اکوهیدرولوژی

دورهٔ ۲، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص ۲۱۰-۲۰۱

پتانسیل گیاه‌پالایی *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl در خاک‌های آلوده به کادمیوم و نحوهٔ کاهش خطر آبشویی کادمیوم به آب‌های زیرزمینی

مهدیه ابراهیمی[1*]، فتانه قاسمی[2]، مرتضی پوزش شیرازی[3]

۱. استادیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکدهٔ آب و خاک، دانشگاه زابل

۲. کارشناس ارشد مرتعداری، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکدهٔ آب و خاک، دانشگاه زابل

۳. مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر

(تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۰ - تاریخ تصویب: ۹۴/۴/۲۳)

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی پتانسیل گیاه‌پالایی *Puccinellia distans* (Jacq) Parl با استفاده از DTPA و EDTA و نحوهٔ کاهش خطر آبشویی کادمیوم-کلات انجام گرفت. به‌منظور آلوده کردن خاک به کادمیوم از نمک $CdCl_2$ استفاده شد. تیمارهای استفاده‌شده شامل ۲/۵DTPA، ۵DTPA، ۲/۵EDTA، ۵EDTA، ۲/۵EDTA+۲/۵DTPA، ۲/۵EDTA+۵DTPA، ۲/۵EDTA+۲/۵DTPA، ۵EDTA+۵DTPA بود و در تیمارهای شاهد EDTA و DTPA استفاده نشد. فاکتور تجمع (BCF)، فاکتور انتقال (TF) و شاخص تحمل (TI) به‌منظور تعیین کارایی گیاه‌پالایی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کاربرد مواد بهساز سبب افزایش معنادار کادمیوم در بافت‌های گیاهی شد و کادمیوم در ریشهٔ گیاه در مقایسه با اندام‌های هوایی مقادیر بیشتری داشت. حداکثر فاکتور تجمع به‌ترتیب در تیمارهای ۵DTPA و ۵EDTA و حداکثر فاکتور انتقال در تیمار ۵EDTA+۵DTPA مشاهده شد. نتایج نشان داد EDTA و DTPA پتانسیل افزایش جذب کادمیوم توسط *P.distans* را دارند. در گام بعدی برای کاهش آبشویی کادمیوم-کلات، غلظت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم DTPA و EDTA در سه روش یک‌بار، سه‌بار متوالی و شش‌بار متوالی به خاک اضافه شد. نتایج نشان داد در روش یک‌بار، کادمیوم خاک حداقل و در اندام‌های گیاهی حداکثر بود. بین غلظت فلز در اندام‌های گیاهی بین روش سه بار و شش بار متوالی تفاوت معناداری وجود نداشت ($p<٪۵$). به‌طور کلی، حد بهینهٔ گیاه‌استخراجی *P. distans* و کاهش آبشویی کادمیوم به آب‌های زیرزمینی در غلظت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم DTPA و EDTA و در کاربرد به‌روش یک‌بار به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، خطر آبشویی، شاخص تحمل، کادمیوم، گیاه‌پالایی.

* نویسندهٔ مسئول

Email: maebrahimi2007@uoz.ac.ir

مقدمه

تجمع طولانی‌مدت فلزات سنگین در خاک به سمیت گیاهان و در نتیجه، ورود این دسته از آلاینده‌ها به زنجیرهٔ غذایی و آب‌های زیرزمینی منجر شده و مشکلاتی را برای سلامت انسان‌ها ایجاد کرده است [۱۴]. در بین فلزات سنگین، کادمیوم به‌دلیل تحرک زیاد در خاک [۲۰] از طریق جذب توسط گیاه و ورود به چرخهٔ مواد غذایی [۱۷] سبب بروز عوارضی ناخواسته در انسان می‌شود [۲۵]. در این خصوص، گیاه‌استخراجی[1] یکی از روش‌های سازگار با محیط زیست است که در آن از گیاهان بیش‌اندوز[2] برای حذف آلاینده‌های فلزی از خاک‌های آلوده استفاده می‌کنند [۳۹، ۱۰].

در چند سال اخیر بیشتر مطالعات در این زمینه بر کاربرد گیاهان دارای قدرت جذب زیاد کادمیوم متمرکز شده است [۴۰، ۲۹]، اما افزون‌بر مدت زمان طولانی (در حدود ۵۰۰-۲۵ سال) برای پالایش خاک‌های آلوده به کادمیوم [۲۰]، اغلب گیاهان بیش‌اندوز کادمیوم، دارای زیست‌تودهٔ اندک‌اند و رشد کندی دارند؛ قابلیت دسترسی و انتقال کم فلز از ریشه به اندام‌های هوایی دیگر عامل محدودکننده در این زمینه است [۴۰]. بدین منظور کاربرد مواد بهساز برای افزایش قابلیت دسترسی آلاینده‌ها در خاک مورد توجه قرار گرفته است. از مهم‌ترین این مواد EDTA[3] و DTPA است [۲۶، ۲۱، ۱]؛ اما نکتهٔ مهم در استفاده از این مواد، انتخاب غلظت مناسب است؛ زیرا در غلظت‌های زیاد، خطر آبشویی کمپلکس فلز-کلات[4] به آب‌های زیرزمینی وجود دارد [۳۱]. باید به این مسئله نیز توجه داشت که مواد بهسازی چون EDTA هرچند تأثیر بارزی در انحلال فلزات در خاک و افزایش قابلیت دسترسی آنها در خاک دارند، در مقایسه با دیگر مواد بهساز در خاک ماندگاری بیشتری دارند [۱۸] و این موضوع کاربرد آن را برای گیاه‌پالایی محدود می‌کند؛ بنابراین هرچند فراهمی فلزات در خاک با افزودن مواد بهساز افزایش می‌یابد، کاربرد آنها در غلظت‌های زیاد، به مخاطرات زیست‌محیطی و افزایش خطر آلودگی آب‌های زیرزمینی منجر می‌شود [۲۶]. در این زمینه لومبی و همکاران [۲۳] اظهار داشتند که هرچند این ماده همواره برای گیاهان سمی نیست، به‌دلیل پایداری کمپلکس فلز-کلات در خاک و خطر آبشویی آن به آب‌های زیرزمینی، ممکن است سبب بروز مشکلات زیست‌محیطی شود؛ به‌طوری که کاربرد ۲/۷ میلی‌مول در کیلوگرم EDTA سبب افزایش غلظت فلزات در محلول خاک شد، ولی این ماده چندین هفته در محلول خاک باقی ماند. همچنین الکوترا و همکاران [۴] گزارش کردند که بعد از پنج ماه کاربرد EDTA، کمپلکس کلات-فلز در خاک به‌صورت پایدار باقی ماند. بنابراین روش‌های کارامد قبل از کاربرد این ماده در افزایش کارایی پالایش خاک در مقیاس وسیع باید لحاظ شود. به همین دلیل به‌رغم کارایی EDTA و DTPA در افزایش پتانسیل گیاه‌استخراجی، خطر آبشویی این مواد به آب‌های زیرزمینی کاربرد آنها را محدود کرده است. به‌عبارت بهتر، به‌منظور کاهش خطر آبشویی فلزات سنگین به آب‌های زیرزمینی و کاهش تأثیرات منفی مواد بهساز، انتخاب غلظت مناسب و همچنین شیوهٔ کاربرد این مواد، عوامل مهمی در افزایش کارایی این مواد محسوب می‌شوند.

هدف از تحقیق حاضر بررسی توانایی DTPA و EDTA در افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به کادمیوم با استفاده از گونهٔ *P. distans* و شیوهٔ مناسب کاربرد این مواد برای دستیابی به حداکثر پالایش خاک و کاهش آبشویی کادمیوم در خاک‌های آلوده به این فلز در حضور گونهٔ *P. distans* است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گلدان‌ها

خاک غیرآلوده برای اجرای آزمایش‌های گلخانه‌ای از مراتع شهرستان فراشبند واقع در جنوب غرب استان فارس (طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۳ دقیقه و ۳۲ ثانیهٔ شرقی و عرض جغرافیایی ۲۸ درجه و ۲۹ دقیقه و ۲۹ ثانیهٔ شمالی) برداشت شد. نمونه‌های خاک پس از خشک شدن در هوای آزاد، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی خصوصیات خاک شامل بافت (روش هیدرومتری [۸])، اسیدیته (مدل دستگاه 691- Metrohm AG Herisau Switzerland) [۳۲]، هدایت الکتریکی (مدل دستگاه DDS-307, Shanghai, China)، [۶]، کربن آلی [۳۳]، درصد اشباع (روش وزنی) [۳۵] در آزمایشگاه آب و خاک مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

1. Phytoextraction
2. Hyperaccumulator
3. Ethylenediaminetetraacetic acid
4. Metal- Chelating

جدول ۱. مشخصات خاک استفاده‌شده برای آزمایش‌های گلدانی

درصد اشباع	کربن آلی (٪)	هدایت الکتریکی (ds/m)	اسیدیته	بافت
۳/۸۰	۰/۰۸	۱/۷۵	۷/۴۰	سیلتی لومی

برای کشت گلدانی، نمونه‌های خاک از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شدند. به‌منظور آلوده کردن خاک به کادمیوم از نمک $CdCl_2$ به مقدار ۷/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شد. نمونه‌ها یک هفته در شرایط گلخانه به‌منظور آلودگی یکنواخت خاک نگهداری شدند. سپس محلول EDTA و DTPA قبل از رشد گیاه به‌صورت افشاندن به خاک اضافه شد. تیمارهای مورد استفاده (پنج تکرار) شامل شاهد ۱ (خاک غیرآلوده و بدون کلات)، شاهد ۲ (خاک آلوده بدون کلات)، ۲/۵DTPA، ۵DTPA، ۲/۵EDTA، ۵EDTA، ۲/۵EDTA + ۲/۵DTPA، ۲/۵EDTA+ ۵DTPA، ۵EDTA+۲/۵DTPA، ۵EDTA +۵DTPA (همهٔ تیمارها بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. کشت بذور (۱۵ عدد) در هر گلدان (۳ کیلوگرم خاک، به ابعاد ۲۰×۲۰×۱۵ سانتی‌متر) در شرایط گلخانه‌ای (دمای حداکثر ۳۰ و حداقل ۲۱ درجهٔ سلسیوس) صورت گرفت و آبیاری گیاهان با آب لوله‌کشی شهری و به‌صورت یک‌روز در میان انجام پذیرفت. گونهٔ گیاهی کشت‌شده بعد از رسیدن به حد نصاب رشد (شش هفته بعد از افشاندن محلول کلات) برداشت و پس از آماده‌سازی در آزمایشگاه (شست‌وشو با آب مقطر و خشک شدن در آون (مدل Dena, Iran)؛ غلظت کادمیوم در اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) و زیرزمینی گیاه اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌های خاک گلدان‌ها در دمای ۷۰ درجهٔ سلسیوس در آون خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. غلظت کادمیوم نمونه‌های گیاهی با استفاده از روش اکسایش توسط اسید نیتریک، اسید کلریدریک و آب اکسیژنه [۹]، و غلظت کادمیوم نمونه‌های خاک به‌روش عصاره‌گیری با DTPA [۲۲]، توسط دستگاه جذب اتمی (مدل Thermo Elemental AA Series Spectrometer, Irland) تعیین شد. غلظت کادمیوم در بخش‌های هوایی و ریشهٔ گیاه در شرایط کنترل و خاک آلوده اندازه‌گیری شد تا تأثیر غلظت‌های متفاوت EDTA و DTPA در افزایش جذب کادمیوم توسط گونهٔ *P. distans* بررسی شود. بررسی غلظت کادمیوم در نمونه‌های خاک با ارجاع به روش ارائه‌شده توسط SRM۲۷۱۱ (مؤسسهٔ استاندارد و تکنولوژی آمریکا) و برای نمونه‌های گیاهی با ارجاع به روش ارائه‌شده توسط BCR-۰۶۰ (مؤسسهٔ استاندارد مواد و اندازه‌گیری بلژیک) انجام گرفت.

بررسی روش کاربرد مواد بهساز

بعد از اجرای آزمایش‌های مرحلهٔ نخست، با توجه به فاکتورهای مادهٔ خشک گیاه و غلظت کادمیوم خاک و اندام‌های گیاهی، برای بررسی کاهش خطر آبشویی کادمیوم-کلات به آب‌های زیرزمینی، با توجه به نتایج مرحلهٔ قبل، اپتیمم غلظت مواد بهساز انتخاب و به سه روش یک بار (Single)، سه بار متوالی با غلظت یکسان (Triple) و شش بار متوالی با غلظت یکسان (Six successive) به خاک اضافه شد. در هر بار اضافه کردن EDTA و DTPA در روز مشخص‌شده، نمونهٔ خاک گلدان (یک‌چهارم خاک گلدان از انتها) ۵ روز پس از هر بار اضافه کردن، برداشت شد و برای اندازه‌گیری مقدار کادمیوم موجود در خاک و مقدار فلز سنگین قابل جذب توسط گیاه با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. هدف از اجرای این مرحله این بود که مشخص شود در کدام یک از سه روش، بهترین امکان برای کاهش خطر آبشویی فلز-کلات وجود دارد.

محاسبهٔ کارایی گیاه‌پالایی

بعد از مشخص کردن مقدار کادمیوم در اندام‌های گیاهی و خاک، برای ارزیابی کارایی گیاه به‌منظور پالایش کادمیوم فاکتور تجمع BCF[1] (غلظت فلز در مواد گیاهی برداشت‌شده به غلظت فلز در محلول خاک) [۲۴]، فاکتور انتقال (TF)[2] (غلظت فلز در بخش‌های هوایی گیاه به غلظت فلز در ریشه) [۳۶] و شاخص تحمل (TI)[3] (وزن خشک گیاه در خاک آلوده به وزن خشک گیاه در خاک غیرآلوده) [۱۹] اندازه‌گیری شد.

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

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها (آزمون کولموگروف-اسمیرنوف) و همگنی واریانس‌ها (آزمون لِوِن)، برای مقایسهٔ اندام‌های گیاهی در میزان غلظت کادمیوم قابل استخراج از آزمون t (جفتی) استفاده شد. به‌منظور بررسی وجود تفاوت معنادار بین غلظت‌های متفاوت در افزایش جذب و تفاوت در روش‌های کاربرد مواد بهساز، داده‌ها مورد تجزیهٔ واریانس چندطرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS18 قرار گرفتند و برای مقایسهٔ میانگین از آزمون دانکن (در سطح ۵ درصد) استفاده شد.

نتایج

غلظت کادمیوم در خاک و اندام‌های گیاهی تحت تیمارهای متفاوت EDTA و DTPA

نتایج حاصل از افزودن EDTA و DTPA به خاک گلدان‌های مورد آزمایش (جدول ۲) نشان داد که EDTA و DTPA سبب افزایش نسبی قابلیت هدایت الکتریکی و قابلیت دسترسی عنصر کادمیوم در خاک تحت کشت گیاه شد. همچنین افزودن EDTA و DTPA در مقایسه با تیمارهای شاهد، موجب کاهش نسبی pH خاک شد، هرچند این کاهش در تیمارهای ترکیبی ۲/۵EDTA+۲/۵DTPA و ۵EDTA+۲/۵DTPA دیده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. اسیدیته، هدایت الکتریکی و غلظت کادمیوم در اندام‌های گیاه و خاک‌های تیمارشده با EDTA و DTPA

تیمار	کادمیوم خاک (میلی‌گرم در کیلوگرم)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کادمیوم (اندام هوایی) (میلی‌گرم در کیلوگرم)	کادمیوم (ریشه) (میلی‌گرم در کیلوگرم)
شاهد ۱ (غیرآلوده بدون کلات)	ND (<۰/۰۲)	۷/۴۰±۰/۰۰^{c}	۱/۷۵±۰/۰۵^{d}	ND (<۰/۰۵)	ND(<۰/۰۵)
شاهد ۲ (آلوده بدون کلات)	۲/۲۳±۰/۰۷^{a}	۷/۲۲±۰/۱۰^{dc}	۷/۰۷±۰/۰۹^{c}	۴/۴۵±۱/۸۴$^{B-dc}$	۱۰/۸۴±۱/۰۹$^{A-f}$
۲/۵EDTA	۲/۶۱±۰/۲۶^{a}	۷/۱۹±۰/۰۳^{dc}	۷/۵۲±۰/۰۸^{ab}	۴/۴۴±۱/۰۱$^{B-dc}$	۲۳/۷۱±۰/۶۳$^{A-c}$
۵EDTA	۱/۹۸±۰/۵۰^{b}	۶/۹۲±۰/۰۶^{d}	۷/۷۰±۰/۰۸^{a}	۶/۵۵±۰/۵۱$^{B-bc}$	۲۷/۵۴±۰/۵۶$^{A-b}$
۲/۵DTPA	۲/۲۶±۰/۵۰^{a}	۷/۰۷±۰/۰۴^{d}	۷/۴۱±۰/۰۴^{b}	۴/۶۸±۱/۵۷$^{B-dc}$	۲۰/۲۷±۱/۰۷$^{A-d}$
۵DTPA	۱/۳۳±۰/۰۸^{b}	۶/۹۶±۰/۰۷^{d}	۷/۵۴±۰/۰۵^{ab}	۹/۴۵±۰/۷۱$^{B-a}$	۳۸/۳۵±۰/۷۲$^{A-a}$
۲/۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۲/۱۹±۰/۸۸^{a}	۷/۹۳±۰/۰۹^{b}	۷/۵۵±۰/۰۷^{ab}	۳/۸۲±۰/۶۱$^{B-d}$	۱۲/۵۸±۰/۶۰$^{A-f}$
۲/۵ EDTA+۵ DTPA	۲/۹۸±۱/۰۱^{a}	۷/۰۸±۰/۰۶^{d}	۷/۶۳±۰/۰۹^{ab}	۳/۴۰±۰/۹۷$^{B-d}$	۱۶/۶۳±۱/۰۵$^{A-e}$
۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۲/۸۴±۰/۴۲^{a}	۸/۸۶±۰/۱۹^{a}	۷/۴۴±۰/۱۱^{b}	۴/۶۶±۰/۶۷$^{B-dc}$	۲۵/۵۸±۰/۶۸$^{A-bc}$
۵ EDTA+۵ DTPA	۱/۹۹±۰/۷۴^{b}	۷/۰۳±۰/۰۷^{d}	۷/۴۲±۰/۰۳^{b}	۷/۷۵±۰/۴۹$^{B-ab}$	۱۶/۴۳±۰/۶۵$^{A-e}$

*حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در سطح ۵ درصد است (میانگین‌ها ±انحراف معیار). حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین اندام‌های گیاهی در سطح احتمال ۵ درصد است. ND: تشخیص‌ناپذیر

تأثیر تیمارهای متفاوت مواد بهساز در افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی و ریشهٔ گیاه در جدول ۲ نشان داد که در مقایسه با تیمار شاهد ۲ (خاک آلوده-بدون کلات)، کاربرد DTPA و EDTA موجب افزایش معنادار ($p<٪۵$) غلظت کادمیوم در ریشه شد. اما افزایش غلظت DTPA و EDTA با افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی گیاه رابطهٔ مشخصی نداشت. بیشترین غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی گیاه به‌ترتیب در تیمار ۵DTPA و ۵EDTA محاسبه شد. همچنین مقایسهٔ اندام‌های گیاهی (جدول ۲) حاکی از مقدار بیشتر کادمیوم در ریشهٔ گیاه در مقایسه با اندام‌های هوایی گیاه بود؛ به‌طوری که می‌توان گفت سلول‌های ریشهٔ گیاه *P. distans* قادر به تجمع بیشتر کادمیوم است.

کارایی گیاه استخراجی *P. distans*

مقادیر فاکتور تجمع (BCF) در اندام هوایی و زیرزمینی *P. distans* در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاکی از بیشتر بودن فاکتور تجمع ریشه نسبت به اندام‌های هوایی بود، به‌طوری که بیشترین فاکتور تجمع ریشه به‌ترتیب در تیمارهای ۵DTPA (۱۶/۳۰) و EDTA ۵ (۱۵/۷۱) محاسبه شد. نتایج تجزیهٔ واریانس تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت EDTA و DTPA افزایش معناداری در مقدار BCF

کادمیوم در اندام هوایی و ریشهٔ گیاه نسبت به تیمار شاهد ۲ مشاهده شد، هرچند فاکتور تجمع اندام‌های هوایی در تیمارهای ۲/۵EDTA و ۵EDTA+۵DTPA در مقایسه با تیمار شاهد ۲ (خاک آلوده بدون کلات) افزایش نشان نداد.

نتایج تجزیهٔ واریانس فاکتور انتقال گونهٔ گیاهی در جدول ۳ نشان داد که افزایش غلظت مواد بهساز به‌کاررفته در مقایسه با شاهد تأثیری در افزایش فاکتور انتقال کادمیوم به اندام‌های هوایی گیاه نداشت، هرچند تیمار ۵EDTA+۵DTPA در مقایسه با تیمار شاهد ۲ (خاک آلوده بدون کلات) موجب افزایش معنادار انتقال کادمیوم به اندام‌های هوایی گیاه شد.

نتایج تجزیهٔ واریانس شاخص تحمل (TI) گونهٔ گیاهی مورد مطالعه تحت تیمارهای EDTA و DTPA (جدول ۴) حاکی از کاهش شاخص تحمل گیاه در مقایسه با تیمارهای شاهد بود. به‌طوری که شاخص تحمل گیاه در تیمار شاهد ۲ (خاک آلوده بدون کلات) حداکثر مقدار (۱) بود. کمترین مقدار شاخص تحمل (۰/۷۱) مربوط به تیمار DTPA ۵EDTA+۵ بود. نتایج به‌دست‌آمده از مقایسهٔ وزن خشک اندام‌های گیاهی نشان داد که کاربرد EDTA و DTPA سبب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در مقایسه با تیمارهای شاهد شد. حداکثر کاهش وزن خشک گیاه مربوط به تیمار ۵EDTA+۵DTPA بود (جدول ۴).

جدول ۳. مقادیر BCF و TF در اندام‌های گیاهی تحت تیمارهای متفاوت EDTA و DTPA

تیمار	TF	BCF اندام هوایی	BCF ریشه
شاهد ۱ (غیرآلوده بدون کلات)	-	-	-
شاهد ۲ (آلوده بدون کلات)	۰/۳۹±۰/۰۶^{ab}	۱/۹۶±۰/۴۶$^{B-bcd}$	۴/۸۳±۰/۳۹$^{A-dc}$
۲/۵EDTA	۰/۱۸±۰/۰۳^{d}	۱/۸۲±۰/۶۲$^{B-dc}$	۹/۳۳±۱/۲۹$^{A-abc}$
۵EDTA	۰/۲۳±۰/۰۱^{dc}	۳/۷۶±۰/۸۹$^{B-bc}$	۱۵/۷۲±۳/۵۷$^{A-ab}$
۲/۵DTPA	۰/۲۲±۰/۰۱^{dc}	۲/۳۷±۰/۷۰$^{B-bcd}$	۱۰/۲۵±۲/۹۰$^{A-abc}$
۵DTPA	۰/۲۴±۰/۰۱^{dc}	۴/۱۵±۱/۵۱$^{B-bc}$	۱۶/۳۰±۵/۳۳$^{A-a}$
۲/۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۰/۲۹±۰/۰۳^{dc}	۲/۲۵±۰/۷۶$^{B-bcd}$	۷/۴۵±۲/۱۳$^{A-bcd}$
۲/۵ EDTA+۵ DTPA	۰/۱۹±۰/۰۴^{dc}	۲/۶۵±۰/۹۶$^{B-bcd}$	۱۲/۶۹±۱/۵۷$^{A-abc}$
۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۰/۱۷±۰/۰۲^{d}	۱/۶۵±۰/۱۴$^{B-cd}$	۹/۳۹±۱/۳۸$^{A-abc}$
۵ EDTA+۵ DTPA	۰/۴۶±۰/۰۰^{a}	۳/۸۹±۱/۳۰$^{B-bc}$	۱۰/۲۵±۲/۸۳$^{A-abc}$

*حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین تیمارهاست حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین اندام‌های گیاهی در سطح احتمال ۵ درصد است (میانگین‌ها ± انحراف معیار).

جدول۴. شاخص تحمل و وزن خشک گیاه تحت تیمارهای EDTA و DTPA

تیمار	TI	وزن خشک (گرم)
شاهد ۱ (غیرآلودهٔ بدون کلات)	-	۴/۵۱±۰/۰۸^{a}
شاهد ۲ (آلودهٔ بدون کلات)	۱/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴/۱۳±۰/۱۶^{ab}
۲/۵EDTA	۰/۹۰±۰/۰۵^{b}	۳/۷۸±۰/۲۸^{bc}
۵EDTA	۰/۸۳±۰/۰۱^{c}	۳/۷۵±۰/۱۹^{bc}
۲/۵DTPA	۰/۸۲±۰/۰۱^{c}	۳/۶۵±۰/۱۷^{bcd}
۵DTPA	۰/۸۰±۰/۰۱^{dc}	۳/۷۲±۰/۱۷^{bcd}
۲/۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۰/۸۲±۰/۰۱^{c}	۳/۴۵±۰/۰۴^{dc}
۲/۵ EDTA+۵ DTPA	۰/۷۶±۰/۰۱^{cde}	۳/۲۸±۰/۰۴^{dc}
۵ EDTA+۲/۵ DTPA	۰/۷۲±۰/۰۱^{e}	۳/۳۲±۰/۰۵^{dc}
۵ EDTA+۵ DTPA	۰/۷۱±۰/۰۱^{e}	۳/۲۲±۰/۱۲^{d}

*حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین تیمارهاست (در سطح احتمال ۵ درصد)، (میانگین‌ها ± انحراف معیار).

تأثیر روش‌های کاربرد EDTA و DTPA بر غلظت کادمیوم در اندام‌های گیاهی و خاک

با توجه به نتایج مرحلهٔ اول، غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم DTPA و EDTA به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب شد و به‌منظور تعیین روش مناسب کاربرد مواد بهساز این تیمارها به سه صورت به خاک اضافه شد. نتایج تجزیهٔ واریانس نمونه‌های خاک (جدول ۵) نشان داد که روش‌های متفاوت کاربرد EDTA و DTPA تأثیر معنادار بر فراهمی کادمیوم در خاک دارد ($p<0.05$)، به‌گونه‌ای که در اضافه کردن به‌صورت یک بار (Single) کاهش غلظت کادمیوم در خاک حداکثر بود و در کاربرد EDTA و DTPA به‌صورت سه بار متوالی (Triple) کادمیوم به‌ترتیب ۷۸/۶۶ و ۸۲/۴۱ درصد کاهش داشت. این کاهش در روش شش بار متوالی (Six Successive Dose) به‌ترتیب ۷۸/۶۶ و ۷۹/۵۶ درصد محاسبه شد. نتایج نشان داد در کاربرد EDTA و DTPA به‌صورت سه بار و شش بار متوالی تفاوت معناداری اندازه‌گیری نشد.

نتایج تأثیر روش‌های کاربرد متفاوت EDTA و DTPA بر غلظت کادمیوم در بخش‌های زیرزمینی و هوایی گیاه (جدول ۶) نشان داد که حداکثر مقدار کادمیوم در اندام‌های گیاهی در کاربرد EDTA به‌صورت یک بار بود و در کاربرد EDTA به‌صورت سه بار و شش بار متوالی در اندام هوایی گیاه تفاوت چندانی مشاهده نشد ($p<0.05$). در اندام زیرزمینی هم بین روش سه بار و شش بار متوالی تفاوت معناداری مشاهده شد و بیشترین جذب در روش یک بار بود. غلظت کادمیوم در کاربرد DTPA به‌صورت سه بار متوالی و شش بار متوالی در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه کاهش چشمگیری داشت و بین روش سه بار متوالی و شش بار متوالی تفاوت چندانی مشاهده نشد. نتایج آزمون T درخصوص مقایسهٔ روش کاربرد EDTA و DTPA (جدول ۶) حاکی از بیشتر بودن مقدار کادمیوم در روش کاربرد DTPA نسبت به EDTA بود.

جدول ۵. تأثیر روش کاربرد EDTA و DTPA بر فراهمی کادمیوم در خاک

بهساز	یکبار	سه‌بار متوالی	شش‌بار متوالی
EDTA	۰/۸۹±۰/۰۵^{a}	۱/۹۰±۰/۲۴^{b}	۱/۸۲±۰/۱۴^{b}
DTPA	۱/۰۸±۰/۱۱^{a}	۱/۹۰±۰/۱۷^{b}	۱/۷۶±۰/۱۰^{b}

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین روش‌های کاربرد EDTA و DTPA است (میانگین‌ها ± انحراف معیار).

جدول ۶. تأثیر روش کاربرد EDTA و DTPA بر فراهمی کادمیوم و سرب در اندام‌های گیاه

بهساز	اندام‌های گیاه	یک‌بار	سه‌بار متوالی	شش‌بار متوالی
EDTA	هوایی	۹/۱۲±۲/۳۰$^{B-a}$	۷/۲۳±۰/۶۶$^{B-b}$	۸/۲۷±۰/۸۹$^{B-b}$
	زیرزمینی	۴۵/۲۱±۳/۴۶$^{B-a}$	۳۰/۷۶±۰/۸۰$^{B-b}$	۳۶/۴۹±۱/۳۰$^{B-b}$
DTPA	هوایی	۱۳/۲۹±۱/۷۳$^{A-a}$	۱۰/۱۸±۰/۶۹$^{A-b}$	۱۱/۷۱±۱/۱۱$^{A-b}$
	زیرزمینی	۵۰/۴۱±۴/۵۴$^{A-a}$	۴۱/۱۸±۰/۸۰$^{A-b}$	۴۵/۱۶±۱/۱۱$^{A-b}$

*حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین روش‌های کاربرد EDTA و DTPA است. حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار بین مواد بهساز است (میانگین‌ها ± انحراف معیار).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر حاکی از افزایش اسیدیتهٔ خاک و قابلیت دسترسی عنصر کادمیوم در خاک تحت کشت گیاه بود. EDTA و DTPA به‌شکل وسیعی برای انحلال رسوبات آهکی ناشی از تبخیر آب استفاده می‌شوند. این مواد به‌دلیل داشتن کربوکسیلات و آمینو در ساختار خود با یون‌های فلزی موجود در خاک پیوند برقرار می‌سازند که به آزادسازی یون‌های H^{+} منجر می‌شود [۱۵]، بنابراین می‌توان افزایش اسیدیتهٔ خاک را با افزایش غلظت این اسیدها به‌دلیل رهاسازی بیشتر یون‌های هیدروژن نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر این موضوع را به‌خوبی بیان می‌کند. بررسی نشان داده است که اسیدیته و قابلیت

هدایت الکتریکی خاک در فراهمی عناصر و جذب آنها توسط گیاهان مؤثر است [۲۶]، به‌طوری که افزایش قابلیت دسترسی کادمیوم بعد از کاربرد EDTA و DTPA ممکن است به‌دلیل قلیایی بودن کم خاک باشد. در واقع، وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیبات کلات و فلزات سبب می‌شود فلزات کمتر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گیرند و در نتیجه مانع رسوب و تثبیت آنها در خاک می‌شوند. از طرفی کلات‌ها توسط ریشهٔ گیاهان قابل جذب‌اند و می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیرمحلول به فازهای تبادلی انتقال داده و در نهایت، جذب فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند [۷].

ژانگا و همکاران [۳۸] نشان دادند که کاربرد EDTA سبب افزایش فراهمی کادمیوم محلول خاک می‌شود. همچنین رولی و همکاران [۲۸] در مطالعهٔ تأثیر EDTA و DTPA در افزایش گیاه‌پالایی *Sesbania drummondii* درخاک‌های آلوده به سرب گزارش کردند که افزودن مواد بهساز موجب کاهش اسیدیتهٔ خاک و افزایش فراهمی فلز در گیاه شد. بلیلاک و همکاران [۵] گزارش کردند که EDTA و DTPA سبب افزایش فراهمی سرب و کادمیوم در اندام‌های هوایی *Brassia juncea* شدند.

یکی از سازوکارهای اثرگذار در افزایش جذب فلزات از خاک توسط گیاه، افزایش اسیدیتهٔ خاک است. به‌عبارتی بعضی از خصوصیات خاک نظیر اسیدیته و غلظت کل فلز، کارایی مواد بهساز را مؤثر می‌سازد [۲۱]. در تحقیق حاضر، نتایج خاک تحت تیمار غلظت‌های متفاوت EDTA و DTPA، افزایش اسیدیتهٔ خاک را در مقایسه با تیمارهای شاهد نشان داد؛ ازاین‌رو می‌توان افزایش اسیدیته را دلیلی بر جذب کادمیوم در کاربرد EDTA و DTPA بیان کرد. تجمع نسبی اندک فلزات در بافت‌های هوایی گیاه به‌دلیل ممانعت گیاه از تجمع مواد سمی در اندام‌های هوایی برای فعالیت فتوسنتز است [۳۹]. غلظت کم فلزات در اندام‌های هوایی در مقایسه با ریشهٔ گیاه می‌تواند به‌دلیل محدود شدن انتقال فلزات از ریشه به بخش‌های هوایی باشد [۱۷].

مقادیر فاکتور تجمع (BCF) در اندام هوایی و زیرزمینی *P. distans* حاکی از بیشتر بودن فاکتور تجمع ریشه نسبت به اندام‌های هوایی بود، به‌طوری که با افزایش غلظت EDTA و DTPA افزایش معناداری در مقدار BCF کادمیوم در اندام هوایی و ریشه گیاه نسبت به تیمار شاهد ۲ مشاهده شد.

یکی از راهبردهای گیاهان در مواجهه با غلظت زیاد فلزات، راهبرد دفع است که غلظت فلزات در اندام هوایی گیاه کم نگه داشته می‌شود تا زمانی‌که غلظت فلزات در خاک به‌حد بحرانی برسد. نتایج این تحقیق نشان داد که گونهٔ مورد مطالعه به‌عنوان دافع، برای حفظ بخش‌های هوایی از آسیب‌های ناشی از تجمع زیاد کادمیوم مانع از انتقال این عنصر به ساقه و برگ می‌شود [۱۲]. ابراهیمی و همکاران [۲] در بررسی اثر EDTA بر کارایی گیاه‌پالایی مس، روی و کروم توسط *P. distans* نشان دادند که فاکتور تجمع در ریشه گیاه به‌نسبت بیشتر از فاکتور تجمع در اندام هوایی بود.

نتایج تجزیهٔ واریانس فاکتور انتقال گونهٔ گیاهی نشان داد که افزایش غلظت مواد بهساز به‌کاررفته در مقایسه با شاهد تأثیری در افزایش فاکتور انتقال کادمیوم به اندام‌های هوایی گیاه نداشت. علاوه‌بر فاکتور تجمع، یکی از فاکتورهای مهم در انتخاب گونه‌های بیش‌اندوز، فاکتور انتقال است [۳۶]. مقادیر کم این فاکتور نشان‌دهندهٔ پتانسیل گیاه برای تجمع فلزات در اندام‌های زیرزمینی است و گیاه به‌عنوان دافع فلزات، برای حفظ بخش‌های هوایی از آسیب ناشی از تجمع فلزات مانع از انتقال این عناصر به ساقه و برگ می‌شود و غلظت فلز در بافت‌های فتوسنتزکننده تا حد زیادی کاهش می‌یابد [۱۶]. نوری و همکاران [۲۷] در تحقیق خود نشان دادند که گونه‌های گیاهی با TF کمتر از یک برای گیاه تثبیتی خاک آلوده به منگنز، آهن، مس و روی مفیدند. ابراهیمی و همکاران [۲] در مطالعهٔ تأثیر EDTA بر قدرت گیاه‌پالایی مس، روی و کروم گزارش کردند که با افزایش غلظت این ماده فاکتور انتقال در *P. distans* کاهش پیدا کرد که نشان‌دهندهٔ پتانسیل این گونه برای تجمع فلزات در بخش‌های زیرزمینی است.

نتایج بررسی شاخص تحمل (TI) گونهٔ گیاهی مورد مطالعه تحت تیمارهای EDTA و DTPA حاکی از کاهش شاخص تحمل گیاه در مقایسه با تیمارهای شاهد بود. همچنین مقایسهٔ وزن خشک اندام‌های گیاهی نشان داد که کاربرد EDTA و DTPA سبب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشهٔ گیاه در مقایسه با تیمارهای شاهد شد.

مقدار شاخص تحمل وقتی که عامل منفی بر رشد گیاه وجود ندارد برابر یک است. این مقدار در صورت وجود

عامل مثبت به بیشتر از یک افزایش می‌یابد، ولی درصورت وجود عامل منفی به زیر یک کاهش پیدا می‌کند [۳۷، ۳]. شن و همکاران [۳۰] اظهار داشتند که هرچند با افزایش غلظت EDTA قابلیت دسترسی فلزات در خاک و اندام‌های گیاهی به‌خصوص ریشه افزایش داشت، به‌دلیل تأثیر منفی بر خصوصیات گیاهی و شاخص تحمل گیاهان و خطر آبشویی آن به آب‌های زیرزمینی غلظت‌های زیاد این ماده پیشنهاد نمی‌شود. ابراهیمی [۱۰] در مطالعهٔ تأثیر EDTA و DTPA بر جذب سرب و روی توسط *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh نشان داد که با افزایش غلظت EDTA و DTPA فاکتور انتقال گیاه کاهش داشت. یکی از دلایل کاهش زیست‌تودهٔ گیاه این است که سلول‌های ریشه در صورت کاربرد غلظت‌های زیاد مواد بهساز از بین می‌روند [۱۷].

نتایج تأثیر روش‌های کاربرد متفاوت EDTA و DTPA بر کاهش آبشویی کادمیوم نشان داد که بیشترین مقدار کادمیوم در اندام‌های گیاهی در کاربرد EDTA به‌صورت یک بار بود و در کاربرد EDTA به‌صورت سه بار و شش بار متوالی در اندام هوایی گیاه تفاوت چندانی مشاهده نشد. نظیر این نتیجه در مورد کاربرد DTPA به‌دست آمد. تحقیقات درخصوص کاربرد مواد بهساز نشان داده است که این مواد همواره برای گیاهان سمی نیستند، اما به‌دلیل پایداری کمپلکس فلز- مادهٔ بهساز در خاک و خطر آبشویی آنها به آب‌های زیرزمینی، ممکن است به مشکلات زیست‌محیطی بینجامند. در این زمینه الکوترا و همکاران [۴] گزارش کردند که بعد از پنج ماه کاربرد EDTA، کمپلکس EDTA-فلز در خاک به‌صورت پایدار باقی ماند. بنابراین روش‌های کارامد قبل از کاربرد این مواد در مقیاس وسیع باید لحاظ شوند.

نتایج این بخش از تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و DTPA و کاهش آبشویی کمپلکس فلز-کلات به آب‌های زیرزمینی وجود دارد. نتایج نشان داد که EDTA و DTPA باید در غلظت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و به‌صورت یک بار به خاک اضافه شود. نتایج این تحقیق با نتایج گرسمن و همکاران [۱۳] مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که یک‌بار اضافه کردن (Single) ۲/۹ گرم در کیلوگرم EDTA سبب 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 به‌صورت چهار بار متوالی (Qadruplet) شد. وانگ و همکاران [۳۴] به نتایج مشابهی دست یافتند و نشان دادند که کاربرد سه بار متوالی و پنج بار متوالی (Quintuplet) از EDDS در مقایسه با یک بار اضافه کردن، موجب کاهش چشمگیر سرب در اندام هوایی گونهٔ *Sedum alfredii* شد. همچنین این محققان گزارش کردند که حداکثر سرب قابل استخراج در اندام‌های این گونه با کاربرد ۲/۵ میلی‌مول از این ماده به‌صورت یک بار به‌دست آمد.

ابراهیمی [۱۱] در بررسی کاربرد شیوه‌های EDTA (۰، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم) در کاهش آبشویی سرب و کروم به آب‌های زیر زمینی توسط گونهٔ *Echinochloa crus galii* (L.)Beave به نتایج مشابهی دست یافت و گزارش کرد که بهترین غلظت مورد استفاده مادهٔ بهساز مذکور ۲/۵ میلی‌مول در کیلوگرم و کاربرد آن به‌صورت یک بار (single) و برداشت گیاه ۶۰ روز پس از کاشت است. همچنین ابراهیمی و اصلی‌نژاد [۱] گزارش کردند که تحت کاربرد EDTA به‌صورت یک بار، مقدار سرب خاک به حداقل رسید و حداکثر سرب در اندام‌های گیاهی در کاربرد روش یک بار به‌دست آمد، درحالی که غلظت فلز در اندام‌های گیاهی بین روش دو بار و سه بار متوالی تفاوت چندانی وجود نداشت. خلاف نتیجهٔ حاضر را شن و همکاران [۳۰] در بررسی تأثیر رژیم‌ها و شیوه‌های متفاوت کاربرد EDTA برای کاهش خطر آبشویی سرب در گیاه‌پالایی گونهٔ *B. rapa* L. به‌دست آوردند. این محققان اظهار داشتند که کاربرد EDTA به‌صورت سه بار متوالی حداکثر فراهمی سرب را در اندام‌های گونهٔ مورد بررسی و حداکثر کاهش آبشویی سرب را در مقایسه با کاربرد به‌صورت یک بار و دو بار متوالی داشت.

به‌طورکلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مواد بهساز به‌کاررفته، سبب افزایش غلظت کادمیوم در اندام‌های *P. distans* شد و تیمار 5DTPA و پس از آن 5EDTA بیشترین تأثیر را در افزایش غلظت کادمیوم در اندام‌های گیاه داشتند. با توجه به بیشتر بودن فاکتور تجمع در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی و فاکتور انتقال کمتر از یک، گیاه *P. distans* به‌عنوان گیاه تثبیتی مناسب است. نتایج تحقیق نشان داد که ارتباط قوی بین روش کاربرد EDTA و DTPA و پالایش خاک آلوده وجود دارد؛ به‌طوری که EDTA و DTPA باید در غلظت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و شیوهٔ کاربرد

به‌صورت یک بار در شرایط مشابه به خاک اضافه شود. با توجه به خطر آبشویی کلات‌ها به آب‌های زیرزمینی پیشنهاد می‌شود که استفاده از غلظت‌های زیاد، با بررسی‌های لازم همراه باشد. همچنین به‌منظور کسب نتیجهٔ بهتر، با توجه به گلدانی بودن این تحقیق در شرایط گلخانه، بررسی بیشتر کارایی این گیاه در شرایط مزرعه و مقایسهٔ تأثیر دیگر مواد بهساز برای افزایش جذب فلزات سنگین ضرورت دارد.

منابع

[۱]. ابراهیمی، مهدیه، اصلی‌نژاد، نصراله، ۱۳۹۳، ارزیابی روش کاربرد EDTA در کاهش ریسک آبشویی سرب به آب‌های زیرزمینی با استفاده از *Hordeum bulbosum* L.، مجلهٔ مهندسی آبیاری و آب ایران، شمارهٔ ۱۶ (۴): ۶۰-۴۹.

[۲]. ابراهیمی، مهدیه، جعفری، محمد، ثواقبی، غلامرضا، آذرنیوند، حسین، طویلی، علی، مادرید، فرناندو، ۱۳۹۰، شناسایی و کاربرد گونه‌های مرتعی بیش‌اندوز فلزات سنگین برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین (مطالعهٔ موردی منطقهٔ لیا). رسالهٔ دکتری مرتعداری، دانشگاه تهران ۲۹۰ صفحه.

[۳].ابراهیمی، مهدیه، ۱۳۹۲، تأثیر اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک بر جوانه‌زنی و قابلیت گیاه‌پالایی *Echinochloa crus galii* (L.)Beave در خاک‌های آلوده به سرب. مجلهٔ علمی پژوهشی مرتع، شمارهٔ ۴ (۷): ۲۷۱-۲۶۲.

[4]. Alkorta, I., Hernández-Allica, J., Becerril, J.M., Amezaga, I., Albizu, I., Onaindia, M., and Garbisu, C. 2004. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Rev. Environmental Science Biotechnology. 3: 55–70.

[5].Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D. and Raskin, I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Journal of Environmental Science and Technology. 31: 860-865.

[6].Bower, C.A., and Hatcher, J.T. 1966. Simultaneous determination of surface area and cation-exchange capacity. Journal of Soil Science Society America. 30:525-527.

[7].Clemens, S., Palmgren, M.G., and Kramer, U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Journal of Trends in Plant Science. 7: 309-315.

[8].Day, P. R 1982. Methods of soil analysis, American Society of Agronomy, Madison, WI, Pp: 935-951.

[9].Du Laing, G.,Tack, F.M.G., and Verloo, M.G. 2003. Performance of selected destruction methods for the determination of heavy metals in reed plants (*Phragmites australis*). Analytica Chimica Acta. 497: 8, 191-198.

[10]. Ebrahimi, M. 2014. Effect of EDTA and DTPA on Phytoremediation of Pb-Zn Contaminated Soils by *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh and Effect on Treatment Time. Desert.19: 65-73.

[11]. Ebrahimi, M. 2014. The Effect of EDTA Addition on the Phytoremediation Efficiency of Pb and Cr by *Echinochloa crus galii* (L.) Beave and associated potential leaching risk. Soil and Sediment Contamination Journal. 23: 245-256.

[12]. Ghosh, M., and Singh, S.P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and ultilization of its byproducts. Applied Ecology and Environmental Research. 3: 1-18.

[13]. Grčman, H., Velikonja-Bolta, S., Vodnik, D., Kos, B., and Lestan, D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. Journal of Plant and Soil. 235:105-114.

[14]. Hargreaves, J.C., M.S. Adl and P.R. Warman.2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment. 123: 1–14

[15]. Holleman, A.F., and Wiberg, E. 2001. Inorganic Chemistry. San Diego, Academic Press. Berlin, New York, 1924 p.

[16]. Karpiscak, M.M., Whiteaker, L.R., Artiola, J.F., and Foster, K.E., 2001. Nutrient and heavy metal uptake and storage in constructed wetland systems in Arizona. Water Science and Technology. 44: 455-462.

[17]. Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y.M., Huang, Y.Z., and Zhu, Y.G. 2008. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. Environmental Pollution. 15: 686–692.

[18]. Kos, B., and Leštan, D. 2003. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers. Environmental Science and Technology. 37: 624–629

[19]. Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals – A review of biological mechanism. Journal of Environmental Quality, 31: 109-120.

[20]. Li, J.T., Liao, B., Dai, Z.Y., Zhu, R., Shu, W.S. 2009. Phytoextraction of Cd-contaminated soil by carambola *Averrhoa carambola*(in field trials). Chemosphere. 76: 1233-1239.

[21]. Lim, T.T., Tay, J.H. and Wang, J.Y. 2004. Chelating-agent enhanced heavy metal extraction from a contaminated acidic soil. Environmental Engineering, ASCE. 130: 59-66.

[22]. Lindsay,W.L., and Norvell, W.A. 1978. Development of DTPA soil test for Zinc, Iron, manganese and copper. Journal of Soil Science Society America.42: 421-428.

[23]. Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., and McGrath, S.P. 2001. Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. Environmental Quality. 30: 1919–1926.

[24]. Mattina, M. J., Lannucci-Berger, W., Musante, C., and White, J.C. 2003. Concurrent plant up-take of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. Environmental Pollution. 124: 375-378.

[25]. Mauskar, J.M. 2007. Cadmium An Environmental Toxicant, Central Pollution Control Board, Ministry of Environmental and Forest, Govt of India, Parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Dehli- 110032.

[26]. 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.

[27]. Nouri, J., Lorestani, B., Yousefi, N., Khorasani, N., Hasani, A.H., Seif, F., and Cheraghi., M. 2011. Phytoremediation potential of native plants grown in the vicinity of Ahangaran lead–zinc mine (Hamedan, Iran). Environmental Earth Sciences. 62: 3. 639-644.

[28]. Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., Singh, S.R., and Sajwan, K.S. 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. Environmental Pollution. 144: 11-18.

[29]. Schwartz, C., Echevarria, G., and Morel, J.L. 2003. Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens.* Journal of Plant and Soil. 249: 27-35.

[30]. Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M., and Chua, H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. Environmental Quality. 31: 1893-1900.

[31]. Shibata, M., Konno, T., Akaike, R., Xu, Y., Shen, R.F., and Ma, J.F. 2007. Phytoremediation of Pb contaminated soil with polymercoated EDTA. Plant and Soil. 290: 201-208.

[32]. Thomas, G.W. 1996. Methods of soil analysis , Soil pH and soil acidity, Soil Science Society of America. Madison, WI, Pp: 475-490.

[33]. Walkley, A., and Black, I.A. 1934. Review Examination of the Degtjareff method determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil science. 34: 29-38.

[34]. Wang, X., Wang, Y., Mahmood, Q., Slam, E., Jin, X., Li, T., Yang, X., and Dan, L. 2009. The effect of EDDS addition on the phytoextraction efficiency from Pb contaminated soil by Sedum alfredii Hance. Hazardous Materials. 168: 530–535.

[35]. Wilcox, L.V.1951. A method for calculating the saturation percentage from the weight of a known volume of saturated soil paste. Journal of Soil Science. 73: 3. 233-238.

[36]. Yoon, J., Cao, X.D., Zhou, Q.X., and Ma, L.Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. Science of Total Environment. 368: 456-464.

[37]. Zaier, H., Tahar, G., Kilani, B.R., Abdelbasset, L., Salwa, R., and Fatima, J. 2010. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. Bioresource Technology. 101: 3978-3983.

[38]. Zhanga, X., Shirong, Z., Xiaoxun, X., Ting, L., Guoshu, G., and Yongxia, J. 2010. Tolerance and accumulation characteristics of cadmium in *Amaranthus hybridus* L. Journal of Hazardous Materials 180: 303–308.

[39]. Zhao, Y., Mao, G., Hongxia, H., and Gao, L. 2015. Effects of EDTA and EDDS on heavy metal activation and accumulation of metals by soybean in alkaline soil. Soil and Sediment Contamination Journal. 24: 353–367.

[40]. Zhuang, P., Yang, Q.W., Wang, H.B., and Shu, W.S. 2007. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. Water Air and Soil Pollution. 184: 235–242.