بررسی تاثیر استخراج گیاهی تشدید شده با EDTA و اسید سیتریک برکیفیت یک خاک آلوده به سرب

سیدسجاد حسینی[۱]، امیر لکزیان[۲]، اکرم حلاج‌نیا[۳]

[۱] دانشجو سابق کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، sajjadhosseini1369@gmail.com
[۲] استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، alakzian@yahoo.com
[۳] استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، halajnia@yahoo.com

چکیده

هدف نهایی از هرگونه فرآیند گیاه‌پالایی تنها حذف فلزات سنگین از خاک‌های آلوده نیست بلکه بازگرداندن کیفیت خاک هم باید مورد توجه قرار گیرد. به منظور بررسی اثر استخراج گیاهی تشدید شده با EDTA و اسیدسیتریک (CA) بر کیفیت یک خاک آلوده به سرب آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون آلودگی به سرب و بدون عامل کلات کننده)، تیمار بدون عامل کلات کننده، EDTA3 و EDTA5 (۳ و ۵ میلی‌مول EDTA در هر کیلوگرم خاک خشک)، CA3 و CA5 (۳ و ۵ میلی‌مول CA در هر کیلوگرم خاک خشک) بودند. در ابتدا ۱۳ ویژگی شیمیایی و زیستی خاک اندازه‌گیری شدند و سپس با استفاده از روش تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) مجموعه حداقل ویژگی‌های موثر (MDS) انتخاب و شاخص کیفیت خاک تعیین شد. نتایج نشان داد که ۵ ویژگی از ۱۳ ویژگی شامل تنفس میکروبی برانگیخته، فعالیت دهیدروژناز، سرب قابل استخراج با DTPA، کربن آلی و فسفر قابل دسترس به عنوان مجموعه MDS انتخاب شدند. همچنین نتایج حاصل از محاسبه وزن ویژگی‌های مجموعه MDS نشان داد که ویژگی‌های تنفس میکروبی برانگیخته و فعالیت دهیدروژناز بیشترین وزن را داشتند. محاسبه کیفیت خاک تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین کیفیت خاک مربوط به تیمار CA5 و کمترین کیفیت خاک مربوط به تیمار EDTA5 بود. به طور کلی در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تیمار CA5 توانست کیفیت خاک را نسبت به تیمار شاهد بهبود دهد و سایر تیمارها کیفیت کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند.

واژه های کلیدی

کیفیت خاک، MDS، عوامل کلات کننده، استخراج گیاهی، تثبیت گیاهی

مقدمه

آلودگی خاک به فلزات سنگین یکی از مهمترین مشکلات زیست محیطی در بسیاری از نقاط جهان می‌باشد. فلزات سنگین به طور طبیعی در خاک‌ها و سنگ‌ها وجود دارند، اما در اثر فعالیت‌های انسانی و طی فرآیندهای صنعتی و افزایش پسماند ناشی از این فرآیندها، مقدار آنها در محیط زیست افزایش یافته است. به طوری که خاک‌ها و آب‌ها در مقیاس وسیعی به این فلزات آلوده شده‌اند که مشکلات عدیده‌ای برای سلامتی انسان و موجودات زنده دیگر در سطح جهان به وجود آورده‌اند. در میان فلزات سنگین سرب به دلیل تجزیه نشدن و پایداری زیاد در خاک به عنوان یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌ها شناخته می‌شود [۱].

استخراج گیاهی به عنوان روشی جدید، مقرون به صرفه و بسیار امید بخش برای پاکسازی خاک‌های آلوده مورد بررسی قرار گرفته است. هرچند کارایی این روش اصلاحی به دلیل حلالیت و آزادسازی کم فلزات سنگین به ویژه سرب در خاک و درنتیجه جذب محدود آنها به وسیله گیاه می‌تواند کم باشد. از این‌رو استخراج گیاهی تشدید شده با عوامل کلات کننده از قبیل EDTA، EDDS، DTPA، اسیدهای آلی و ترکیبات هومیکی در جهت افزایش مصنوعی حلالیت فلزات سنگین در خاک و بنابراین افزایش فراهمی آنها برای گیاه پیشنهاد شده است [۲]. با این حال برخی از عوامل کلات کننده به دلیل خاصیت غیرانتخابی و تجزیه‌پذیری کم می‌توانند موجب آسیب‌های جبران ناپذیری بر محیط زیست و موجودات زنده شوند [۳، ۴]. پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌اند که کاربرد عوامل کلات کننده شیمیایی از قبیل EDTA می‌تواند اثرات نامطلوب بر رشد گیاه و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک داشته باشد [۲، ۵، ۶].

گرکمن و همکاران [۷] بیان کردند که یک فرآیند استخراج گیاهی موفق معمولاً به چندین کشت پی در پی گیاه نیاز دارد تا خاک پاکسازی شده مجدداً برای فعالیت‌های کشاورزی مناسب باشد. بنابراین برای اطمینان از رشد مناسب گیاه بعد از فرآیند پاکسازی حفظ کیفیت خاک امری ضروری است. در واقع تا به امروز هنگام ارزیابی موفقیت فرآیندهای گیاه‌پالایی بیشتر به حذف فلز تاکید شده است. اما هدف نهایی از هرگونه فرآیند گیاه‌پالایی تنها حذف فلزات سنگین از خاک نیست بلکه بازگرداندن کیفیت خاک هم باید مورد توجه قرار گیرد [۸].

کیفیت خاک "توانایی خاک به منظور کارکرد یک اکوسیستم با حفظ حاصلخیزی، کیفیت محیط زیست و تقویت سلامتی گیاهان و موجودات زنده" تعریف می‌شود [۹]. کیفیت خاک منعکس کننده ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی یک خاک است [۱۰]. کیفیت خاک یک مفهوم نسبی و وابسته به شرایط است. به عبارت دیگر هرگونه تغییر مدیریتی و انجام عملیات کشاورزی بر خاک، می‌تواند کیفیت خاک را تحت تاثیر قرار دهد. کیفیت خاک به طور مستقیم قابل اندازه‌گیری نیست و باید به وسیله شاخص‌های کیفیت خاک یعنی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی یک خاک و اثر متقابل بین آنها تعیین شود [۱۱]. کارلن و استات [۱۲] پیشنهاد کردند که شاخص‌های کیفیت خاک اندازه‌گیری شده را می‌توان از طریق توابع نمره دهی استاندارد به شاخص کیفیت خاک تبدیل کرد. شاخص کیفیت خاک برای ارزیابی تغییرات کیفیت خاک تحت شرایط زیست محیطی و سیستم‌های مدیریتی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته [۱۳] و از نظر علمی به عنوان ابزاری مناسب برای ارزیابی منابع خاک پذیرفته شده است [۱۴].

تاکنون بیشتر توجه‌ها به اثر عوامل کلات کننده بر حلالیت فلزات سنگین در خاک و جذب آنها به وسیله گیاه بوده است و پژوهش‌های کمی در مورد اثر فرآیندهای استخراج گیاهی و عوامل کلات کننده بر کیفیت خاک انجام گرفته است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر استخراج گیاهی تشدید شده با EDTA و اسیدسیتریک (CA) بر کیفیت یک خاک آلوده به سرب بود.

مواد و روش‌ها

خاک مورد مطالعه از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری یک نوع خاک با رده‌بندی تیپیک هاپلوکلسید[۱] واقع در پردیس دانشگاه فردوسی مشهد جمع آوری و پس از هوا خشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری جهت آنالیزهای اولیه به آزمایشگاه منتقل گردید. برای آلوده کردن خاک به سرب (۵۰۰ میلی‌گرم سرب در هر کیلوگرم خاک خشک) ابتدا مقادیر مناسب از نمک کلرید سرب ($PbCl_2$) محاسبه و به صورت جامد به خاک افزوده شد. برای اینکه خاک آلوده شده به تعادل برسد، به وسیله آب مقطر تا ۷۰ ٪ ظرفیت مزرعه مرطوب و برای یک ماه در این حد رطوبتی ثابت نگه داشته شد. پس از یک ماه خاک‌ها هوا خشک و کاملاً کوبیده و برای ریختن در گلدان آماده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون آلودگی به سرب و بدون عامل کلات کننده)، تیمار بدون عامل کلات کننده، EDTA3 و EDTA5 (۳

[۱] *Typic haplocalsids*

و ۵ میلی‌مول EDTA در هر کیلوگرم خاک خشک)، CA3 و CA5 (۳ و ۵ میلی‌مول CA در هر کیلوگرم خاک خشک) بودند. قبل از افزودن خاک به گلدان‌ها کودهای پرمصرف مورد نیاز گیاه شامل نیتروژن، فسفر و پتاسیم به صورت کود اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم براساس توصیه کودی به مقدار ۴۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار به نمونه‌های خاک اضافه شد. گلدان‌ها با ۳/۸ کیلوگرم خاک پر شد و بذر گیاه خردل هندی به تعداد ۸ عدد درگلدان‌ها کاشته شد. پس از ظهور گیاهچه‌ها تعداد آنها در هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافت. یک هفته قبل از برداشت گیاه، تیمارهای مورد نظر شامل بدون عامل کلات کننده یا سطح صفر (آب مقطر)، EDTA3، EDTA5، CA3، CA5 به صورت محلول در یک حجم مشخص به گلدان‌ها اعمال شدند. در پایان دوره رشد (۶۰ روز) اندام هوایی و ریشه گیاه برداشت و پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و آسیاب شدند و در نهایت مقدار سرب در نمونه‌های گیاهی به روش هضم خشک تعیین شدند [۱۵]. پتانسیل استخراج گیاهی و پتانسیل تثبیت گیاهی سرب در تیمارهای مختلف به وسیله معادله‌های ۱ و ۲ تعیین شد:

$$\text{پتانسیل استخراج گیاهی سرب} = \frac{M_{shoot} \times W_{shoot}}{M_{soil} \times W_{soil}} \quad (1)$$

$$\text{پتانسیل تثبیت گیاهی سرب} = \frac{M_{root} \times W_{root}}{DTPA-Pb \times W_{soil}} \quad (2)$$

که M_{shoot} و M_{root} غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه، W_{shoot} و W_{root} وزن خشک اندام هوایی و ریشه، M_{soil} غلظت اولیه سرب در خاک، DTPA-Pb سرب قابل استخراج با DTPA-TEA و W_{soil} وزن خاک موجود در گلدان است.

نمونه‌گیری از خاک نیز پس از برداشت اندام هوایی و قبل از برداشت ریشه گیاهان انجام شد. مقدار pH، EC، کربن آلی، فسفر و پتاسیم فراهم، سدیم و کلسیم محلول خاک با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. همچنین غلظت سرب قابل استخراج با DTPA-TEA به روش لیندزی و نورول [۱۶]، تنفس میکروبی پایه به روش ایزرمایر [۱۷]، تنفس میکروبی برانگیخته به روش آلف و نانی‌پیری [۱۸]، فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک با استفاده از روش اصلاح شده تالمان [۱۹]، فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک با استفاده روش طباطبایی و برمنر [۲۰] و فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی خاک با استفاده از روش طباطبایی و برمنر [۲۱] تعیین شدند.

برای تعیین کیفیت خاک ابتدا مجموعه حداقل ویژگی‌های موثر بر کیفیت خاک (MDS) محاسبه شدند. برای انتخاب MDS از روش تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد [۲۲]. به این ترتیب که مولفه‌ها با ارزش ویژه مساوی و بزرگتر از یک استخراج شده و سپس ویژگی‌ها با وزن‌ها در محدوده ۱۰ ٪ بیشترین وزن‌های موجود در هر مولفه به عنوان مجموعه MDS انتخاب شدند. در صورتی که بیشتر از یک ویژگی در هر PC باقی بماند، اگر بین ویژگی‌ها همبستگی وجود نداشته باشد تمام ویژگی‌های باقیمانده مهم در نظر گرفته شده و در مجموعه MDS قرار می‌گیرند ولی اگر بین ویژگی‌ها همبستگی وجود داشته باشد ($r \geq 0.60$) ویژگی که بیشترین مقدار بردار ویژه را دارد در مجموعه MDS قرار می‌گیرد.

باتوجه به اینکه ویژگی‌های موثر برای محاسبه کیفیت خاک دارای واحدهای گوناگونی می‌باشند، به منظور این که بتوان آنها را در قالب یک شاخص کلی درآورد، ویژگی‌ها باید بدون واحد شوند. برای این منظور مقادیر هر ویژگی با استفاده از یک معادله سیگموئیدی (معادله ۳) بین صفر و یک نمره دهی شدند.

$$S = \frac{a}{(1+(\frac{x}{x0})^b)} \quad (3)$$

در این معادله x مقدار ویژگی مورد نظر، a حداکثر نمره ویژگی (در این مورد یک)، x_0 مقدار میانگین ویژگی، و b شیب معادله است. مقدار شیب برای ویژگی‌هایی که مقادیر بالای آنها اثر مطلوبی بر کیفیت خاک دارد (بیشتر بهتر است) ۲/۵- و برای ویژگی‌هایی که مقادیر پایین آنها اثر مطلوبی بر کیفیت خاک دارد (کمتر بهتر است) ۲/۵ در نظر گرفته می‌شود.

همچنین برای محاسبه وزن هر ویژگی از نتایج PCA استفاده شد. از آنجایی که هر PC درصد مشخصی از تغییرات یا واریانس را شرح می‌دهد، مقدار واریانس هر PC بر مجموع واریانس PCهایی که ارزش ویژه بزرگتر از یک دارند تقسیم می‌شود. مقدار به دست آمده نشان دهنده فاکتور وزن برای ویژگی‌های تحت PC مورد نظر است [۲۳]. در نهایت شاخص کیفیت خاک با استفاده از معادله ۴ تعیین شد:

$$SOI = \sum_{i=1}^{n} W_i S_i$$

در این معادله W_i وزن تعلق یافته به هر ویژگی، S_i نمره تعلق یافته به هر ویژگی و n تعداد ویژگی‌های مورد نظر می‌باشد.

در نهایت تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار JMP و رسم نمودارها در محیط Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین پتانسیل استخراج گیاهی سرب از خاک مربوط به تیمارهایی بود که کلات EDTA دریافت کرده بودند. نتایج نشان داد که پتانسیل استخراج گیاهی سرب در تیمار EDTA3 ۰/۰۹۱ درصد و در تیمار EDTA5 ۰/۰۴۷ درصد بود. این نتایج نشان داد که با افزایش سطح EDTA از ۳ به ۵ میلی مول در کیلوگرم پتانسیل استخراج گیاهی سرب به طور معنی‌داری کاهش یافت. فتاحی کیاسری و همکاران [۲۴] نشان دادند که افزایش مقدار EDTA از ۱/۵ به ۳ میلی‌مول در کیلوگرم باعث کاهش معنی‌داری در سرب اندام هوایی آفتاب‌گردان و ذرت شد. مقدار کمتر پتانسیل استخراج گیاهی سرب در تیمار EDAT5 نسبت به EDTA3 احتمالاً به اثر بازدارندگی غلظت‌های بالای EDTA بر رشد گیاه مربوط شود که سبب کاهش زیست توده اندام هوایی گیاه و در نتیجه کاهش جذب فلزات سنگین در اندام هوایی می‌شود [۲۵]. همچنین واسیل و همکاران [۲۶] بیان کردند که سنتیک جذب سرب و EDTA در گیاه دو فازی است. به این معنا که برای تحریک و افزایش جذب EDTA و کمپلکس‌های EDTA-Pb در اندام هوایی گیاه به غلظت آستانه یا بحرانی از EDTA مورد نیاز است. بررسی آنالیزهای آماری نشان داد که تیمارهای CA3 و CA5 اثر معنی‌داری بر پتانسیل استخراج گیاهی سرب از خاک نداشتند. صبیر و همکاران [۲۷] گزارش کردند که کاربرد استیک، آسکوربیک و اگزالیک اسید اثر معنی‌داری بر مقدار جذب Pb، Cd، Cu و Mn دراندام هوایی گیاه ذرت نداشت.

جدول ۱. اثر کاربرد EDTA و CA بر پتانسیل استخراج و تثبیت گیاهی سرب در خاک

تیمارها	پتانسیل استخراج گیاهی سرب (٪)	پتانسیل تثبیت گیاهی سرب (٪)
بدون کلات	۰/۰۱۵^{c}	۰/۱۶۱^{c}
EDTA3	۰/۰۹۱^{a}	۰/۱۴۲^{c}
EDTA5	۰/۰۴۷^{b}	۰/۰۵۱^{d}
CA3	۰/۰۱۸^{c}	۰/۲۴۰^{b}
CA5	۰/۰۱۳^{c}	۰/۲۹۷^{a}

نتایج نشان داد بیشترین مقدار پتانسیل تثبیت گیاهی سرب در خاک مربوط به تیمارهای CA3 و CA5 با مقدار ۰/۲۴۰ و ۰/۲۹۷ درصد بود (جدول ۱). در حالی که تیمار EDTA3 اثر معنی‌داری بر پتانسیل تثبیت گیاهی سرب نداشت و تیمار EDTA5 به طور معنی‌داری موجب کاهش این پارامتر نسبت به تیمار بدون کلات شد. دلیل کارایی بیشتر تیمارهای CA در افزایش پتانسیل تثبیت گیاهی سرب در خاک اثر مثبت این عامل کلات کننده بر افزایش وزن خشک ریشه و همچنین کاهش معنی‌دار غلظت سرب قابل استخراج با DTPA در اثر کاربرد CA بود. هان و همکاران [۲۸] گزارش کردند که کاربرد CA به مقدار ۰/۵ و ۲ میلی مول در کیلوگرم مقدار جذب سرب ریشه را افزایش داد. چندین ماده از قبیل سنگ آهک، گچ، فسفات، اکسیدهای Fe و Al و ترکیبات آلی برای کاهش فراهمی و سمیت فلزات سنگین در خاک استفاده شده‌اند [۲۹]. در این زمینه CA ممکن است گزینه‌ای امیدبخش برای تثبیت سرب در خاک مورد مطالعه باشد زیرا پاکسازی یک منطقه آلوده بسیار پیچیده و ناهمگن است و نیاز به استفاده از دو یا چند روش اصلاحی دارد [۲۹]. فریتاس و ناسکیمنتو [۲۹] در پژوهش خود بیان کردند که کاربرد گلوتامات ممکن است برای تثبیت سرب در خاک مورد مطالعه آنها مناسب باشد.

جهت تعیین کیفیت خاک پس از انجام فرآیند پاکسازی، ابتدا ویژگی‌های موثر شیمیایی و زیستی خاک به وسیله روش تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) انتخاب شدند. بر این اساس ۳ مولفه اصلی با ارزش ویژه بزرگتر از یک که در برگیرنده ۸۷/۵۲ درصد تغییرات داده‌های اندازه‌گیری شده بودند برای انتخاب ویژگی‌های موثر استخراج شدند (جدول ۲). همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در PC_1 ویژگی‌های تنفس میکروبی پایه، تنفس میکروبی برانگیخته، فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، دهیدروژناز و فسفومونواستراز قلیایی بیشترین وزن را داشتند و به عنوان مهمترین ویژگی‌ها در PC_1 انتخاب شدند. ولی به دلیل وجود ضرایب همبستگی بالا بین این ۵ ویژگی تنها دو ویژگی تنفس میکروبی برانگیخته و فعالیت دهیدروژناز انتخاب شدند. از آنجایی که استفاده از تنفس میکروبی به تنهایی برای ارزیابی تنش‌های محیطی ممکن است تفسیر نتایج را با مشکل روبه‌رو کند، علاوه بر تنفس میکروبی برانگیخته که بیشترین وزن را در PC_1 داشت فعالیت آنزیم دهیدروژناز نیز به عنوان مجموعه MDS انتخاب شد. در PC_2 ویژگی‌های Pb-DTPA و کربن آلی خاک از وزن‌های

بالاتری برخوردار بودند و از آنجایی که همبستگی بین این دو ویژگی وجود نداشت هر دو ویژگی مورد نظر به عنوان ویژگی‌های موثر یا مجموعه MDS انتخاب شدند. در PC_3 ویژگی فسفر قابل دسترس بیشترین وزن را داشت و به عنوان ویژگی موثر انتخاب شد.

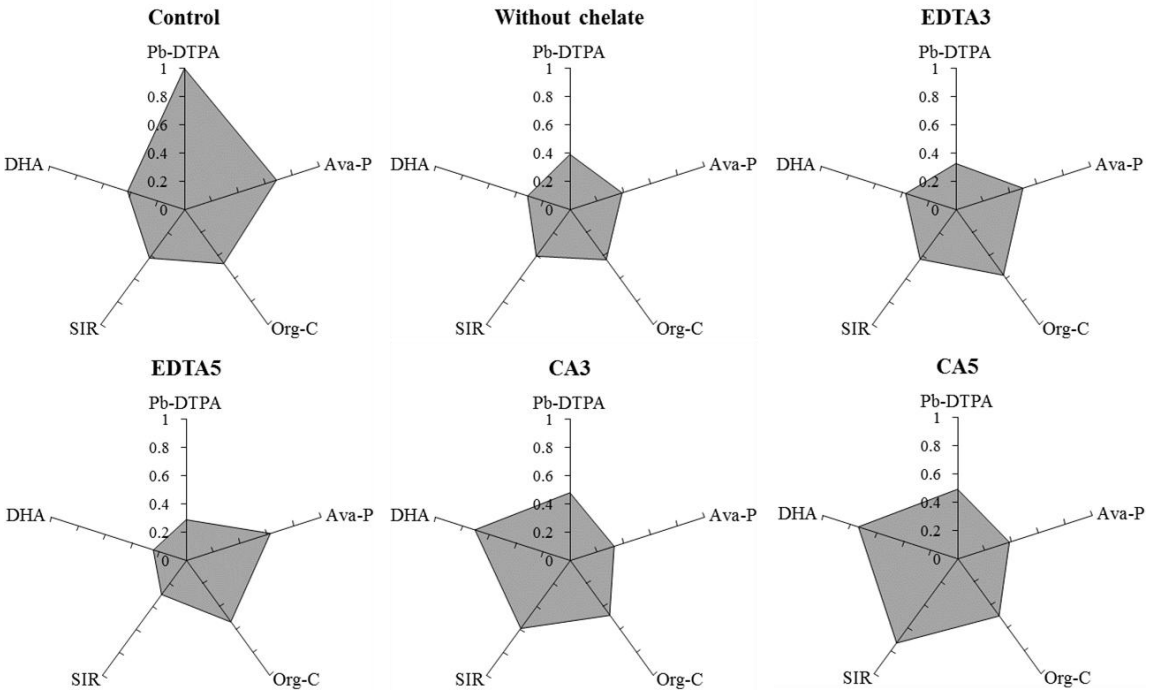
جدول ۲. انتخاب حداقل ویژگی‌های موثر (MDS) با استفاده از آنالیز تجزیه مولفه‌های اصلی

PCs	PC1	PC2	PC3
ارزش ویژه[1]	۷/۳۶	۲/۶۲	۱/۳۹
درصد واریانس	۵۶/۶۵	۲۰/۱۸	۱۰/۶۹
درصد تجمعی واریانس	۵۶/۶۵	۷۶/۸۳	۸۷/۵۲
بردار ویژه[2]			
pH	۰/۲۰۷۹	۰/۳۶۹۵	۰/۳۴۵۵
EC	-۰/۳۱۲۸	-۰/۰۲۱۳	۰/۳۱۵۵
Pb-DTPA	-۰/۰۸۶۶	**۰/۴۷۳۰**	-۰/۴۴۶۴
سدیم محلول	-۰/۳۰۲۰	۰/۲۹۴۹	۰/۱۹۳۳
کلسیم محلول	-۰/۲۳۲۸	۰/۳۸۷۸	-۰/۱۶۶۲
پتاسیم قابل دسترس	-۰/۲۱۱۶	-۰/۳۳۷۲	-۰/۱۵۱۹
فسفر قابل دسترس	-۰/۱۹۱۸	-۰/۱۸۴۱	**۰/۶۰۵۸**
کربن آلی	-۰/۱۲۰۵	**۰/۴۴۵۲**	۰/۳۰۰۱
تنفس میکروبی پایه	[3]**۰/۳۵۰۱**	-۰/۰۲۸۷	۰/۰۶۶۳
تنفس میکروبی برانگیخته	[4]**۰/۳۵۷۰**	۰/۱۱۴۱	۰/۰۴۳۹
فعالیت دهیدروژناز	**۰/۳۴۸۰**	۰/۱۲۱۳	۰/۰۴۶۶
فعالیت فسفومونواستراز قلیایی	**۰/۳۴۳۲**	۰/۱۳۲۱	۰/۱۵۸۳
فعالیت اوره‌آز	**۰/۳۴۷۴**	-۰/۰۹۹۱	۰/۰۵۳۴

۱. Eigenvalue
۲. Eigenvactors
۳. اعدادی که به صورت توپر نشان داده شده‌اند نشان دهنده ویژگی‌ها با وزن در محدوده ۱۰ ٪ بیشترین وزن‌های موجود در هر مولفه است
۴. اعدادی که به صورت توپر و زیر آنها خط کشیده شده است نشان دهنده ویژگی‌های قرار گرفته در مجموعه MDS است.

پس از انتخاب مجموعه MDS سهم هر ویژگی در کیفیت خاک از طریق واریانس به دست آمده برای هر PC محاسبه شد. نتایج نشان داد که ویژگی‌های تنفس میکروبی برانگیخته و فعالیت دهیدروژناز بیشترین سهم را در کیفیت خاک در تیمارهای مورد نظر داشتند. ژانگ و همکاران [۳۰] اثر گیاه‌پالایی یک خاک آلوده به سرب و کادمیوم را بر کیفیت خاک مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که ویژگی‌های کادمیوم قابل استخراج با اسید، مقدار رطوبت خاک، فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی، فعالیت اوره‌آز و سرب قابل استخراج با اسید مهمترین ویژگی‌های موثر بر کیفیت خاک بودند و به ترتیب بیشترین سهم را در کیفیت خاک داشتند.

همچنین باتوجه به اینکه ویژگی‌های موثر برای محاسبه کیفیت خاک دارای واحدهای گوناگونی بودند، به وسیله معادله سیگموئیدی بین صفر و یک نمره‌دهی شدند. به طوریکه بیشترین و کمترین نمره فعالیت دهیدروزناز و تنفس میکروبی برانگیخته به ترتیب مربوط به تیمارهای CA5 و EDTA5، بیشترین و کمترین نمره کربن آلی خاک مربوط به تیمارهای EDTA3 و بدون کلات، بیشترین و کمترین نمره Pb-DTPA مربوط به تیمارهای شاهد و EDTA5 و بیشترین و کمترین نمره فسفر قابل دسترس مربوط به تیمار شاهد و CA3 بود (شکل ۱)

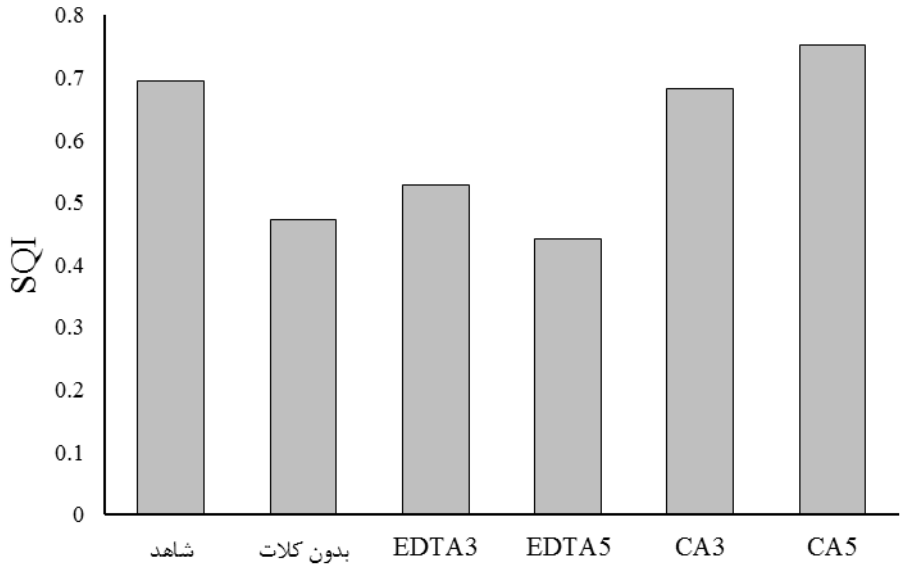


شکل ۱. نمرات مربوط به ویژگی‌های قرار گرفته در مجموعه MDS در تیمارهای مختلف

به طور کلی معادله کیفیت خاک به شکل زیر به دست آمد:

SQI= 0.323DHA + 0.323SIR + 0.23Org-C + 0.23Pb-DTPA + 0.122Ava-P

شاخص کیفیت خاک به دست آمده در تیمارهای مختلف بین ۰/۴۴ تا ۰/۷۵ بود که براساس نتایج دورته و همکاران [۳۱] نشان دهنده کیفیت خیلی کم تا کم می‌باشد. محاسبه کیفیت خاک در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمار CA5 بیشترین کیفیت (۰/۷۵) و تیمار EDTA5 کمترین کیفیت (۰/۴۴) را داشتند (شکل ۲). نتایج نشان داد که آلودگی خاک به سرب و کاربرد EDTA موجب کاهش قابل توجه کیفیت خاک شد به طوریکه مقدار شاخص کیفیت خاک در تیمارهای بدون کلات، EDTA3 و EDTA5 به ترتیب ۳۲ ٪، ۲۳ ٪ و ۳۶ ٪ کمتر از تیمار شاهد (بدون آلودگی) بود (شکل ۲). دلیل این کاهش می‌تواند مقدار بالای Pb-DTPA در این تیمارها باشد که نه تنها برای گیاه به شدت سمی است بلکه می‌تواند اثر سوئی بر ویژگی‌های زیستی خاک داشته باشد. لای [۱۳] گزارش کرد که کاربرد عوامل کلات کننده شیمیایی از قبیل EDTA، EDDS و DTPA اثر منفی بر کیفیت خاک‌های مورد مطالعه داشت. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد CA کیفیت خاک را به ویژه در تیمار CA5 به طور قابل توجهی بهبود بخشید به طوریکه شاخص کیفیت خاک در تیمارهای CA3 و CA5 به ترتیب ۴۴ ٪ و ۶۰ ٪ بیشتر از تیمار بدون کلات بود. همچنین شاخص کیفیت خاک در تیمار CA3 مشابه با تیمار شاهد بود و در تیمار CA5 ۸/۶ ٪ بیشتر از تیمار شاهد یا خاک مرجع بود (شکل ۲). مشابه با نتایج این پژوهش ژانگ و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کاربرد CA در فرآیند گیاه‌پالایی می‌تواند کیفیت خاک را افزایش دهد. دلیل این افزایش به اثر مثبت CA در کاهش مقدار Pb-DTPA و افزایش تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های خاک مربوط می‌شود. زیرا CA می‌تواند به افزایش کربن آلی، رشد گیاه و فعالیت ریزجانداران خاک و کاهش تنش فلزات سنگین کمک کند [۳۰]. در واقع CA می‌تواند به عنوان منبع کربن به وسیله ریزجانداران فعال خاک استفاده شود و در نتیجه جمعیت آنها را افزایش دهد. رنلا و همکاران [۳۱] بیان کردند که افزایش فعالیت آنزیم‌ها در اثر CA احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت رشدی ریزجانداران خاک باشد.



شکل۲. اثر فرآیند استخراج گیاهی تشدید شده با EDTA و CA بر کیفیت خاک

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که فرآیند استخراج گیاهی با کلات EDTA روش پاکسازی مطلوبی برای خاک مورد مطالعه نبود. زیرا تیمارهای EDTA اگرچه پتانسیل استخراج گیاهی سرب بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ولی سبب اثرات نامطلوبی برکیفیت خاک شدند. به هرحال در صورت نیاز به این روش باید به این نکته توجه کرد که کاربرد ۳ میلی مول در کیلوگرم EDTA مناسب‌تر از کاربرد ۵ میلی مول در کیلوگرم آن بود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که کاربرد CA به منظور تثبیت گیاهی سرب روش پاکسازی مطلوب‌تری برای خاک مورد مطالعه بود. زیرا این اسید آلی ضمن تثبیت سرب در ریشه گیاه و خاک به طور قابل توجهی کیفیت خاک را بهبود بخشید. به طور کلی اگرچه عوامل کلات کننده می‌توانند کارایی فرآیندهای گیاه‌پالایی را افزایش و مدت زمان مورد نیاز برای پاکسازی خاک‌های آلوده را کاهش دهند ولی اثرات جانبی آنها بر کیفیت خاک، رشد گیاه و وضعیت عناصر غذایی قبل از کاربرد آنها در خاک‌های آلوده باید به دقت مورد بررسی قرار گیرد.

مراجع

[1] Mühlbachová, G., 2011. Soil microbial activities and heavy metal mobility in long-term contaminated soils after addition of EDTA and EDDS. *Ecological Engineering*, *37*(7), 1064-1071.
[2] Usman, A.R., Almaroai, Y.A., Ahmad, M., Vithanage, M. and Ok, Y.S., 2013. Toxicity of synthetic chelators and metal availability in poultry manure amended Cd, Pb and As contaminated agricultural soil. *Journal of Hazardous Materials*, *262*, 1022-1030.
[3] Grčman, H., Velikonja-Bolta, Š., Vodnik, D., Kos, B. and Leštan, D., 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil*, *235*(1), 105-114.
[4] Saifullah, Meers, E., Qadir, M., De Caritat, P., Tack, F.M.G., Du Laing, G. and Zia, M.H., 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*, *74*(10), 1279-1291.
[5] Epelde, L., Hernández-Allica, J., Becerril, J.M., Blanco, F. and Garbisu, C., 2008. Effects of chelates on plants and soil microbial community: comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Science of the Total Environment*, *401*(1), 21-28.
[6] Zupanc, V., Kastelec, D., Lestan, D. and Grcman, H., 2014. Soil physical characteristics after EDTA washing and amendment with inorganic and organic additives. *Environmental* Pollution, 186, 56-62.
[7] Grčman, H., Vodnik, D., Velikonja-Bolta, Š. and Leštan, D., 2003. Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, *32*(2), 500-506.
[8] Hernández-allica, J., Garbisu, C., Becerril, J.M., Barrutia, O., García-plazaola, J.I., Zhao, F.J. and McGrath, S.P., 2006. Synthesis of low molecular weight thiols in response to Cd exposure in *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, *29*(7), 1422-1429.
[9] Doran JW, Sarrantonio M, Liebig MA. 1996. Soil health and sustainability. Adv Agron 56: 1-54.
[10] Karlen DL, Andrew SS, Doran JW. 2001. Soil quality: Current concepts and applications. Adv Agron 74: 1-40.
[11] Larson, W. E., & Pierce, F. J. 1991. Conservation and enhancement of soil quality. In *Evaluation for sustainable land management in the developing world: proceedings of the International Workshop on Evaluation for Sustainable Land Management in the Developing World*, Chiang Rai, Thailand, 15-21 September 1991. [Bangkok, Thailand: International Board for Soil Research and Management, 1991]..
[12] Karlen DL, Stott DE. 1994. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicek DF, Stewart BA, eds. Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Madison, WI, USA: SSA Press. p. 53-72.
[13] Lai, H. Y. (2015). Negative effects of chelants on soil qualities of five soil series. *International journal of phytoremediation*, 17(3), 228-234.
[14] Karlen, D.L., Ditzler, C.A. and Andrews, S.S., 2003. Soil quality: why and how?. *Geoderma*, *114*(3), 145-156.
[15] Jones Jr, J.B. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC press. LLC, New York, 365p.
[16] Lindsay, W.L. and Norvell, W.A., 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, *42*(3), 421-428.
[17] Isermeyer H. 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde, 56(1-3): 26-38.
[18] Alef K, Nannipieri P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic press.
[19] Thalmann, A., 1966. The determination of the dehydrogenase activity in soil by means of TTC (triphenyltetrazolium). *Soil Biol*, *6*, 46-49.
[20] Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M., 1972. Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *4*(4), 479-487.
[21] Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, *1*(4), 301-307.
[22] Doran, J.W., B.T. Parkin 1994. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J.W., D.C. Coleman, D.F. Bezdicek, B.A. Stewart, (Eds.), Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, USA, pp. 3–21. Special Publication. Number 35.
[23] Andrews SS, Karlen L, Caimbardella CA. 2004. The soil management assessment framework: A quantitative soil quality evaluation method. Soil Sci Soc Am J 68: 1945-1962.

[۲۴] فتاحی کیاسری، الف.، فتوت، الف.، آستارایی، ع. و حق‌نیا، غ.ح. ۱۳۸۹. اثر اسید سولفوریک و EDTA بر گیاه پالایی سرب در خاک توسط سه گیاه آفتابگردان، ذرت و پنبه. مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۵۱: ۵۷ تا ۶۸.

[25] Sun, Y.B., Zhou, Q.X., An, J., Liu, W.T. 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), 106-112.

[26] Vassil, A.D., Kapulnik, Y., Raskin, I. and Salt, D.E., 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiology*, *117*(2), 447-453.

[27] Sabir, M., Hanafi, M.M., Zia-Ur-Rehman, M., Saifullah, Ahmad, H.R., Hakeem, K.R. and Aziz, T., 2014. Comparison of low-molecular-weight organic acids and ethylenediaminetetraacetic acid to enhance phytoextraction of heavy metals by maize. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *45*(1), 42-52.

[28] Han, Y., Zhang, L., Gu, J., Zhao, J. and Fu, J., 2016. Citric acid and EDTA on the growth, photosynthetic properties and heavy metal accumulation of *Iris halophila Pall.* cultivated in Pb mine tailings. *International Biodeterioration & Biodegradation*.

[29] Freitas, E.V. and Nascimento, C., 2016. Degradability of natural and synthetic chelating agents applied to a lead-contaminated soil. *Journal of Soils and Sediments*, 1-7.

[30] Zhang, H., Chen, X., He, C., Liang, X., Oh, K., Liu, X. and Lei, Y., 2015. Use of energy crop (*Ricinus communis L.*) for phytoextraction of heavy metals assisted with citric acid. *International Journal of Phytoremediation*, *17*(7), 632-639.

[31] Duarte, B., Freitas, J., & Cacador, I, 2012. Sediment microbial activities and physic-chemistry as progress indicators of salt marsh restoration processes. *Ecological indicators*, 19, 231-239.

[32] Renella, G., Egamberdiyeva, D., Landi, L., Mench, M. and Nannipieri, P., 2006. Microbial activity and hydrolase activities during decomposition of root exudates released by an artificial root surface in Cd-contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *38*(4), 702-708.

Study the effect of EDTA and Citric acid induced phytoextraction on quality a lead contaminated soil

Seyed Sajjad Hosseini[1], Amir Lakzian[2], Akram Halajnia [3]

[1] M.Sc. Graduate of Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, sajjadhosseini1369@gmail.com
[2] Professor of Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, alakzian@yahoo.com
[3] Assistant Professor of Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, halajnia@yahoo.com

Abstract
The ultimate goal of any soil phytoremediation process must be not only to remove the heavy metals from the polluted soil but to restore soil quality as well. A greenhouse experiment, using a completely randomized design with three replications, was carried out to study the effect of EDTA and Citric acid (CA) induced phytoextraction on quality of a lead contaminated soil. The treatments were including Control (without lead and chelating agent), without chelating agent, EDTA3 and EDTA5 (3 and 5 mmol EDTA per kg dry soil), CA3 and CA5 (3 and 5 mmol CA per kg dry soil). Initially, the thirteen soil chemical and biological properties were measured. Then the minimum data set (MDS) were selected by principal component analysis (PCA) method and finally the soil quality index was determined. The results showed that substrate-induced respiration, dehydrogenase activity, Pb-DTPA, organic carbon and available phosphorus were selected as the MDS. Also the results from weighting analysis of properties show that the substrate-induced respiration and dehydrogenase activity had highest weighting index. Based on the results, the CA5 and EDTA5 treatments had the most and lowest soil quality index, respectively. Among all treatment, only the CA5 treatment could increase soil quality index compared with the control treatment, while other treatments had lower soil quality index.
Keywords: soil quality, MDS, chelating agents, phytoextraction, phytostabilization