اثر کاربرد اسید هومیک بر گیاه پالائی سطوح مختلف سرب از خاک آلوده توسط گیاه کلزا (*Brassica napus L.*)

زهرا سادات راست قلم[1]، مهران هودجی[2]، حمیدرضا جوانمرد[3]
1-دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی2-دانشیار گروه خاکشناسی3-مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات
1،2،3- دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)
z.rastghalam@gmail.com

چکیده
گیاه پالایی روش نوینی است که در آن از گیاهان برای حذف آلاینده های خاک استفاده می شود. در رابطه با فلزات سنگین، کاربرد موثر این روش به میزان زیادی به قابلیت دسترسی گیاهان به فلزات سنگین در خاک بستگی دارد. هدف از این پژوهش بررسی اثر کاربرد اسید هومیک بر راندمان گیاه پالایی سرب توسط گیاه کلزا می باشد. به همین منظور اسید هومیک در 2 سطح 0 و 125 گرم به گلدانهای 7 کیلوگرمی، با سه سطح سرب (17/5، 400 و 800 $mg.kg^{-1}$) اضافه و تحت کشت کلزا در قالب یک طرح آماری فاکتوریل و در سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. پس از گذشت هشت هفته نمونه های گیاهی از خاک خارج و پس از تفکیک ریشه و اندام هوایی غلظت سرب کل و قابل جذب در خاک همچنین غلظت سرب در نمونه های گیاهی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک توانایی کلزا در جذب سرب از خاک بیشتر می شود. همچنین افزایش اسید هومیک در سطوح مختلف سرب سبب افزایش میزان قابلیت دسترسی زیستی سرب در خاک و ازدیاد میزان غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی گیاه و در نتیجه افزایش معنی دار ($p<0.05$) راندمان گیاه پالایی شد.

کلمات کلیدی: **اسید هومیک، سرب، کلزا، گیاه پالایی**.

مقدمه

در طول قرن گذشته، فعالیت بشر موجب آزاد شدن آلاینده ها در محیط زیست می شود. در میان آلاینده های شیمیائی، فلزات سنگین به لحاظ تاثیرات اکولوژیکی و بهداشتی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند. فلزات سنگین، سرب، نیکل، سلنیم، کادمیوم، مس، روی، جیوه و کروم بالاترین خطر را برای محیط زیست دارند (Lasat, 2000). در مطالعات اخیر، روش پالایش خاک بر اساس استفاده از گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. یکی از روشهای مناسب جهت پاکسازی خاک گیاه پالائی[1] است. به طور کلی گیاه پالایی عبارت است از استفاده مهندسی از گیاهان سبز در رفع آلاینده های خاک و آب و یا کاهش خطرات آلاینده های محیط زیست نظیر فلزات سنگین. گیاه پالائی به روش های مختلفی انجام می شود که معمول ترین و کاربردی ترین روش آن، فرایند استخراج گیاهی[2] می باشد (Ghosh and Singh, 2005). در این روش از گونه های گیاهی که قادر به انباشتن غلظت های بالایی از عناصر در اندامهای خود باشند به عنوان گیاهان فرا انباشت کننده[3] استفاده می گردد. برای برخی فلزات مانند سرب، هیچ گونه فرا انباشتگر گیاهی تا به امروز شناخته نشده است (Saifullah et al., 2009). Kumar و همکاران (1995) بسیاری از گونه های سریع الرشد خانواده براسیکاسه[4] از جمله خردل هندی (*B. juncea*)، سیاه خردل (*B. nigra Koch*) ، شلغم (*B. campestris L.*) ، کلزا (*B. napus L.*) و کلم پیچ (*B. oleracea L.*) را از نظر توانایی آنها در تحمل و

1- Phytoremediation
2- Phytoextraction
3- Hyper accumulator
4- Brassicaceae

تجمع فلزات آزمایش نمودند. Boye (2002) تشخیص داد که کلزا می تواند مقدار متوسط از فلزات مختلف را در شاخسارهای خود تجمع داده و تا حدودی توانائی انجام گیاه پالائی را دارد. گیاه پالائی موثر خاک های آلوده به فلزات سنگین به قابلیت دسترسی عناصر برای جذب توسط گیاه بستگی دارد. از راههای افزایش دسترسی زیستی فلزات سنگین، استفاده از ترکیبات آلی کمپلکس کننده، از جمله اسید هومیک است. Evangelou و همکاران (2004) نشان دادند که افزودن اسید هومیک به میزان 20 گرم در کیلوگرم، افزایش قابل توجهی در جذب کادمیوم توسط تنباکو تا 65% را نشان میدهد، اگرچه زیست فراهمی کادمیوم، که با عصاره گیری توسط DTPA تعیین شد، تغییر ننمود. Halimو همکاران (2003) اظهار داشتند که اصلاح خاک با مواد هومیکی بیرونی ممکن است گیاه پالائی فلزات سنگین از خاک آلوده را تسریع نماید، در حالی که همزمان از تحرک زیست محیطی آنها جلوگیری می نماید. هدف از انجام این تحقیق به منظور بررسی کاربرد اسید هومیک بر جذب فلز سرب در سطوح مختلف آلودگی خاک به سرب، توسط گیاه زراعی کلزا در اصفهان، در 3 تکرار و بصورت فاکتوریل در شرایط گلخانه ای اجرا شد.

مواد و روشها

این تحقیق در گلخانه پژوهشی و تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان (اصفهان)، واقع در 20 کیلومتری شمال شرق شهر اصفهان، انجام گردید. خاک در این تحقیق با بافت سنگین (لوم رسی) از عمق 30-0 سانتی متر سطح خاک برداشت شد. کلیه خصوصیات فیزیکی و شیمیائی خاک از قبیل بافت خاک، میزان نیتروژن، فسفر، پتاسیم، ظرفیت تبادل کاتیونی، اسیدیته، هدایت الکتریکی، درصد مواد آلی، غلظت کل و غلظت قابل استخراج با DTPA سرب قبل از شروع آزمایش اندازه گیری شد. نتایج اولیه تجزیه فیزیکی و شیمیائی خاک در جدول 1 ارائه شده است.

جدول 1. خصوصیات فیزیکی و شیمیائی خاک قبل از آزمایش

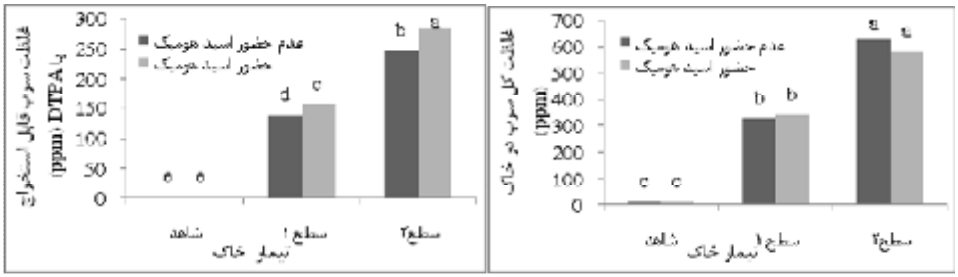
P	K	N	O.M	C.E.C	EC	pH	Pb_{DTPA}	Pb_{total}	Sand	Clay	Silt	Texture
($mg.kg^{-1}$)		(%)		(meq/100g)	(dS/m)		($mg.kg^{-1}$)		(%)			
46/05	449/7	0/13	0/25	11/7	2/3	8	1/62	17/5	16/17	20/83	63	لوم رسی

برای آلوده سازی خاک به سرب، در سطح (1) 400 میلی گرم بر کیلوگرم و سطح (2) 800 میلی گرم بر کیلوگرم، استات سرب ($Pb(CH3OO)2. 3 H2O$) در مقادیر لازم محاسبه و کاملا در آب مقطر حل شده و یکنواخت بر روی خاک اسپری گردید. سیکل دوم و سوم تر شدن خاک به ترتیب پس از یک و دو هفته جهت همگن شدن خاک انجام شد و نهایتا خاک، برای پر کردن گلدان ها هوا خشک گردید. با توجه به وزن هر گلدان (7 کیلوگرم) مقدار اسید هومیک مصرفی در هر گلدان 125 گرم محاسبه و به تعداد لازم توزین شد. گلدان ها در 6 تیمار 1- خاک اولیه (شاهد)، 2- خاک اولیه (شاهد) و اسید هومیک 3- خاک آلوده به 400 میلی گرم بر کیلوگرم سرب (سطح 1) 4- خاک آلوده به 400 میلی گرم بر کیلوگرم سرب (سطح 1) و اسید هومیک، 5- خاک آلوده به 800 میلی گرم بر کیلوگرم سرب (سطح 2) 6- خاک آلوده به 800 میلی گرم بر کیلوگرم سرب (سطح 2) و اسید هومیک، هرکدام در 3 تکرار آماده کشت شدند. بذر کلزا به صورت خطی و در عمق حدود 1 سانتی متری از سطح خاک کشت شد. بر اساس وضعیت حاصلخیزی خاک، ازت، فسفر و پتاسیم مورد نیاز گیاه زراعی تامین بوده و هیچ گونه کودی به گلدان ها داده نشد. آبیاری یکنواخت به همه گلدان ها و بر اساس 75% F.C روزانه انجام گردید، به گونه ای که هیچ زهابی از گلدان خارج نشود. پس از گذشت دو هفته و استقرار کامل بوته ها، تعداد آنها به 6 بوته در گلدان تقلیل یافت. برداشت گیاه

کلزا پس از هشت هفته که برگ ها متمایل به رنگ بنفش شدند صورت گرفت. پس از برداشت نمونه های گیاهی کاملا با آب مقطر شسته شدند. اندام هوائی و ریشه جداگانه به داخل پاکت های کاغذی منتقل شدند و به مدت 48 ساعت در آون در درجه حرارت 75 درجه سانتی گراد خشک شدند. نمونه های خشک شده به منظور انجام تجزیه شیمیائی، کاملا با آسیاب برقی پودر و نگهداری شدند. همزمان با برداشت گیاهان، از هر گلدان نیز نمونه خاک تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. برای اندازه گیری غلظت کل فلزات سنگین در خاک، هضم خاک به روش اکسیداسیون تر انجام گردید (Ryan et al., 2001). برای اندازه گیری غلظت قابل جذب فلزات سنگین در خاک از عصاره گیر DTPA به همراه کلرید کلسیم و محلول تری اتانول آمین استفاده شد (Lindsay and Norvell, 1978). برای اندازه گیری غلظت فلزات سنگین در گیاهان، روش هضم با اسید نیتریک 4 مولار در حرارت 95 درجه سانتی گراد استفاده شد (Soon and Abboud, 1993). پس از صاف نمودن عصاره ها با کاغذ صافی واتمن 42، غلظت فلزات سنگین به وسیله دستگاه جذب اتمی مدل پرکین المر 3030 اندازه گیری شد. داده های حاصل از تجزیه های آزمایشگاهی با استفاده از یک مدل آماری شامل تمامی اثرات فاکتورهای اصلی با استفاده از نرم افزار MS-TAT آنالیز شد. مقایسه میانگین بین سطوح مختلف تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید. نمودارها نیز بوسیله نرم افزار EXCEL ترسیم شدند.

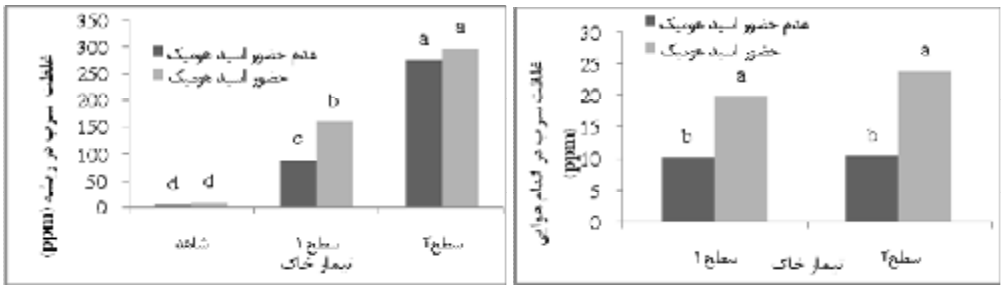
نتایج وبحث

نتایج نشان داد که با افزایش سطح سرب در خاک، همچنین اضافه نمودن اسید هومیک به خاک، غلظت سرب قابل استخراج با DTPA در خاک به طور معنی داری (به ترتیب$p<0.01$ و$p<0.05$) افزایش می یابد. غلظت کل سرب در خاک، با حضور اسید هومیک در مقایسه با شاهد تغییرمعنی داری نشان نداد (شکل 1).



شکل1. مقایسه غلظت کل و غلظت قابل دسترس عنصر سرب در تیمار های مختلف خاک

همانطور که در شکل 2 مشخص شده است، غلظت سرب در ریشه با زیاد نمودن غلظت این عنصر در خاک افزایش معنی داری نشان داده است ($p<0.01$). همچنین حضور اسید هومیک در خاک، جذب سرب توسط ریشه را در سطح یک سرب بطور معنی داری ($p<0.05$) افزایش داده است. ولی در سطح دو سرب و خاک شاهد (غیر آلوده) اختلاف معنی داری مشاهده نشد. غلظت سرب در اندام هوایی گیاه در تیمارهای خاک شاهد صفر بوده (در شکل نشان داده نشده است). افزایش غلظت سرب در خاک تاثیری در افزایش غلظت سرب در اندام هوایی نشان نداد. همچنین اگر چه استفاده از اسید هومیک موجب ازدیاد میزان غلظت سرب در اندام هوایی شد این اثر بین غلظت های متفاوت سرب در خاک معنی دار نبود (شکل 2).



شکل 2. مقایسه غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی کلزا در تیمار های مختلف خاک

میزان pH در خاک پس از اضافه شدن اسید هومیک به 7/7 کاهش نشان داده و اختلاف معنی داری را در سطح 1% با خاک های فاقد اسید هومیک نشان داد. دسترسی زیستی فلزات سنگین در خاک بوسیله عوامل متعددی همچون میزان ماده آلی خاک، ظرفیت تبادل کاتیونی و بخصوص pH (که خود تحت تاثیر میزان اسید های آلی می باشد) تغییر می نماید (Evangelou et al., 2004). چنانچه نشان داده شد، ازدیاد غلظت سرب در خاک و افزودن اسید هومیک به خاک جذب سرب در ریشه گیاه را افزایش داد. تاثیر اسید هومیک در غلظت های متوسط از آلودگی (سطح1) بیشتر از خاک های با آلودگی شدید (سطح 2) می باشد. غلظت سرب در اندام هوایی نیز در اثر استفاده از اسید هومیک حدود 50% افزایش یافت (شکل 2). افزایش غلظت کل سرب در سطح 1 غلظت سرب در اندام هوایی را از 0 به حدود 10 میلی گرم بر کیلو گرم افزایش داد. لیکن با افزایش سرب کل به سطح 2، غلظت سرب در اندام هوایی بدون تغییر باقی ماند. در واقع ملکولهای حامل عناصر سنگین از ریشه به اندام هوایی، دارای ظرفیت اتصال محدودی بوده و میزان مشخصی از یون ها را منتقل می نمایند (Evangelou et al., 2004). Bendiera و همکاران (2009) در نتایجی مشابه چنین گزارش نمودند که استفاده از اسید هومیک در خاک انتقال سرب از خاک به اندام هوایی را افزایش داده است، هرچند این افزایش در برخی موارد قابل توجه نبود. اسید هومیک با دارا بودن گروههای عاملی مختلف در سطوح خود می تواند با فلزات سنگین ایجاد کلات نموده و آنها را به صورت های قابل دسترس گیاهان تبدیل نماید (Evangelou et al., 2004). همچنین با کاهش pH خاک حلالیت عناصر و تبدیل آنها به فرمهای قابل جذب را تشدید می کند. این به تشکیل کمپلکس های فلزی با اسید هومیک مرتبط است که موقتا زیست فراهمی فلزات را تشدید نموده و مانع تبدیل سریع آنها به شکل نامحلول می شود (Halim et al., 2003). با توجه به تحقیقات Li و Shuman (1996)، Evangelou و Marsi (2001) و Halim و همکاران (2003)، آنها به نتایج مشابهی در مورد افزایش دسترسی زیستی عناصر سنگین و قابلت تحرک آنها در خاک و درنتیجه افزایش کارایی گیاه پالایی، بوسیله کاربرد اسید هومیک دست یافتند. به طور کلی کاربرد اسید هومیک سبب افزایش معنی دار جذب سرب در اندام های گیاه کلزا (بخصوص ریشه)، کشت شده در سطوح مختلف سرب، گردید و راندمان گیاه پالایی سرب را توسط گیاه کلزا بطور معنی داری افزایش داده است. بنابراین کشت کلزا به همراه اسید هومیک می تواند روش موثری در پالایش خاک های آلوده به سرب باشد. از دیگر مزایای کاربرد اسید هومیک در خاک جذب مقادیر بیشتری از فلز در زمان کوتاهتر می باشد (Evangelou et al., 2004).

منابع

Bandiera M, Mosca G, Vamerali T. 2009. Humic acids affect root characteristics of fodder radish (Raphanus sativus L. var. oleiformis Pers.) in metal-polluted wastes. Desalination, 246: 78–91.

Boye K. 2002. Phytoextraction of Cu, Pb and Zn. A Greenhouse Study; Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala.

Evangelou MWH, Daghan H, Schaeffer A. 2004. The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil, Chemosphere. 57: 207-213.

Evangelou VP, Marsi M, 2001. Composition and metal ion complexation behaviour of humic fractions derived from corn tissue. Plant Soil 229: 13–24.

Ghosh M, Singh SP, 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. Aplied Ecology and Environment Research., 3(1): 1-18.

Halim M, Conte P, Piccolo A. 2003. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances, Chemosphere, 52: 265-275.

Kumar PBAN, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. Environ Sci Tech, 29(5):1232-1238.

Lasat MM, 2000. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interactions and assessment of pertinent agronomic issues. Hazardous Substance Research. 2: 1–25.

Li Z, Shuman LM, 1996. Heavy metal movement in metal contaminated soil profiles. Soil Sci. 161: 656–666.

Lindsay WL, Norwell WA. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Sci. Soc. Am. J., 42: 328-421.

Ryan J, Estefan G, Rashid A. 2001. Soil and Plant Analysis Laboratory Manual. International Center for Agriculture Research in Dry Areas (ICARDA) and the National Agriculture Research Center (NARC). Available from ICARDA, Aleppo, Syria. 172 p.

Saifullah ME, Qadir M, de Caritat P, Tack FMG, du Laing G, Zia MH. 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction. Chemosphere 74: 1279-1291.

Soon YK and Abboud S. 1993. Cadmium, Chromium, Lead and Nickel. PP. 103-107. *In*: M. R. Carter (Ed.), Soil Sampling and Methods of Analysis. Lewis publishers, Chelsea, MI.