DOI: 10.22059/ijswr.2021.313661.668846 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۲، شماره ۳، خرداد ۱۴۰۰ (ص ۸۵۶-۸۳۹)

The Effect of Two Biodegradable Chelates on Phytoremediation Potential of Vetiver (*Chyrsopogon zizanioides)* in Copper Contaminated Soils

MAHDI AHMADIAN[1*] , AHMAD GOLCHIN[1], PARISA ALAMDARI[1], GHASEM ASADIAN[2]
1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran.
2. Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Hamedan, Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Tehran, Iran.
(Received: Dec. 24, 2020- Revised: Jan. 27, 2021- Accepted: Feb. 8, 2021)

ABSTRACT

One of the remediation methods for soil contaminated with heavy metals is to use hyperaccumolator plants which is known as phytoremediation. The use of a new generation of biodegradable chelate agents is increasing the efficiency of phytoremediation and preventing environmental pollution. Vetiver is a good option for using the new generation of chelators. The aim of this study was to investigate the effect of different levels of biodegradable chelates EDDS and MGDA at four levels (0, 1, 2 and 4 mmol per kg of soil) on increasing copper extraction at three levels of copper pollution (100, 200 and 400 mg kg^{-1} of soil) which was carried out by Vetiver grass (*Chyrsopogon zizanioides* L.). The amount of copper uptake by vetiver in the presence of 4 mmol EDDS treatments at 100, 200 and 400 ppm levels of copper contamination were respectively 8281, 10125 and 10423 µg $plant^{-1}$ after 120 days, which were 51, 84 and 89 percent more than the one in control treatment (absence of chelate). The amount of copper uptake in 4 mmol MGDA treatment at the aformentioed levels were 5679, 7688 and 8831 µg plant-1, respectively, which they were increased 19, 61 and 85 percent compared to the control treatment. Application of EDDS chelate increased the level of extractable copper with DTPA. The maximum amount of extractable copper at 4 mmol EDDS and MGDA and 400 ppm-copper treatment was 27.5 and 16.7% more than the one in control treatment, respectively. The mean values of bioconcentration factor (BCF) in 4 mmol of EDDS and MGDA were 0.51 and 0.37 respectively, and the mean value of translocation factor (TF) was 0.19. The results of this study showed that vetiver has a special ability to remediate copper-contaminated soils and 4 mmol EDDS per kg of soil treatment intensifies the uptake of copper in the roots. Consequently, vetiver grass could be considered as a candidate species for phytostabilization of Cu pollution, which not only protect the soil but also reduces the risk of food chain pollution and EDDS is introduced as a suitable biodegradable chelate that enhances phytorermediation of copper by vetiver.

Keywords: Phytoremediation, MGDA & EDDS, (Chyrsopogon zizanioides); Soil contamination, Copper.

[*]Corresponding Author's Email: Mahdi.Ahmadian@znu.ac.ir

بررسی اثر دو کلات زیست تخریب‌پذیر بر کارایی گیاه‌پالائی وتیور گراس در خاک‌های آلوده به مس

مهدی احمدیان[1*]، احمد گلچین[1]، پریسا علمداری[1]، قاسم اسدیان[2]

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۴- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۸- تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱۱/۲۰)

چکیده

یکی از روش‌های پاک‌سازی خاک‌های آلوده به عناصر سنگین استفاده از فن‌آوری گیاه‌پالائی توسط کشت گیاهان مقاوم می‌باشد. استفاده از نسل جدید کلات‌های شیمیائی زیست‌تخریب‌پذیر علاوه بر افزایش کارائی گیاه‌پالائی، از آلودگی محیط-زیست نیز جلوگیری می‌کند. وتیورگراس گزینه مناسبی برای استفاده از نسل جدید کلات‌کننده‌ها می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر اتیلن دی آمین دی سوکسینیک اسید (EDDS) ومتیل گلایسین دی استیک اسید (MGDA) در چهار سطح (۰ و ۱ و۲ و ۴ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) بر افزایش میزان فراهمی مس در سه سطح آلودگی (۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به انضمام شاهد) توسط وتیور گراس (*Chyrsopogon zizanioides* L.) انجام شد. میزان برداشت مس بوته در حضور تیمار ۴ میلی‌مول EDDS در طی مدت ۱۲۰ روز در سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm آلودگی مس به ترتیب ۸۲۸۱، ۱۰۱۲۵ و ۱۰۴۲۳ µg plant-1 بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۵۱، ۸۴ و ۸۹ درصد افزایش داشت. میزان برداشت مس در تیمار ۴ میلی‌مول کلات MGDA نیز در سطوح آلودگی ذکر شده به ترتیب ۵۶۷۹، ۷۶۸۸ و ۸۸۳۱ µg plant-1 بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۱۹، ۶۱ و ۸۵ درصد افزایش داشتند. کاربرد کلات EDDS، سطح مس قابل استخراج با DTPA را افزایش داد. بیشترین مقدار مس قابل جذب در غلظت ۴ میلی‌مول کلات EDDS و MGDA و در سطح مس ۴۰۰ ppm به ترتیب ۲۷/۵ و ۱۶/۷ درصد بیشتر از شاهد (بدون کلات) بود. میانگین فاکتور تجمع زیستی در تیمار ۴ میلی‌مول کلات EDDS و MGDA به‌ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۳۷ و میانگین فاکتور انتقال ۰/۱۹ بود. جمع‌بندی نتایج حاصل از این بررسی نشان داد گیاه وتیور، توانمندی خاصی در پالایش خاک‌های آلوده به مس دارد و کلات EDDS با غلظت ۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک سبب تشدید جذب مس در ریشه وتیور می‌شود؛ در نتیجه وتیور می‌تواند به عنوان یک گونه مناسب برای تثبیت گیاهی مس در نظر گرفته شود که نه تنها باعث حفاظت خاک شده بلکه خطر آلودگی مس در زنجیره غذایی را نیز کاهش می‌دهد و کلات EDDS به عنوان یک ترکیب زیست‌تخریب‌پذیر مناسب که بازده گیاه‌پالائی وتیور در خاک‌های آلوده به مس را افزایش داده، معرفی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، گیاه‌پالائی، کلات‌های زیست تخریب‌پذیر، وتیور گراس، مس.

مقدمه

در بین روش‌های اصلاحی مورداستفاده جهت پالایش محیط‌های آلوده به عناصر سنگین، فناوری زیست پالایی[1] به دلیل هزینه نسبتاً کم و سهولت اجرا از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. در این فن‌آوری، پاک‌سازی محیط‌زیست از طریق برداشت یا تجزیه زیستی آلودگی و به کمک جانداران مختلف (نظیر باکتری، قارچ، جلبک، گیاه و...) انجام می‌شود (Khodaverdiloo & Hamzenejad Taghlidabad, 2014). در سالیان اخیر استفاده از گیاهان برای پالایش فلزات سنگین از محیط‌های آلوده، مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته که تحت عنوان گیاه‌پالایی[2] معروف است (Zoya *et al.*, 2015). پیشرفت‌های انجام‌شده در این فناوری موجب شده از آن به‌عنوان یک روش امیدبخش برای اصلاح خاک-های آلوده یاد کنند که می‌تواند فلزات سنگین را از خاک و یا انواع محیط‌های آلوده خارج کرده و آلودگی را از محیط بزداید (Roy-Chowdhury *et al.*, 2018).

یک راهکار اصولی به منظور بالا بردن کارایی گیاه‌پالایی درخاک‌های آلوده به فلزات سنگین، افزایش مقدار فراهمی عنصر مورد نظر با استفاده از کلات‌های شیمیایی است. کلات‌کننده‌های

* نویسنده مسئول: Mahdi.Ahmadian@znu.ac.ir

1 Bioremediation
2 Phytoremediation

معمول نظیر اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) به دلیل ایجاد ترکیبات پایدار با فلزات سنگین و ماندگاری بیش از حد در خاک، تهدیدکننده هستند و از طریق شستشو توسط آب آبیاری و یا آب باران، سبب انتقال فلزات سنگین به آب‌های زیرزمینی شده و این منابع را با عواقب جدی زیست‌محیطی روبرو می‌نمایند. بعلاوه استفاده از EDTA بر ویژگی‌های بیولوژیکی خاک اثر منفی دارد. نتایج پژوهش‌های داخلی انجام شده بیانگر اثر منفی EDTA بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز خاک بود (Hosseini et al., 2017).

اخیراً ایده استفاده از کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر[1] در ذهن پژوهشگران شکل گرفته است. این ترکیبات به دلیل وجود یک یا چند اتم نیتروژن در ساختار شیمیائی خود بین ۱۴ تا ۳۰ روز پس از مصرف، توسط ریزجانداران خاک تخریب و تجزیه می‌شوند (Yang et al., 2013; Zhao et al., 2016; Lozano et al., 2011). استفاده از این ترکیبات در فن‌آوری گیاه‌پالائی از یکسو منجر به اصلاح اراضی آلوده به عناصر سنگین و افزایش کارائی گیاه‌پالائی می‌شود و از سوی دیگر به دلیل تخریب و تجزیه این ترکیبات توسط ریزجانداران خاک، مانع از آلودگی سفره‌های آب زیرزمینی شده و به توسعه پایدار محیط‌زیست و حفاظت از منابع آب و خاک کمک می‌کند. استفاده تلفیقی از این کلات‌ها در گیاه‌پالائی، پیشرفت ارزشمندی در اصلاح خاک‌های آلوده به عناصر سنگین به‌حساب می‌آید. نتایج پژوهش‌های داخلی انجام شده در خصوص ارزیابی کلات‌های EDTA و NTA در افزایش غلظت سرب محلول در خاک و مقایسه اثرات آنها بر مقدار جذب سرب توسط گیاه شاهی (*Barbara verna*) نشان داد که کاربرد اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک باعث افزایش ضریب استخراج گیاهی گردید و کلات EDTA نسبت به NTA کارآئی بیشتری در انتقال سرب از ریشه به ساقه داشت. همچنین غلظت سرب محلول در خاک در حضور EDTA نسبت به NTA و تیمار شاهد بیشتر گزارش شد و گیاه شاهی در حضور اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک به‌عنوان گیاهی سرب‌اندوز در فناوری استخراج گیاهی معرفی شد (Babaeian and Homaee, 2011).

در تحقیق دیگری اثر استفاده از اسید سیتریک به عنوان عامل افزایش‌دهنده میزان استخراج گیاهی عناصر سنگین روی، سرب، نیکل و کادمیوم از بقایای صنعتی لجن روی به کمک گیاهان *Amaranthus retroflexus* و *Salicornia europaea* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله حاکی از برتری سطح غلظت ۰/۰۰۵ اسید سیتریک در مقایسه با غلظت ۰/۱ مول در لیتر در حضور *Amaranthus retroflexus* بود، فاکتور انباشت زیستی برای عناصر روی، سرب، نیکل و کادمیوم به ترتیب ۰/۶۸۳۸ ، ۰/۳۰۴۲ ، ۱/۱۰۲۷ و ۲/۳۶۲۱ محاسبه شد که بهبود قابل ملاحظه‌ای یافته و گیاه تا ۵ هفته زنده ماند. شاخص گیاه جذبی فلز برای روی، سرب، نیکل و کادمیوم نیز در شرایط مطلوب به ترتیب ۱۷/۰۹، ۷/۶، ۲۷/۵۷ و ۵۹/۰۵ درصد به‌دست آمد. تمایل *Amaranthus retroflexus* برای استخراج فلزات سنگین به ترتیب سرب، روی، نیکل و کادمیوم بود. در خصوص عکس‌العمل گیاه *Salicornia europaea* نیز سطح ۰/۱ مول در لیتر اسید سیتریک برتری داشت و فاکتور انباشت زیستی روی، سرب، نیکل و کادمیوم به ترتیب ۰/۲۳، ۰/۳، ۲/۱۱ و ۰/۳۵ بود و فاکتور انتقال به ترتیب ۱/۰۴، ۱/۱۴، ۳/۵ و ۱/۱ گزارش شدند (Khanlarian et al., 2020; Roshanfar et al., 2020).

مس از جمله مهمترین فلزات سنگین است که کاربرد گسترده‌ای در صنایع الکتریکی و آبکاری فلزات دارد (Igwe and Abia, 2006) و به‌عنوان یک عنصر ضروری کم‌مصرف برای گیاهان مطرح است و یک کوفاکتور برای فرایندهای بیولوژیکی جانداران از جمله تنفس و انتقال آهن محسوب شده و نقش مؤثری بر رشد و توسعه مناسب سلول‌های پیکره موجودات زنده دارد (Kim et al., 2008). بنابر توصیه سازمان بهداشت جهانی میزان حد مجاز و آلودگی مس درگیاهان، خاک و آب به ترتیب ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه، ۲۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم وزن خشک خاک و ۲ میلی‌گرم در لیتر عنوان شده است (WHO, 2006; استاندارد کیفیت منابع خاک ایران، ۱۳۹۱) غلظت‌های بالای مس از طریق تأثیر بر سلول‌های گیاه، موجب کاهش و توقف رشد ریشه و اندام هوایی، کلروز و نکروزه شدن برگها، ممانعت از فتوسنتز و نیز از بین رفتن بافت‌های سلولی ریشه می‌شود و در نهایت پیری و مرگ گیاه را به‌دنبال دارد (Murphy et al., 1999).

معدن‌کاوی یکی از مهمترین منابع آلودگی مس در خاک محسوب می‌شود. اثرات زیست‌محیطی یک فعالیت معدنی عمدتاً مربوط به مرحله استخراج است و این مرحله مهمترین نقش را در تخریب محیط‌زیست به خود اختصاص می‌دهد. تخریب مکانیکی طبیعت به‌ویژه در معادن روباز و خصوصاً در ایران که بهره‌برداران معادن خود را ملزم به بازسازی اراضی مورد بهره‌برداری پس از پایان عملیات معدن‌کاوی نمی‌دانند، بسیار هشدار دهنده است. وجود معادن متعدد سرب و روی در استان همدان و زنجان که عمدتاً سبب افزایش آلودگی مس در محیط‌زیست می‌شوند و وجود شرکت‌های متعدد فرآوری مواد معدنی که مواد زائد آنها حاوی بقایای مس و روی است و عمدتاً باطله‌های صنعتی خود را

1 Biodegradable chelate

در اراضی همجوار زمین‌های کشاورزی رها می‌کنند می‌بایست مورد توجه جدی قرار گیرد. لذا ضرورت استقرار پوشش گیاهی مقاوم در اراضی آلوده به مس با هدف گیاه‌پالائی این عنصر و کاهش غلظت آن تا حد مجاز در خاک و همچنین جلوگیری از بروز فرسایش و انتقال آلودگی به نقاط همجوار امری اجتناب ناپذیر است (Khamseh et al., 2016).

گونه گیاهی وتیور یک گونه غیر مهاجم است که ابتدا از سوی بانک جهانی جهت حفاظت آب و خاک معرفی شد ولی امروزه جایگاه ویژه‌ای در اصلاح و احیاء اراضی، بهسازی اراضی شور و گیاه‌پالائی درخاک‌های آلوده به فلزات سنگین دارد (Ghosh et al., 2015; Banerjee et al., 2016; Singh, et al., 2016). این گیاه چندساله و روزبلند دارای ریشه‌های افشان و فاقد ریزوم است. گزارش ارزیابی از ظرفیت تولید بیومس وتیور در هائیتی بیانگر قابلیت این گیاه در تولید ۱۲۰ تن (علوفه) در هکتار است(UNEP, 2015). نتایج حاصل از بررسی میزان کارائی گیاه-پالائی وتیورگراس در سطوح مختلف آلودگی مس، روی و سرب از نقطه نظر تاثیر بر ترکیبات روغن معطر حاصله از ریشه نشان داد در مبحث گیاه‌پالائی و تاثیر بر رشد گیاه، کاهش تدریجی زیست‌توده ریشه و ساقه برای عناصر مس و سرب به میزان ۳۸/۸ و ۷۴/۵ درصد به‌ترتیب در سطوح ۱۰۰ و ۵۰۰ ppmپدید آمد، اما کاهش شدید زیست‌توده برای عناصر مس و سرب به ترتیب در غلظت‌های بیش از ۴۰۰ و ۲۰۰۰ ppm گزارش شد. در این شرایط زیست‌توده گیاه برای مس و سرب به ترتیب بیش از ۷۰ تا ۹۰ درصد کاهش یافت. حداکثر غلظت سرب، مس و روی در برگ وتیور به ترتیب ۳۲۷، ۵۴/۵ و ۶۴۲ ppm و در ریشه ۳۳۴۱، ۷۲۱ و ۲۵۵۳ ppm بر مبنای وزن خشک گیاه اعلام گردید (Thai Danh et al., 2011).

مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر کلات EDDS بر افزایش تغلیظ گیاهی سرب و کادمیوم توسط گیاه وتیور و فستوکا در قالب آزمایشات گلخانه‌ای نشان داد کاربرد کلات EDDS سبب افزایش حلالیت سرب و کادمیوم در خاک شد. نتایج تجزیه بافت گیاهی حاکی از افزایش جذب کادمیوم درنتیجه کاربرد کلات EDDS در ریشه وتیور بود؛ این کلات انتقال سرب از ریشه به ساقه را ارتقاء داد. غلظت کادمیوم در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی وتیور نسبت به فستوکا به ترتیب ۳/۶ و ۸/۳ برابر گزارش شد. علائم سمیت به دلیل غلظت بالای سرب درنتیجه اعمال تیمار EDDS در گیاه فستوکا ملاحظه گردید هرچند در گیاه وتیور چنین چیزی مشاهده نشد. این مطالعه نشان‌دهنده پتانسیل گیاه‌پالایی مناسب گونه وتیور در کنار استفاده از کلات شیمیایی EDDS بود و به‌عنوان یک روش پالایش برای خاک‌های آلوده به سرب قابل توصیه گزارش شد (Attinti et al., 2017).

پژوهش‌های انجام شده در زمینه کاربرد کلات‌کننده‌های EDDS، EDTA و اسید سیتریک در استخراج فلزات روی، مس و سرب توسط گیاه وتیور (Vetiveria zizanioides) در دو محیط هیدروپونیک و کشت گلدانی نشان داد در سری آزمایشات گلدانی، گیاه وتیور یک انباشتگر مناسب برای استخراج فلز مس با استفاده از کلات EDDS می‌باشد، همچنین کلات‌هایEDDS ، EDTA و اسید سیتریک برای استخراج فلز روی و کلات EDTA برای استخراج فلز سرب دارای کارائی زیادی بودند. کلات‌های EDDS و EDTA به دلیل آن‌که از توانایی استخراج گیاهی مناسبی برای پالایش فلزات مس، روی و سرب در حضور وتیور برخوردار بودند، به عنوان جایگزین اصلاحی مناسب معرفی شدند (Chen et al., 2012)

از آنجا که قدرت کمپلکس‌کنندگی ترکیبات زیست‌تخریب-پذیر علاوه بر ترکیب شیمیایی ماده کلات‌کننده به نوع فلز نیز بستگی دارد و اطلاعات زیادی در مورد کارایی و غلظت توصیه‌شده ترکیبات MGDA و EDDS در تشدید استخراج مس توسط گیاه وتیور وجود ندارد، لذا این پژوهش به بررسی تأثیر کلات-کننده‌های زیست‌تخریب‌پذیر ذکر شده بر استخراج‌گیاهی وتیور گراس پرداخته و به تحلیل تغییرات پدید آمده بر فاکتورهای تجمع زیستی و شاخص انتقال مس و همچنین تغییرات صفات رویشی گیاه در مقیاس گلدانی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

آلوده سازی نمونه‌های خاک و کاشت بوته‌های وتیور

در مراحل مقدماتی انجام این پژوهش در پائیز ۹۷ یک نمونه کافی و همگن از خاک سطحی زراعی (حدود ۱۵۰۰ کیلوگرم از عمق ۰ تا ۳۰ سانتیمتری) مزرعه تحقیقاتی اکباتان، وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی همدان با مختصات جغرافیائی طول شرقی"۱۱/۱۵ '۳۲ °۴۸ و عرض شمالی"۳۶/۷۸ '۵۲ °۳۴ تهیه و پس از عبور از الک ۴ میلی‌متری (Chuck et al, 2019) ، تعداد ۹۸ نمونه کاملاً یکنواخت در واحدهای ۵ کیلوگرمی توزین و درون گلدان‌های پلی اتیلنی به قطر و ارتفاع ۲۵×۲۵ سانتیمتر ریخته شدند. برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک همچون فراوانی نسبی اندازه ذرات به روش هیدرومتر، پ.هاش در گل اشباع، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، کربن آلی به روش واکلی بلاک، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش جایگزینی کاتیون‌ها با استات سدیم، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی سازی با اسید کلریدریک اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور آگاهی از آلودگی اولیه خاک به مس، مقدار مس کل با روش هضم بوسیله اسید

نیتریک ۴ مولار تعیین شد.

مقادیر لازم از نمک نیترات مس آبدار $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ بر اساس نقشه آرایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی تهیه شد. فاکتور اول مس در سه سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بانضمام تیمار شاهد) و فاکتور دوم کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر MGDA و EDDS در سه سطح (۱ و ۲ و ۴ میلی‌مول در کیلوگرم خاک بانضمام تیمار شاهد بدون استفاده از کلات) توزین و آماده شدند. سطوح مختلف مس به کمک مه‌پاش سولار[1] به خاک هر گلدان، اسپری گردید (Lan et al, 2013). غلظت زمینه‌ای مس کل در خاک ۳۶/۵ ppm و مقدار مس قابل جذب با عصاره‌گیر DTPA-TEA معادل ۳/۱۸ ppm بود. به‌منظور ایجاد مشابهت بین شرایط آلودگی مصنوعی و شرایط طبیعی، گلدان‌ها به مدت چهار ماه در شرایط انکوباسیون در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد، چرخه‌های متناوب تر و خشک شدن را در نقطه رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) تا نقطه پژمردگی (WP) طی کردند (Vigliotta et al., 2016 ; Zhao et al., 2016). نشاءهای یکنواخت گیاه وتیور از انجمن ایرانی ترویج و توسعه وتیور (Iranian Association For Vetiver) تهیه شد که پس از انتقال به گلخانه محل آزمایش، جهت انطباق با شرایط محیطی به مدت یک‌ماه به سازگاری رسید و در اواخر بهار به گلدان‌های تیمار شده با مس منتقل شدند.

افزودن کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر و تجزیه شیمیایی نمونه‌های خاک و گیاه

کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر MGDA و EDDS به‌ترتیب ازکمپانی تی‌سی‌آی ژاپن[2] و سیگما آلدریچ[3] تهیه شد و به تفکیک با غلظت‌های (۱ و ۲ و ۴ میلی‌مول در کیلوگرم خاک بانضمام تیمار شاهد بدون استفاده از کلات) آماده‌سازی و در سه نوبت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از کاشت، از طریق اختلاط با آب دیونیزه به داخل گلدان‌ها تزریق شدند. گیاهان در این مرحله به مدت ۱۲۰ روز در گلخانه در دمای ۵±۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و تامین شرایط نور طبیعی و رطوبت مورد نیاز آنها از طریق آبیاری هم‌زمان و یکنواخت گلدان‌ها در بازه‌های رطوبتی حد ظرفیت زراعی (FC) تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (۱/۲FC) از طریق توزین و محاسبه رطوبت موجود صورت گرفت. در نهایت ۷ روز پس از نوبت سوم استفاده از کلات‌ها نمونه‌گیری از خاک انجام و در پایان ماه چهارم، بوته‌های گیاه وتیور برداشت شدند (Yang et al., 2013). قبل از برداشت اندام هوائی، میانگین ارتفاع شاخسار (SH) و قطر بوته (SD) اندازه‌گیری شد، پس از قطع اندام هوائی و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها روی صافی استیل قرار گرفتند و پس از خروج آب آزاد آنها و خشک کردن با حوله کاغذی وزن تر شاخسار (SWW) توزین گردید. نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و وزن خشک شاخسار (SDW) نیز اندازه‌گیری شد. عملیات جداسازی ریشه از خاک و ریشه‌شوئی به کمک الک‌های استیل صورت گرفت و به‌منظور حذف و جداسازی ذرات ریز خاک از ریشه، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول کالگون قرار گرفتند (Aggarwal et al., 1994) و مجدداً شسته شدند؛ برای جداسازی مس از سطح ریشه‌ها و فضاهای آپوپلاستی، از محلول ۰/۱ مولار Na_2-EDTA استفاده شد. بعد ازشستشو با آب، عملیات حجم‌سنجی ریشه‌ها صورت گرفت. شیوه کار از طریق غوطه‌ور سازی کامل ریشه‌ها در یک استوانه مدرج دولیتری که تا حجم مشخصی در آن آب ریخته شده بود و از طریق محاسبه اختلاف حجم آب قبل و بعد از قرار دادن کامل ریشه در استوانه، حجم ریشه (RV) اندازه‌گیری شد (Okeke et al., 2011) . در نهایت، ریشه‌ها دو بار با آب مقطر شسته شدند و روی صافی استیل قرار گرفتند و پس از خروج آب آزاد آنها و خشک کردن با حوله کاغذی، وزن تر ریشه (RFW) توزین شد. نمونه‌ها تا تثبیت وزن نهایی در آون ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند و وزن خشک ریشه (RDW) نیز توزین شد. همچنین از نسبت وزن تر به حجم ریشه، چگالی ریشه (RD) تعیین گردید. تعیین غلظت مس ریشه و شاخسار (RCu, SCu) به روش مینگورانس و اولیویا (Mingorance and Oliva, 2006) و تعیین غلظت مس قابل جذب به روش عصاره‌گیری(Lindsay and Norvell, 1978) با DTPA-TEA[4] صورت گرفت و سنجش میزان مس نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی مدل SOLAAR (Thermo ، S Series Elemental) انجام شد.

محاسبه شاخص‌های زیستی فلزات سنگین

به منظور ارزیابی میزان انباشت و بررسی کارائی گیاه‌پالائی وتیور در پاکسازی مس خاک، سه شاخص میزان برداشت یا میزان جذب فلزات سنگین توسط گیاه (MEA)[5]، فاکتور تجمع زیستی (BCF)[6] و فاکتور انتقال (TF)[7] استفاده شد. غلظت مس کل خاک از روش هضم سه اسید (ترکیب اسید نیتریک، اسید کلریدریک و اسید پرکلریک) تعیین شد (fang et Al., 2011). میزان برداشت

1 Solar Spray pump
2 TCI-Japan
3 Sigma Aldrich
4 Diethylene triamine Penta acetic acid & triethanolamine

5 Metal Extraction Amount (MEA)
6 Bioconcentration Factor
7 Translocation Factor

فلزات سنگین توسط گیاه (MEA) از حاصلضرب محتوای غلظت مس بافت گیاه (میلی‌گرم) در مقدار زیست‌توده گیاهی تولیدشده (کیلوگرم) به‌دست آمد (Zhang et al., 2014)، فاکتور تجمع زیستی (BCF) از نسبت غلظت مس بخش هوایی گیاه به غلظت مس کل خاک (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) حاصل شد و برای تعیین فاکتور انتقال (TF) نیز از نسبت غلظت مس موجود در بخش هوایی به غلظت مس بخش ریشه‌ای (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) استفاده شد (Yadav and Chandra, 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این پژوهش به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از اندازه‌گیری و سنجش متغیرهای مورد نظر شامل وزن خشک ریشه و ساقه (RDW, SDW)، حجم و چگالی ریشه (RV, RD)، ارتفاع و قطر ساقه (SH, SD) و مقادیر مس جذب شده در ریشه و ساقه (RCu, SCu)، بانک اطلاعاتی داده‌ها در محیط نرم‌افزاری Excel 2016 تشکیل گردید. در اولین گام برای انجام مقایسه‌های آماری، نرمال و یا عدم نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) برای بررسی اثرات یک‌جانبه و مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتورهای اصلی به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ صورت گرفت (IBM, Armonk, NY, USA) و در نهایت ترسیم نمودارها در محیط نرم افزاری Excel 2016 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج ویژگی‌های فیزیکی و شیمیائی خاک

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این پژوهش در جدول (۱) ارائه شده است. این خاک دارای بافت لومی شنی، پ‌هاش بازی ضعیف، غیر شور، مقدار کربن آلی اندک، ظرفیت تبادل کاتیونی نسبتاً بالا و مقدار مس کل کم (حد آستانه آلودگی مس در خاک ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش شده است) می‌باشد؛ همچنین غلظت عناصر غذایی اندازه‌گیری شده در حد نسبتاً مناسبی است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش

متغیر اندازه‌گیری شده	واحد	مقدار
شن	%	۶۰/۵
سیلت	%	۲۳
رس	%	۱۶/۵
اسیدیته گل اشباع	-	۷/۷۸
هدایت الکتریکی	$ds\ m^{-1}$	۱/۲
مواد خنثی شونده	%	۱۳
ظرفیت تبادل کاتیونی	$cmol\ kg^{-1}$	۱۱/۳
کربن آلی	%	۰/۶۹
ازت کل	%	۰/۰۷
فسفر قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۹/۲
پتاسیم قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۲۳۵
آهن قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۸/۳۵
روی قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۵/۶۹
مس قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۳/۱۸
منگنز قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۲۹/۶۸
کادمیوم قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۰/۰۲
سرب قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۱/۱۲
مس کل	$mg\ kg^{-1}$	۳۵/۵

تاثیر کلات‌ها بر ویژگی‌های رویشی گیاه وتیور در محیط آلوده به مس

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد کلات‌های مورد استفاده بر حجم ریشه اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشتند اما بر وزن خشک و چگالی ریشه اثر معنی‌داری ایجاد نکردند و سبب کاهش وزن خشک و افزایش چگالی ریشه شدند. اثرسطوح غلظت مس خاک بر چگالی ریشه معنی‌دار بود اما اثرات متقابل کاربرد کلات‌های EDDS و MGDA در سطوح مختلف آلودگی مس خاک بر خصوصیات رویشی مورد بررسی ریشه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). نتایج حاصل از بررسی صفات رویشی ساقه نیز نشان

داد اثر سطوح آلودگی مس خاک بر صفات ارتفاع و وزن خشک شاخسار معنی‌داری (p<۰/۰۱) بود، همچنین اثر سطوح غلظت کلات‌ها بر صفات ارتفاع بوته، وزن خشک شاخسار و قطر بوته، معنی‌داری (p<۰/۰۱) بود. در مقایسه اثرات کلات‌ها مشخص شد، کلات MGDA بر صفات مورد بررسی شاخسار اثر معنی‌داری ایجاد کرد اما کلات EDDS تنها بر ارتفاع بوته و وزن خشک شاخسار اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) داشت. در نهایت از بین اثرات متقابل کاربرد کلات‌ها، اثر MGDA در سطوح مختلف آلودگی مس بر وزن خشک شاخسار اثر معنی‌دار (p<۰/۰۱) داشت ولی بر سایر خصوصیات رویشی اثری قابل ملاحظه‌ای نداشت هر چند باعث کاهش مقدار آن‌ها شد (جدول۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل آلودگی مس و کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر در خصوصیات رشد گیاه وتیور

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		حجم ریشه (cm^3)	وزن خشک ریشه (g)	چگالی ریشه (g. cm^{-3})	ارتفاع بوته (cm)	وزن خشک شاخسار (g)	قطر بوته (mm)
مس(خاک)	۳	۱۲۵۱۷ ns	۳۳۳ ns	۰/۰۰۲ ns	۱۴۳/۶*	۳/۹۵ ns	۰/۹۹ ns
کلات‌کننده (EDDS)	۳	۲۳۰۱۲ *	۶۹۵ ns	۰/۰۰۰۴ ns	۱۷۶/۰**	۵۱۴*	۲/۰۴ ns
مس (خاک) × کلات (EDDS)	۹	۱۳۱۲ ns	۵۶ ns	۰/۰۰۲ ns	۷/۳۲ ns	۱۰/۵ ns	۰/۵۰ ns
خطا	۳۲	۱۸۲۱۹	۹۰۶	۰/۰۰۲	۸۰/۵	۳۵۵	۱/۸۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۴۴/۲۷	۵۲/۵۱	۵/۳۵	۸/۳۱	۳۰/۱۶	۱۲/۸۰
مس (خاک)	۳	۶۹۴۹ ns	۱۴۴ ns	۰/۰۰۴۱ **	۱۳۲/۸۳ *	۶۹/۶**	۳/۱۷ ns
کلات‌کننده (MGDA)	۳	۱۴۲۰۲ **	۴۲۲ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۷۵۶/۳۸**	۱۹۳/۵**	۶/۶۰**
مس (خاک) × کلات (MGDA)	۹	۱۷۵۷ ns	۱۴۰ ns	۰/۰۰۱ ns	۳۸/۱۱ ns	۱۷/۸**	۱/۱۵ ns
خطا	۳۲	۶۷۸۸	۳۴۸	۰/۰۰۱	۴۱/۹۷	۶/۴۸	۲/۶۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۷/۷۰	۳۴/۹۷	۴/۲۴	۵/۸۳	۵/۲۱	۱۶/۰۸

ns و * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری، وجود اختلاف معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد در تجزیه واریانس یک طرفه می‌باشد.

اثر ساده نوع و غلظت کلات‌ها بر صفات رویشی ریشه وتیور نشان داد در نتیجه افزایش غلظت کلات‌ها، حجم و وزن خشک ریشه کاهش یافت اما چگالی ریشه تا حدی افزایش پیدا کرد. میانگین حجم و وزن خشک ریشه در تیمار ۴ mmol/kg از کلات EDDS به ترتیب ۲۸/۸ و ۲۶/۷ درصد نسبت به شاهد (عدم استفاده از کلات) کاهش یافت. مقادیر کاهش صفات مذکور در غلظت مشابه کلات MGDA نیز به ترتیب ۲۲/۹و ۲۳/۳ درصد نسبت به شاهد بود (جدول ۳).

بررسی اثر غلظت کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر EDDS و MGDA بر رشد شاخسار نشان داد افزایش غلظت هر دو کلات منجر به کاهش شاخصه‌های ارتفاع بوته و وزن خشک شاخسار شد. در تیمار ۴mmol/kg کلاتEDDS میانگین ارتفاع بوته و وزن خشک شاخسار به ترتیب۸/۱ و ۲۱/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. مقادیر کاهش صفات مذکور در نتیجه استفاده از کلات MGDA به ترتیب ۱۵/۱ و ۱۷/۵ درصد بود (جدول ۲). در مقابل قطر بوته در نتیجه کاربرد EDDS و MGDA به ترتیب ۱۷/۵ و ۹/۵ درصد افزایش یافت (جدول ۳).

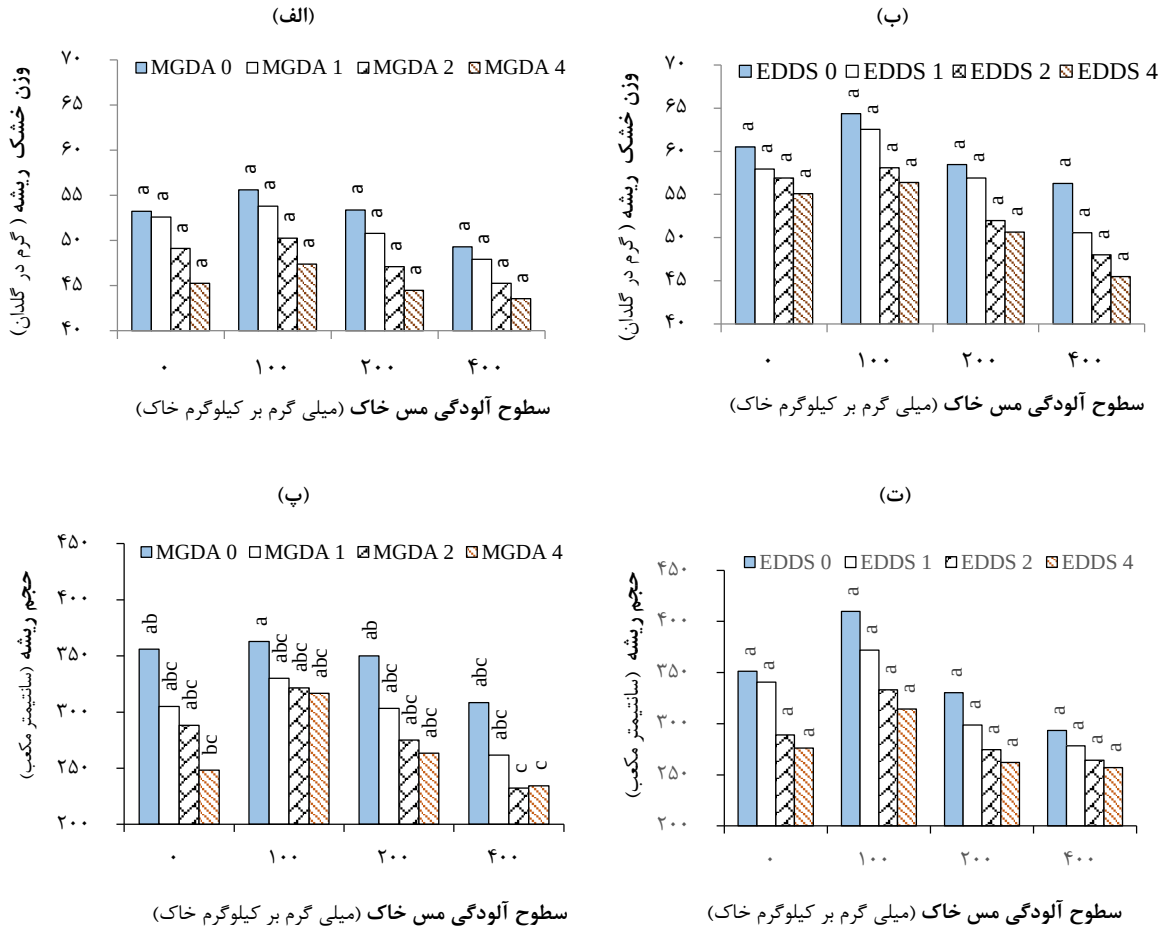
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مس خاک در حضور کلاتهای EDDS و MGDA و تغییر صفات رویشی وتیور

صفات مورد اندازه‌گیری	اثر سطوح مختلف کلات EDDS ($mmol.kg^{-1}$ Soil)				اثر سطوح مختلف کلات MGDA ($mmol.kg^{-1}$ Soil)			
	۰	۱	۲	۴	۰	۱	۲	۴
حجم ریشه(cm^3)	۳۵۴ a	۳۲۲ ab	۲۹۰ ab	۲۵۲ b	۳۴۴ a	۳۰۰ ab	۲۷۹ b	۲۶۵ b
وزن خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)	۶۴ a	۶۱ a	۵۵ a	۴۷ a	۶۰ a	۵۴ ab	۵۰ ab	۴۶ b
چگالی ریشه ($g\ cm^{-3}$)	۰/۹۰۱ a	۰/۹۰۱ a	۰/۹۱۱ a	۰/۹۱۴ a	۰/۹۳۱ b	۰/۹۳۷ b	۰/۹۳۷ b	۰/۹۴ a
ارتفاع بوته(cm)	۱۱۲ a	۱۰۸ bc	۱۰۶ bc	۱۰۳c	۱۱۹ a	۱۱۴ b	۱۰۸ c	۱۰۱ d
وزن خشک شاخسار($g.pot^{-1}$)	۶۹/۸۶ a	۶۵/۴۹ ab	۵۹/۹۲ ab	۵۴/۸۲ b	۵۲/۸۷ a	۵۱/۰ b	۴۷/۹ c	۴۳/۶ d
قطر بوته (cm)	۹/۷۵ bc	۱۰/۴۲ ab	۱۰/۷۹ ab	۱۱/۴۶ a	۹/۷۳ c	۱۰/۱۵ bc	۱۰/۴۹ ab	۱۰/۶۵ a

- حروف انگلیسی غیرمشابه روی اعداد نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بر اساس مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی می‌باشد.

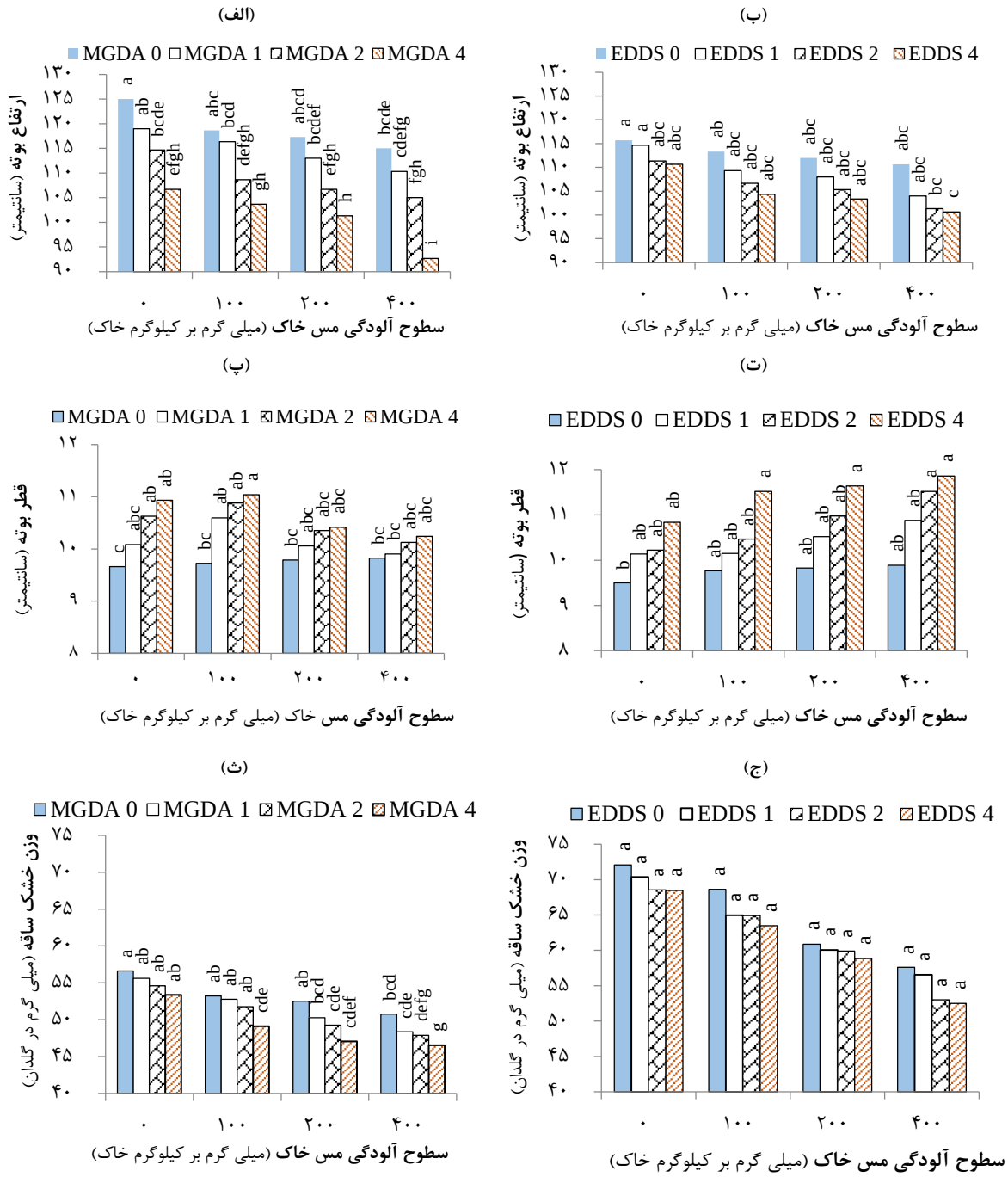
کاربرد هر دو کلات تا سطح تیمار ۱۰۰ppm مس در خاک، باعث افزایش جذب مس و ارتقاء صفات رویشی ریشه شد و سپس تا سطح تیمار ۴۰۰ ppm ، کاهش صفات رویشی ریشه پدید آمد. افزایش غلظت کلات‌های EDDS و MGDA در سطوح مختلف

آلودگی مس، سبب کاهش خصوصیات رویشی ریشه نظیر حجم و وزن خشک ریشه گردید و این امر در تمامی سطوح مس خاک با افزایش غلظت کلات‌های EDDS و MGDA پدید آمد (شکل ۱). کاهش رشد ریشه در نتیجه افزایش غلظت کلات‌ها به‌دلایل مختلفی از جمله مسمومیت با کلات و یا در نتیجه افزایش غلظت مس موجود در خاک پس از افزودن کلات حاصل می‌شود و در نهایت کاهش رشد اندام به دلایلی همچون تنش اکسیداتیو حاصله، کاهش حجم ریشه‌های موئین و بر هم خوردن تعادل جذب آب و کمبود سببی عناصر غذایی پدید می‌آید (Lee and Sung, 2014; Luo *et al.*, 2015).



شکل ۱- تأثیر غلظت کلات‌های MGDA و EDDS به تفکیک سطوح آلودگی مس بر شاخصه‌های رشد ریشه وتیور

پژوهش‌های انجام شده توسط سایر پژوهشگران نیز مؤید کاهش قابل توجه خصوصیات رویشی ریشه در نتیجه کاربرد کلات‌ها در محیط‌های آلوده به فلزات سنگین است. نتایج پژوهش‌های صورت گرفته روی گونه‌های گیاهی *Brassica olarecea*، *Vigna radiata* و *Triticum sp.* پس از افزودن تیمار ۳ میلی‌مول بر کیلوگرم کلات EDTA در خاک‌های آلوده به سرب، بیانگر کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه به دلیل مسمومیت ناشی از افزایش جذب سرب بعد از کاربرد کلات EDTA بود (Shen et al., 2002). نتایج پژوهش‌های انجام شده همچنین بیانگر کاهش وزن خشک ریشه تحت تاثیر کلات EDDS در دو گونه *Lolium perenne* و *Chrysanthemum coronarium* به‌ترتیب تا حد ۷۸/۱ و ۳۲/۱ درصد در خاک‌های آلوده به مس می‌باشد (Li *et al.*, 2013). پژوهش‌های مشابه در آزمایشات گلدانی روی گیاه وتیور نیز حاکی از آن است که وزن خشک گیاه در شرایط استفاده از کلات EDDS و در محیط آلوده به مس تا سطح ppm۱۰۰ ، ابتدا افزایش یافته و سپس کاهش نشان می‌دهد (Chen et *al.*, 2012) نتایج این سری از مطالعات، تأیید کننده تغییرات وزن خشک ریشه در مطالعه حاضر هستند.



شکل ۲- تغییر رشد شاخسار تحت تأثیر غلظت کلات‌های MGDA و EDDS به تفکیک سطوح آلودگی مس در گیاه وتیور

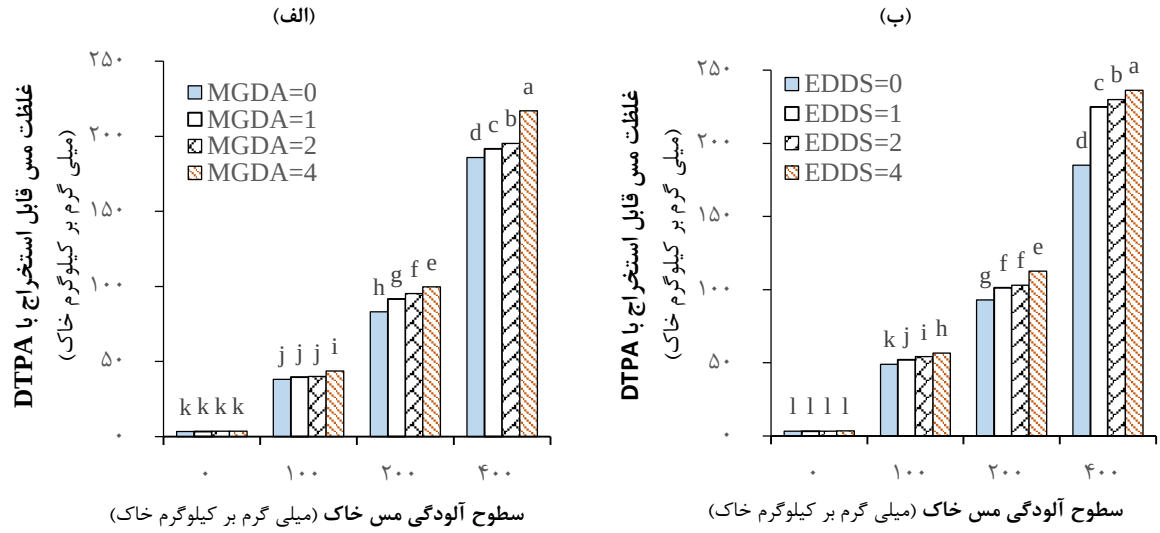
با افزایش غلظت مس خاک، کاهش ارتفاع بوته پدید آمد، همچنین اثر افزایش غلظت کلات‌ها بر ارتفاع بوته نیز کاهشی بود. (شکل ۲ الف و ب). مقایسه تاثیر غلظت کلات‌های مورد استفاده بر شاخص قطر بوته نشان داد که با افزایش غلظت کلات‌ها بر قطر طوقه گیاه وتیور افزوده شد؛ نتایج حاصله همچنین نشان داد با افزایش سطوح آلودگی مس در حضور کلات EDDS، قطر بوته افزایش یافت در حالیکه افزایش سطح آلودگی مس تا تیمار ppm۱۰۰ در حضور کلات MGDA سبب افزایش قطر بوته و در سطوح بالاتر آلودگی مس سبب کاهش قطر طوقه شد (شکل ۲ پ و ت). در نتیجه اضافه شدن غلظت کلات‌های EDDS و MGDA وزن خشک شاخسار کاهش یافت. و در نهایت بالا رفتن سطوح مس خاک و افزایش غلظت کلات‌های مورد استفاده سبب کاهش وزن خشک شاخسار شد (شکل ۲ ث و ج).

گزارش‌های ارائه شده توسط پژوهشگران مختلف حاکی از آن است که استفاده از ۵ میلی‌مول در کیلوگرم EDDS سبب بروز نکروز در گل داوودی شد و عملکرد و وزن خشک ساقه را به‌طور معنی داری کاهش داد (Li *et al.*, 2013). در آزمایش دیگری گلدان‌های گیاه توتون در خاک آلوده به مس و کادمیوم تحت

تأثیر کلات EDDS با غلظت ۱/۵ میلی‌مول در کیلوگرم خاک قرار گرفتند. ۲۰ روز پس از استفاده از کلات، نکروز شدیدی در اندام-های هوائی گیاه ظاهر شد و بوته‌ها علائم مسمومیت کلروتیک و کاهش قابل توجه در زیست‌توده را از خود بروز دادند Evangelou (*et al.*, 2007). مسمومیت ناشی از مس در اندام‌های هوائی گیاهان به‌دلایل مختلفی از جمله مسمومیت با کلات و یا سمیت ناشی از افزایش غلظت مس موجود در خاک و گیاه پس از افزودن کلات‌ها حاصل می‌شود و در نهایت کاهش رشد شاخسار به‌دلایلی همچون تنش اکسیداتیو، کاهش حجم ریشه و بر هم خوردن تعادل جذب آب و عناصر غذایی پدید می‌آید (Lee and Sung, 2014; Luo *et al.*, 2015).

تاثیر کلات‌ها بر میزان مس قابل استخراج با DTPA

بررسی نتایج حاصل از تاثیر کلات‌ها بر فراهمی مس قابل استخراج با DTPA نشان داد، با افزایش سطوح آلودگی مس و در حضورکلات‌های EDDS و MGDA غلظت مس قابل استخراج به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) افزایش پیدا می‌کند، این در حالی که در شرایط عدم استفاده از کلات‌ها، غلظت مس قابل استخراج به‌طور معنی‌داری پائین‌تر بود. دلیل اصلی این تغییرات را می‌توان به این صورت بیان نمود که در عدم حضور کلات‌ها، بخشی از مس به شکل فرم‌های غیر محلول در خاک ظاهر می‌شود، بنابراین دسترسی گیاه به‌اشکال محلول کاهش پیدا می‌کند. در مقایسه کلات‌ها با یکدیگر مشخص شد کاربرد EDDS به طور قابل توجهی، سطح مس قابل استخراج با DTPA را افزایش داد. بیشترین مقدار مس قابل استخراج در خاک ۲۳۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که در غلظت ۴ میلی‌مول EDDS و در بالاترین سطح آلاینده مس خاک (۴۰۰ ppm) به‌دست آمد (شکل ۳ ب). مقایسه این مقدار با تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) نشان داد در این شرایط مقدار مس قابل استخراج ۱۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که حدود ۲۷/۵ درصد بیشتر است. مقدار مس قابل استخراج با DTPA در شرایط مشابه و در حضور کلات MGDA معادل ۲۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود که نسبت به شاهد (عدم استفاده از کلات) با مقدار مس قابل استخراج ۱۸۶ میلی‌گرم در کیلوگرم، حدود ۱۶/۷ درصد بیشتر محاسبه شد (شکل ۳ الف). مقایسه اعداد مس قابل استخراج تحت تاثیر کلات‌ها حاکی از آن است که در دیگر سطوح آلودگی مس خاک (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) اثر غلظت کلات‌ها بر فراهمی مس قابل استخراج با DTPA افزاینده است.



شکل ۳- میزان مس قابل استخراج با DTPA تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس خاک

نتایج مطالعات صورت گرفته نشان داد اصلاح خاک‌های آلوده از طریق کلات‌کننده‌ها یک روش مؤثر برای افزایش میزان فراهمی و قابلیت جذب فلزات سنگین در خاک است (Gonzalez et al., 2011; Ullmann et al., 2013; Wu et al., 2015). پس از استفاده از ترکیبات کلات‌کننده در خاک، پیدایش لیگاندهای با بار منفی موجب اتصال بیشتر یون‌های فلزی آزاد با ترکیبات مذکور شده و از جذب آنها در مکان‌های تبادل کاتیونی بر روی ذرات خاک جلوگیری می‌کند. از این رو، میزان دسترسی فلزات در خاک به شدت افزایش می‌یابد (Nowack et al., 2006; Duquene et al., 2009).

نتایج برخی از پژوهش‌های انجام شده حاکی از برتری کلات EDDS نسبت به NTA است به طوری‌که در خاک‌های آلوده به سرب زیر کشت *Athyrium wardii* غلظت سرب موجود در تیمارهای EDDS به طور قابل توجهی بالاتر از NTA به‌ویژه

درغلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مول در کیلوگرم خاک بود. تحلیل تغییرات اسیدیته خاک نشان داد pH خاک پس از اعمال تیمار با کلات‌کننده‌های EDDS و NTA کاهش یافت و با افزایش غلظت-های NTA و EDDS، کاهش pH در خاک بیشتر قابل ملاحظه بود. مقایسه مقادیر pH خاک پس از تیمار با NTA و EDDS حاکی از اسیدی بودن بیشتر محیط نسبت به شرایط قبل از افزودن کلات‌ها بود (Zhao et al., 2016).

تاثیر کلات‌ها بر جذب و انتقال مس درگیاه وتیور

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل آلودگی مس و غلظت کلات‌ها بر شاخص‌های زیستی و غلظت مس وتیور

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		غلظت مس ریشه(mg/kg)	غلظت مس ساقه(mg/kg)	نسبت‌وزن‌خشک ساقه به ریشه	شاخص تجمع زیستی (BCF)	شاخص انتقال (TF)
مس(خاک)	۳	۱۴۳/۶*	۱۸/۲۰**	۰/۰۲۷ ns	۰/۷۱۸**	۰/۰۰۲۳ **
کلات‌کننده (EDDS)	۳	۱۷۶/۱**	۴۰/۱۸**	۰/۲۳۹*	۱/۱۹۵**	۰/۰۳۲۵ **
مس (خاک) × کلات (EDDS)	۹	۷/۳۲ ns	۱/۰۹ ns	۰/۰۴۴ ns	۰/۱۴۴**	۰/۱۲۱۴ **
خطا	۳۲	۸۰/۵	۳/۸۹	۰/۲۷	۱/۸۱	۲/۵۷۰
ضریب تغییرات (٪)	-	۸/۳۱	۱۹/۶۵	۴۲/۵۴	۱۲/۸۰	۲۳/۸۴
مس(خاک)	۳	۱۳۲/۸۳ *	۲۵/۷۷ **	۰/۱۲۳ *	۰/۶۶۴۲ **	۰/۰۰۴۱ **
کلات‌کننده (MGDA)	۳	۷۵۶/۳۸**	۳۸/۵۳ **	۰/۰۳۵ ns	۳/۷۸۲ **	۰/۲۵۳۸ **
مس (خاک) × کلات (MGDA)	۹	۳۸/۱۱ ns	۰/۷۳ ns	۰/۰۴۱ ns	۰/۱۹۱**	۰/۲۰۹۶ **
خطا	۳۲	۴۱/۹۷	۰/۸۸	۰/۰۸	۰/۲۱	۱/۳۱۵
ضریب تغییرات (٪)	-	۵/۸۳	۹/۲۷	۲۹/۷۹	۳۰/۵۸	۱۶/۷۸

ns و * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری، وجود اختلاف معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد در تجزیه واریانس یک طرفه می‌باشد.

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد درنتیجه استفاده از هر دو کلات EDDS و MGDA مقادیر مس جذب شده در ریشه به طور قابل توجهی افزایش یافت. همچنین افزایش غلظت کلات‌ها سبب افزایش جذب مس توسط ریشه شد به-طوری‌که با افزایش غلظت کلات‌ها تا ۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، میانگین افزایش مقدار مس جذب شده بازاء دو کلات EDDS و MGDA به ترتیب ۱۲۴ و ۸۱ درصد بیشتر از تیمار عدم استفاده از کلات‌ها می‌باشد. در این شرایط میزان مس استخراج یافته از خاک در حضور کلات EDDS بیش از MGDA بود که حاکی از برتری این کلات در فرآیند تثبیت مس توسط ریشه وتیور است.

بالاترین میزان جذب مس توسط ریشه ۲۲۹/۱ ppm بود که در سطح آلودگی ۴۰۰ ppm و در تیمار ۴ $mmol\ kg^{-1}$ از کلات EDDS حاصل شد. استفاده از این تیمار در محیط آلوده به مس با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm سبب جذب و تمرکز به ترتیب ۳/۳۸، ۷/۰۶ و ۱۲/۵۹ برابر و در کلات MGDA به ترتیب ۱/۸۷، ۳/۹۸ و ۹/۵۲ برابر مس بیشتر، در مقایسه با تیمار شاهد (بدون آلودگی مس) در گیاه وتیور گردید که بیانگر توانائی بالقوه این گیاه در جذب مس در ریشه است. (شکل ۴ ب).

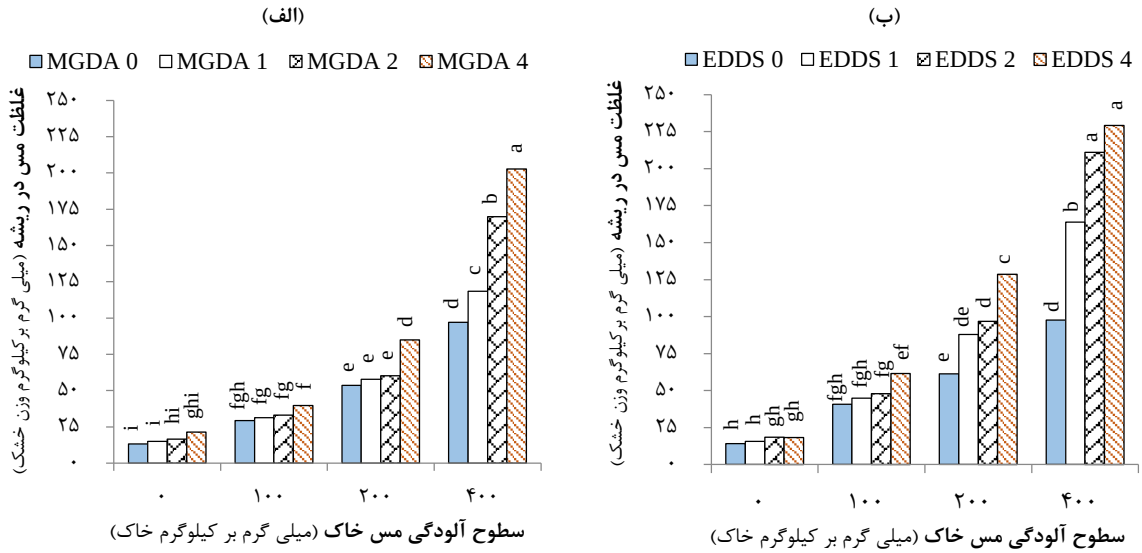
تحقیقات انجام شده نشان داد عملیات بهسازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین در نتیجه استفاده از کلات‌ها نه تنها باعث افزایش فراهمی این عناصر می‌شود بلکه روند جذب آنها را از خاک به ریشه بسته به نوع فلز، گیاه و میزان غلظت کلات، بهبود می-بخشد (Nowack *et al.* 2006). هر چند در نتیجه افزایش غلظت کلات‌ها و افزایش قابلیت فراهمی مس خاک، میزان تجمع این عنصر به حد سمی برای سلول‌های ریشه می‌رسد که منجر به کاهش تعداد ریشه‌های ثانویه و ایجاد محدودیت توسعه ریشه‌های موئین می‌شود. همچنین در این شرایط جذب بیشتر مس و تنش اکسیداتیو حاصله منجر به مسمومیت سلول‌های ریشه و بر هم خوردن تعادل جذب عناصر غذایی و در نهایت محدودیت رشد و توسعه ریشه می‌شود (Chen *et al.*, 2012).

نتایج مطالعات سایر پژوهشگران در خصوص غلظت مس تجمع یافته در ریشه وتیور در غیاب کلات‌های شیمیائی و در خاک‌های آلوده به مس در سطوح ۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۶۰۰ ppm نشان داد مقدار مس ریشه به ترتیب ۴۹/۵، ۱۴۴، ۳۱۰/۴ و

غلظت مس ریشه

میزان مس تجمع یافته در ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف آلودگی مس خاک قرار داشت ($p<0/05$) و با افزایش غلظت مس تا سطح ۴۰۰ ppm بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. میزان مس تجمع یافته در ریشه تحت تاثیر نوع و غلظت کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر EDDS و MGDA در ریشه وتیور معنی‌دار بود ($p<0/01$) اما اثرات ترکیبی این عوامل بر جذب مس در ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۴).

ppm ۷۵۴/۲ بوده است. مقایسه نتایج به دست آمده از این مطالعات حاکی از آن است که مقدار مس در ریشه وتیور، تابع مقدار مس خاک بوده و با افزایش سطح آلودگی مس از ۱۰۰ تا ۴۰۰ ppm، میزان مس ریشه حدود ۲/۱۵ برابر و در سطوح ۴۰۰ تا ۱۶۰۰ppm این نسبت ۲/۴۳ برابر گزارش شده است (Thai Danh *et al.*, 2011). این موارد تائید کننده نتایج حاصل از مطالعه حاضر مبنی بر میزان تمرکز عمده مس در ریشه گیاه وتیور در شرایط طبیعی است.



شکل ۴- میزان مس جذب شده در ریشه تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس در گیاه وتیور

غلظت مس شاخسار

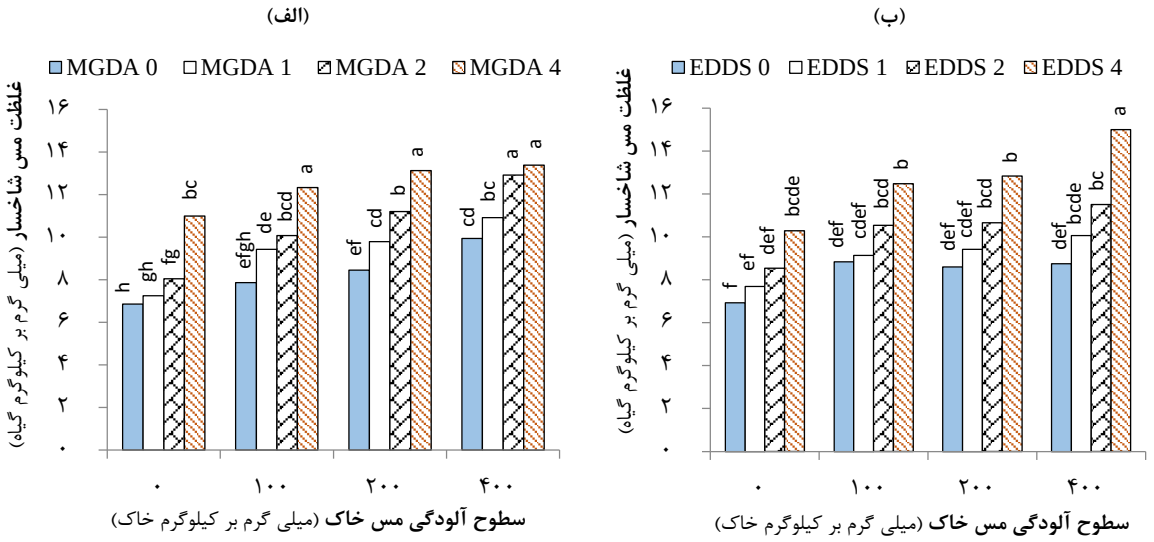
بررسی غلظت مس شاخسار در سطوح مختلف آلودگی خاک نشان داد این پارامتر به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) تابع غلظت مس خاک بود و با افزایش سطح آلودگی، تا حدی در شاخسار افزایش یافت. بالاترین انتقال و تمرکز مس در اندام هوائی در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مس خاک حاصل شد هر چند میزان مس انتقال‌یافته به شاخسار چندان قابل توجه نبود. همچنین اثر کلات‌های EDDS و MGDA بر میزان غلظت مس شاخسار معنی‌دار بود به‌طوری‌که با افزایش غلظت هر دو کلات، میزان انتقال و تمرکز مس شاخسار تا حدی افزایش یافت. اثرات ترکیبی این عوامل یعنی تلفیق اثرات مس خاک و غلظت کلات‌ها بر جذب و تمرکز مس شاخسار معنی‌دار نبود (جدول ۴).

نتایج به‌دست آمده حاکی از اثرپذیری غلظت مس شاخسار از کاربرد هر دو کلات بود؛ همچنین افزایش غلظت کلات‌ها، سبب افزایش انتقال مس از ریشه به برگ‌ها گردید به‌طوری‌که میانگین مس جذب شده در هر دو کلات ۱/۵ برابر افزایش یافت. افزایش سطح غلظت کلات‌های ذکر شده از ۱ تا ۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک، تا حدودی سبب انتقال مس از ریشه به شاخسار گردید به‌طوری‌که بیشترین مقادیر، در سطح آلودگی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در نتیجه استفاده از تیمار ۴ میلی‌مول از هر دو کلات حاصل شد. میانگین مقادیر مس شاخسار در این شرایط برای هر دو کلات حدود ۵۰/۶۶ درصد افزایش یافت.

استفاده از غلیظ‌ترین سطح کلات MGDA در محیط آلوده به مس با غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm به ترتیب سبب جذب و تمرکز ۱/۶، ۱/۵۷، ۱/۵۵ و ۱/۳۵ برابر مس بیشتر نسبت به شرایط عدم استفاده از کلات گردید (شکل ۵ الف). بررسی نتایج حاصل از اثر تیمار ۴ میلی‌مول EDDS در شرایط مشابه نشان داد میزان انتقال و تمرکز مس در شاخسار به ترتیب ۱/۴۸، ۱/۴۱، ۱/۴۹ و ۱/۷۲ برابر نسبت به شرایط عدم استفاده از کلات می‌باشد (شکل ۵ ب).

نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران روی غلظت مس انتقال‌یافته از ریشه به اندام‌های هوائی وتیور در غیاب کلات‌های شیمیائی و در خاک‌های آلوده به مس در سطوح ۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۶۰۰ ppm نشان داد مقدار مس شاخسار به ترتیب ۱۱/۴، ۱۲/۳، ۱۶/۳ و ۵۴/۵ ppm بوده است. این در حالیست که مقدار مس ساقه در مقایسه با ریشه در تیمارهای ذکر شده به ترتیب ۰/۲۳، ۰/۰۸۵، ۰/۰۵۳و ۰/۰۷۲ گزارش شد. نتایج حاکی از آن است که مقدار مس شاخسار در مقایسه با مس ریشه، ناچیز بوده و دامنه تغییرات آن بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۸ متغیر می‌باشد و در تیمارهای ۱۰۰ و ۴۰۰ ppm مس خاک و در شرایطی که میزان مس ریشه حدود ۲/۱۵ برابر شده تنها ۴ ppm به غلظت مس شاخسار افزوده شده است (Thai Danh *et al.*, 2011) . این موارد تائید کننده

نتایج حاصل از مطالعه حاضر مبنی بر میزان تمرکز اندک مس در شاخسار گیاه وتیور در شرایط طبیعی است.



شکل ۵- میزان مس جذب شده در شاخسار تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس در گیاه وتیور

تاثیر کلات‌ها بر شاخصه‌های زیستی

میزان برداشت مس توسط گیاه (MEA)

چنان‌که ذکر شد میزان برداشت مس توسط گیاه از حاصلضرب محتوای غلظت مس موجود در بافت گیاه (میلی‌گرم) در مقدار زیست‌توده گیاهی تولیدشده (کیلوگرم) محاسبه می‌شود (Zhang et al., 2014). بررسی نسبت میزان مس ریشه به مس کل خاک، حاکی از تأثیرپذیری میزان برداشت مس از کاربرد هر دو کلات EDDS و MGDA می‌باشد. اثر کلات‌کنندگی این ترکیبات موجب افزایش زیست فراهمی مس در خاک و در نتیجه افزایش جذب آن در ریشه شد و در تمامی سطوح آلودگی مس، در نتیجه افزایش سطح کلات‌ها از ۱ تا ۴ میلی‌مول، میزان برداشت مس در ریشه افزایش یافت. مقایسه تغییرات میزان برداشت مس در مورد کلات EDDS نشان داد بیشترین تغییرات مربوط به تیمار ۴ میلی‌مول است به‌طوری‌که در طی مدت ۱۲۰ روز مدت زمان انجام آزمایش و درسطوح آلودگی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm مقادیر این شاخص به ترتیب ۸۲۸۱، ۱۰۱۲۵ و ۱۰۴۲۳ $\mu g\ plant^{-1}$ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۵۱، ۸۴ و ۸۹ درصد افزایش داشت. تغییرات میزان برداشت مس در تیمار ۴ میلی‌مول کلات از MGDA نیز در سطوح آلودگی ذکر شده به ترتیب ۵۶۷۹، ۷۶۸۸ و ۸۸۳۱ میکروگرم مس در گیاه بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۱۹، ۶۱ و ۸۵ درصد افزایش داشت. (شکل ۶ الف و ب).

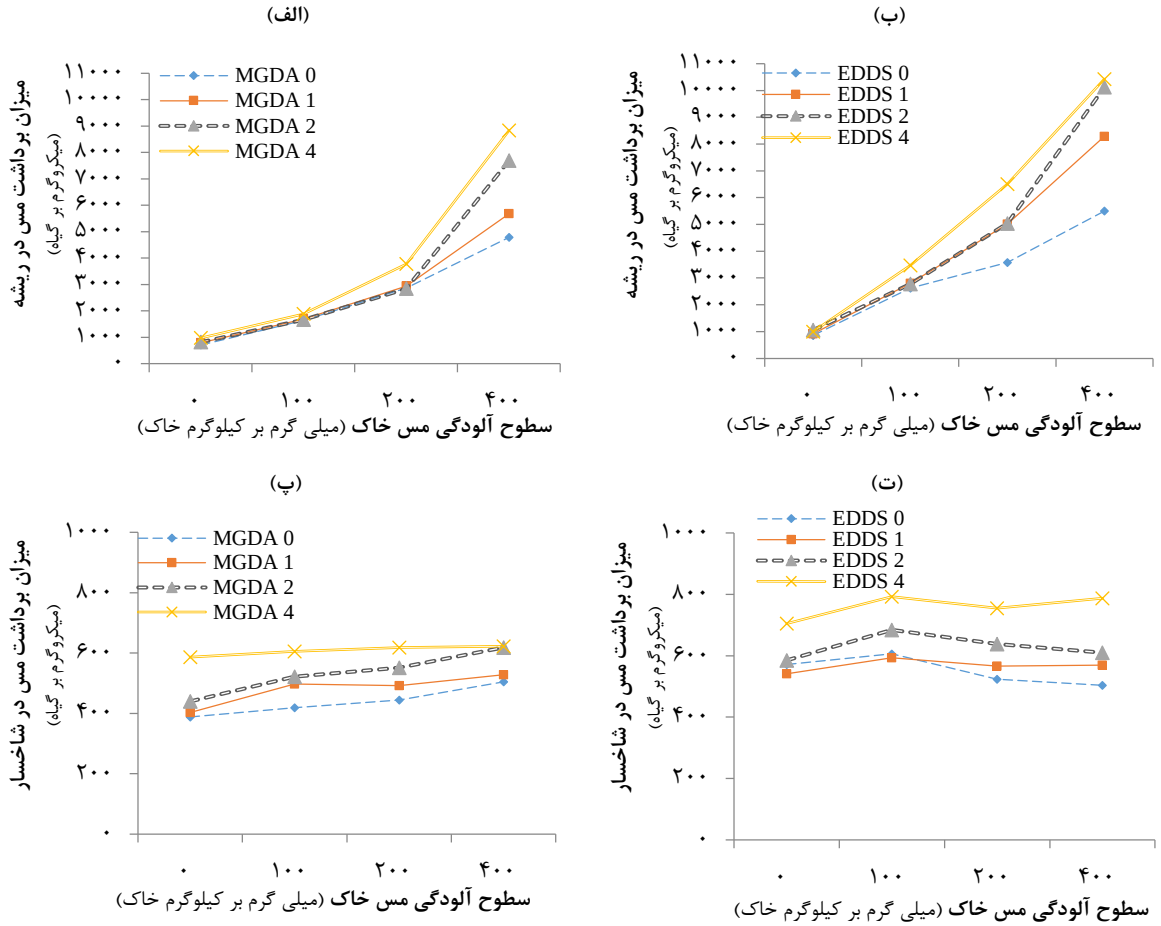
همچنین درسطوح آلودگی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm مقادیر برداشت مس شاخسار به ترتیب ۵۶۹، ۶۰۹ و ۷۸۷ $\mu g\ plant^{-1}$ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۱۳/۱۲، ۲۱/۱ و ۵۶/۵ درصد افزایش داشت. تغییرات میزان برداشت مس در تیمار ۴ میلی‌مول کلات از MGDA نیز در سطوح آلودگی ذکر شده به ترتیب ۵۲۸، ۶۲۲ و ۶۲۳ میکروگرم مس در گیاه بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۴/۷، ۲۳/۴ و ۲۳/۶ درصد افزایش داشت (شکل ۶ پ و ت). نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده روی گیاه‌پالائی کادمیوم توسط وتیور گراس نشان داد در تیمارهای آلودگی کادمیوم در سطوح ۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مقادیر برداشت کادمیوم توسط ریشه به ترتیب ۱/۴، ۳۲۷، ۴۲۲، ۵۳۴ و ۶۴۸ $\mu g\ plant^{-1}$ و مقادیر برداشت کادمیوم توسط ساقه به ترتیب ۰، ۰/۵۷، ۱/۵، ۴۸، ۴۵ و ۵۲ $\mu g\ plant^{-1}$ بود (Zhang et al., 2014).

ضریب انباشتگی زیستی ریشه (BCF)

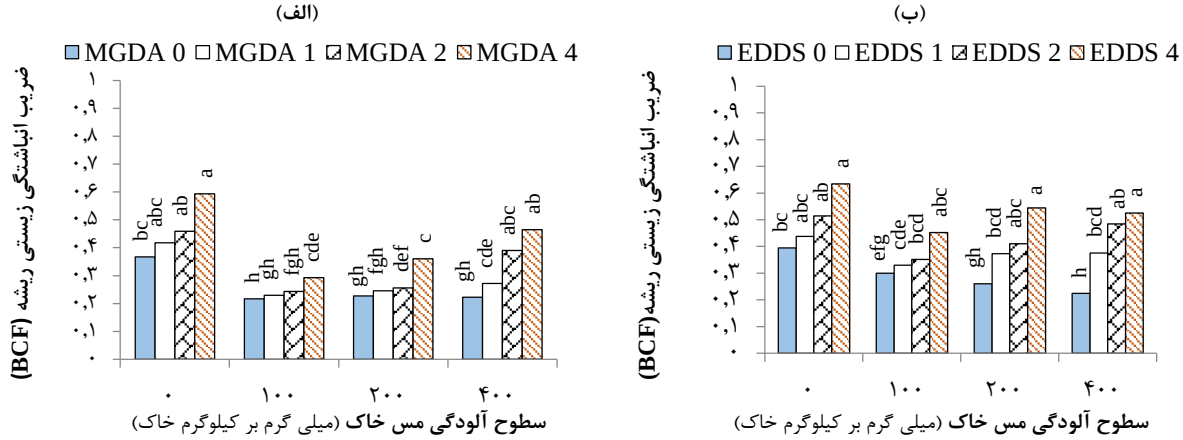
چنان‌که ذکر شد ضریب انباشتگی زیستی ریشه عبارت است از نسبت غلظت عنصر سنگین در ریشه گیاه (ppm) نسبت به غلظت عنصر سنگین در خاک (ppm) که نشان‌دهنده میزان مس جذب شده توسط ریشه از محیط آلوده به مس می‌باشد (Yadav & Chandra, 2011). ضریب انباشتگی زیستی در تمامی تیمارها برای ریشه گیاه وتیور کمتر از یک بود. نتایج حاصل از بررسی تاثیرپذیری ضریب انباشتگی زیستی ریشه در سطوح مختلف آلودگی مس نشان داد این شاخص به‌طور معنی‌داری تابع غلظت مس خاک است ($p<0/01$) و در نتیجه افزایش غلظت تا سطح ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، این ضریب افزایش می‌یابد. دلیل این

موضوع، جذب بیشتر مس در ریشه در مقایسه با انتقال آن به شاخسار است. اثر کلات‌های زیست تخریب‌پذیر EDDS و MGDA بر جذب مس توسط ریشه از خاک نیز معنی‌دار بود و این شاخص در تمامی سطوح آلودگی مس خاک، در نتیجه افزایش غلظت کلات‌ها افزایش یافت ($p<۰/۰۱$). اثرات ترکیبی سطوح آلودگی مس خاک و سطوح مختلف کلات‌ها بر ضریب انباشتگی زیستی ریشه نیز معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بود (جدول ۴).

بررسی نسبت میزان مس ریشه به مس کل خاک، حاکی از تأثیرپذیری ضریب انباشتگی زیستی ریشه از کاربرد هر دو کلات EDDS و MGDA می‌باشد. اثر کلات‌کنندگی این ترکیبات موجب افزایش زیست فراهمی مس در خاک و در نتیجه افزایش جذب آن در ریشه شد و در تمامی سطوح آلودگی مس، در نتیجه افزایش سطح کلات‌ها از ۱ تا ۴ میلی‌مول، این شاخص در ریشه افزایش یافت. (شکل ۷ الف و ب).



شکل ۶- تغییرات شاخص برداشت مس توسط ریشه و شاخسار وتیور تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس



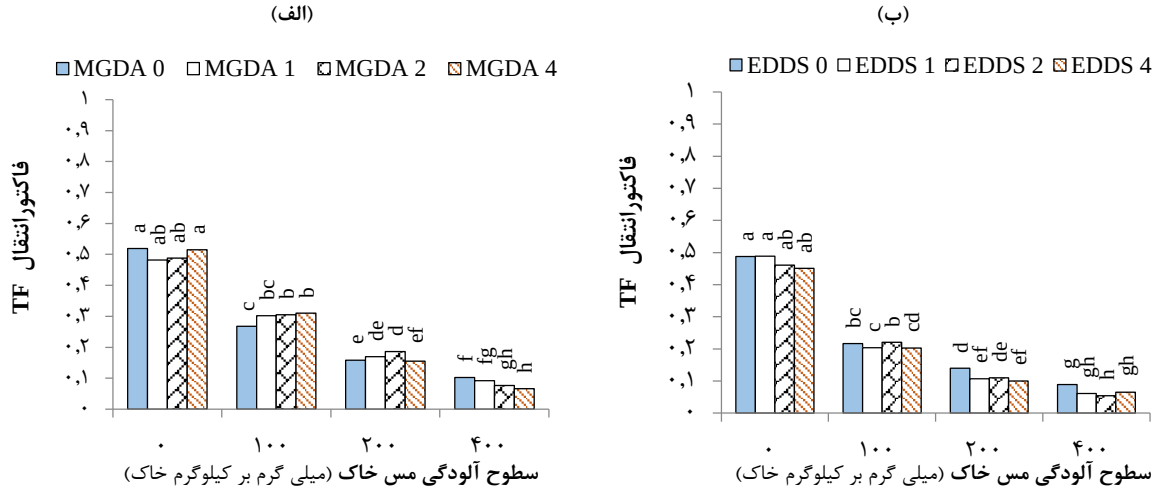
شکل ۷- تغییرات ضریب انباشتگی زیستی (BCF) ریشه وتیور تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس

مقایسه تغییرات ضریب انباشتگی زیستی ریشه در مورد کلات EDDS نشان داد بیشترین تغییرات مربوط به تیمار ۴

میلی‌مول است به‌طوری‌که در سطوح آلودگی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm مقادیر این شاخص به ترتیب ۰/۴۵، ۰/۵۴ و ۰/۵۳ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب ۱/۵، ۲/۱ و ۲/۳۴ برابر افزایش داشت. تغییرات ضریب انباشتگی زیستی ریشه در تیمار ۴ میلی‌مول کلات MGDA نیز در سطوح آلودگی ذکر شده به ترتیب ۰/۲۹، ۰/۳۶ و ۰/۴۶ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کلات) به ترتیب۱/۳۲، ۱/۵۹ و ۲/۰۹ برابر افزایش داشت. به این ترتیب کلات EDDS با غلظت ۴ mmol/kg، بیشترین میزان تاثیرگذاری را بر شاخص مذکور در سطوح ۲۰۰ و۴۰۰ ppm آلودگی مس نشان داد. نتایج پژوهش‌های مشابه، مقدار فاکتور تجمع زیستی ریشه مس را در گیاه وتیور در شرایط طبیعی و در غیاب کلات‌ها به طور متوسط ۰/۸۹ گزارش کردند که نسبت به گزارش حاضر، راندمان بالاتری را نشان می‌دهد (Thai Danh *et al.*, 2011).

فاکتور انتقال (TF)

چنان‌که ذکر شد فاکتور انتقال عبارتست از نسبت غلظت عنصر سنگین در بخش هوایی نسبت به بخش ریشه‌ای که بیانگر میزان انتقال مس از ریشه به شاخسار گیاه وتیور است (Yadav & Chandra, 2011). برای یک عنصر سنگین مشخص باید مقدار فاکتور انتقال بیش از یک باشد (TF> 1) تا گزینه مناسبی برای مقاصد گیاه‌جذبی به‌حساب آید در غیر این‌صورت، برای تثبیت زیستی مناسب شناخته می‌شود (Fitz and Wenzel, 2002; Rizzi et al., 2004). نتایج حاصل از بررسی فاکتور انتقال مس در گیاه وتیور نشان داد در نتیجه افزایش آلودگی تا سطح ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، فاکتور انتقال کاهش یافت (p<۰/۰۱). اثر استفاده از کلات‌های زیست‌تخریب‌پذیر EDDS و MGDA بر انتقال مس از ریشه به شاخسار وتیور معنی‌دار بود (p<۰/۰۱) همچنین اثرات ترکیبی سطوح آلودگی مس خاک و سطوح مختلف کلات‌ها بر فاکتور انتقال مس معنی‌دار (p<۰/۰۱) بود (جدول۴). استفاده از غلیظ‌ترین سطح از کلات EDDS (۴ میلی‌مول در کیلوگرم خاک) به تفکیک سطوح آلودگی مس با غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm باعث شد تا فاکتور انتقال به‌ترتیب ۰/۳۷، ۰/۱۷، ۰/۱۳و ۰/۰۹ شود (شکل ۸ الف). در شرایط مشابه استفاده از کلات MGDA فاکتور انتقال به‌ترتیب ۰/۳۷، ۰/۱۹، ۰/۱۴ و ۰/۰۶ بود (شکل ۸ ب).



شکل ۸- تغییرات فاکتور انتقال تحت تأثیر غلظت و نوع کلات‌ها به تفکیک سطوح آلودگی مس در گیاه وتیور

با مقایسه اعداد فاکتور انتقال چنین نتیجه می‌شود که اثر کمپلکس‌کنندگی کلات‌های EDDS و MGDA در انتقال مس از ریشه به شاخسار وتیور چندان قابل توجه نبوده به همین دلیل این گیاه در فرآیند گیاه‌جذبی مس، عملکرد مناسبی نداشته است. مقایسه میزان تجمع مس در ریشه و ساقه وتیور نشان داد در یک سطح مشخص از آلودگی مس خاک و در غیاب کلات‌های شیمیائی، بیشترین تجمع مس در ریشه صورت می‌گیرد به‌همین دلیل این گیاه در شرایط طبیعی بر اساس فرآیند تغلیظ‌زیستی به پاکسازی محیط‌های آلوده به مس می‌پردازد؛ این نتایج با یافته‌های بانرجی و همکاران (Banerjee et al., 2016) مبنی بر ذخیره‌سازی و تمرکز فلزات سنگین در ریشه گیاه وتیور هماهنگی دارد. نتایج مطالعات انجام شده قبلی نیز نشان داد که مس عنصری کم‌تحرک در گیاه است و در شرایط معمول به میزان ناچیزی به اندام‌های هوائی انتقال می‌یابد و بیشترین میزان ذخیره‌سازی آن در ریشه و در دیواره سلولی و سیتوپلاسم آن گزارش شده است (Shanker et al., 2005; Shukla et al., 2007). همچنین نتایج

پژوهش‌های مشابه، مقادیر فاکتور انتقال مس را در گیاه وتیور در شرایط طبیعی و در غیاب کلات‌ها در سطوح آلودگی مس ۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۶۰۰ ppm به ترتیب ۰/۲۳، ۰/۰۸۵، ۰/۰۵۳ و ۰/۰۷۲ گزارش کردند که نسبت به مقادیر فاکتور انتقال به دست آمده این تحقیق در شرایط عدم استفاده از کلات‌ها در سطوح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm به ترتیب به میزان ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۵ و ۰/۰۶۵ راندمان بالاتری را نشان می‌دهد (Thai Danh et al., 2011). نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده روی گیاه‌پالائی کادمیوم توسط وتیور گراس نشان داد در تیمارهای آلودگی کادمیوم در سطوح ۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مقادیر فاکتور انتقال کادمیوم به ترتیب ۰/۰، ۰/۰، ۰/۰۲۶، ۰/۰۲۳ و ۰/۰۲۳ و مقادیر فاکتور انتقال مس به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۵۷، ۰/۴۱، ۰/۳۳ و ۰/۳۶ بود (Zhang et al., 2014).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق، اثربخشی مطلوب کلات‌های شیمیایی زیست تخریب‌پذیر MGDA و EDDS را به‌عنوان ترکیبات سازگار با محیط‌زیست باهدف بهبود پالایش فلز سنگین مس به کمک گیاه وتیور گراس درخاک‌های آلوده به این عنصر اثبات نمود. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که افزودن این کلات‌ها به ریزوسفر خاک آلوده به مس علاوه بر افزایش قابلیت فراهمی این عنصر در خاک، سبب افزایش کارایی جذب و پالایش مس از خاک توسط وتیور شده و انتقال و انباشت آن را در ریشه گیاه بهبود می‌بخشد. مقادیر فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) حاصله نیز تائیدکننده این موضوع است که استفاده از نسل جدید کلات-کننده‌های زیست‌تخریب‌پذیر MGDA و EDDS در فرآیند تثبیت گیاهی مس توسط وتیورگراس می‌تواند یک روش عملی و موفقیت‌آمیز برای افزایش کارایی جذب این عنصر از خاک و تمرکز آن در ریشه باشد. استفاده از هر دو کلات تاثیر چندانی بر شاخص انتقال (TF) وتیورگراس ندارد از این رو گیاه جذبی مس توسط وتیور حتی در حضور غلیظ‌ترین سطح از هر دو کلات چندان قابل ملاحظه نیست. افزایش غلظت کلات EDDS نسبت به MGDA اثرگذاری بیشتری بر فاکتور تغلیظ‌زیستی مس (BCF) توسط وتیور دارد. هر دو کلات موجب کاهش شاخصه‌های رشد نظیر حجم و چگالی ریشه، ارتفاع ساقه، زیست‌توده ساقه و ریشه ایجاد می‌نماید. از آنجا که شاخص میزان جذب مس توسط ریشه و شاخسار علاوه بر غلظت مس جذب شده تابع بیوماس تولید شده است لذا بررسی شاخص مذکور نشان دهنده تاثیرگذاری بیشتر کلات EDDS نسبت به کلات MGDA است. نکته جالب توجه در خصوص استفاده از کلاتEDDS این است که در کنار کاهش ارتفاع شاخسار، سبب افزایش قطر بوته و ضخامت بیشتر ناحیه طوقه می‌شود که در نهایت منجر به تولید زیست‌توده بیشتر در شاخسار می‌شود و این امر در مباحث حفاظت خاک، جلوگیری از فرسایش و مهار رواناب حائز اهمیت فراوان است. در مجموع با در نظر گرفتن شاخصه‌های زیستی و رویشی، کلات EDDS با غلظت ۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک به عنوان یک ترکیب شیمیایی کارآمد برای افزایش تغلیظ زیستی مس توسط وتیور گراس معرفی می‌شود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Attinti, R., Barrett, K., Datta, R. and Sarkar, D. (2017). Ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) enhances phytoextraction of lead by vetiver grass from contaminated residential soils in a panel study in the field. *Environmental Pollution*, 225, 524-533. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.088

Babaeian, E., Homaee, M. (2011). Enhancing Lead Phytoextraction of Land Cress (Barbara verna) Using Aminopolycarboxylic Acids. *Journal of Water and Soil*, 24(6), 1142-1150.

Banerjee, R., Goswami, P., Pathak, K., and Mukherjee, A. (2016). Vetiver grass: An environment clean-up tool for heavy metal contaminated iron ore mine-soil. *Ecological Engineering*, 90, 25–34. http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.027.

Chuck, C.N., Amru, N.B., Mhd, R. A., Noor Zalina, M. and Fengxiang, H. (2019). Phytoassessment of Vetiver grass enhanced with EDTA soil amendment grown in single and mixed heavy metal–contaminted soil. Environ Monit Assess. 191:434, 1-16 https://doi.org/10.1007/s10661-019-7573-2

Chen, K.F., Yeh, T.Y. and Lin, C.F. (2012). Phytoextraction of Cu, Zn, and Pb Enhanced by Chelators with Vetiver (Vetiveria zizanioides): Hydroponic and Pot *Experiments. International Scholarly Research Network.* Volume 2012, Article ID 729693, 12 pages. doi:10.5402/2012/729693

Evangelou, M.W.H., Bauer, U., Ebel, M. and Schaeffer, A. (2007). The influence of EDDS and EDTA on the uptake of heavy metals of Cd and Cu from soil with tobacco (*Nicotiana tabacum)*. *Chemosphere.* 68, 345–53.

Fang, S.O., Sun, W.Ch. and Pan, J.J. (2011). Spatial Variations of Heavy Metals in the Solid of Vegetable- Growing Land along Urban-Rural Gradient of Nanjing, China. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 8, 1805-1816.

Fitz, W.J. and Wenzel, W.W. (2002). Arsenic transformations in the soil-rhizosphereplant system: fundamentals and potential application to

phytoremediation. *J. Biotechnol*. 99, 259-278.
Ghosh, M., Paul J., Jana A., De A., and Mukherjee A. (2015). Use of the grass, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash for detoxification and phytoremediation of soils contaminated with fly ash from thermal power plants. *Ecol. Eng.*, 74, 258–265.
Hosseini, S.S., Lakzian, A. and Halajnia. A. (2017). The Effect of EDTA and Citric acid on Soil Enzymes Activity, Substrate Induced Respiration and Pb Availability in a Contaminated Soil. Water and Soil. 30(6), 2032-2045.
Igwe, J.C., and Abia, A.A. (2006). A bioseperation process for removing heavy metals from waste water using biosorbents. Afr. J. Biotechnol. 5(12), 1167-1179.
Khamseh, A., Oustan, S. Shahbazi, F., Najafi, N. and Davatgar, N. (2016). The Relationships between Cu Contamination and Soil Characteristics in Downstream of Mazra'eh Copper Mine (Ahar-East Azarbaijan). Water and soil Science. 26(1): 95-112.
Khanlarian M., Roshanfar, M., Rashchi, F. and Motesharezadeh, B. (2020). Phyto-extraction of zinc, lead, nickel, and cadmium from zinc leach residue by a halophyte: Salicornia europaea. Ecological Engineering. 148, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105797.
Khodaverdiloo, H., and Hamzenejad Taghlidabad, R. (2014). Phytoavailability and potential transfer of Pb from a salt-affected soil to Atriplex verucifera, Salicornia europaea and Chenopodium album. Chemistry and Ecology, 30(3), 216-226.
Kim, B.E., Nevitt, T., and Thiele, D.J. (2008). Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. Natural Chemical Biology. 4, 176-185.
Lee, J. and Sung, K. (2014). Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. Ecol. Eng. 73, 386-394.
Li, Y., Chunling, L., Yue L., Lingtong, Q., Yahua, C. and Zhenguo, S. (2013). Residual effects of EDDS leachates on plants during EDDS-assisted phytoremediation of copper contaminated soil. Science of the Total Environment. 444, 263–270
Lozano, J.C., Blanco Rodríguez, P., Vera Tom_e, F., Prieto Calvo, C., (2011). Enhancing uranium solubilization in soils by citrate, EDTA, and EDDS chelating amendments. J. Hazard. Mater. 198, 224-231.
Luo, C.L., Wang, S.R., Wang, Y., Yang, R.X., Zhang, G. and Shen, Z.G. (2015). Effects of EDDS and plant-growth-promoting bacteria on plant uptake of trace metals and PCBs from e-waste contaminated soil. J. Hazard. Mater. 286, 379-385. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere. 2013.01.116.
Mingorance, M.D. and Oliva, S.R. (2006). Heavy Metals Content in N. Oleander leaves as Urban Pollution Assessment. Environmental Monitoring and Assessment, 119, 57-68.
Murphy, A.S., Eisinger, W.R., Shaff, J.E., Kochian, L.V., and Taiz, L. (1999). Early copperinduced leakage of K+ from Arabidopsis seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. Plant Physiology. 121, 1375-1382.
Nowack, B., Schulin, R., and Robinson, B. H. (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. Environmental Science & Technology, 4, 5225–5232.
Okeke, P.N., Okeke, F.N. and Akande, S.F. (2011). Senior Secondary Physics. Current Edition. p. 94. Macmillan Nigeria Publishers Limited, Lagos and Ibadan. ISBN 0-333-37571-8.
Rizzi, L., Petruzzelli, G., Poggio, G. and Guidi, G.V. (2004). Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. Chemospher, 57, 1039-1046.
Roshanfar, M., Khanlarian M., Rashchi, F. and Motesharezadeh, B. (2020). Phyto-extraction of zinc, lead, nickel, and cadmium from zinc leach. Journal of Cleaner Production. 266, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121539
Roy-Chowdhury, A., Datta, R., and Sarkar, D. (2018). Chapter 3.10 – Heavy Metal Pollution and Remediation. Green Chemistry, pp.359–373. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809270-5.00015-7
Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. Environ. Int. 31, 739-753.
Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M. and Chua, H. (2002). Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. J. Environ. Qual. 31,1893–1900.
Shukla, O., Dubey, S. and Rai, U. (2007). Preferential accumulation of cadmium and chromium: toxicity in Bacopa monnieri L. under mixed metal treatments. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 78, 252-257.
Singh, S., Fulzele, D. P. and Kaushik, C.P. (2016). Potential of Vetiveria zizanoides L. Nash for phytoremediation of plutonium (239Pu): Chelate assisted uptake and translocation. Ecotoxicology and Environmental Safety. 132, 140-144. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.006.
Thai Danh, L., Truong, P., Mammucari, R. and Foster, N. (2011). Economic incentive for applying Vetiver grass to remediate lead, copper and zinc contaminated soils. International Journal of Phytoremediation, 13, 47–60. DOI: 10.1080/15226511003671338.
Ullmann, A., Brauner, N., Vazana, S., Katz, Z., Goikhman, R., Seemann, B., Marom, H., Gozin, M., (2013). New biodegradable organic-soluble chelating agents for simultaneous removal of heavy metals and organic pollutants from contaminated media. J. Hazard. Mater. 260, 676-688.
UNEP, (2015). Vetiver Briquette: Feasibility Report. Carbon Roots Int, Haiti. UniKode S.A., Port au Prince, Haiti. www.unikodesa.com (last accessed 13.09.2017). Usheera Industries, Uttara Kannada, India. www.usheeraindustries.com (last accessed

13.09.2017).

Vigliotta, G., Matrella, S., Cicatelli, A., Guarino, F., and Castiglione, S. (2016). Effects of heavy metals and chelants on phytoremediation capacity and on rhizobacterial communities of maize. Journal of Environmental Management, 179(1), 93-102.

WHO, World health organanization (2006). A compendium of drinking- waterquality standard in the eastern Mediterranian Region.Genova, Switzerland: World Health Organization, 2006.

Wu, Q., Cui, Y.R., Li, Q.L., Sun, J.H., (2015). Effective removal of heavy metals from industrial sludge with the aid of a biodegradable chelating ligand GLDA. J. Hazard. Mater. 283, 748-754.

Yadav, S. and Chandra, R. (2011). Heavy metals accumulation and ecophysiological effect on Typha angustifolia L. and Cyperus esculentus L. growing in distillery and tannery effluent polluted natural wetland site, Unnao, India. Environ. Earth Sci., 62, 1235– 1243.

Yang, L., Wang, G., Cheng, Z., Liu, Y., Shen, Z. & Luo, C. (2013). Influence of the application of chelant EDDS on soil enzymatic activity and microbial community structure. Journal of Hazardous Materials. 262, 561– 570.

Zhang, X., Gao, B. & Xia, H., (2014). Effect of cadmiumon growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of bana grass and vetiver grass. Ecotoxicol. Environ. Saf. 106, 102–108.

Zhao, L., Li, T., Yu, H., Zhang, X., and Zheng, Z. (2016). Effects of [S, S]-ethylenediaminedisuccinic acid and nitrilotriacetic acid on the efficiency of Pb phytostabilization by Athyrium wardii (Hook.) grown in Pb-contaminated soils. Journal of Environmental Management, 182(1), 94-100. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.042.

Zoya, G., Iftikhar, H., Bhatti, M., Minullah, N., Sharma, I., Kazi, A. and Ahmad. P. (2015). Phytoextraction. Plant Metal Interaction, pages 385-409.