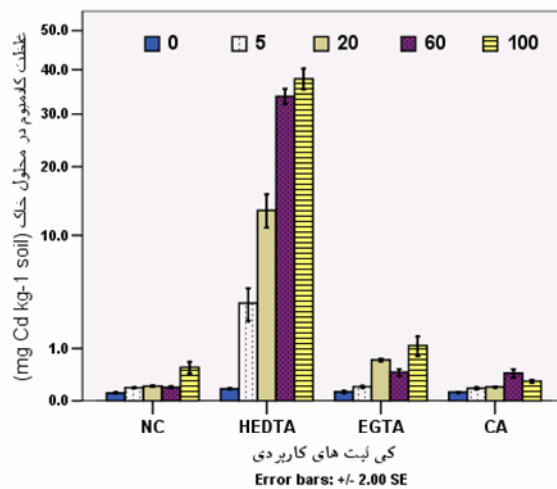
##### کادمیوم در خاک‌های آلوده

شکل ۱ اثر کی‌لیت‌های به کار رفته بر حلالیت کادمیوم در خاک‌های آلوده را نشان می‌دهد. با توجه به مقادیر به دست آمده برای کادمیوم خاک در غلظت‌های مختلف دیده می‌شود

در طشت‌های پر از آب جمع‌آوری گردید. نمونه برداری از خاک گلدان‌ها قبل از قرار دادن آنها در طشت‌های پر از آب انجام گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده ابتدا با آب معمولی و سپس با آب دو بار تقطیر شستشو داده شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۷۰°C به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند (۱۲). پس از خشک شدن نمونه‌ها با استفاده از آسیاب برقی با محافظه تمام استیل، نمونه‌ها آسیاب شده و تا زمان هضم و عصاره‌گیری در ظروف شیشه‌ای که با اسید رقیق شستشو شده بودند نگهداری گردیدند.

##### ۵- اندازه‌گیری کادمیوم محلول خاک

ده گرم خاک را توزین و در ارلن مایر (Conical flask) ۱۲۰ میلی‌لیتری ریخته و بیست میلی‌لیتر محلول DTPA به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت دو ساعت با شیکر دورانی مدل IKA Werk KS 580 روی درجه ۲۵۰ تکان داده شدند و سپس با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف گردیدند. میزان کادمیوم در خاک توسط دستگاه جذب اتمی مدل Spectr AA.200 اندازه‌گیری شد.



شکل ۱. اثر کی‌لیت‌های به کار رفته بر حلالیت کادمیوم در خاک‌های آلوده  
 اعداد میانگین هستند ( $n=3$ ) و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P=0.5\%$  است.

مشاهده می‌شود که متوسط میزان حلالیت کادمیوم به لحاظ آماری در سطح  $0.05\%$  درصد بین کی‌لیت‌ها یکسان نبوده و به نوع کی‌لیت بستگی دارد.

## ۲- اثر کی‌لیت‌های به کار رفته بر غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی تربچه

شکل ۲ اثر کی‌لیت‌های به کار رفته را بر غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی تربچه نشان می‌دهد. با افزایش میزان کادمیوم خاک در تمام تیمارها، غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی افزایش یافته است. در گلدان‌های شاهد، میزان جذب کادمیوم در اندام‌های هوایی بیشتر از ریشه است. مقادیر تجمع یافته کادمیوم در اندام هوایی گیاه تربچه بسیار بیشتر از ریشه آن بوده است. در تحقیقی روی سه گیاه تربچه، اسفناج آبی و گیاه خودرو Arum در پالایش گیاهی کادمیوم نشان داده شد که تربچه بر خلاف دو گیاه دیگر بیشترین تجمع را در اندام هوایی خود داشته است. هم‌چنین غلظت کادمیوم در اندام هوایی و ریشه تربچه با افزایش غلظت کادمیوم محلول خاک از  $1/5$  به  $10$  میکرو مول به ترتیب از  $83$  به  $351$  در اندام هوایی و از  $27$  به  $140$  میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم ماده خشک گیاه در ریشه

که در تمام تیمارها، کادمیوم محلول خاک در مقایسه با تیمار شاهد (بدون کی‌لیت) بیشتر بوده است. به طوری که در تیمار  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  کادمیوم، بیشترین غلظت کادمیوم محلول در خاک دیده شد.

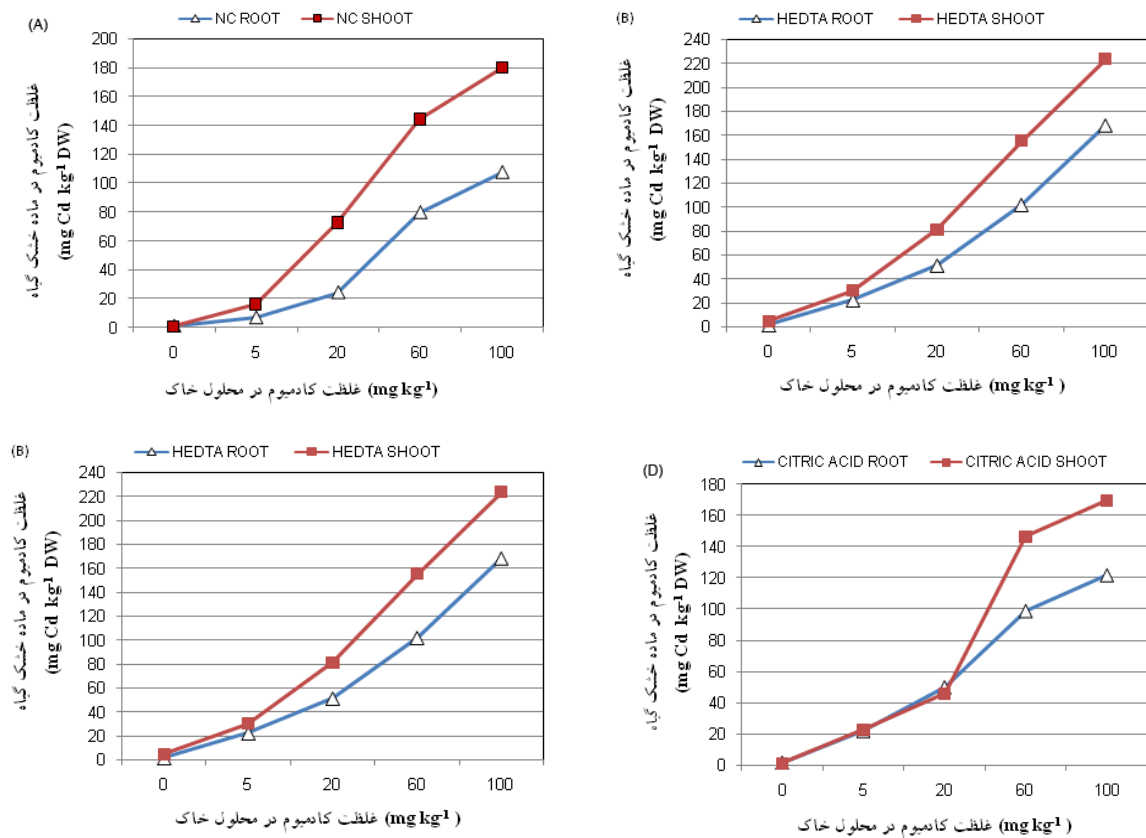
در تیمارهایی که به آنها HEDTA اضافه شده غلظت کادمیوم محلول در خاک در غلظت‌های  $0$ ،  $5$ ،  $20$ ،  $60$ ،  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  (به ترتیب  $0.05$ ،  $3/48$ ،  $13/22$ ،  $33/8$ ،  $37/82 \text{ mg kg}^{-1} \text{ soil}$ ) بوده و در این مورد نیز با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، غلظت کادمیوم محلول خاک بعد از اضافه کردن HEDTA افزایش یافته است.

مقادیر به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که کی‌لیت‌های مصنوعی نسبت به اسید سیتریک حلالیت را بیشتر افزایش می‌دهد. در این میان HEDTA نسبت به دو کی‌لیت دیگر تأثیر بسیار مشهودتری بر افزایش حلالیت کادمیوم داشته، ولی اما به دلیل قیمت کمتر و نیز خطر کمتر اسید سیتریک در پالایش گیاهی استفاده از مقادیر بالاتر آن در برخی مطالعات اخیر پیشنهاد شده است (۲۰).

در جدول ۲ نتایج تجزیه آماری اثر کی‌لیت‌های مختلف بر حلالیت کادمیوم در خاک‌های آلوده آورده شده است.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر کی‌لیت‌های مختلف بر حلالیت کادمیوم در خاک‌های آلوده

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	Sig.
کی‌لیت	۳	۱۰۸۵۸۱/۱۱۴	۳۶۱۹۳/۷۰۵	۴/۴۷۷	۰/۰۲۵
غلظت عنصر سنگین	۴	۳۲۵۹۵/۴۹۸	۸۱۴۸/۸۷۴	۱/۰۰۸	۰/۴۴۱
Error	۱۲	۹۷۰۱۶/۶۸۶	۸۰۸۴/۷۲۴		
Total	۲۰	۲۷۴۷۷/۲۰۳			



شکل ۲. غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی تربچه در تیمارهای شاهد (A)، HEDTA (B)، EGTA (C) و CITRIC ACID (D)

کی‌لیت‌های گیاهی در واکنش‌های سلولی ریشه باشد (۳۱). شکل ۲ غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی تربچه را در تیمارهای مختلف غلظت کادمیوم نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم خاک از ۵ تا ۱۰۰ (mg kg<sup>-1</sup>), غلظت کادمیوم در اندام هوایی در تیمار شاهد به ترتیب از ۱۶/۴۱ به ۱۷۹/۶۸ و در

افزایش پیدا کرد. طبق نتایج به دست آمده، ۵۴ تا ۶۳ درصد کادمیوم در اندام هوایی و ۳۵ تا ۴۳ درصد در ریشه‌های تربچه بود (۳). میزان بیشتر کادمیوم در ریشه‌های Arum و اسفناج آبی ممکن است به دلیل غیر متحرک شدن کادمیوم در اثر رسوب و یا جذب سطحی ریشه و نیز حبس شدن کادمیوم توسط

توضیحی برای کاهش رشد گیاه در تیمارهای کادمیوم باشد. عدم یکنواختی در تشکیل غده قبل از اضافه کردن کیلیت‌ها مشاهده گردید. در انتهای آزمایش یعنی ۱۰ روز بعد از افزودن کیلیت‌ها، علائم کلروز و نکروز در گیاهان مشاهده شد. کیلیت‌های مصنوعی مختلف نتایج قابل قبولی را در افزایش جذب کادمیوم توسط گیاه از خود نشان داده اند لیکن سمیت آنها نیز مانند آنچه در مورد HEDTA مشاهده شده، تأیید شده است (شکل ۴-a). شکل ۴-a نشان می‌دهد HEDTA در غلظت  $5 \text{ mgkg}^{-1}$  کادمیوم، باعث افزایش وزن خشک گیاه تربچه شده است. در غلظت‌های ۲۰ و  $60 \text{ (mgkg}^{-1}\text{)}$ ، وزن خشک گیاه، کاهش و در غلظت  $100 \text{ mgkg}^{-1}$  وزن خشک تربچه افزایش یافته است. شکل ۴-b نشان می‌دهد کیلیت EGTA جز در غلظت  $5 \text{ mgkg}^{-1}$ ، در سایر غلظت‌ها باعث افزایش وزن خشک تربچه شده است. شکل ۴-c اثر اسید سیتریک را بر وزن خشک گیاه تربچه نشان می‌دهد.

در تمامی غلظت‌ها اسید سیتریک باعث افزایش وزن خشک تربچه در مقایسه با تیمار شاهد شده است. سمیت کم اسیدهای آلی باعث افزایش وزن خشک تربچه در مقایسه با تیمار شاهد شده است.

استفاده از اسید سیتریک به عنوان کیلیت در استخراج گیاهی به دلیل قابلیت تجزیه زیستی و تجزیه سریع به  $\text{CO}_2$  و  $\text{H}_2\text{O}$  (۸ و ۳۲) نتیجه بخش بوده است (۱۴). به علاوه همان گونه که در تحقیقات پیشین آورده شده NLMWOA قابلیت سمیت‌زدایی فلزات سنگین درون سلولی را از طریق تشکیل پیوند دارند (۲۰). بسیاری از این اسیدهای آلی در زمان استرس گیاه به مقادیر زیاد از ریشه آزاد می‌شوند (۷، ۹ و ۱۶). در این پژوهش pH خاک در تیمارهای اسید سیتریک در انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد. مشاهده گردید که افزودن  $20 \text{ mgkg}^{-1}$  اسید سیتریک pH خاک را حدود ۱/۱ واحد افزایش داده است. برخی پژوهش‌ها نشان داده که اسیدهای آلی سبک (اسید اگزالیک، اسید تارتاریک، اسید سیتریک) ضمن تجزیه، pH خاک را حدود ۰/۵ تا ۱/۵ واحد افزایش می‌دهد (۱۰ و ۱۱).

ریشه از ۷/۱۳ به ۱۰۷/۶۶ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم ماده خشک گیاه افزایش پیدا کرده است. در تیمار HEDTA غلظت کادمیوم در اندام هوایی از ۳۰/۱۹ به ۲۲۳/۹۴ و در ریشه از ۲۲/۵۳ به ۱۶۸/۵۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم ماده خشک گیاه افزایش یافته است.

حلالیت کمپلکس کادمیوم-HEDTA به علت ویژگی چربی دوستی آن بیشتر است و در نتیجه، جذب کادمیوم توسط ریشه‌ها بیشتر می‌شود (۳۰).

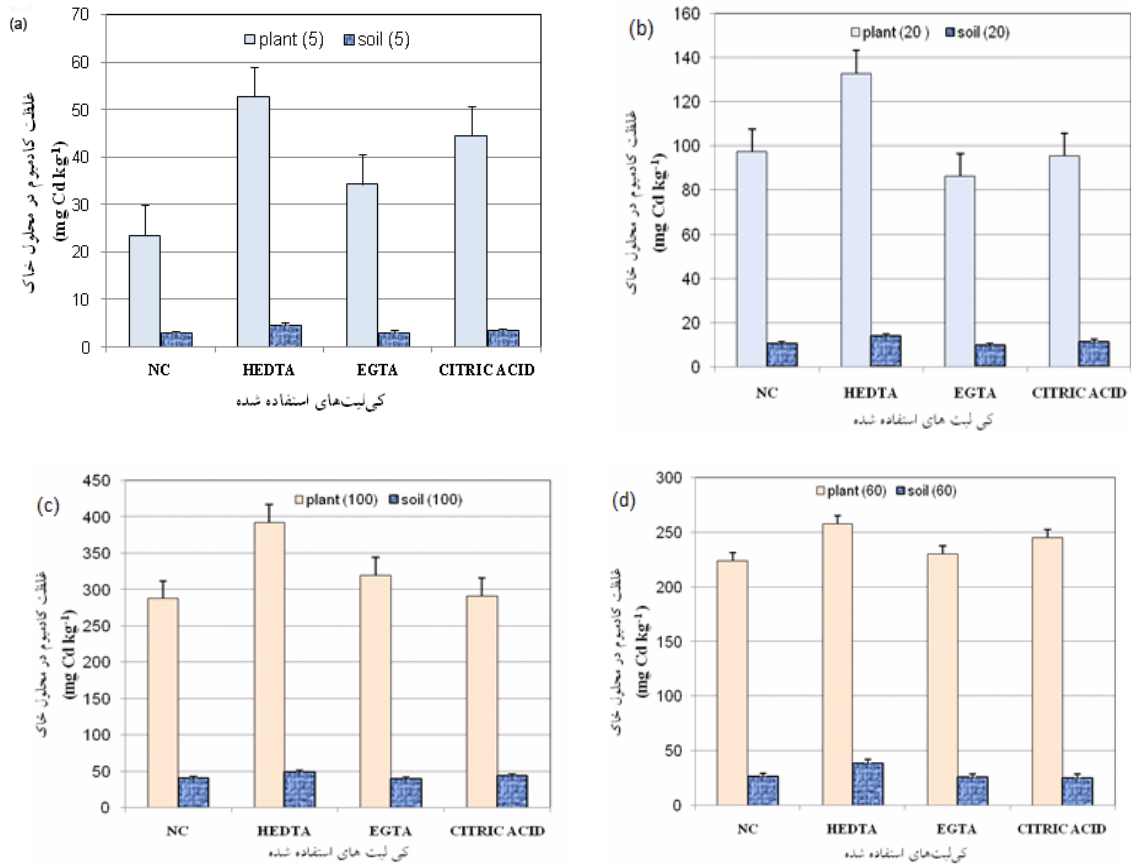
شکل ۳ غلظت کادمیوم محلول خاک در مقایسه با غلظت کادمیوم در گیاه تربچه را در تیمارهای مختلف غلظت کادمیوم نشان می‌دهد. ترتیب تأثیر کیلیت‌ها در تجمع کادمیوم در گیاه تربچه در غلظت‌های ۵ تا  $60 \text{ (mgkg}^{-1}\text{)}$ ، به صورت  $\text{HEDTA} > \text{EGTA} > \text{CITRIC ACID}$  (شکل ۳-a، c، ۳-b) و در غلظت  $100 \text{ mgkg}^{-1}$  ترتیب اثر کیلیت‌ها به صورت  $\text{HEDTA} > \text{EGTA} > \text{CITRIC ACID}$  (شکل ۳-d) می‌باشد.

با توجه به نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار جذب کادمیوم توسط گیاه در غلظت‌های مختلف، مربوط به تیمار HEDTA است.

در غلظت ۵ تا  $100 \text{ (mgkg}^{-1}\text{)}$  کادمیوم خاک، بعد از اضافه کردن کیلیت HEDTA غلظت کادمیوم در تربچه به ترتیب به ۵۲/۷۲، ۱۳۲/۹۰، ۲۵۷/۹۷ و  $392/44 \text{ (mgkg}^{-1}\text{)}$  رسیده که به ترتیب ۲/۲۴، ۱/۳۶، ۱/۱۵ و ۱/۳۷ برابر نمونه شاهد می‌باشد.

### ۳-۳- اثر کیلیت‌های به کار رفته بر رشد گیاه تربچه

کادمیوم به دلیل حلالیت بیشتر، سمیت بیشتری در مقایسه با فلزات سنگینی مانند سرب دارد (۲۶). کادمیوم با دخالت در فتوسنتز کلروفیل باعث کاهش کلروفیل و به دنبال آن کاهش طول و زیست توده اندام هوایی می‌شود (۲۶). هم‌چنین اثرات آنتاگونیسمی بر جذب و انتقال عناصر ضروری مانند Zn و Cu دارد و در واکنش‌های آنزیمی و متابولیسم پروتئین جایگزین آنها می‌شود (۲۶). به همین دلیل کمبود عناصر غذایی می‌تواند

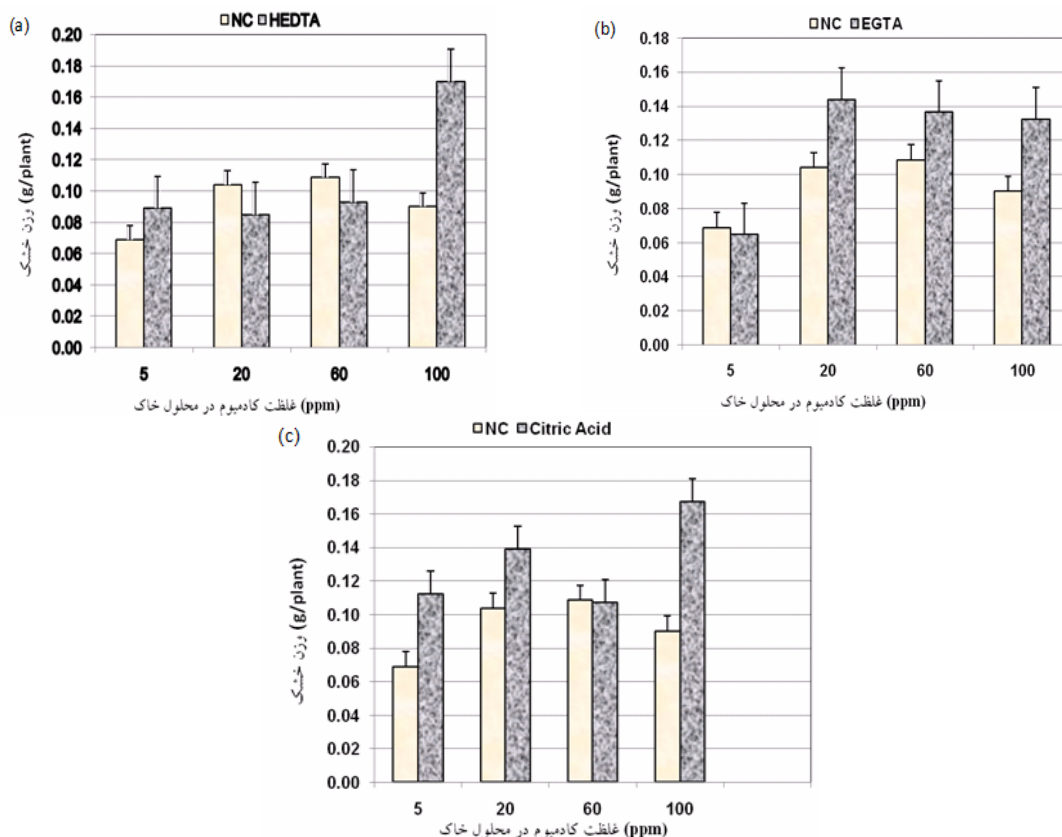


شکل ۳. غلظت کادمیوم محلول خاک در مقایسه با غلظت کادمیوم در تربچه در تیمارهای غلظت ۵ mgkg<sup>-1</sup> (a)، ۲۰ mgkg<sup>-1</sup> (b)، ۶۰ mgkg<sup>-1</sup> (c) و ۱۰۰ mgkg<sup>-1</sup> (d) کی‌لیت‌های استفاده شده.

جدول ۳. اثر کی‌لیت‌های به کار رفته بر جذب کادمیوم توسط گیاه تربچه ( $P < 0.05$ )

غلظت کادمیوم در خاک (mgkg <sup>-1</sup> )	غلظت کادمیوم در تربچه (mgkg <sup>-1</sup> dry weight plant)			
	بدون کی‌لیت	HEDTA	EGTA	CITRIC ACID
۵	۲۳/۵۵*	۵۲/۷۲*	۳۴/۲۷*	۴۴/۵۰*
۲۰	۹۷/۳۸*	۱۳۲/۹۰*	۸۶/۴۰*	۹۵/۵۹*
۶۰	۲۲۳/۹۸*	۲۵۷/۹۷*	۲۲۹/۹۷*	۲۴۵/۰۶*
۱۰۰	۲۸۷/۳۴*	۳۹۲/۴۴*	۳۱۹/۶۴*	۲۹۱/۳۰*





شکل ۴. اثر کی‌لیت‌های استفاده شده بر رشد تربچه در تیمارهای (a) HEDTA، (b) EGTA و (c) اسید سیتریک

حلالیت کمپلکس کادمیوم-HEDTA به علت ویژگی چربی دوستی آن بیشتر است و در نتیجه، جذب کادمیوم توسط ریشه‌ها بیشتر می‌شود. هم‌چنین با توجه به این که تجمع کادمیوم در اندام هوایی تربچه بیشتر بوده این ویژگی مثبت، استخراج کادمیوم از خاک را راحت‌تر می‌کند. لازم به ذکر است، با توجه به این که تربچه از سبزی‌های خوراکی رایج در ایران است، چنانچه در استخراج گیاهی استفاده شود باید بلافاصله پس از برداشت، همچون زباله‌های خطرناک اقدام به سوزاندن و دفن آن نمود.

این افزایش pH منجر به تجزیه میکروبی اسید کربوکسیلیک و مصرف  $H^+$  (۴) و آزاد شدن  $OH^-$  (۲۷) می‌شود. این افزایش pH هم‌چنین باعث افزایش حلالیت مواد هومیک می‌شوند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، کی‌لیت مصنوعی HEDTA در مقایسه با اسید سیتریک در استخراج گیاهی توانا تر بودند. ولی با توجه به ماندگاری آثار سمی کی‌لیت‌های مصنوعی در خاک‌ها، استفاده از اسیدهای سبک در مقادیر زیادتر توصیه می‌شود. حاضر

### منابع مورد استفاده

۱. روش‌های تجزیه گیاه. ۱۳۷۵. ص ۷۳-۲۳، نشریه شماره ۹۸۲. مؤسسه تحقیقات خاک و آب.
۲. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. ۱۳۷۲. ص ۱۳، نشریه شماره ۸۹۳. مؤسسه تحقیقات خاک و آب.

3. Abul Kashem, M.D., B.R. Singh and S.M.L. Huq and S. Kawai. 2008. Cadmium phytoextraction efficiency of arum (*Colocasia antiquorum*), radish (*Raphanus sativus* L.) and water spanish (*Ipomoea aquatica*) grown in hydroponics. *J. Water Air Soil Pollut.* 192: 273-279.
4. Barekzai, A. and K. Mengel. 1993. Effect of microbial decomposition of mature leaves on soil-pH. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 156: 93-94.
5. Blaylock, M.J., D.E. Salt and S. Dushenkov and O. Zakharova and C. Gussman and Y. Kapulnik and B.D. Ensley and I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31: 860-865.
6. Cunningham, S.D., W.R. Berti and J.W. Huang. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnol.* 13: 393-397.
7. Delhaize, E., P.R. Ryan and P.J. Randall. 1993. Aluminium tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.) (II. Aluminium-Stimulated Excretion of Malic Acid from Root Apices). *Plant Physiol.* 103: 695-702.
8. Dodge, C.J. and A.J. Francis. 1994. Photodegradation of uranium-citrate complex With uranium recovery. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1300-1306.
9. Drinkelaker, B., V. Romheld and H. Marschner. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environ.* 12: 285-292.
10. Evangelou, M.W.H., M. Ebel and A. Schaeffer. 2007. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco nicotiana tabacum. *Chemosphere* 63: 996-1004.
11. Gramss, G., K.D. Voigt and H. Bergmann. 2004. Plant availability and leaching of (Heavy) metals from ammonium, calcium, carbohydrate, and citric acid treated uranium-mine-dump soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 427-471.
12. Gupta, P.K. 2000. *Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis*. Agrobios, New Dehli, India.
13. Huang, J.W., J. Chen and W.B. Berti and S.D. Cunningham. 1997. Hytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31: 800-805.
14. Huang, J.W., M.J. Blaylock and Y. Kapulnik and B.D. Ensley. 1998a. Phytoremediation of uranium-contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2004-2008.
15. Huang, F.C., P.V. Brady and E.R. Lindgren and P. Guerra. 1998b. Biodegradation of uranium-citrate complexes: Implications for extraction of uranium from soils. *Environ. Sci. Technol.* 32: 379-382.
16. Jones, D.L. and P.R. Darrah. 1995. Influx and efflux of organic acids across the soil-root interface of *zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. *Plant Soil* 173: 103-109.
17. Jones, D.L., P.R. Darrah and V.L. Kochian. 1996. Critical evaluation of organic acid mediated iron dissolution in the rhizosphere and its potential role in root iron uptake. *Plant Soil* 180: 57-66.
18. Krishnamurti, G.S.R., G. Cielinski and P.M. Huang and K.C.J. VanRees. 1998. Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: Implementation in cadmium availability. *J. Environ. Qual.* 26: 271-277.
19. Lee, J., R.D. Reeves and R.R. Brooks and T. Jaffre. 1977. Isolation and identification of a citrato-complex of nickel from nickel-accumulating plants. *Phytochemistry* 16: 1502-1505.
20. Liu, D., E. Islam and Q. Mahmood and X. Jin and T. Li and X. Yang and D. Gupta. 2008. Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of sedum alfredii hance. *J. Hazardous Materials* 153: 114-122.
21. Luo, C., Z. Shen and X. Li. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59: 1-11.
22. Mench, M. and E. Martin. 1991. Mobilization of cadmium and other heavy metals from 2 soils by root exudates of *Zea Mays* L., *Nicotiana Tabacum* L. and *Nicotiana Rustica* L. *Plant Soil* 132: 187-196.
23. Nacimiento, C.W.A., D. Amarasiriwardena and B.S. Xing. 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environ. Pollut.* 140: 114-123.
24. Nigam, R., S. Srivastava And S. Prakash and M.M. Srivastava. 2001. Cadmium Mobilisation and Plant Availability - The Impact Of Organic Acids Commonly Exuded From Roots. *Plant Soil* 230: 107-113.
25. Orcutt, D.M. and E.T. Nilsen. 2000. Phytotoxicity and Soil Pollution: Heavy Metals and Xenobiotics. In: *The Physiology of Plants Under Stress, Soil and Biotic Factors*. John Wiley Pub., New York.
26. Perez, J. and T.W. Jeffries. 1992. Roles of manganese and organic-acid chelators in regulating lignin degradation and biosynthesis of peroxidases by phanerochaete-chrysosporium. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2402-2409.
27. Quartacci, M.F., A.J.M. Baker and F. Navari-Izzo. 2005. Nitriloacetate- and citric acid-assisted phytoextraction of cadmium by indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae). *Chemosphere.* 59: 1249-1255.
28. Shute, T. and S.M. Macfie. 2006. Cadmium and zinc accumulation in soybean: A threat to food safety. *Sci. Total Environ.* 371: 63-73.
29. United States Environmental Protection Agency. 2005. Using coal ash in highway construction: A guide to benefits

- and impacts. InfoNational Service Center for Environmental Publications Cincinnati, OH, p. 20.
30. Wu, J., F. Hsu and S. Cunningham. 1999. Chelate-Assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake, and translocation constraints. *Environ. Sci. Technol.* 33: 1898–1904.
31. Yan, F., S. Schubert and K. Mengel. 1996. Soil pH increase due to biological decarboxylation of organic anions. *Soil Biol. Biochem.* 28: 617–624.
32. Zhang, F., V. Römheld and H. Marschner. 1989. Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.* 152: 205–210.