

Effect of Citric Acid, Nitrilotriacetic acid and Anion Polyacrylamide on Phytoremediation of Nickel by Maize and Sunflower

ELHAM MOHEBBI NAJMABADI^{1*}, AMIR FOTOVAT², AKRAM HALAJNIA³

1. MSc. Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

2. Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

(Received: Apr. 8, 2018- Revised: July. 5, 2018- Nov. 13, 2018)

ABSTRACT

Soil contamination is one of the most important problems of modern societies. One of the serious pollutants in this area is nickel. Phytoremediation is one of the proposed methods that allow pollutants to be removed from the contaminated soils with pollutant accumulation in plants. In the case of heavy metal contamination, the use of soil chelating agents can increase the efficiency of this method. The aim of this study was to investigate the uptake of nickel from soil by maize (*Zea mays*) and sunflower (*Helianthus annuus*) in the presence of two levels of citric acid (5 and 10 mmol kg⁻¹ soil), two levels of nitrilotriacetic acid (NTA) (2.5 and 5 mmol kg⁻¹ soil) and two levels of anion polyacrylamide (APAM) (0.07 and 0.14 g kg⁻¹ soil). Control treatment was performed without chelate. This experiment was conducted as a completely randomized design with three replications in soils contaminated with nickel (200 mg Ni kg⁻¹ soil, added as Ni (NO₃)₂) under greenhouse conditions. The results showed that the most effective chelate in increasing the yield of maize (plant height, fresh and dry weight of shoot and root) was NTA chelate at its highest concentration. The highest increase of sunflower yield was obtained by applying CA chelate. NTA at high concentrations had the greatest effect on nickel available, nickel accumulation of shoot and total absorption in both plants compared to CA and APAM treatments. Based on the results, the use of maize and application of NTA at highest concentrations resulted a higher accumulation of nickel and increased transfer and refinement factors in the proposed plants.

Keyword: Phytoremediation, Heavy metals, Chelat, Translocation factor, Refinement factor.

اثر اسید سیتربیک، نیتریلو تری استیک اسید و پلی اکریل آمید آنیونی بر گیاه پالایی نیکل به وسیله ذرت و آفتابگردان

الهام محبی نجم آبادی^{۱*}، امیر فتوت^۲، اکرم حلاج نیا^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲. استاد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳. استادیار، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۹ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۴/۱۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۸/۲۲)

چکیده

آلودگی خاک از معضلات مهم جوامع امروزی بوده که یکی از آلاینده‌های جدی در این زمینه نیکل می‌باشد. گیاه پالایی از جمله روش‌های پیشنهادی است که با انباشت آلاینده در گیاهان، خروج آن‌ها را از خاک‌های آلوده امکان‌پذیر می‌سازد. در مورد آلاینده‌های فلزات سنگین استفاده از عوامل کلات‌کننده در خاک می‌تواند کارایی این روش را افزایش دهد. هدف این مطالعه بررسی گیاه پالایی نیکل از خاک به وسیله گیاه ذرت و آفتابگردان در حضور دو سطح اسید سیتربیک (CA) (۵ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک)، دو سطح نیتریلو تری استیک اسید (NTA) (۲/۵ و ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) و دو سطح آنیون پلی اکریل آمید (APAM) (۰/۰۷ و ۰/۱۴ گرم بر کیلوگرم خاک) و تیمار شاهد بدون اعمال کلات، می‌باشد. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در خاک آلوده شده به نیکل (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات نیکل) در شرایط گلخانه انجام گرفت. نتایج نشان داد که مؤثرترین کلات در افزایش عملکرد ذرت (ارتفاع، وزن تر، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه) تیمار NTA با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک بوده و بیشترین میزان افزایش عملکرد آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد با اعمال کلات CA به دست آمد. NTA در غلظت زیاد بیشترین تأثیر را در افزایش فراهمی نیکل، جذب نیکل در اندام هوایی و جذب کل در هردو گیاه نسبت به دو تیمار CA و APAM داشت. بنابراین استفاده از گیاه ذرت و کاربرد NTA در غلظت زیاد توانست باعث تجمع بیشتر نیکل، افزایش فاکتور انتقال و پالایش در گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: گیاه پالایی، فلزات سنگین، کلات، فاکتور انتقال، فاکتور پالایش

مقدمه

کمیسیون اقتصادی ملل متحد اروپا معادل ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک گزارش شده است (Matraszek et al., 2016). با توجه به اینکه مطالعات زیادی در مورد آلودگی فلزات سنگین در ایران انجام نشده است اما بعضی مطالعات از آلودگی زمین‌های کشاورزی جنوب تهران به نیکل خبر داده‌اند به طوری که حدود ۸۲۵/۶ هکتار از زمین‌های کشاورزی از نظر غلظت کل نیکل بالاتر از حد آلودگی و ۳۸۹۴/۶۴ هکتار در آستانه آلودگی به این عنصر، و ۴۱۷۳/۴۴ هکتار از اراضی بیشترین تجمع سرب را دارا بودند و آن‌ها علت عمده بالا بودن نیکل را به فعالیت صنعتی و ورود فاضلاب و پساب‌های صنعتی به خاک‌های منطقه مورد مطالعه نسبت دادند (Ghasemi, 2012). و در مطالعه دیگر متوسط غلظت نیکل در خاک‌های کشاورزی منطقه همدان را ۶۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک (Mohammadpour et al., 2016) گزارش کردند. نیکل به عنوان یک ریز مغذی در غلظت‌های کم

در سال‌های اخیر مناطق گسترده‌ای از جهان تحت تأثیر آلودگی فلزات سنگین قرار گرفته‌اند که توسعه صنعتی یکی از عوامل مهم این فرایند می‌باشد. (Sinigani and Hosseinpour, 2010). آلودگی فلزات سنگین در خاک تحت تأثیر عواملی چون هوازادگی سنگ مادر و ناشی از فعالیت‌های انسانی از جمله معدن، ذوب، پردازش سنگ معدن، آبیاری با فاضلاب‌های حاوی فلزات سنگین، استفاده از آفت‌کش‌ها، کودهای شیمیایی، فاضلاب‌های شهری و دود حاصل از آگروز خودروهای شهری می‌باشد (Vamerali et al., 2010; Escande et al., 2014). نیکل یک آلاینده مهم است که در اثر گازهای گلخانه‌ای، احتراق زغال سنگ و نفت، استفاده از لجن تصفیه‌خانه‌های فاضلاب و کودهای فسفاته در خاک رو به افزایش است (Alloway, 1995). حد استاندارد نیکل در خاک کشاورزی طبق سازمان حفاظت محیط زیست انسانی و استاندارد

فرآیند گیاه‌پالایی القایی می‌باشد (Huang *et al.*, 1998). علاوه بر مواد اصلاحی آلی و معدنی ذکر شده، در بین کلات‌هایی با تجزیه‌پذیری زیاد از NTA می‌توان برای استخراج فلزات سنگین در خاک‌های آلوده استفاده نمود. در مطالعات اخیر با توجه به تجزیه‌پذیری NTA به وسیله میکروارگانیسم‌های هوای کاربرد آن در استخراج فلزات سنگین پیشنهاد شده است (Nancharaiyah *et al.*, 2006). به طوری که در طی یک مطالعه NTA باعث افزایش غلظت نیکل در گیاه آفتابگردان حدود ۲/۵ برابر تیمار شاهد شد (Meers *et al.*, 2005) و بعضی مطالعات نیمه‌عمر NTA در خاک را ۷-۲ روز نشان می‌دهند (Liu *et al.*, 2008; Bucheli-Witschel and Egli, 2001). با توجه به مشکل بحران آب و خصوصیات ویژه سوپر جاذب‌ها در نگهداری آب، امروزه از پلیمرهای سوپر جاذب برای جذب فلزات سنگین استفاده می‌کنند. این پلیمرها ژل‌های آب‌دوستی هستند که پس از جذب آب و در اثر خشک شدن محیط آب داخل پلیمر به تدریج تخلیه شده و بدین ترتیب خاک به مدت طولانی مرطوب می‌ماند (Raju *et al.*, 2002). تأثیر کاربرد سطوح مختلف سوپر جاذب بر رشد و عملکرد سویا و آفتابگردان در سه نوع خاک مورد بررسی قرار گرفته که نتایج نشان داد با افزایش کاربرد ماده مصرفی عملکرد ماده خشک گیاهان نیز افزایش یافت. (Karimi, 1993). همچنین در آزمایشی دیگر سطوح مختلف مصرف سوپر جاذب بر رشد و عملکرد ذرت علوفه‌ای نشان داد که کاربرد مقادیر زیادتر این ماده نسبت به شاهد و مقادیر کم‌تر آن دارای اثرات مثبتی بر صفات اندازه‌گیری شده است. همچنین در این پژوهش تجمع ماده خشک به طور معنی‌داری در اثر افزایش کاربرد سوپر جاذب افزایش نشان داده است (Allah Dadi, 2002). یکی از سوپر جاذب‌ها با تجزیه‌پذیری زیاد آنیون پلی‌اکریل‌آمید (APAM) می‌باشد که دارای خصوصیات ویژه‌ای برای جذب و نگهداری آب در خاک (Xia, 2004) می‌باشد. برخلاف نوع کاتیونی آن که به دلیل تولید سم غیر قابل توصیه در کشاورزی (Helalia and Letey, 1988) می‌باشد، استفاده از پلی‌اکریل‌آمید آنیونی به دلیل دارا بودن بار منفی و نداشتن اثر سوء بر محیط زیست (Woodhouse and Johnson, 1991) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. بعضی از مطالعات ماندگاری این ماده را ۲ سال در خاک‌های درشت بافت تا ۳ سال در خاک‌های ریز بافت و وابسته به فعالیت باکتری‌ها بیان نموده‌اند (Woodhouse and Johnson, 1991) و در برخی مطالعات نیمه‌عمر آن در خاک ۷-۵ روز گزارش شده است (Liu *et al.*, 2008). از آنجایی که دو گیاه ذرت و آفتابگردان طبق مطالعات انجام شده (Cheng *et al.*, 2012; Ker

برای رشد گیاه و همچنین فعالیت برخی از آنزیم‌ها ضروری می‌باشد (Sheng *et al.*, 2008). به طور کلی، سطح سمیت بحرانی نیکل برای گیاهان حساس بیش از ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک، برای گیاهان با حساسیت متوسط بیش از ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک و برای گیاهان مقاوم بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Chen *et al.*, 2009). غلظت‌های کم نیکل (۰/۱۳ تا ۰/۲ میلی‌گرم نیکل به متر مکعب) باعث بروز مشکلات تنفسی، حساسیت‌های پوستی، افزایش بروز ناهنجاری، سقط جنین در انسان و حیوان شده است و غلظت‌های زیادی نیکل (۱۵ گرم) سبب مشکلات قلبی می‌شود (Goyer, 1991). با توجه به اینکه روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین و دیگر آلاینده‌ها عمدتاً پرهزینه و غیر اقتصادی می‌باشند، گیاه‌پالایی روش پالایش در محل خاک و آب بوده که اقتصادی و دوستدار محیط‌زیست و در حال گسترش می‌باشد (Baker *et al.*, 1994). محدودیت اصلی برای کاربرد روش گیاه‌پالایی انحلال‌پذیری و زیست‌فراهمی کم بعضی از فلزات سنگین در خاک است که ترکیبات کلات‌کننده می‌توانند آزادسازی فلزات سنگین که با بخش جامد و غیر قابل دسترس خاک پیوند شده‌اند را سرعت بخشند. از آنجایی که استفاده از بعضی کلات‌های مصنوعی به خاک به دلیل تجزیه‌پذیری کند و ورود آن‌ها به آب‌های زیرزمینی از طریق آبشویی باعث آلودگی محیط زیست و از بین بردن جانداران ریز خاک می‌شوند، از این رو باید دقت لازم در انتخاب غلظت کلات‌ها صورت گیرد و از کلات‌هایی با بازده بیشتر و خطرات زیست محیطی کمتر استفاده شود. (Lee *et al.*, 2002). بنابراین امروزه توجه به اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم از قبیل اسید سیتریک، اسید اگزالیک و اسید مالیک به عنوان عوامل کلات‌کننده طبیعی افزایش پیدا کرده است، زیرا این اسیدهای آلی تجزیه‌پذیری بالا و سمیت کمتری دارند و از قدرت کلات‌کنندگی بالایی برخوردار هستند، در نتیجه اثرات سوء کمتری برای محیط زیست دارند. در میان اسیدهای آلی، اسید سیتریک ضمن تشکیل کمپلکس‌های تجزیه‌پذیر با فلزات سنگین به طور قابل توجهی حلالیت و جذب فلزات را به وسیله گیاه افزایش می‌دهد (Shahid *et al.*, 2012) و همچنین می‌تواند جذب عناصر غذایی را برای گیاه بیشتر کند (Fine *et al.*, 2014) و به طور غیر مستقیم فعالیت میکروبی خاک و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ریزوسفر را بهبود بخشد (Wu *et al.*, 2003). همچنین به دلیل خاصیت تجزیه‌پذیری زیستی و تبدیل سریع آن به آب و دی‌اکسید کربن کلات مناسبی برای

and Charest, 2010) ویژگی‌های مطلوب برای گیاه‌پالایی را دارا بودند در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به اهمیت این موضوع و به منظور افزایش کارایی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، در این پژوهش اثر اسید سیتریک، NTA و APAM بر زیست‌فراهمی فلز سنگین نیکل و نیز اثر آن‌ها بر افزایش استخراج گیاهی نیکل در گیاه ذرت و آفتابگردان بررسی شد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد استفاده برای اجرای آزمایش از عمق صفر تا ۲۵ سانتی‌متری مزرعه‌ای در داخل دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. خاک مورد نظر هوا خشک، و بعد از کوبیدن، از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس آزمایش‌های اولیه خاک روی نمونه‌ای از آن انجام شد. که در آن بافت به روش هیدرومتر (Bouyoucos, 1962)، pH و EC خاک در عصاره ۱:۲ آب به خاک به وسیله دستگاه pH متر و هدایت سنجی الکتریکی، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی اسید کلریدریک (Allison and Moodie, 1965) و کربن آلی محلول به روش واکلی بلاک (Walkley and Black, 1934) و ظرفیت زراعی (Fc) به روش گلدانی اندازه‌گیری شد. برای تعیین مقدار نیکل از عصاره‌گیر تیزاب سلطانی (به نسبت ۱:۳ اسید کلریدریک به اسید نیتریک) و DTPA – TEA (Diethylene triamine pentaacetic acid-Triethanolamine) استفاده و به وسیله دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA – 670) تعیین شد. (Lindsay and Norvell, 1978; Andreu and Gimeno-Garcia, 1996). این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت طرح کاملاً تصادفی با دو سطح اسید سیتریک (۵ و ۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم)، دو سطح NTA (۲/۵ و ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم) و دو سطح APAM (۰/۷ و ۰/۱۴ گرم بر کیلوگرم) انجام گرفت که در مجموع تعداد تیمارها با احتساب شاهد (سطح صفر)؛ ۷ عدد بود که هر کدام دارای سه تکرار بودند. خاک جمع‌آوری شده روی نایلون‌های مخصوص پهن و فلز نیکل به صورت نیترات نیکل (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به خاک اسپری و کاملاً مخلوط گردید (با اندازه‌گیری عناصر کم‌مصرف و پرمصرف خاک اصلی و تعیین مقدار نیاز خاک به این عناصر قبل از ریختن خاک داخل گلدان‌ها، منگنز، آهن، روی به صورت سولفات، فسفر به صورت فسفات کلسیم، پتاسیم به صورت سولفات پتاسیم، و نیتروژن آن به صورت اوره همراه آب آبیاری طی سه نوبت به گیاهان داده شد). نمونه‌ها در کیسه‌های نایلونی ریخته و با آب مقطر، رطوبت آن‌ها به حد رطوبت ظرفیت زراعی (FC) رسانیده شد. رطوبت خاک‌ها در محیط گلخانه به مدت یک

ماه با روش توزین روزانه در حد ظرفیت زراعی نگه داشته شد تا فلز اضافه شده در خاک به تعادل برسد. پس از گذشت یک ماه خاک‌ها روی نایلون مخصوص به مدت سه روز پهن و هوا خشک گردیدند. پس از کوبیده شدن مجدداً از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و برای کاشت گیاهان مورد استفاده قرار گرفتند. در ته گلدان‌ها برای زهکشی و تهویه مناسب خاک، سنگ‌ریزه شسته شده قرار گرفت و روی سنگ‌ریزه‌ها کاغذ صافی و سپس خاک مورد نظر داخل گلدان ریخته شد. بعد از آماده‌سازی گلدان‌ها ده عدد بذر آفتابگردان (رقم آجیلی) و ذرت (سینگل کراس ۷۰۴) که به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شده بود داخل گلدان‌ها (عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متری از سطح خاک) قرار داده شد. برای کاهش تبخیر از سطح خاک، روی آن ماسه‌های اسیدشویی شده (شستشو با HCL یک درصد و ۳ مرحله آب مقطر) ریخته شد. رطوبت گلدان‌ها با آب مقطر از طریق توزین به حد رطوبت ظرفیت زراعی رسانیده و با کنترل روزانه در این مقدار رطوبت نگه داشته شد. پس از استقرار گیاهان طی ۲ مرحله تنکی که انجام گرفت در نهایت ۲ گیاه در هر گلدان حفظ شد. سپس تیمارها به صورت محلول در آب و طی دو دوره آبیاری در مدت ۲۰ روز قبل از برداشت به خاک اضافه شدند.

در پایان زمان ۶۵ روزه، اندام‌های هوایی گیاهان به وسیله تیغ مخصوص از سطح خاک بریده شد و ریشه گیاهان نیز توسط الک مخصوص و حرکات متناوب در آب جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی پس از شستشو در آب مقطر، در پاکت‌های کاغذی مخصوص قرار گرفتند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. جرم خشک اندام هوایی و ریشه به وسیله ترازوی دیجیتالی توزین، و نمونه‌ها برای انجام عمل هضم آسیاب گردیدند. هضم نمونه‌های گیاهی به روش هضم تر (Kalra, 1998) با ۰/۵ گرم از نمونه‌های اندام هوایی و مقدار ۰/۳ گرم از نمونه‌های ریشه (علت انتخاب ۰/۳ گرم، کم بودن مقدار ریشه خشک شده بود) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار نیکل موجود در اندام هوایی و ریشه از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA 670) استفاده شد. مقدار جذب کل نیکل توسط اندام‌های مختلف گیاهان از رابطه (۱) حاصل شد.

$$A = B * C \quad (\text{رابطه ۱})$$

A: مقدار کل تجمع فلزات در اندام گیاهی (میلی‌گرم)، B: غلظت فلزات در اندام گیاهی (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) و C: وزن خشک نمونه‌های گیاهی (کیلوگرم) می‌باشد. دو عامل مهم برای تعیین توان گیاه در گیاه‌پالایی، فاکتورهای انتقال و پالایش می‌باشند: فاکتور انتقال (Translocation factor) که بیان کننده توان

M Shoot غلظت فلز در بخش هوایی گیاه بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم، W shoot برابر با مقدار وزن خشک بخش هوایی گیاه بر حسب گرم، M soil معرف غلظت فلز در خاک بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم و W soil نشان دهنده وزن خاک گلدان بر حسب گرم می باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS و مقایسه میانگین داده ها با آزمون LSD انجام شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید. نتایج برخی از ویژگی های شیمیایی و فیزیکی خاک مورد مطالعه در جدول (۱) آورده شده است.

نتایج و بحث

نتایج جدول (۲) نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی در فاکتورهای مختلف مورد بررسی در گیاه ذرت و آفتابگردان در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی دار بود.

یا ظرفیت یک گیاه در انتقال دادن فلزات از ریشه به بخش هوایی می باشد و به صورت نسبت فلز در اندام هوایی به ریشه از رابطه (۲) محاسبه شد.

$$TF = M \text{ Shoot} / M \text{ Root} \quad (\text{رابطه } ۲)$$

که در این رابطه M Root و M Shoot به ترتیب غلظت فلز سنگین در اندام هوایی و ریشه گیاه می باشند.

فاکتور پالایش (Refinement factor) نیز به صورت نسبت تجمع فلز در بخش هوایی گیاه به مقدار آن فلز در خاک تعریف می شود. به طوری که RF نشان دهنده نسبت عنصر پالایش شده به وسیله زیست توده بخش هوایی گیاه از کل فلز موجود در خاک در طول فصل رشد آن گیاه می باشد (Sun *et al.*, 2009; Neugschwandtner *et al.*, 2008; Komarek *et al.*, 2007) و از رابطه (۳) محاسبه شد.

$$RF = M \text{ Shoot} * W \text{ Root} / M \text{ Soil} * W \text{ Soil} \quad (\text{رابطه } ۳)$$

جدول ۱- ویژگی های شیمیایی فیزیکی خاک مورد مطالعه

مقدار	ویژگی	مقدار	ویژگی
۲۰۹	(میکرو زیمنس بر متر) EC	۰/۰۵	نیتروژن (درصد)
۱۳	آهک (درصد)	۷	فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم)
۲۴/۴	شن	۱۵۱	پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم)
۶۰/۷	سیلت	۰/۳۵	کربن آلی (درصد)
۱۴/۹	رس	۱۵	ظرفیت مزرعه، درصد FC
۰/۶۴۶	نیکل قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)	۸/۴۲	pH
۱۱۷	نیکل کل (میلی گرم بر کیلوگرم)		

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس فاکتورهای مورد بررسی در گیاه ذرت و آفتابگردان

میانگین مربعات										
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر	ارتفاع	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	pH خاک	EC خاک	نیکل قابل جذب خاک	غلظت نیکل در اندام هوایی	غلظت نیکل در ریشه
تیمار	۶	۱۲۲/۵۵**	۳۴/۷۵**	۰/۶۷**	۰/۳۶**	۰/۰۱**	۱۸۲۹۲/۴**	۵/۸۵**	۲۲۴۰/۸۴**	۱۱۷۰۸۰/۳**
خطای کل	۱۴	۱/۷۸	۳/۴۸	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۰۰۲	۴۳۴/۸	۰/۱۹	۲/۲۰	۴۸۵
تیمار	۶	۵۵/۲۶**	۵۶/۹۸**	۱/۹۰**	۰/۲۶**	۰/۰۰۷*	۱۷۵۷۳/۴**	۱۲/۵۱**	۲۴۰۱/۰۵**	۱۱۳۰۵/۸**
خطای کل	۱۴	۵/۲۶	۷/۹۵	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۰۰۲	۹۰۳/۷	۰/۰۳	۱/۸۲	۲۸۶۷/۷

ns, * و ** به ترتیب نشانگر عدم اختلاف معنی دار و معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد

اثر تیمارهای آزمایشی بر pH و EC خاک

با توجه به جدول (۳) در گیاه ذرت کاهش pH در همه تیمارها نسبت به شاهد مشاهده شد و بیشترین مقدار pH در تیمار شاهد (۸/۳۵) و کمترین pH مربوط به تیمار APAM_{0.07} می باشد. با توجه به اینکه مؤثرترین فاکتور برای فراهمی فلزات سنگین به وسیله گیاهان با جذب زیاد pH خاک می باشد و غلظت فلزات سنگین در محلول خاک با کاهش مقدار pH خاک افزایش می یابد، بنابراین در pH کم مقدار زیادی از یون های فلزات سنگین از سطح

کلوئیدها جدا و وارد فاز محلول خاک می شوند (Nancharaiyah *et al.*, 2006). اگر چه این مقدار افزایش در pH خاک در مطالعه حاضر نمی تواند اثر زیادی بر فراهمی عناصر برای گیاه داشته باشد. اما در گیاه آفتابگردان تفاوت معنی داری در کاهش pH بین این تیمارها و شاهد دیده نشد به جز کلات NTA_{2.5} و APAM با غلظت ۰/۰۷ گرم بر کیلوگرم خاک، که باعث کاهش pH به مقدار مساوی (۸/۱۶) در غلظت های کمتر شده اند. ناگفته نماند که pH اندازه گیری شده در این پژوهش pH توده خاک جمع آوری شده

از گلدان بوده و با pH منطقه ریشه تفاوت دارد. بر خلاف pH که تیمارها باعث کاهش آن نسبت به شاهد شده بودند روندی افزایشی در EC خاک تحت تأثیر کلات‌ها نسبت به شاهد مشاهده می‌شود، به طوری که با اعمال تیمارها روی گیاه ذرت و آفتابگردان، EC خاک تحت اثر قرار گرفته و شورتین خاک در بین تیمارها به تیمار NTA₅ (۶۵۸ میکرو زیمنس بر متر) اختصاص یافت. مقایسه نتایج pH و EC نشان می‌دهد که این دو پارامتر دارای تغییرات یکنواخت (و معکوسی) به‌ویژه در ذرت با یکدیگر دارند که طبیعتاً به آزاد شدن یون‌های تبدالی از سطح کلویدها در اثر افزایش غلظت یون‌های محلول مربوط می‌شود. با توجه به اینکه هدایت الکتریکی یک فاکتور مؤثر در مقدار فلزات سنگین محلول و قابل تبادل (بخش قابل جذب توسط گیاه) می‌باشد و با افزایش شوری و آزاد شدن یون‌های تبدالی، مقدار فراهمی عناصر کادمیوم، نیکل و کبالت زیادتر می‌شود (Moral *et al.*, 2002)؛ انتظار می‌رود که این کلات‌ها نقش مؤثری را در افزایش نیکل قابل جذب خاک داشته باشند (جدول ۳).

اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای رشدی گیاهان

در بین تیمارهای اعمال شده روی گیاه ذرت، تیمار شاهد بیشترین ارتفاع گیاه (۴۶/۳۳ سانتی‌متر) را به خود اختصاص داد و بعد از شاهد، کلات NTA با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم (۴۵/۱۶ سانتی‌متر) قرار داشت و کمترین میزان ارتفاع گیاه در کلات CA با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم (۳۶/۱۷ سانتی‌متر) مشاهده شد. که اختلال در فعالیت هورمون‌هایی نظیر اکسین در حضور عناصر سنگین می‌تواند از جمله دلایل کاهش ارتفاع این گیاه (potters *et al.*, 2007) باشد. اما در آفتابگردان اکثر تیمارها باعث افزایش ارتفاع نسبت به شاهد در این گیاه شده‌اند و بیشترین ارتفاع گیاه آفتابگردان در کاربرد کلات CA₅ (۴۵/۸۳ سانتی‌متر) و اما این کلات در غلظت زیاد (۱۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) باعث کاهش ارتفاع (۳۷/۵ سانتی‌متر) نسبت به غلظت کمتر آن و شاهد شد. به طور کلی هر سه کلات در غلظت‌های کم، اثر بیشتری در افزایش ارتفاع داشتند که فراهمی کم نیکل در این غلظت از کلات‌ها می‌تواند دلیلی برای این افزایش ارتفاع باشد. و نتایج این مطالعه با مطالعه اثر NTA و CA در عملکرد گیاه خردل هندی در یک خاک آلوده به کادمیوم (Quartacci *et al.*, 2005) در دو غلظت مساوی که CA اثر بیشتری را در افزایش ارتفاع گیاه نسبت به کلات NTA داشت، مطابقت دارد (جدول ۳).

وزن تر گیاه ذرت با اعمال کلات‌ها نسبت به شاهد کاهش

پیدا کرد و شاهد دارای بیشترین وزن تر (۵۳/۷۹ گرم) در بین سایر تیمارها بود و پس از شاهد، کلات CA₁₀ با وزن تر ۴۸/۹۴ گرم قرار داشت. کمترین میزان وزن تر نیز در تیمار APAM_{0.14} (۳۴/۶۸ گرم) مشاهده شد. با توجه به مطالعات انجام شده، امروزه توجه به اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم (اسید سیتریک، اسید اگزالیک و اسید مالیک) به عنوان عوامل کلات کننده طبیعی افزایش پیدا کرده است زیرا این اسیدهای آلی تجزیه‌پذیری زیاد، سمیت کمتر و از قدرت کلات کنندگی زیادی برخوردار هستند و به طور قابل توجهی حلالیت و جذب فلزات سنگین را افزایش و باعث جذب عناصر غذایی بیشتر و افزایش زیست‌توده در گیاه می‌شوند (Fine *et al.*, 2014). وزن تر در گیاه آفتابگردان تحت تأثیر تیمارها قرار گرفته و بیشترین میزان وزن تر همانند فاکتور ارتفاع در تیمار CA با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک (۲۶/۱۶ گرم) مشاهده شد و کمترین مقدار وزن تر گیاه نسبت به سایر تیمارها در کلات NTA₅ مشاهده شد که فراهمی نیکل قابل جذب در خاک و به دنبال آن جذب توسط گیاهان توسط این کلات‌ها می‌تواند دلیلی برای کاهش وزن تر این گیاهان باشد. (جدول ۳).

همچنین وزن خشک اندام هوایی در گیاه ذرت تحت تأثیر تیمارها قرار گرفته و کلات‌های NTA₅ (۵/۶۳ گرم) و CA₅ (۵/۵۳ گرم) بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه را به خود اختصاص دادند که با تیمار شاهد (۵/۲۸ گرم) اختلاف معنی‌داری نداشتند و کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به کلات APAM_{0.14} (۴/۲۶ گرم) می‌باشد که این تیمار نتیجه عکسی را در مقایسه با مطالعات انجام شده نشان داده است که دلیل این امر را می‌توان به بافت خاک مورد مطالعه ربط داد چون تأثیر این مواد در افزایش عملکرد گیاه در خاک‌های سبک نسبت به خاک‌های سنگین بیشتر می‌باشد. در آفتابگردان همه تیمارها به جز تیمار CA باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی در این گیاه شدند به طوری که CA در غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی به مقدار ۴/۵۳ گرم شد که این افزایش حدود ۱/۳ برابر تیمار شاهد با وزن خشک به مقدار ۳/۴۷ گرم بود و غلظت کمتر باعث افزایش وزن خشک بیشتری نسبت به غلظت بیشتر این کلات شد و یا به عبارت دیگر شاید کلات CA با غلظت زیاد سبب افزایش فراهمی نیکل بیشتری نسبت به این کلات با غلظت کمتر شده و این می‌تواند دلیلی برای کاهش وزن خشک اندام هوایی در این گیاه باشد (جدول ۳).

اعمال تیمارها باعث افزایش وزن خشک ریشه گیاه ذرت نسبت به شاهد شده است و بیشترین وزن خشک در ریشه گیاه ذرت به کلات NTA₅ (۳/۶۹ گرم) اختصاص یافت که با سایر

2007) همخوانی دارد. اما در گیاه آفتابگردان بیشترین میزان وزن خشک ریشه در تیمار APAM_{0.14} به میزان ۱/۷۹ گرم بود. نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از اثر APAM و NTA در افزایش وزن خشک ریشه (Lan et al., 2013) که تیمار APAM سبب افزایش وزن خشک ریشه بیشتری نسبت به کلات NTA شده بود مطابقت دارد. به طور کلی مؤثرترین کلات در افزایش گیاه ذرت (ارتفاع، وزن تر، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه) کلات NTA با غلظت زیاد بوده و بیشترین میزان افزایش گیاه آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد با اعمال کلات CA صورت گرفت (جدول ۳).

تیمارها به جز شاهد تفاوت معنی داری نداشت و بعد از کلات NTA₅ کلات APAM_{0.14} قرار داشتند و کمترین میزان وزن خشک ریشه نیز در تیمار NTA_{2.5} (۲/۶۲ گرم) اندازه گیری شد و به طور کلی مشاهده شد که هر سه تیمار در غلظت زیاد تأثیر بیشتری در افزایش وزن خشک ریشه داشتند که این نتایج با نتایج اثر کلات های مصنوعی و کلات های با وزن مولکولی کم (اسید سیتریک) بر گیاه خردل هندی در خاک آلوده به نیکل و کروم که کلات های با وزن مولکولی کم باعث افزایش وزن خشک گیاه در مقایسه با کلات های مصنوعی شده بودند (Hsiao et al.,

جدول ۳- اثر سطوح مختلف کلات های CA و NTA (میلی مول بر کیلوگرم خاک) و APAM (گرم بر کیلوگرم خاک) بر pH و EC خاک و پارامترهای رشدی گیاهان

تیمارها	تیمارها	pH خاک	EC خاک (میکرو زیمنس بر متر)	وزن تر (gr pot ⁻¹)	ارتفاع (cm)	وزن خشک اندام هوایی (gr pot ⁻¹)	وزن خشک ریشه (gr pot ⁻¹)
شاهد	شاهد	۸/۳۵ ^a	۴۴۲/۰۰ ^e	۵۳/۷۹ ^a	۴۶/۳۳ ^a	۵/۲۸ ^{ab}	۳/۲۷ ^b
CA ₅	CA ₅	۸/۳۳ ^{ab}	۴۸۰/۳۳ ^d	۴۴/۷۵ ^c	۳۶/۱۷ ^d	۵/۵۳ ^a	۳/۳۲ ^{ab}
CA ₁₀	CA ₁₀	۸/۲۸ ^{abc}	۵۵۱/۳۳ ^c	۴۸/۹۴ ^b	۳۹/۶۷ ^c	۴/۸۸ ^{bc}	۳/۵۲ ^{ab}
ذرت	ذرت	۸/۲۴ ^{cd}	۵۹۸/۰۰ ^b	۳۸/۹۴ ^e	۴۲/۶۶ ^{bc}	۴/۹۷ ^{bc}	۲/۶۲ ^c
NTA ₅	NTA ₅	۸/۲۱ ^{cd}	۶۵۸/۰۰ ^a	۴۳/۷۵ ^c	۴۵/۱۶ ^{ab}	۵/۶۳ ^a	۳/۶۹ ^a
APAM _{0.07}	APAM _{0.07}	۸/۱۸ ^d	۵۳۸/۶۶ ^c	۴۱/۲۱ ^d	۴۲/۳۳ ^{bc}	۴/۷۷ ^c	۳/۳۸ ^{ab}
APAM _{0.14}	APAM _{0.14}	۸/۲۶ ^{bc}	۶۲۹/۳۳ ^{ab}	۳۴/۶۸ ^f	۴۱/۱۷ ^c	۴/۲۶ ^d	۳/۵۴ ^{ab}
آفتابگردان	آفتابگردان	۸/۲۲ ^{ab}	۵۷۲/۳۳ ^{cd}	۲۱/۰۷ ^b	۴۲/۶۷ ^{ab}	۳/۴۷ ^b	۱/۲۸ ^{bcd}
CA ₅	CA ₅	۸/۲۷ ^a	۵۰۸/۰۰ ^e	۲۶/۱۶ ^a	۴۵/۸۳ ^a	۴/۵۳ ^a	۱/۵۱ ^{abc}
CA ₁₀	CA ₁₀	۸/۲۲ ^{ab}	۵۳۶/۳۳ ^{de}	۱۹/۷۰ ^b	۳۷/۵۰ ^{cd}	۳/۲۷ ^{bc}	۱/۵۴ ^{ab}
NTA _{2.5}	NTA _{2.5}	۸/۱۶ ^b	۶۴۴/۰۰ ^b	۱۵/۲۸ ^{cd}	۴۰/۶۷ ^{bc}	۲/۳۲ ^{de}	۰/۹۳ ^d
NTA ₅	NTA ₅	۸/۲۴ ^a	۷۳۳/۶۷ ^a	۱۲/۶۸ ^d	۳۵/۸۳ ^{cd}	۲/۷۲ ^{cde}	۱/۱۵ ^{cd}
APAM _{0.07}	APAM _{0.07}	۸/۱۶ ^b	۵۹۸/۳۳ ^{bc}	۱۹/۴۷ ^b	۴۴/۳۳ ^{ab}	۲/۹۶ ^{bcd}	۱/۱۲ ^{cd}
APAM _{0.14}	APAM _{0.14}	۸/۲۶ ^a	۵۴۹/۶۷ ^{cde}	۱۸/۳۰ ^{bc}	۳۴/۵۰ ^d	۲/۱۹ ^e	۱/۷۹ ^a

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می باشند.

خاک در گیاه آفتابگردان نسبت به ذرت داشت. به طوری که Gonzalez et al. (2014) در طی یک مطالعه اثرات مثبت کلات های مصنوعی و طبیعی (NTA، CA و ...) در افزایش قابلیت دسترسی فلزات سنگین در خاک را، مطرح نمودند که با نتایج این مطالعه مطابقت و نتایج آن را تأیید می نماید. همچنین طی گزارشی (Shakoor et al., 2014) بیان نمودند که کلات هایی با تجزیه پذیری زیاد و اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم باعث افزایش فراهمی فلزات سنگین در خاک می شوند و از آنجایی که NTA یک کلات با تجزیه پذیری زیاد و CA جزء اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم می باشد (Shahid et al., 2012; Nancharaiah et al., 2006) می تواند نتایج این مطالعه را تأیید نماید.

به طور کلی تأثیر بیشتر کلات NTA و CA نسبت به سایر تیمارها در افزایش نیکل قابل جذب خاک در این مطالعه مشاهده

اثر تیمارهای آزمایشی بر نیکل قابل جذب خاک و غلظت نیکل در اندام هوایی و ریشه گیاهان

با کاربرد کلات های آزمایشی (جدول ۴) نیکل قابل جذب در خاک افزایش یافت به طوری که میزان نیکل قابل جذب خاک بعد از برداشت دو گیاه ذرت و آفتابگردان به ترتیب از ۲۷/۱۵ و ۳۱/۰۸ میلی گرم بر کیلوگرم شاهد به ۲۹/۷۲ و ۳۳/۹۶ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش یافت و کاربرد NTA₅ باعث بیشترین مقدار نیکل قابل جذب نسبت به شاهد در هر دو گیاه شد. در صورتی که کمترین مقدار نیکل قابل جذب در هر دو گیاه در تیمار APAM_{0.14} مشاهده شد، ولی این تیمار در غلظت کمتر باعث جذب بیشتر نیکل در ذرت نسبت به تیمار شاهد شد. بر خلاف APAM که در هر دو غلظت سبب نیکل قابل جذب کمتری نسبت به شاهد شده بود، CA نقش مؤثرتری در افزایش فراهمی نیکل

نیکل در اندام هوایی دو گیاه نسبت به سایر کلات‌ها شده که نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعه اثر APAM و NTA بر افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی گیاه علف مقدس (Lan *et al.*, 2013)، که به این نتیجه رسیدند، NTA در هر دو غلظت اثر بیشتری نسبت به APAM در افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی نسبت به ریشه داشت، مطابقت دارد. البته با توجه به اینکه کاربرد عوامل کلات کننده نه تنها غلظت فلزات محلول را در خاک بالا برده است، بلکه مسیر انتقال آن‌ها را از سیمپلاستی به آپوپلاستی تغییر داده و منجر به سهولت انتقال آن‌ها در گیاه شده است (Nowack *et al.*, 2006)، شاید بتوان گفت که کلات NTA این عمل را نسبت به بقیه کلات‌ها بهتر انجام داده و سبب انتقال نیکل بیشتری به اندام هوایی گیاه شده است.

شد و کلات‌ها توانسته‌اند فلز نیکل را از فاز جامد و غیر محلول به فاز تبدالی انتقال دهند چون وجود پیوندهای آلی- فلزی در ترکیب کلات و فلز سبب شده که نیکل، کمتر در معرض کلونیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته باشد و از تثبیت آن در خاک جلوگیری شده است. انتظار می‌رود که گیاهان بتوانند نیکل قابل جذب خاک و فراهم شده به وسیله این کلات‌ها را از طریق ریشه و اندام هوایی خود استخراج و سبب افزایش تجمع نیکل در خود شوند.

غلظت نیکل در اندام هوایی گیاه بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک می‌باشد و به طور کلی همه کلات‌ها باعث افزایش غلظت نیکل در اندام هوایی دو گیاه ذرت و آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد (جدول ۴) شدند و همان‌طور که مشاهده می‌شود کلات NTA در هر دو غلظت باعث افزایش بیشتر غلظت

جدول ۴- اثر سطوح مختلف کلات‌های CA و NTA (میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) و APAM (گرم بر کیلوگرم خاک) بر نیکل قابل جذب خاک و غلظت نیکل در

اندام هوایی و ریشه گیاهان				
تیمارها	نیکل قابل جذب در خاک (mg/kg ⁻¹)	غلظت نیکل در اندام هوایی (mg/kg ⁻¹)	غلظت نیکل در ریشه (mg/kg ⁻¹)	تیمارها
شاهد	۲۷/۱۴۸ ^c	۱۵/۶۲ ^c	۱۶۰۲/۸۳ ^a	
CA ₅	۲۸/۶۹۵ ^b	۱۵/۴۸ ^c	۱۵۱۴/۷۵ ^b	
CA ₁₀	۲۶/۹۳۴ ^c	۱۷/۵۸ ^c	۱۴۴۷/۷۵ ^c	
NTA _{2.5}	۲۹/۱۸۵ ^{ab}	۶۰/۶۵ ^b	۱۳۴۶/۶۷ ^d	ذرت
NTA ₅	۲۹/۷۱۵ ^a	۸۱/۹۵ ^a	۱۳۱۱/۱۷ ^d	
APAM _{0.07}	۲۸/۸۱۳ ^b	۱۷/۵۵ ^c	۱۰۱۲/۳۳ ^f	
APAM _{0.14}	۲۵/۹۱۱ ^d	۱۷/۵۵ ^c	۱۲۱۵/۸۳ ^e	
شاهد	۳۱/۰۸۴ ^b	۲۴/۱۶۷ ^e	۵۳۴/۰۰ ^c	آفتابگردان
CA ₅	۲۹/۵۲۳ ^c	۲۹/۷۵۰ ^{cd}	۵۶۶/۷۵ ^{bc}	
CA ₁₀	۲۹/۰۲۸ ^d	۳۰/۲۳۳ ^{cd}	۶۸۱/۲۵ ^a	
NTA _{2.5}	۲۹/۱۹۷ ^d	۸۰/۲۶۷ ^b	۶۵۶/۲۵ ^{ab}	
NTA ₅	۳۳/۹۵۶ ^a	۹۲/۱۶۷ ^a	۶۶۵/۹۲ ^a	
APAM _{0.07}	۲۸/۲۴۵ ^e	۳۱/۶۶۷ ^c	۶۹۹/۵۸ ^a	
APAM _{0.14}	۲۸/۱۶۰ ^e	۲۸/۵۱۷ ^d	۶۴۰/۹۲ ^{ab}	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

حاصل از این مطالعه را تأیید می‌نماید. شاید دلیل دیگر برای افزایش غلظت نیکل ریشه نسبت به اندام هوایی ذرت را بتوان به محدودیت انتقال این عنصر از ریشه به اندام هوایی گیاه ذکر نمود که احتمالاً به دلیل اتصال شکل‌های یونی عناصر در جایگاه‌های مبادله کاتیونی ریشه و غیر متحرک شدن آن‌ها باشد. به طوری که محققان دلایل مختلفی را از قبیل نگهداری فلزات سنگین در مکان‌های تبادل کاتیونی دیواره‌های آوندی سلول‌های پارانسیم آوند چوبی در ریشه و غیر متحرک شدن آن‌ها در واکوئل‌های سلول‌های ریشه را در این امر دخیل دانسته‌اند (Seregin and

همان‌طور که در جدول (۴) مشاهده شد اعمال کلات‌ها در هر دو گیاه باعث ایجاد رفتار متفاوتی در مقدار غلظت نیکل ریشه نسبت به اندام هوایی شدند. بیشترین غلظت نیکل در ریشه ذرت در تیمار شاهد دیده شد که نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه اثر چهار اسید آلی بر افزایش غلظت سرب و نیکل در ریشه ذرت (Metanat Jahromi, 2013) که کلات CA اثر افزایشی بر غلظت سرب هم در اندام هوایی و ریشه ذرت داشته ولی این اثر برای غلظت نیکل فقط در اندام هوایی بوده و هیچ تأثیری در غلظت نیکل در ریشه ذرت نداشته بود، مطابقت دارد و نتایج

هوایی ذرت افزایش داده است. NTA مؤثرترین کلات در افزایش غلظت نیکل اندام هوایی در هردو گیاه بود و آفتابگردان اثر بیشتری در افزایش غلظت نیکل اندام هوایی نسبت به ذرت در همه تیمارها داشت. ولی مقدار غلظت نیکل در ریشه ذرت در همه تیمارها نسبت به آفتابگردان بیشتر بود. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه بر خلاف NTA که باعث افزایش غلظت نیکل در اندام هوایی دو گیاه شده بود، CA و APAM تأثیر بهتری در افزایش غلظت نیکل در ریشه دو گیاه به ترتیب در ذرت و آفتابگردان داشتند. با توجه به اینکه سطح بحرانی سمیت نیکل بیشتر از ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه در گونه‌های بیش‌اندوز می‌باشد (Yusuf et al., 2011)، در این مطالعه مشاهده شد که این گیاهان توانسته‌اند این مقدار نیکل را در ریشه و اندام هوایی خود به اندازه گیاهان بیش‌اندوز ذخیره نمایند.

اثر تیمارهای آزمایشی بر فاکتورهای جذب، انتقال و پالایش
در این مطالعه فاکتورهای جذب، انتقال و پالایش نیز اندازه‌گیری و ثبت شدند که نتایج حاصل از تجزیه واریانس آن‌ها نشان داد اثر تیمارهای آزمایشی در فاکتورهای ذکر شده در گیاه ذرت و آفتابگردان در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

(Kozhevnikova, 2006). تجمع زیاد نیکل ناشی از وجود ذرات خاک بر روی سطح ریشه نیز می‌تواند دلیل دیگر برای غلظت زیاد نیکل ریشه گیاه ذرت باشد. بر خلاف ذرت اعمال همه کلات‌ها باعث افزایش غلظت نیکل ریشه نسبت به تیمار شاهد در آفتابگردان شدند و کلات‌ها توانسته‌اند بدون کاهش زیست‌توده گیاه (ریشه) نسبت به شاهد باعث افزایش غلظت نیکل در ریشه آفتابگردان شوند. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه اثر CA و EDTA در افزایش غلظت نیکل ریشه آفتابگردان (Lotfy et al., 2014) که CA اثر بیشتری نسبت به EDTA در یک خاک رسی آلوده به نیکل داشت مطابقت دارد. بعضی از پژوهشگران علت کاهش زیست‌توده گیاهان در خاک‌های آلوده را تجمع زیاد فلزات سنگین در اندام‌های هوایی دانستند و اظهار داشتند گیاهانی که در این شرایط کاهش رشد از خود نشان نمی‌دهند عموماً دارای تجمع کمتری در اندام خود نسبت به گیاهان حساس می‌باشند (Litvinovich and Pavlova, 1995). اما آنچه که در این مطالعه مشاهده می‌شود این است که کلات NTA در غلظت زیاد علاوه بر افزایش وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد در ذرت باعث افزایش غلظت نیکل در اندام هوایی آن گیاه شده است و یا به عبارت دیگر بدون کاهش زیست‌توده، غلظت نیکل را در اندام

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس فاکتورهای جذب، انتقال و پالایش

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	جذب در اندام هوایی	جذب در ریشه	جذب کل	فاکتور انتقال	فاکتور پالایش
گیاه	۱	۳۷/۳۲۶**	۱۴۰/۲۰۸**	۳۲۲/۲۲۰**	۲۲۳/۵۵۱۸**	۰/۰۰۰۱۴۸۶**
تیمار	۶	۱۷۶/۷۴۵**	۱/۰۲۰**	۱۷۲/۳۴۰**	۵۷/۱۳۰**	۰/۰۰۰۷۰۷۱**
گیاه × تیمار	۶	۳۱/۵۳۰**	۰/۸۱۱**	۳۱/۷۲۶**	۶/۸۵۱**	۰/۰۰۰۱۲۶۰**
خطا	۲۸	۰/۵۸۸	۰/۰۶۵	۰/۶۵۴	۰/۱۵۳	۲/۶۳۵۸

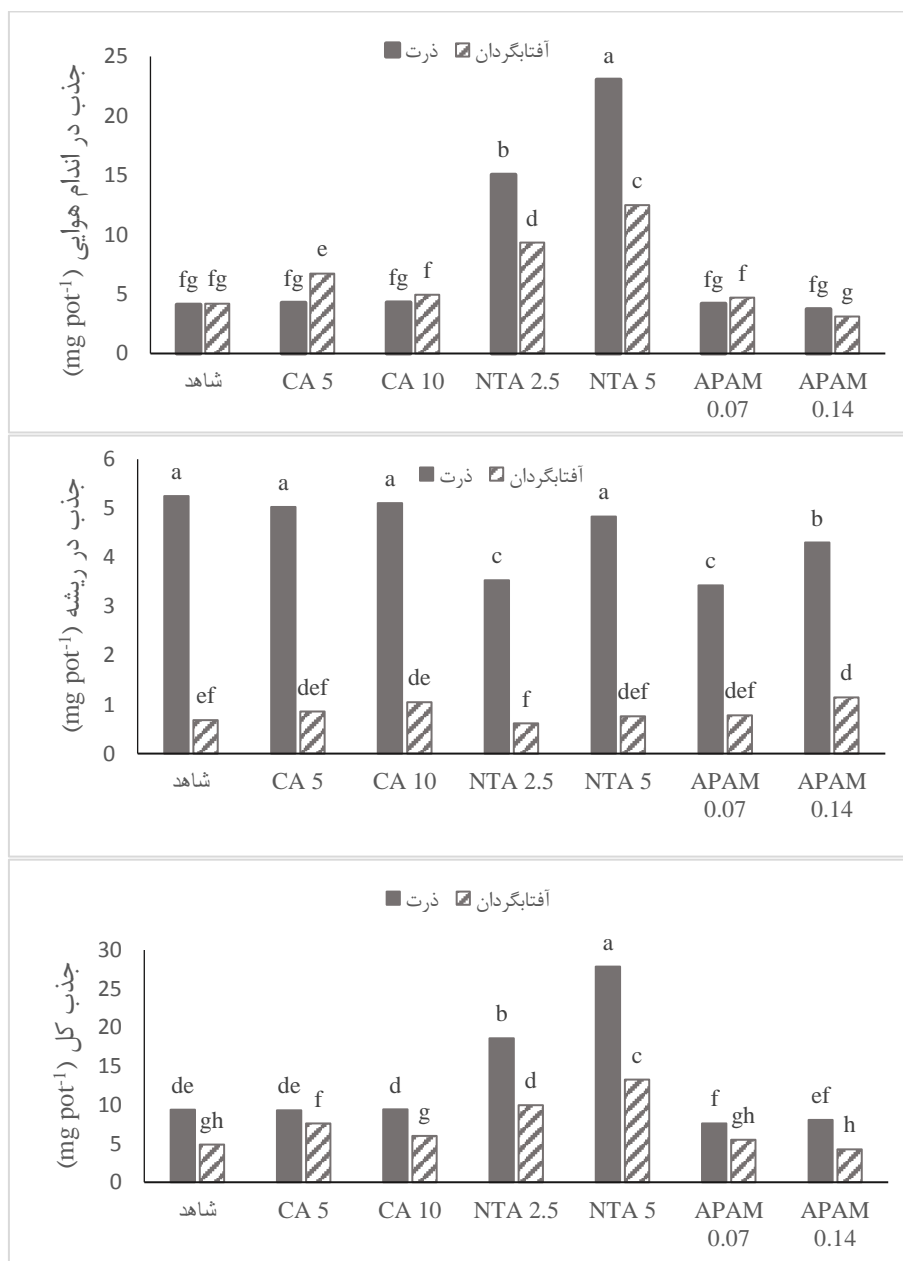
ns, * و ** به ترتیب نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

نسبت به ریشه گیاه دیگر می‌تواند باعث توزیع بیشتر ریشه در خاک آلوده و در نهایت سطوح تماس زیادتر ریشه با خاک شود، مقدار کل عنصر تجمع یافته در گیاه ذرت با تولید زیست‌توده زیادتر می‌تواند بیشتر از آفتابگردان با زیست‌توده کمتر شود (Shen et al., 2002). اگر چه غلظت نیکل در اندام هوایی گیاه ذرت نسبت به آفتابگردان کمتر بود ولی گیاه ذرت به خاطر تولید زیست‌توده بیشتر (جدول ۳)، باعث افزایش مقدار جذب اندام هوایی شد. از طرف دیگر این گیاه نیکل بیشتری را در همه تیمارها نسبت به آفتابگردان در ریشه خود ذخیره کرده بود و این عوامل باعث شده است که مقدار جذب کل (حاصل جمع جذب در

در مورد فاکتور جذب که به غلظت نیکل و وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه بستگی دارد مشاهده شد که کلات NTA در هر دو غلظت باعث افزایش جذب نیکل در اندام هوایی دو گیاه (شکل ۱) شده که تأثیر این کلات در غلظت زیاد، بیشتر بود و این کلات باعث افزایش جذب نیکل اندام هوایی در گیاه ذرت، حدود ۱/۸ برابر آفتابگردان شد. ولی تأثیر این کلات در جذب نیکل ریشه در هر دو گیاه نسبت به اندام هوایی کمتر بود و مقدار جذب ریشه گیاه ذرت در همه تیمارها رفتاری شبیه به هم داشتند و بیشترین مقدار جذب ریشه آفتابگردان در تیمار APAM در غلظت زیاد مشاهده شد. از آنجایی که تولید زیست‌توده زیادتر ریشه یک گیاه

دیگر در هر دو گیاه می‌تواند دلیلی برای بیشترین جذب کل باشد ولی اختلاف کم نیکل قابل جذب در سه تیمار هر دو گیاه (جدول ۴) نمی‌تواند منجر به اختلاف فاحش در جذب نیکل شود. شاید بتوان این نکته را بیان کرد که عصاره‌گیر DTPA-TEA عصاره‌گیر خوبی برای اندازه‌گیری نیکل قابل جذب خاک نبوده است.

اندام هوایی و ریشه) ذرت بیشتر از آفتابگردان باشد. کلات NTA در هر دو غلظت باعث بیشترین مقدار جذب کل در هر دو گیاه شد که در غلظت زیاد باعث جذب بیشتری شده و اثر این کلات در افزایش جذب کل در ذرت بیشتر از آفتابگردان بود. اگر چه افزایش نیکل قابل جذب توسط کلات NTA نسبت به تیمارهای



شکل ۱- جذب در اندام هوایی، ریشه و جذب کل عنصر نیکل پس از کاربرد سطوح مختلف کلات‌های CA و NTA (میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) و APAM (گرم بر کیلوگرم خاک) به وسیله دو گیاه ذرت و آفتابگردان

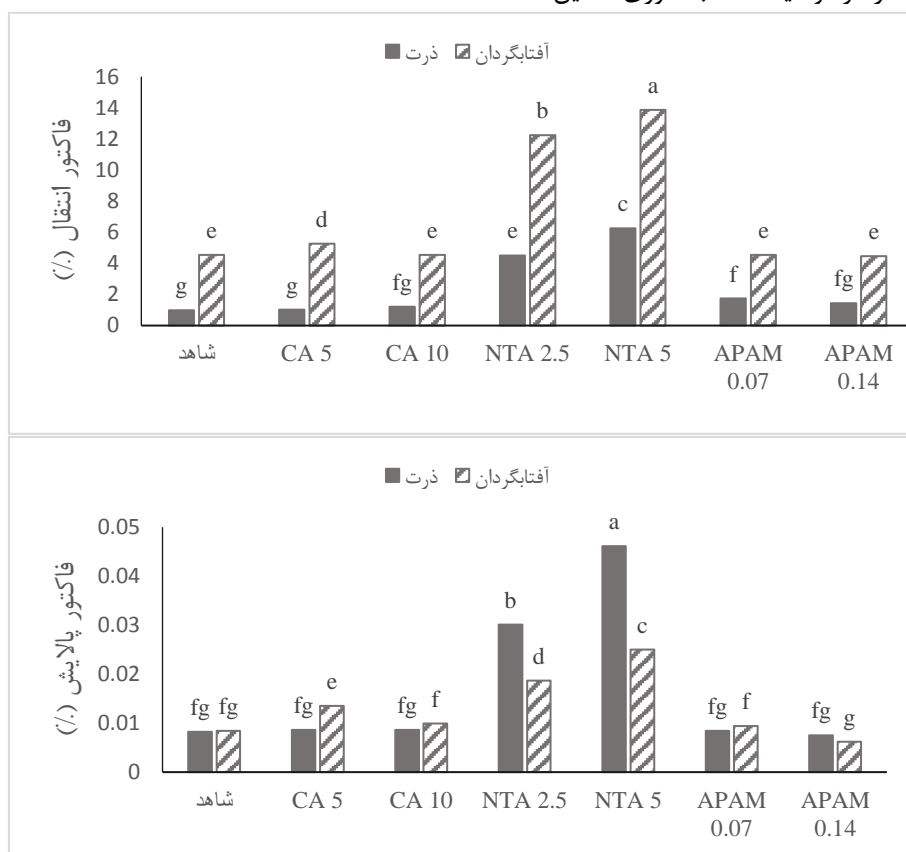
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

بیشتری از ریشه به اندام هوایی گیاهان نسبت به تیمار شاهد به جز APAM در آفتابگردان شوند. کلات NTA در هر دو غلظت باعث بیشترین مقدار انتقال نسبت به کلات‌های دیگر و تیمار شاهد در هر دو گیاه شد و این کلات در غلظت بیشتر باعث

از فاکتورهای مورد مطالعه دیگر در این مطالعه فاکتور انتقال و پالایش دو گیاه می‌باشد. شکل (۲) توان گیاهان در انتقال دادن فلز نیکل از ریشه به اندام هوایی را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود همه کلات‌ها توانسته‌اند سبب انتقال نیکل

سبب افزایشی حدود ۴/۷ و ۲/۶ برابر شاهد به ترتیب در ذرت و آفتابگردان و اثر این کلات در ذرت نسبت به آفتابگردان بیشتر بود و بین دو کلات CA و APAM و تیمار شاهد دو گیاه به جز CA₅ در آفتابگردان، در افزایش فاکتور پالایش تفاوت معنی داری مشاهده نشد. به طور کلی اعمال تیمار NTA در ذرت سبب افزایش درصد پالایش بیشتری نسبت به آفتابگردان گردید، اما این دو گیاه دارای فاکتور پالایش برابری در تیمار شاهد داشتند (شکل ۲)

افزایش انتقال بهتری در هر دو گیاه و بعد از این کلات، کلات CA در گیاه آفتابگردان و کلات APAM در گیاه ذرت نسبت به بقیه تیمارها بهتر عمل نموده بودند. به طور کلی آفتابگردان در انتقال نیکل از ریشه به اندام هوایی تحت کاربرد کلات NTA نسبت به گیاه ذرت بهتر عمل نموده است. اما در مورد فاکتور پالایش (شکل ۲) که درصد نیکل استخراج شده از خاک توسط اندام هوایی را نشان می‌دهد، مشاهده شد که کلات NTA در هر دو غلظت به ویژه در غلظت بیشتر باعث افزایش پالایش بیشتری نسبت به همه تیمارها در هر دو گیاه شده، به طوری که این کلات



شکل ۲- فاکتور انتقال و پالایش عنصر نیکل پس از کاربرد سطوح مختلف کلات‌های CA و NTA (میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) و APAM (گرم بر کیلوگرم خاک) در دو گیاه ذرت و آفتابگردان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

جذب شده به وسیله ذرت بیشتر در ریشه تجمع پیدا کرده بود و انتقال به اندام هوایی در آن محدود بود، بنابراین این گیاه بیشتر برای تثبیت نیکل در خاک‌های آلوده به این عنصر مناسب است. در حالی که آفتابگردان با توجه به زیست‌توده کمتر، نیکل بیشتری را به اندام هوایی خود انتقال داده بود، بنابراین این گیاه نسبت به ذرت برای فرآیند استخراج گیاهی در خاک‌های آلوده به نیکل مناسب‌تر است. حد استاندارد نیکل در یک خاک شبیه به خاک مورد مطالعه در این پژوهش که دارای pH برابر ۸/۴، کربن آلی حدود ۰/۳۵ درصد و دارای رس به مقدار ۱۴/۸ درصد می‌باشد،

نتیجه‌گیری

به طور کلی مؤثرترین کلات در افزایش عملکرد ذرت (وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه) کلات NTA با غلظت زیاد بود و این در حالی است که بیشترین میزان افزایش عملکرد آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد با اعمال کلات CA صورت گرفت. مؤثرترین کلات در افزایش غلظت نیکل در اندام هوایی، جذب کل، فاکتور انتقال و پالایش خاک نسبت به کلات‌های دیگر و تیمار شاهد در هر دو گیاه، کلات NTA بود. مقایسه دو گیاه نشان داد که ذرت دارای زیست‌توده‌ی بیشتری نسبت به آفتابگردان بود و نیکل

استاندارد توسط این دو گیاه ذرت و آفتابگردان در شرایط بدون کلات به ترتیب حدود ۲۱ و ۴۲ سال طول می‌کشد. با توجه به هزینه مقدار آب مصرفی و مواد به کار رفته برای کمک به افزایش کارایی پالایش در این مطالعه می‌توان گفت که پیشگیری بهتر از درمان می‌باشد و باید سعی بر جلوگیری از آلودگی شود تا اینکه هزینه زیادی را صرف آلودگی‌زدایی نماییم.

REFERENCES

- Allah Dadi, I. (2002). Investigating the Effect of Super-Adsorption Hydrogel on Drought Stress in Plants. Proceedings of the Second Specialized Training Course on Agricultural and Industrial Application of Super Absorbent Hydrogels, Iran Polymer and Petrochemical Research Institute (In Farsi).
- Allison, L. E. and Moodie, C. D. (1965). Carbonate, Black Methods of soil analyses. P 1379-1396.
- Alloway, B. J. (1995). Heavy Metals in Soils (2nd Ed.). Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK.
- Andreu, V. and Gimeno-Garcia, E. (1996). Total content and extractable fractions of cadmium, cobalt, nickel, lead and zinc in calcareous soils. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 27, 2633-2648.
- Baker, A. J. M., Reeves, R. D. and Hajar, A. S. M (1994). Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. and C. Presl (Brassicaceae). *New Phytologist*, 127(1), 61-68.
- Bouyoucos, C. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soil. *Agronomy Journal*, 54(5), 464-465.
- Bucheli-Witschel, M. and Egli, T. (2001). Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. *FEMS Microbiology Reviews*, 25(1), 69-106.
- Chen, C., Huang, D., and Liu, J. 2009. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *Clean-soil, air, water*. 37: 4-5. 304-313.
- Cheng, G. L., Ma, X. F., Sun, X. B., and Zhao, S. Q. 2012. Effects of EDTA, EDDS and Citric Acid on Growth of Maize and Uptake of Lead by Maize in Contaminated Soil. *In Advanced Materials Research*, 534: 277-280.
- Escande, V., Garoux, L., Grison, C., Thillier, Y., Debart, F., Vasseur, J. and Grison, C. (2014). Ecological catalysis and pHytoextraction: symbiosis for future. *Applied Catalysis B: Environmental*, 146, 279-288.
- Fine, p., Paresh, R., Beriozkin, A. and Hass, A. (2014). Chelant-enhanced heavy metal uptake by eucalyptus trees under controlled deficit irrigation. *Science of the Total Environment*, 493, 995-1005.
- Ghasemi, SH. (2012). Preparation of Distribution Map of Pb, Cadmium and Nickel Metals in Agricultural Lands of South of Tehran Using Ground and GIS. Master's thesis, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shahed University. (In Farsi)
- González, I., Neaman, A., Cortes, A. and Rubio, P. (2014). Effect of compost and biodegradable chelate addition on pHytoextraction of copper by *Oenothera picensis* grown in Cu-contaminated acid soils. *Chemosphere*, 95, 111-115.
- Goyer, R. A. (1991). Toxic effects of metals, in, Casarett and Doull's Toxicology, New York, P 623-680.
- Helalia, A., and J. Letey. 1988; Cationic polymer effects on infiltration rates with a rainfall simulator. *Soil Science Society of America Journal* 52: 247-250
- Hsiao, K. H., Kao, P. H. and Hseu, Z. Y. (2007). Effects of chelators on chromium and nickel uptake by *Brassica juncea* on serpentine-mine tailings for phytoextraction. *Journal of Hazardous Materials*, 148(1-2): 366-376.
- Huang, J. W., Blaylock, M. J., Kapulnik, Y. and Ensley, B. D. (1998). Phytoremediation of uranium-contaminated soils: role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environmental Science and Technology*, 32(13), 2004-2008.
- Karimi, A. (1993). Investigating the Effect of Igeta Correction on Some Physical Properties of Soil and Plant Growth. MSc thesis, University of Tehran, Iran (In Persian).
- Kalra, Y. P. 1998 Handbook of reference methods for plant analysis Boca Raton, CRC Press.
- Ker, K., and Charest, C. 2010. Nickel remediation by AM-colonized sunflower. *Mycorrhiza*, 20: 399-406.
- Komarek, M., Tlustos, P., Szakova, J., Chrastny, V. and Ettler, V. (2007). The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils. *Chemosphere*, 67(4), 640-651.
- Lan, J., Zhang, S., Lin, H., Li, T., Xu, X., Li, Y. and Gong, G. (2013). Efficiency of biodegradable EDDS, NTA and APAM on enhancing the phytoextraction of cadmium by *Siegesbeckia orientalis* L. grown in Cd-contaminated soils. *Chemosphere*, 91(9), 1362-1367.
- Lee, J. H., Hossner, L. R., Attrep, J. M. and Kung, K. S. (2002). Comparative uptake of plutonium from soils by *Brassica juncea* and *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution*, 120(2), 173-182.
- Lindsay, W. L. and Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Journal of Soil Science Society America*, 42(3), 421-428.

طبق استانداردهای کیفیت منابع خاک حفاظت محیط‌زیست انسانی حدود ۱۱۰ بیان شده است. با توجه به نتایج این مطالعه و در شرایطی شبیه به شرایط گلخانه، برای پالایش یک خاک با مقدار نیکل حدود ۳۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم، حدود ۷ سال طول می‌کشد تا NTA با غلظت ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم به وسیله ذرت و حدود ۱۵ سال توسط آفتابگردان، این مقدار نیکل را به حد استاندارد آن برساند. و این مدت زمان برای رساندن نیکل به حد

- Litvinovich, A. V. and Pavlova, O. Y. (1995). Cultivation of cotton in zone affected by industry. *Agrochimia*, 12, 105-110.
- Liu, D., Islam, E., Li, T., Yang, X., Jin, X. and Mahmood, Q. (2008). Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials*, 153(1-2), 114-122.
- Lotfy, S. M., Zhran, M. A., and Abdel-Sabour, M. (2014). Influence of Some Chelators on the Phytoextraction Ability of Sunflower (*Helianthus annuus*) for Nickel-Contaminated Soil. *Remediation Journal*, 25(1), 101-114.
- Matraszek, R., Hawrylak-Nowak, B., Chwil, S., and Chwil, M. 2016. Macronutrient composition of nickel-treated wheat under different sulfur concentrations in the nutrient solution. *Environ. Science. Pollut. Res.* 23: 6. 5902-5914.
- 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(8), 1011-1022.
- Metanat Jahromi, K. (2013). The effect of organic acids on the phytoremediation of lead and nickel by Corn, Master's thesis, University of Shiraz, Iran (In Farsi).
- Mohammadpour, G., Karbassi, A., and Baghvand, A. 2016. Pollution intensity of nickel in agricultural soil of Hamedan region. *CJES*. 14: 15-24.
- Moral, R., Robert, J. G. and Caselles, J. M. (2002). A comparison of extractants for heavy metals in contaminated soils from Spain. *Soil Science and Plant Analysis*, 33(15-18), 2781-2791.
- Nancharaiyah, Y. V., Schwarzenbeck, N., Mohan, T. V. K., Narasimhan, S. V., Wilderer, P. A. and Venugopalan, V. P. (2006) Biodegradation of nitrilotriacetic acid (NTA) and ferric-NTA complex by aerobic microbial granules. *Water Research*, 40(8), 1539-1546.
- Neugschwandtner, R. W., Tlustos Komarek, M. and Szakova, J. (2008). Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes laboratory versus field scale measures of efficiency. *Geoderma*, 144(3-4), 446-454.
- Nowack B., Schulin R., and Robinson B.H. (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, 40:5225-5232.
- Potters, G., Pasternak, TP., Guisez, Y., Plame, KJ. and Jansen, M.A.K. (2007). Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Plant Science*, 12, 98-105.
- Quartacci, M. F., Baker, A. J. M. and Navari-Izzo, F. (2005). Nitriacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Chemosphere*, 59(9), 1249-1255.
- Raju, K. M., Raju, M. P. and Mohan, Y. M. (2002). Synthesis and water absorbency of crosslinked superabsorbent polymers. *Journal Applied Polymers Science*, 85(8), 1795-1801.
- Seregin I.V., and Kozhevnikova A.D. (2006). Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53:257-2.
- Shahid, M., Pinelli, E. and Dumat, C. (2012). Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation, role of synthetic and natural organic ligands. *Journal of Hazardous Materials*, 219, 1-12.
- Shakoor, M. B., Ali, S., Hameed, A., Farid, M., Hussain, S., Yasmeen, T. and Abbasi, G. H. (2014). Citric acid improves lead (Pb) phytoextraction in *Brassica napus* L. by mitigating Pb-induced morphological and biochemical damages. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 109, 38-47.
- 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. *Journal Environmental Quality*, 31(6), 1893-1900.
- Sheng, X.F., Xia, J.J., Jiang, C.Y., He, L.Y., and Qian, M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environment. Pollution*. 156: 3. 1164-1170.
- Sinegani, A.A.S., and Hosseinpour, A. (2010). Evaluation of effect of different sterilization methods on soil biomass phosphorus extracted with NaHCO₃. *Plant Soil Environ*.
- Sun, Y. B., Zhou, Q., Jing, A., Liu, W. and Liu, R. (2009). Chelator-enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil irrigated by industrial wastewater with the hyperaccumulator plant (*sedum alfredii* Hance). *Geoderma*, 150(1-2), 106-112.
- Vamerali, T., Bandiera, M. and Mosca, G. (2010). Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land, A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(1), 1-17.
- Walkley, A. and Black, I. A. (1934). Examination of the degtjareff method determining soil organic matter and aproposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38.
- Woodhouse, J. and Johnson, M. S. 1991; Effect of superabsorbent polymers on survival and growth of cropseedings. *Agricultural Water Management*. 20:63-70.
- Wu, L. H., Luo, Y. M., Christie, P. and Wong, M. H. (2003). Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil. *Chemosphere*, 50(6), 819-822.
- Xia, H. J. (2004). Study on sand water retention improved polyacrylamide. *Water Resour and Hydropower Northeast China*, 22, 57-58.
- Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S., and Ahmad, A. 2011. Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86: 1-17.