



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

## تأثیر EDTA بر کیفیت حاصلخیزی خاک و خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای گیاه دارویی *Marrubium cuneatum* تحت تنش عناصر بالقوه سمی

صادق حسین‌نیاپی، محمد جعفری، علی طویلی\*، سلمان زارع

گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

### چکیده

زمینه و هدف: اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، به عنوان یک عامل کلاتور مصنوعی برای اصلاح خاک‌های آلوده به عناصر بالقوه سمی شناخته شده است. *Marrubium cuneatum* از جمله گیاهان دارویی با کاربرد گیاه‌پالایی است که تأثیر EDTA بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی این گونه و خاک تحت کشت آن بررسی شد.

روش بررسی: گونه *M. cuneatum* به مدت شش ماه در گلخانه در خاک معدنی آلوده به عناصر بالقوه سمی تحت سطوح مختلف EDTA (۰، ۱، ۳، ۵ mmol/kg) رشد داده شد و سپس زیست توده و غلظت عناصر درشت و ریز مغذی آن و خصوصیات بیوشیمیایی خاک مانند ماده آلی، فعالیت آنزیم‌های خاک و جمعیت میکروبی اندازه‌گیری شد. همچنین یک مدل رگرسیونی بین غلظت EDTA و وزن شاخساره به منظور پیش‌بینی پاسخ رشدی گیاه برقرار شد.

یافته‌ها: غلظت ۵ mmol/kg EDTA به ترتیب سبب کاهش ۱۱ و ۲۱/۹ درصدی وزن خشک شاخه و ریشه نسبت به شاهد شد. عناصر درشت مغذی ریشه با اعمال EDTA نسبت به شاخه کمتر متحمل کاهش شدند و بیشترین کاهش مربوط به پتاسیم شاخساره با ۴۰/۷۰ درصد نسبت به شاهد بود و نسبت پتاسیم به سدیم به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرد. علی‌رغم بهبود برخی پارامترهای خاک در سطوح پایین EDTA، دوز ۵ mmol/kg به ترتیب منجر به مهار ۳۰ و ۱۰ درصدی فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز شد. رابطه رگرسیونی بین EDTA و وزن شاخساره نشان داد که حداکثر وزن خشک، در غلظت ۲/۴ mmol/kg حاصل شد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی با توجه به اثرات کم و بیش نامطلوب EDTA از غلظت ۳ mmol/kg بر خاک و گیاه و مدل پیش‌بینی پاسخ رشدی *M. cuneatum*، پیشنهاد می‌شود سطوح بیش از ۲/۴ mmol/kg این ماده آزمایشی مورد بررسی قرار گیرد تا دوز دقیقی را که آغازگر تأثیرات منفی در خاک و گیاه است مشخص شود.

### اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۷  
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۴  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۸  
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱

واژگان کلیدی: *Marrubium cuneatum*، EDTA، عناصر مغذی، زیست توده، آنزیم‌های خاک

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:  
atavili@ut.ac.ir

Please cite this article as: Hosseinniaee S, Jafary M, Tavili A, Zare S. Effect of EDTA on soil quality and growth and nutrients characteristics of the medicinal plant *Marrubium cuneatum* under potentially toxic elements stress. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2024;17(3):511-30.

## مقدمه

عناصر بالقوه سمی، عناصر کمیابی هستند که در مقادیر بسیار کم به عنوان ریز مغذی (کبالت، مس، کروم، منگنز و روی) برای گیاهان و حیوانات مورد نیاز هستند (۱)، در حالی که برخی دیگر غیر ضروری بوده و آلودگی های وسیعی را در خاک ایجاد می کنند (۲). آلودگی عناصر بالقوه سمی در خاک عمدتاً به دلیل فعالیت های انسانی مانند معدن کاری، آبیاری فاضلاب فاضلاب، کاربرد لجن فاضلاب شهری و کاربرد کودهای شیمیایی و همچنین صنعتی سازی سریع رخ می دهد (۳، ۴). خاک ها پیچیده ترین سیستم طبیعی هستند و آسیب پذیری فعلی آنها به دلیل فرآیندهای مختلف تخریب و آلودگی بی سابقه بوده و وجود عناصر بالقوه سمی مانند سرب، روی، مس و کادمیوم که در خاک باقی می ماند، یک وضعیت هشدار دهنده است (۵، ۶). آلودگی عناصر بالقوه سمی نه تنها بر عملکرد بوم سازگان تأثیر می گذارد، بلکه با توجه به انتقال آن ها به انسان از گیاهان و حیوانات از طریق زنجیره غذایی تهدیدات بالقوه ای برای سلامتی انسان به همراه دارد و به یک بحث مورد علاقه در میان جامعه علمی تبدیل شده است (۷، ۸). امروزه سرب و کادمیوم به دلیل سمیت و ماندگاری بالا، بیشترین آلاینده های سمی گزارش شده هستند (۹، ۱۰). کادمیوم فلزی است که از نظر بیولوژیکی ضروری نیست، در محیط رایج است و معمولاً در غذاها یافت می شود. این فلز عمدتاً از طریق استنشاق و بلع وارد بدن می شود و با نیمه عمر بیولوژیکی در انسان تا ۳۵ سال، خطرات طولانی مدتی برای سلامتی به همراه دارد (۱۱). همچنین با تجمع در سلول های ایمنی، عملکرد سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار داده و در بسیاری از مسائل مربوط به سلامتی نقش دارد (۱۲). سرب به دلیل حلالیت بالای آن یک خطر بالقوه سلامت برای انسان و محیط زیست است که نگرانی هایی را در پی دارد (۱۳). این عنصر با تأثیر بر عملکرد ریه سبب کم خونی می شود (۱۴). علاوه بر این، قرار گرفتن در معرض سرب می تواند باعث ایجاد اختلالات عصبی، تنفسی، ادراری و قلبی عروقی به دلیل مکانیسم های ایمنی، اکسیداتیو و التهابی شود

(۱۵). بنابراین، اصلاح خاک آلوده به عناصر بالقوه سمی برای بهبود سلامت سیستم اکولوژیکی و انسان مهم است. روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای پاکسازی خاک های آلوده وجود دارد که اکثراً بر هزینه بوده و تأثیرات منفی بر محیط به جا می گذارند. در این میان، گیاه پالایی یک فناوری اصلاحی مقرون به صرفه، سازگار با محیط زیست و نوظهور است که مناطق آلوده را با استفاده از گیاهان احیاء می کند (۱۶)، این قابلیت را دارد که اکوسیستم ها را احیاء و مناطق آسیب دیده را دوباره قابل استفاده کند (۱۷). کارایی گیاهان برای حذف عناصر بالقوه سمی به دلیل دسترس پذیری (فراهمی) پایین آنها در خاک محدود است، بنابراین عوامل کلات کننده آلی و غیر آلی برای افزایش حلالیت این عناصر مورد استفاده قرار می گیرد (۱۸). اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، یک عامل کلاتور (کلات کننده) مصنوعی است که برای افزایش جذب فلزات توسط گیاهان استفاده می شود. به طور کلی عناصر از طریق مسیرهای زیر می توانند به محدوده ریشه گیاه ورود کنند: (۱) انتقال از طریق انتشار یا جریان های توده ای، (۲) جذب ریشه های گیاه و (۳) تعامل با گروه های عملکردی بر روی سطح ریشه (۱۹). در حضور EDTA، شکل گیری کمپلکس های فلز-EDTA تقریباً بر تمامی مسیرهای ورود عناصر به ریشه تأثیر می گذارد (۲۰). یکی از سازوکارهایی که EDTA انتشار فلز به درون ریشه را تقویت می کند، ممکن است جذب فلزات از خاک توسط EDTA و افزایش مقدار آن در خاک باشد. با توجه به خواص فیزیکی و شیمیایی EDTA، این عامل کلات کننده به طور گسترده ای برای اصلاح خاک های آلوده به عناصر بالقوه سمی همراه با گیاهان به کار برده شده است، که نشان دهنده تأثیر تقویتی آن بر جذب این عناصر است (۲۱). در مطالعه ای اثر EDTA با غلظت ۲/۵ mM و عناصر بالقوه سمی کروم، کادمیوم، روی، نیکل و سرب در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰  $\mu\text{M}$  بر گونه *Petunia hybrida L.* بررسی شد. نتایج نشان داد که EDTA غلظت فلزات کروم، کادمیوم، نیکل و سرب را در شاخه و عنصر مس را در ریشه افزایش داده است

بر خصوصیات خاک و گیاه را در مطالعات گیاه‌پالایی بررسی شود تا حتی‌الامکان آثار منفی آن را به حداقل رساند. گونه *Marrubium cuneatum*، یک گیاه علفی چند ساله یا بوته‌ای از خانواده نعنائیان (Lamiacea) با ریزوم چوبی قطور و ساقه‌های متعدد به ارتفاع ۸۵-۲۰ cm، ساده یا گاهی از منطقه پایین گل‌آذین منشعب، پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای، با برگ‌های کم و فاصله میانگره‌ها تا ۱۰ cm است. این گونه به عنوان یک گیاه انباشتگر عناصر بالقوه سمی مانند روی، سرب، کادمیوم و کروم شناخته شده است که توانایی استخراج این فلزات از خاک‌های آلوده را دارد، که با کاربرد عوامل کلات‌کننده می‌توان توانایی گیاه‌پالایی آن را تقویت کرد (۱۷). علی‌رغم تحقیقاتی در زمینه تأثیر EDTA برای اهداف گیاه‌پالایی، مطالعات جامع در رابطه با کاربرد این عامل کلات‌کننده بر خصوصیات مختلف خاک و گیاه محدود است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف EDTA بر خصوصیات شیمیایی و بیوشیمیایی خاک، خصوصیات رشدی و جذب عناصر درشت و ریز مغذی و عناصر سرب، روی و کادمیوم در بخش هوایی و زیرزمینی گونه *M. cuneatum* است، تا بتوان با توجه به نتایج حاصله سطح مناسب این عامل کلات‌کننده را برای اهداف گیاه‌پالایی با این گیاه پیشنهاد کرد.

## مواد و روش‌ها

### تیمار خاک و آزمایش گلخانه‌ای

خاک لازم برای کشت در گلدان از خاک‌های آلوده به عناصر بالقوه سمی معدن سرب و روی انگوران زنجان در سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. به طوری که از چندین نقطه از معدن، نمونه خاک سطحی برداشت و به طور کامل با یکدیگر مخلوط شدند. به منظور حذف بقایای گیاهان و سنگ و سنگریزه در گلخانه، خاک از الک ۲ mm عبور داده شد. برخی از خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. خاک مورد آزمایش با ۲/۳۳ و ۰/۱۹ درصد به ترتیب

(۲۲). محققانی تأثیر EDTA با غلظت ۵۰۰ mg/kg و غلظت‌های ۱۵۰۰-۰ mg/kg سرب را بر توانایی گیاه‌پالایی پنج گونه مختلف بامبو (*bamboos*) به نام‌های *Arundinaria fortune*، *Arundinaria argenteostriata* و *Sasa auricoma*، *Pleioblastus kongosanensis* و *Sasaella glabra* به منظور جذب سرب بررسی نمودند، نتایج این مطالعات نشان داد که EDTA در تمامی غلظت‌های سرب باعث افزایش تجمع آن در اندام‌های گیاهان شده است و این افزایش در ریشه نسبت به سایر اندام‌ها بیشتر بود (۲۳). Li و همکاران تأثیر سطوح ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ mM/kg EDTA را بر گیاه *Lolium perenne L.* در یک خاک آلوده به عناصر بالقوه سمی در شرایط گلخانه بررسی کردند، نتایج مطالعات این محققان حاکی از آن بود که با افزودن EDTA، ۳۳ درصد مس، ۳۱ درصد روی، ۵۶ درصد نیکل، ۲۴ درصد کادمیوم و ۶۸ درصد سرب خاک کاهش پیدا کرد (۲۴). این عامل کلات‌کننده با غلظت ۲/۵ mmol/kg به خاک آلوده شده با ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg سرب اضافه و تأثیر آن بر گیاهان *Tagetes patula* و *Amaranthus caudatus* بررسی شد؛ یافته‌ها حاکی از آن بود که در غلظت ۲۰۰ mg/kg، وزن خشک این گیاهان با کاربرد EDTA افزایشی است، در حالی که در ۴۰۰ mg/kg وزن خشک کاهش پیدا کرد، همچنین EDTA منجر به افزایش تجمع سرب در ریشه‌های *A. caudatus* شد اما در رابطه با *T. patula* تأثیر بر جذب توسط ریشه منفی بود (۲۵). با این حال، EDTA دارای خاصیت زیست‌تخریب‌پذیری ضعیفی است و در محیط باقی می‌ماند و تأثیرات منفی بر عملکرد خاک و رشد گیاه به جای می‌گذارد. این عامل کلات‌کننده با تجزیه مواد آلی خاک می‌تواند خواص خاک را مختل کند (۵). همچنین ظرفیت نگهداری آب و پایداری کمتر خاک اصلاح شده با EDTA (۲۶)، کاهش جمعیت میکروبی، تنفس میکروبی و مهار فعالیت آنزیم‌های خاک در حضور آن (۲۷) و تأثیر منفی بر رشد و توسعه گیاه (۴، ۲۴) گزارش شده است. بنابراین بایستی تأثیرات این ماده اصلاحی

که بذرها دارای خواب بودند، برای شکست خواب آن‌ها تیمار اسید جیبرلیک ۲۵۰ ppm استفاده شد. در این مطالعه، کشت گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) در چهار گروه با سه تکرار انجام شد. چند عدد بذر در هر گلدان کاشته شد و بعد از جوانه‌زنی در نهایت یک گیاهچه باقی ماند و بقیه آن‌ها خرد و با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. عملیات آبیاری و داشت گلدان‌ها به طور منظم به مدت شش ماه در گلخانه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران (دمای روز:  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  و دمای شب:  $15 \pm 5^\circ\text{C}$ ) انجام شد. اتیلن‌دی‌آمین‌تترا‌آسیتیک اسید (EDTA) در سطوح ۰، ۱، ۳ و ۵ mmol/kg (۲۴) ۵۰ روز قبل از برداشت گیاه همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه شد.

ماده آلی و نیتروژن کل و همچنین با مقدار پتاسیم و فسفر محلول ۴۹۴ و ۴۱/۶ mg/kg به ترتیب، برای کشت گلخانه‌ای مناسب بود. غلظت فلزات کل کادمیوم، روی و سرب در خاک گلدان‌ها به ترتیب برابر ۶/۸۵، ۵۶۸/۴۲ و ۴۷۲ mg/kg است که بسیار فراتر از مقدار زمینه آن‌ها (۳/۰، ۹۵ و ۲۰ mg/kg به ترتیب برای کادمیوم، روی و سرب) (۲۸) است، که بیانگر آلودگی قابل توجه خاک مورد استفاده است. بذر گونه *M. cuneatum* از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد و قبل از شروع آزمایش به مدت سه دقیقه با استفاده از محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم ضد عفونی شد، سپس چندین مرتبه با آب مقطر شستشو گردید. از آنجا

#### جدول ۱- برخی از خصوصیات خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای

| متغیر                       | خاک    |
|-----------------------------|--------|
| اسیدیته (pH)                | ۷/۱۲   |
| هدایت الکتریکی (ds/m)       | ۰/۳۱   |
| نیتروژن کل (%)              | ۰/۱۹۵  |
| فسفر (P) محلول (mg/kg)      | ۴۱/۶   |
| پتاسیم (K) قابل جذب (mg/kg) | ۴۹۴    |
| ماده آلی (%)                | ۲/۳۳   |
| سرب کل (mg/kg)              | ۴۷۲    |
| کادمیوم کل (mg/kg)          | ۶/۸۵   |
| روی کل (mg/kg)              | ۵۶۸/۴۲ |

خاک بعد از اضافه کردن ۳ mL اسیدکلریدریک ۱ N و ۱ mL ۱۲ اسید نیتریک ۴ N به ۱ g خاک خشک به مدت ۲ h در دمای جوش قرار گرفت و سپس با رساندن نمونه‌ها به حجم ۵۰ mL استخراج گردید. استانداردهای فلزات سنگین با استفاده از رقیق‌سازی ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ ppm محلول استاندارد گواهی شده ساخت کشور سوئیس (سیگما آلدریج) تهیه شد و بعد از کالیبره کردن دستگاه ICP-OES، درنهایت فلزات سنگین نمونه‌ها قرائت شد. در نهایت با استفاده از دستگاه ICP-OES نمونه‌ها قرائت شد.

#### تعیین فعالیت‌های آنزیمی و جمعیت میکروبی خاک

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز ۵ g خاک با ۰/۲ mL محلول اوره تیمار شد و سپس ۹ mL بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینومتان) به آن اضافه و در دمای ۳۷ °C به مدت ۲ h انکوباسیون شد. سپس ۳۵ mL محلول  $KCl-Ag_2SO_4$  به آن اضافه شد. مقدار آمونیوم آزاد شده، به روش رنگ‌سنجی بر حسب میکروگرم آمونیوم آزاد شده به ازای هر گرم خاک در ساعت ( $\mu\text{g N-NH}_3^+ \text{g}^{-1} \text{soil h}^{-1}$ ) به دست آمد (۳۴). به منظور تعیین فعالیت آنزیم دهیدروژناز، ۵ g خاک با ۵ mL محلول تری‌فنیل تترازولیوم کلرید (TTC) با غلظت ۱ درصد حل گردید و به مدت ۲۴ h در تاریکی و دمای ۳۰ °C نگهداری شد، پس از آن برای عصاره‌گیری تری‌فنیل‌فرمازان تولیدشده به همه لوله‌ها ۲۵ mL استون اضافه و به مدت ۲ h در تاریکی عمل شیک ادامه یافت و بعد از فیلتر، جذب تراکم رنگ با اسپکتروفتومتر در ۵۴۶ nm صورت  $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{soil h}^{-1}$  گزارش شد (۳۵). برای شمارش جمعیت باکتریایی از نمونه سوسپانسیون ۱:۱۰۰ خاک به آب، رقت‌های  $10^{-3}$  -  $10^{-5}$  ایجاد شد و از هر رقت به مقدار ۱ mL نمونه به درون پتری‌دیش‌های استریل ریخته شد. بعد از اضافه کردن محیط کشت آماده شده R2A و انکوباسیون نمونه‌ها، میانگین تعداد کلنی‌ها در هر گرم خاک به دست آمد (۳۶).

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون

#### برداشت نمونه‌ها

پس از شش ماه از زمان کشت، ریشه و شاخه گیاهان از هم جدا شد و برای حذف ذرات خاک شستشو داده شدند. بعد از تعیین وزن تر اندام هوایی و زیرزمینی، نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ h در آن در دمای ۷۰ °C قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند و در ادامه وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خاک نیز به دو بخش تقسیم شد، مقداری از نمونه‌ها به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های خاک و جمعیت میکروبی، تا زمان آزمایش در یخچال در دمای ۴ °C قرار داده شدند. بخش دیگر نمونه‌ها نیز به منظور اندازه‌گیری فلزات تبادل، اسیدیته (pH)، شوری (EC)، فسفر قابل دسترس، پتاسیم قابل جذب و ماده آلی در دمای اتاق تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. *اندازه‌گیری خصوصیات خاک و تعیین عناصر بالقوه سمی گیاه و خاک*

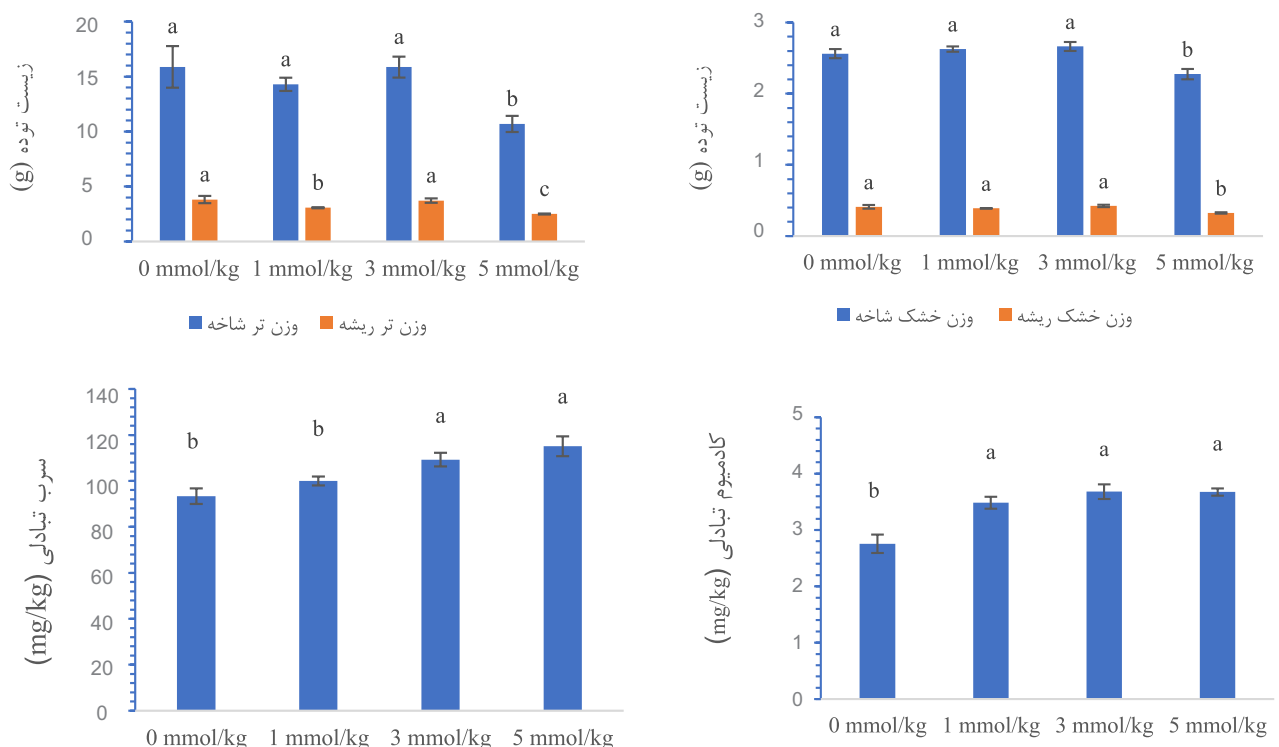
اندازه‌گیری بافت خاک به روش هیدرومتری (۲۹) و با استفاده از مثلث بافت خاک انجام شد. با استفاده از نسبت سوسپانسیون ۱:۲/۵ خاک به آب اندازه‌گیری pH و EC خاک اندازه‌گیری شد. ماده آلی خاک به روش والکی بلک (Walkley-Black) و با استفاده از بی کرومات پتاسیم و اسید سولفوریک (۳۰)، فسفر محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر به روش اولسون و پتاسیم و سدیم قابل جذب نیز با استفاده از استات آمونیوم و فلیم فتومتری اندازه‌گیری شدند (۳۱). به منظور تعیین غلظت عناصر بالقوه سمی و عناصر درشت مغذی (فسفر، کلسیم، پتاسیم، منیزیم) و ریز مغذی (منگنز، مس، نیکل) در بافت‌های گیاهان، ۰/۲۰ g از پودر خشک شده هر نمونه در کوره ۵۰۰ °C به مدت ۶ h قرار داده شد و بعد از اضافه کردن ۲۰ mL اسیدکلریدریک ۱ N و حرارت دادن به مدت ۲۰ min در دمای جوش، سپس فیلتر و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ mL رسانده شد (۳۲). فلزات تبادل خاک با استفاده از اضافه نمودن ۲۰ mL محلول دی‌اتیلن تری‌آمین پنتااستیک اسید (DTPA ۰/۰۵ M) به ۲ g خاک خشک و سپس شیکر کردن به مدت ۲ h اندازه‌گیری شد (۳۳). مقدار فلزات کل

منفی بر رشد گیاه نداشته و حتی در برخی موارد به مقدار جزئی سبب تقویت زیست‌توده شده است، در حالی که با رسیدن غلظت EDTA به  $5 \text{ mmol/kg}$  وزن گیاه به طور معنی‌داری کاهش یافته است (شکل ۱). تیمار  $5 \text{ mmol/kg}$  به ترتیب سبب کاهش  $32/7$  و  $34/6$  درصدی وزن تر شاخه و ریشه نسبت به تیمار شاهد شد، این کاهش در زیست‌توده خشک به ترتیب برای اندام هوایی و زیرزمینی  $11$  و  $21/9$  درصد است (شکل ۱). در این مطالعه، فراهمی عناصر بالقوه سمی با اعمال ماده کلات کننده EDTA به طور معنی‌داری در خاک افزایش پیدا کرد و این افزایش تقریباً با غلظت تیمار اعمالی همبستگی داشت، به طوری که با افزایش دوز EDTA، مقدار تبدلی عناصر نیز افزایش یافت. به طور کلی عامل کلات کننده به ترتیب باعث افزایش  $34/8$ ،  $23/25$  و  $33/8$  درصد محتوای روی، سرب و کادمیوم قابل دسترس شد (شکل ۱).

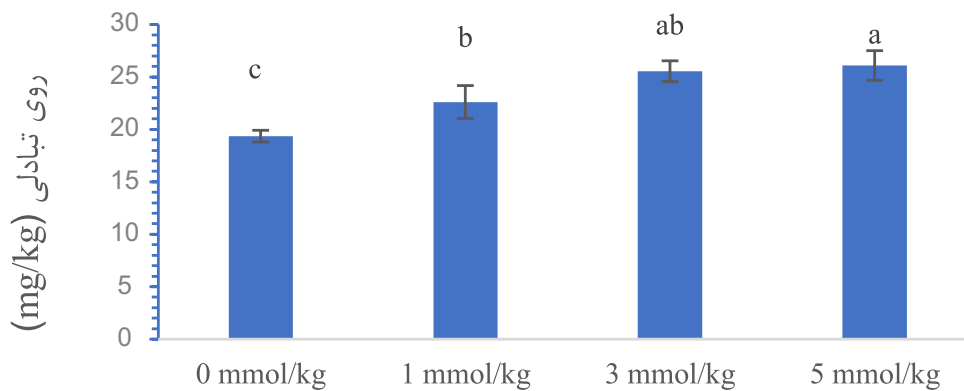
کولموگروف - اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov)، به منظور بررسی اختلاف معنی‌داری تیمارها ( $p < 0/50$ ) تجزیه واریانس یکطرفه بر روی داده‌ها صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از گروه‌بندی توکی انجام شد. همچنین برای مشخص کردن پاسخ رشد گیاه به کاربرد EDTA، رابطه رگرسیونی بین وزن خشک اندام هوایی و غلظت این عامل کلات کننده برقرار شد. تمام تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 صورت گرفت.

### یافته‌ها

زیست‌توده گیاهی و عناصر بالقوه سمی قابل دسترس - نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اعمال تیمار EDTA، وزن تر و خشک اندام هوایی و زیرزمینی گونه *M. cuneatum* را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داده است (شکل ۱). به طور کلی سطوح  $1$  و  $3 \text{ mmol/kg}$  از این ماده آزمایشی اثر



شکل ۱- تغییرات زیست‌توده تر و خشک گیاه و غلظت فلزات قابل دسترس خاک در اثر اعمال EDTA (حروف متفاوت مربوط به هر ویژگی نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.)



ادامه شکل ۱- تغییرات زیست‌توده تر و خشک گیاه و غلظت فلزات قابل دسترس خاک در اثر اعمال EDTA (حروف متفاوت مربوط به هر ویژگی نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است).

معنی‌داری افزایشی شد و بیشترین مقدار آن با اختلاف ۷۰/۷ درصد نسبت به شاهد، مربوط به سطح ۳ mmol/kg بود (جدول ۲). مشابه مس، مقدار نیکل اندام زیرزمینی نیز در حضور عامل کلات کننده تقویت پیدا کرد و حداکثر میزان آن با ۶۸/۸ درصد افزایش نسبت به گروه بدون تیمار در سطح ۳ mmol/kg یافت شد (جدول ۲). میزان منگنز ریشه گیاه در حضور EDTA، تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد، با این حال ۳ mmol/kg از این عامل کلات کننده، غلظت این عنصر را تا ۱۴ درصد نسبت به شاهد بالا برد (جدول ۲). در رابطه با غلظت عناصر بالقوه سمی، نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که غلظت هر سه فلز سرب، روی و کادمیوم به طور معنی‌داری بعد از اعمال کلات EDTA به خاک گلدان‌ها، در ریشه گونه *M. cuneatum* افزایش یافته است (جدول ۲). بیشترین مقدار روی و سرب به ترتیب با ۱۲ و ۵۳۲ درصد افزایش نسبت به گروه شاهد در بالاترین غلظت تیمار آزمایشی (۵ mmol/kg) به دست آمد. بالاترین غلظت کادمیوم نیز مربوط به دوز ۳ mmol/kg بود که اختلافی در حدود ۱۲۰ درصد را با تیمار شاهد نشان داد (جدول ۲). نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که غلظت‌های کلسیم و منیزیم در شاخه گونه *M. cuneatum* به شکل معنی‌داری

#### غلظت عناصر در بافت‌های گیاه

نتایج بیانگر این است که کاربرد تیمار EDTA منجر به اختلاف معنی‌دار اکثر عناصر در بخش زیرزمینی و هوایی گیاه شده است (جدول ۲). این ماده آزمایشی به طور معنی‌داری غلظت کلسیم را در ریشه گیاه *M. cuneatum* بهبود بخشید، به طوری که تیمارهای ۱ و ۵ mmol/kg تا حدود ۲۰ درصد میزان این عنصر را در مقایسه با شاهد افزایش دادند (جدول ۲). برخلاف کلسیم، منیزیم ریشه تحت تأثیر این عامل کلات کننده تغییر معنی‌داری پیدا نکرد و حتی تا حدی کاهش یافت. تفاوت مقدار فسفر ریشه در بین تیمارهای مورد بررسی معنی‌دار بود و در سطح ۱ mmol/kg تیمار EDTA، غلظت آن نسبت به شاهد ۵/۵ درصد بالاتر بود، در حالی که در سطوح ۳ و ۵ mmol/kg کاهش ۱۲ و ۱۷/۴ درصدی این عنصر نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). با وجود عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مورد بررسی، میزان پتاسیم ریشه گیاه نیز در حضور EDTA ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد، به طوری که کاربرد ۱ mmol/kg از EDTA، پتاسیم ریشه را از ۳۱/۶۱ در تیمار شاهد به ۳۳/۳۷ g/kg رساند (جدول ۲). غلظت مس در ریشه گیاه بعد از اضافه شدن EDTA، به طور

با ۵۲ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد در سطح ۵ mmol/kg به دست آمد. در رابطه با ریز مغذی منگنز، غلظت آن در سرشاخه‌های گیاهی تقریباً رابطه مستقیمی با مقدار EDTA اعمال شده در گلدان‌ها نشان داد و دوز ۱ mmol/kg اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت، در حالی که سطوح ۵ و ۳ mmol/kg از این ماده مصرفی به ترتیب سبب بهبود ۳۲/۵ و ۴۸/۸ درصد این عنصر در اندام هوایی گیاه شدند (جدول ۲).

نتایج نشان می‌دهد وقتی که EDTA به خاک آلوده اضافه شد، محتوای عناصر روی، سرب و کادمیوم به مقدار زیادی در بخش هوایی گیاه افزایش یافته است و برای هر سه فلز کمترین میزان غلظت در گروه بدون ماده آزمایشی EDTA مشاهده شد (جدول ۲). در رابطه با روی، بیشترین میزان آن در بالاترین سطح EDTA مصرفی، با ۹۹ درصد اختلاف نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. فلزات سرب و کادمیوم نیز رابطه مستقیمی با غلظت EDTA نشان دادند، به طوری که با افزایش دوز این ماده، غلظت این عناصر در اندام هوایی گیاه نیز بالاتر رفت و در سطح ۵ mmol/kg با افزایش ۵۶۳ و ۲۹۹ درصد به ترتیب برای سرب و کادمیوم به حداکثر مقدار رسید (جدول ۲).

تحت تأثیر اعمال عامل کلات کننده EDTA قرار گرفته‌اند. به طور کلی با افزایش دوز ماده مصرفی، میزان منیزیم کاهش یافته و در سطح ۵ mmol/kg با کاهش ۳۷/۱۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد، به پایین‌ترین مقدار رسیده است، کمترین غلظت کلسیم نیز با اختلاف ۲۸/۱۲ درصدی نسبت به شاهد در تیمار ۳ mmol/kg مشاهده شد (جدول ۲). اختلاف معنی‌داری بین دوزهای پایین EDTA با شاهد در رابطه با غلظت فسفر بخش هوایی گیاه وجود نداشت، در حالی که با رسیدن غلظت ماده آزمایشی به ۵ mmol/kg، غلظت این عنصر ۳۱/۴۰ درصد نسبت به تیمار بدون عامل کلات کننده کاهش پیدا کرد (جدول ۲). مقدار پتاسیم شاخه با غلظت EDTA رابطه مستقیمی را نشان داد، به طوری که با افزایش این ماده سطح پتاسیم در بخش هوایی گیاهی کاهش پیدا کرد و کمترین میزان آن با ۴۰/۷۰ درصد اختلاف نسبت به شاهد در تیمار ۵ mmol/kg یافت شد (جدول ۲).

با کاربرد EDTA، میزان مس در بخش هوایی گیاه تغییرات معنی‌داری را نشان نداد، با اینحال مقدار آن نسبت به تیمار شاهد به آرامی بالاتر رفت. نیکل شاخه در حضور عامل کلات کننده به شکل قابل توجهی افزایش یافت و بیشترین مقدار آن

جدول ۲- تأثیر عامل کلات کننده EDTA بر عناصر تغذیه‌ای و عناصر بالقوه سمی گیاه (mean±SD; n=3)

| E3                         | E2                          | E1                         | CK                          |        |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------|
| ۱۴/۹۸ <sup>a</sup> ±۰/۸۴   | ۱۲/۸۹ <sup>ab</sup> ±۰/۲۹   | ۱۴/۶۷ <sup>a</sup> ±۰/۹۱   | ۱۲/۴۸ <sup>b</sup> ±۱/۰۷    | کلسیم  |
| ۷/۹۶ <sup>a</sup> ±۰/۹۲    | ۷/۴۸±۰/۵۸                   | ۷/۴۶ <sup>a</sup> ±۰/۷۱    | ۹/۲۴ <sup>a</sup> ±۱/۲۴     | منیزیم |
| ۱/۷۸±۰/۱۱                  | ۱/۸۴ <sup>b</sup> ±۰/۲۱     | ۲/۴۳ <sup>a</sup> ±۰/۲۲    | ۲/۰۹ <sup>ab</sup> ±۰/۲۰    | فسفر   |
| ۲۸/۱۰ <sup>a</sup> ±۲/۴۹   | ۲۸/۲۴ <sup>a</sup> ±۲/۰۹    | ۳۳/۳۷ <sup>a</sup> ±۲/۶    | ۳۱/۶۱ <sup>a</sup> ±۳/۴     | پتاسیم |
| ۵۰/۱۳ <sup>a</sup> ±۷/۱۴   | ۵۵/۵۴ <sup>a</sup> ±۵/۱۹    | ۴۱/۸۱ <sup>ab</sup> ±۲/۲۴  | ۳۲/۵۳ <sup>b</sup> ±۵/۳۶    | مس     |
| ۱۶/۵۱ <sup>ab</sup> ±۲/۸۲  | ۱۸/۹۸ <sup>a</sup> ±۲/۴۴    | ۱۳/۴۹ <sup>ab</sup> ±۲/۷۴  | ۱۱/۲۴ <sup>b</sup> ±۱/۷۶    | نیکل   |
| ۱۱۶/۳۴ <sup>a</sup> ±۱۲/۱۶ | ۱۲۸/۳۹ <sup>a</sup> ±۱۷/۵۱  | ۱۱۲/۵۸ <sup>a</sup> ±۱۴/۶۶ | ۱۱۲/۹۴ <sup>a</sup> ±۱۳/۰۱  | منگنز  |
| ۴۵۱/۶۶ <sup>a</sup> ±۲۳/۸۲ | ۴۳۷/۶۹ <sup>ab</sup> ±۲۰/۳۶ | ۳۹۹/۷۲ <sup>b</sup> ±۱۷/۸۰ | ۴۰۳/۵۹ <sup>ab</sup> ±۱۳/۲۵ | روی    |

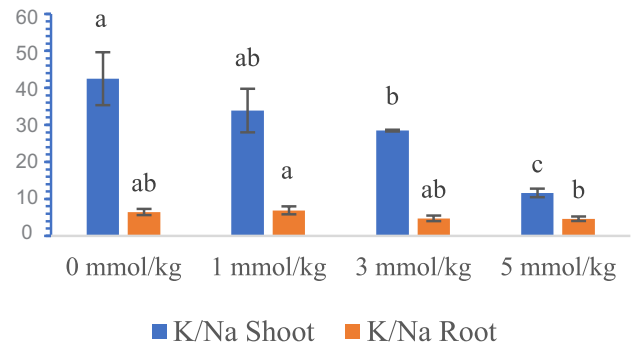
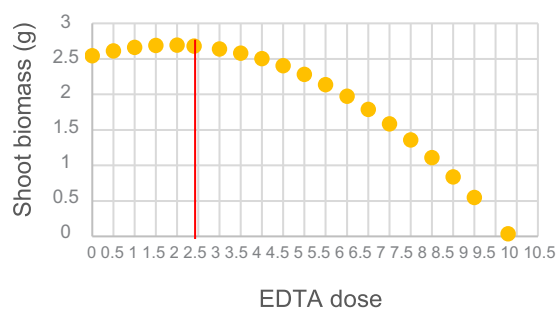
ادامه جدول ۲- تأثیر عامل کلات کننده EDTA بر عناصر تغذیه‌ای و عناصر بالقوه سمی گیاه (mean±SD; n=3)

| E3                         | E2                         | E1                         | CK                         |             |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------|
| ۴۳۰/۶۶ <sup>a</sup> ±۱۰/۹۹ | ۳۵۶/۷۴ <sup>b</sup> ±۳۴/۰۴ | ۲۰۱/۷۸ <sup>c</sup> ±۵/۶۲  | ۶۸/۷۷ <sup>d</sup> ±۸/۸۳   | سرب         |
| ۷۳/۵۸ <sup>a</sup> ±۲/۹۷   | ۷۶/۸۰ <sup>a</sup> ±۴/۳۷   | ۶۸/۸۳ <sup>a</sup> ±۳/۲۲   | ۳۵/۶۶ <sup>b</sup> ±۲/۶۷   | کادمیوم     |
| ۶/۱۱ <sup>a</sup> ±۱/۰۴    | ۵/۹۷ <sup>a</sup> ±۱/۰۳    | ۴/۸۶ <sup>a</sup> ±۰/۸۱    | ۴/۹۲ <sup>a</sup> ±۰/۸۷    | سدیم        |
| ۱۶/۴۰ <sup>ab</sup> ±۲/۸۰  | ۱۴/۱۶ <sup>b</sup> ±۱/۸۷   | ۱۸/۲۹ <sup>a</sup> ±۰/۷۴   | ۱۹/۰۷ <sup>a</sup> ±۱/۰۴   | کلسیم       |
| ۲/۵۵ <sup>a</sup> ±۰/۲۶    | ۲/۸۰ <sup>b</sup> ±۰/۳۵    | ۳/۰۱ <sup>b</sup> ±۰/۲۶    | ۴/۰۶ <sup>a</sup> ±۰/۳۹    | منیزیم      |
| ۲/۲۷ <sup>b</sup> ±۰/۳۱    | ۳/۸۰ <sup>ab</sup> ±۰/۲۶   | ۳/۳۸ <sup>a</sup> ±۰/۴۴    | ۳/۳۱±۰/۳۴                  | فسفر        |
| ۳۲/۹۴ <sup>c</sup> ±۳/۹۱   | ۳۸/۶۵ <sup>bc</sup> ±۳/۷۳  | ۴۹/۵۶ <sup>ab</sup> ±۵/۴۳  | ۵۵/۵۶ <sup>a</sup> ±۵/۸۲   | پتاسیم      |
| ۱۷/۱۰ <sup>a</sup> ±۲/۰۴   | ۱۴/۸۲ <sup>a</sup> ±۱/۳۶   | ۱۵/۲۰ <sup>a</sup> ±۰/۱۶   | ۱۴/۳۷ <sup>a</sup> ±۰/۷۴   | مس          |
| ۵/۰۵±۰/۸۰                  | ۳/۷۷ <sup>ab</sup> ±۰/۳۹   | ۴/۵۷ <sup>ab</sup> ±۰/۸۴   | ۳/۶۲ <sup>b</sup> ±۰/۶۸    | نیکل        |
| ۶۴/۳۴ <sup>a</sup> ±۶/۴۲   | ۵۶/۹۹ <sup>ab</sup> ±۶/۲۱  | ۴۵/۱۹ <sup>bc</sup> ±۲/۷۴  | ۴۳/۰۸ <sup>c</sup> ±۴/۳۹   | عناصر منگنز |
| ۲۳۱/۹۷ <sup>a</sup> ±۱۹/۷۲ | ۱۹۳/۸۸ <sup>a</sup> ±۱۴/۵۰ | ۱۹۶/۸۵ <sup>a</sup> ±۷/۲۱  | ۱۱۶/۵۵ <sup>b</sup> ±۱۵/۱۳ | شاخساره روی |
| ۳۰۵/۰۱ <sup>a</sup> ±۲۲/۸۴ | ۲۴۰/۲۴ <sup>b</sup> ±۱۱/۴۰ | ۱۹۲/۹۱ <sup>c</sup> ±۱۱/۰۶ | ۴۶/۰۶ <sup>d</sup> ±۶/۵۴   | سرب         |
| ۱۱/۴۹ <sup>a</sup> ±۰/۹۵   | ۹/۶۶ <sup>ab</sup> ±۱/۶۲   | ۸/۸۲ <sup>b</sup> ±۰/۴۹    | ۲/۸۸ <sup>c</sup> ±۰/۴۳    | کادمیوم     |
| ۸۳/۲ <sup>a</sup> ±        | ۱/۳۵ <sup>b</sup> ±۰/۳۲    | ۱/۴۷ <sup>b</sup> ±۰/۲۰    | ۱/۳۱ <sup>b</sup> ±۱/۳۹    | سدیم        |

\*حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی است. CK, E1, E2 و E3 به ترتیب غلظت‌های ۰، ۱، ۳ و ۵ mmol/kg از عامل کلات کننده EDTA است.

بوده و تیمارهای ۳ و ۵ mmol/kg از عامل کلات کننده به ترتیب نسبت K/Na را از ۴۲/۵۰ در تیمار شاهد به ۲۸/۴۷ و ۱۱/۶۲ رساندند (شکل ۲).  
یک رابطه درجه دوم با همبستگی  $r = ۹۳/۸$  بین زیست‌توده خشک شاخساره گونه *M. cuneatum* و غلظت عامل کلات کننده EDTA وجود داشت. نتایج نشان داد که حداکثر میزان وزن اندام هوایی گیاه با ۲/۶۸ g هنگامی حاصل می‌شود که ۲/۴ mmol/kg ماده EDTA به کار برده شود و از این نقطه به بعد زیست‌توده شاخساره گیاه به آهستگی کاهش می‌یابد و در نهایت در دوز ۹/۸ mmol/kg رشد گیاه متوقف خواهد شد (شکل ۲).

نسبت پتاسیم به سدیم و پیش‌بینی رشد گیاه در اثر اعمال EDTA  
نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه بعد از اعمال EDTA به طور قابل توجهی کاهش یافته است و در هر دو مورد پایین‌ترین مقدار این نسبت در تیمار ۵ mmol/kg ظاهر شده است (شکل ۲). در رابطه با ریشه، ابتدا در سطح ۱ mmol/kg، به میزان کمی نسبت K/Na بالا رفته است ولی در ادامه کاهشی شده و پایین‌ترین مقدار (۴/۶۴) در مقایسه با شاهد (۶/۴۶) در دوز ۵ mmol/kg مشاهده شد (شکل ۲). کاهش جذب پتاسیم نسبت به سدیم در اندام هوایی گیاه در مقایسه با ریشه شدیدتر

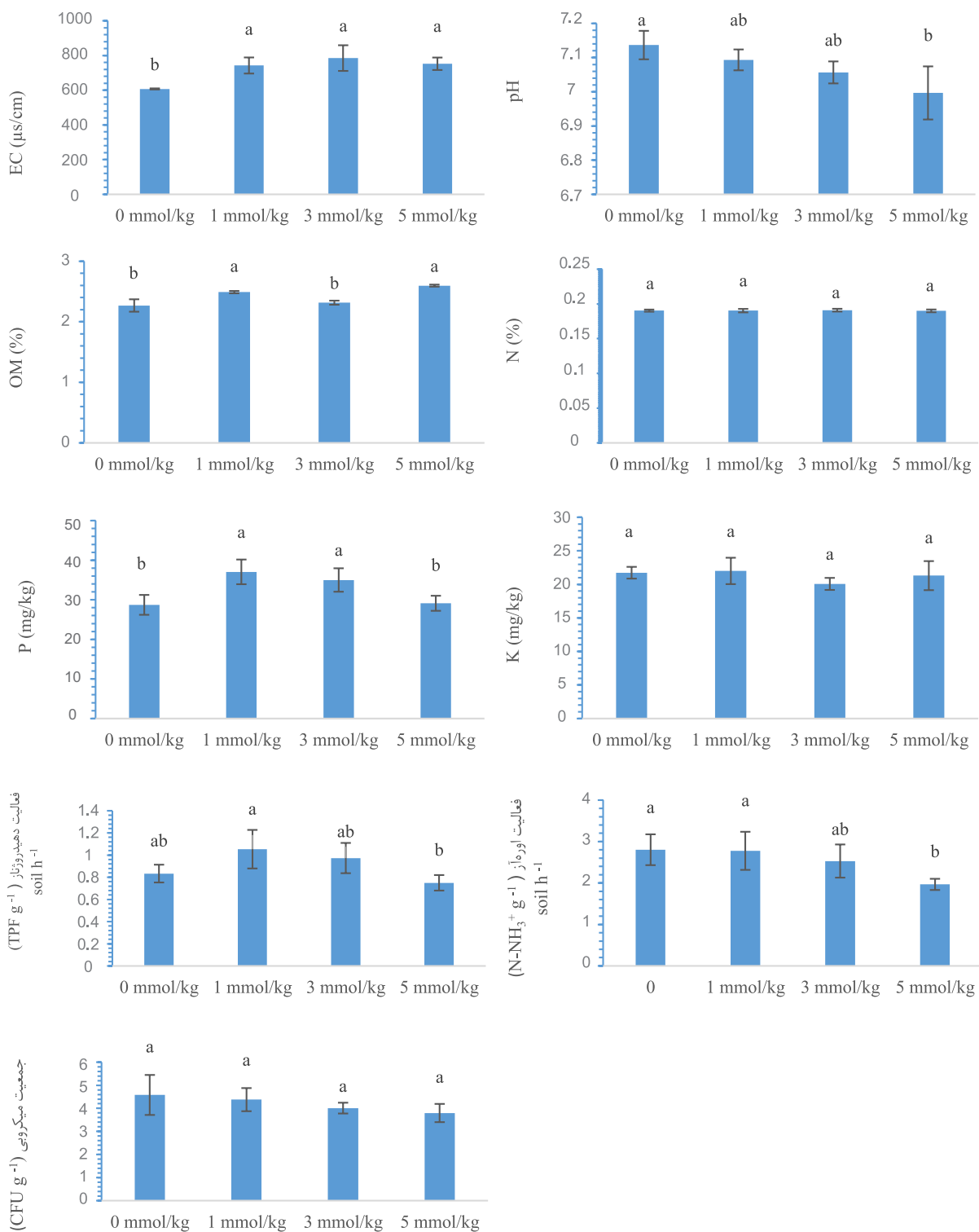


شکل ۲- نسبت پتاسیم به سدیم در اثر اعمال EDTA ( $\text{mean} \pm \text{SD}$ ;  $n=3$ ) و پاسخ رشدی گیاه به غلظت آن (خط قرمز) بیانگر غلظتی از EDTA است که بعد از آن وزن شاخساره کاهش می‌یابد. حروف متفاوت مربوط به هر ویژگی نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

با پتاسیم تبادلی خاک مشاهده نشد (شکل ۳). فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک با کاربرد EDTA ابتدا افزایش یافت و سپس به تدریج کاهشی شد. سطوح ۳ و ۱ mmol/kg از این ماده به ترتیب سبب تقویت ۲۶/۴ و ۱۶/۸ درصد فعالیت آنزیم دهیدروژناز در مقایسه با تیمار شاهد شدند (شکل ۳). وقتی که عامل کلات کننده به خاک اضافه شد، نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۳ و ۱ mmol/kg آن با شاهد در رابطه با میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک وجود ندارد اما به طور کلی تأثیر منفی بر فعالیت این آنزیم مشاهده شد و در سطح ۳ mmol/kg منجر به کاهش ۳۰ درصدی اوره‌آز نسبت به شاهد شد (شکل ۳). در ارتباط با جمعیت میکروبی خاک هر چند کاربرد EDTA، اثرات کاهشی را در مقایسه با شاهد نشان داد ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی یافت نشد (شکل ۳).

#### خصوصیات بیوشیمیایی خاک

نتایج نشان می‌دهد که بعد از اعمال EDTA، شوری خاک به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و به طور کلی تا ۲۹/۲۵ درصد در مقایسه با شاهد بالاتر بود. همچنین ماده کلات کننده منجر به کاهش اسیدیته خاک شد، به طوری که میزان آن از ۷/۱۳ در تیمار شاهد به ۶/۹۹ در سطح ۵ mmol/kg EDTA رسید (شکل ۳). ماده آلی و نیتروژن کل خاک تحت کاربرد EDTA، تغییرات چندانی را نشان ندادند و فقط میزان ماده آلی به مقدار کمی کاهشی شد (شکل ۳). در رابطه با فسفر قابل دسترس خاک، غلظت آن در حضور سطوح پایین تر EDTA به طور قابل توجهی تقویت یافت و غلظت‌های ۳ و ۱ mmol/kg به ترتیب منجر به افزایش ۲۹ و ۲۲ درصد این عنصر در خاک نسبت به گروه بدون تیمار شدند، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی در رابطه



شکل ۳- تأثیر EDTA بر خصوصیات بیوشیمیایی خاک (mean $\pm$ SD; n=3) (حروف متفاوت مربوط به هر ویژگی نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است).

## بحث

در این مطالعه EDTA به طور کلی باعث کاهش اسیدیته خاک شده و میزان شوری را افزایش داد. در واقع EDTA یک نمک دی سدیم هگزا کربوکسیلیک اسید است که با داشتن خاصیت اسیدی باعث کاهش pH می شود (۲۴، ۳۷)؛ ولی میزان EC خاک را افزایش می دهد. کاهش اسیدیته خاک در حضور EDTA توسط Arshad و همکاران نیز گزارش شده است (۳۸). EDTA در دوز ۱ و ۵ mmol/kg به مقدار کمی ماده آلی خاک را افزایش داد که ممکن است به این دلیل باشد که این ماده باعث افزایش ترشحات ریشه که از منابع اولیه کربن خاک هستند شده باشد (۳۹). در مطالعه‌ای که توسط Li و همکاران صورت گرفت، افزایش کربن آلی خاک با اضافه شدن EDTA گزارش شده است، که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۴). در مطالعه حاضر EDTA تغییر معنی داری در نیتروژن خاک ایجاد نکرد و حتی به آرامی مقدار نیتروژن خاک را افزایش داد، در حالی که تأثیر EDTA بر فسفر قابل جذب خاک معنی دار بود و به خصوص در غلظت‌های ۳ و ۵ mmol/kg مقدار فسفر خاک را افزایش داده بود. در این راستا برخی مطالعات نشان داده است که مقدار نیتروژن و کربن خاک پالایش شده با EDTA تغییری نکرد (۵)، در حالی که مقدار فسفات ( $P_2O_5$ ) قابل استخراج افزایش پیدا کرد، که احتمالاً به دلیل این است که کلات کننده‌های قوی مانند EDTA تثبیت فسفر در خاک را کاهش داده و اثربخشی آن را با واکنش‌های جذب آنیونی افزایش می دهند. EDTA در غلظت‌های بالا تا حدودی جمعیت میکروبی خاک را کاهش داد. علت این کاهش احتمالاً به این دلیل است که از خاک شسته شده‌اند و یا در طول فرآیند اصلاح به دلیل شرایط فیزیکی سخت و سمیت EDTA از بین رفته‌اند (۴۰). آنزیم های خاک نقش مهمی در ایجاد مسیرهای بیوشیمیایی، تجزیه مواد آلی، سم زدایی از آلاینده‌ها، سنتز محصولات کلیدی برای گیاهان و میکروب ها و حفظ ساختار خاک ایفا می کنند (۴۱). EDTA در سطوح پایین تر، فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک را بهبود بخشید، اما با افزایش

غلظت آن فعالیت آنزیم‌های خاک و به ویژه اوره‌آز تا حدی مهار شد. در واقع EDTA می تواند برای میکروارگانیسم‌های خاک سمی باشد و باعث مهار آنزیم‌ها شود، چرا که فعالیت آنزیم به عنوان شاخصی از فعالیت میکروب‌های خاک است. Grčman و همکاران گزارش کردند که EDTA ۱۰ mmol/kg از توسعه میکوریزا آربوسکولار جلوگیری کرد، همچنین نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب فسفولیپیدی نشان دهنده تأثیر سمی EDTA و افزایش تنش محیطی میکروفون خاک بود (۲۷). همچنین افزودن EDTA ۳/۳ mmol/kg باعث مهار فعالیت آنزیم دهیدروژناز شد در حالی که تأثیر معنی داری بر فعالیت آنزیم بیگلسیداز نداشت (۴۲). علاوه بر این افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، اوره‌آز، فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک در حضور EDTA گزارش شده است (۲). در پژوهشی خاک آلوده به عناصر بالقوه سمی با دو سطح ۳۰ و ۱۰۰ mmol/kg EDTA آب شویی شد. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم اوره‌آز نسبت به خاک اصلاح نشده در تیمار ۳۰ mmol حدود ۳/۱ برابر کاهش بود، در حالی که آنزیم گلوکسیداز به مقدار ۱/۵ برابر افزایش یافت و تغییرات آنزیم دهیدروژناز ناچیز بود؛ در نهایت با افزایش غلظت EDTA آنزیم‌های دهیدروژناز، گلوکسیداز و اوره‌آز به مقدار ۵/۲، ۱/۵ و ۲/۸ برابر نسبت به خاک اصلاح نشده کاهش پیدا کردند (۴۳). در مطالعه حاضر، مقدار فراهمی عناصر بالقوه سمی مورد مطالعه به طور معنی داری در حضور EDTA افزایش پیدا کرد. از آنجا که اسیدیته خاک یکی از فاکتورهای تأثیرگذار بر حلالیت عناصر در خاک است، افزودن EDTA به دلیل خاصیت اسیدی باعث کاهش pH خاک شده و دسترس پذیری فلزات را بالا برده است. در واقع تشکیل لیگاند کمپلکس فلز-EDTA در pH بین ۵/۲ تا ۷/۷ رخ می دهد و در اسیدیته بالای ۸ فراهمی عناصر بالقوه سمی کاهش می یابد (۴۴). کلات کننده‌های فلزی قوی مانند EDTA تأثیر قابل توجهی بر گونه‌زایی شیمیایی عناصر دارند که به نوبه خود بر تحرک فاز محلول خاک، حلالیت و فراهمی زیستی فلزات و همچنین جذب ریشه و تجمع فلزات تأثیر می گذارد (۴۵). مطالعه حاضر نشان داد که تیمار EDTA

حاصلخیزی خاک و کاهش رشد گیاه را در رابطه با کاربرد EDTA بیان کرده‌اند (۲۴، ۵۱). کاهش در رشد شاخساره بعد از به کار بردن عوامل کلات کننده در نتیجه افزایش غلظت فلزات بالقوه سمی است که بیشتر از ظرفیت گیاه برای فعال‌سازی سیستم دفاعی است. در حقیقت با افزایش غلظت عناصر بالقوه سمی در بافت‌های گیاه در نتیجه کاربرد عامل کلات کننده، فعالیت‌های آنزیمی گیاه، عملکرد غشاء، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم کربوهیدرات و جذب مواد غذایی مهار می‌شود (۵۰، ۵۲، ۵۳). با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که در سطوح پایین‌تر کاربرد این عامل کلات کننده، برخی از عناصر درشت مغذی مانند کلسیم و فسفر در ریشه و یا شاخه گیاه تا حدی بهبود یافته و از طرفی غلظت مس، منگنز و نیکل به عنوان ریز مغذی‌ها نیز در بافت‌های گیاه به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرده‌اند. محدوده نرمال و استاندارد مس، منگنز و نیکل در گیاهان به ترتیب برابر با ۳۰-۵۰، ۱۰۰۰-۲۰ و ۵-۰/۰۲ mg/kg است (۵۴-۵۶). در ریشه گیاه مورد بررسی مقدار منگنز و در بخش هوایی غلظت مس و منگنز در سطوح ۳ و ۱ mmol/kg EDTA از حد مجاز این عناصر کمتر است که نشان می‌دهد افزایش مقدار آن در بافت‌های گیاه در اثر اعمال این عامل کلات کننده تأثیر مثبتی بر رشد گیاه می‌تواند داشته باشد. همچنین نتایج حاصل از بررسی خصوصیات خاک حاکی از آن است که کاربردهای ۳ و ۱ mmol/kg EDTA به طور کلی بر اکثر پارامترهای خاک نه تنها تأثیر منفی نداشته بلکه حتی مثبت نیز بوده است که با افزایش حاصلخیزی خاک منجر به بهبود رشد و تغذیه گیاه شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر EDTA بر رشد و زیست‌توده گیاهی متغیر است و بسته به نوع گیاه، غلظت عناصر بالقوه سمی خاک، دوز مصرفی EDTA و غیره متفاوت است. از طرفی غلظت بالای EDTA منجر به کاهش عناصر ضروری رشد گیاه مانند کلسیم، منیزیم، فسفر و پتاسیم شد که در نتیجه با کاهش بنیه و شادابی گیاه، توانایی آن را برای مقابله با تنش عناصر بالقوه سمی مختل می‌کند. یون‌های کلسیم به عنوان یک درشت مغذی در تثبیت غشاهای

قابلیت جذب روی، سرب و کادمیوم را در بخش شاخساره و ریشه *M. cuneatum* افزایش داده است و دوز ۵ mmol/kg حداکثر اثر را داشته است. در این راستا، در مطالعات قبلی ثابت شده است که کاربرد EDTA در خاک منجر به گیاه استخراجی (Phytoextraction) عناصر بالقوه سمی و انتقال آنها از ناحیه ریزوسفر به اجزای قابل برداشت گیاه در سطح زمین می‌شود (۴۶). همچنین کاربرد EDTA بر جذب، شستشو و دسترس‌پذیری عناصر بالقوه سمی بر *Brassica juncea* مورد بررسی قرار گرفت؛ موثرترین غلظت، ۴ mM EDTA بر کیلوگرم در خاک بود که در نتیجه آن مقدار نیکل، سرب و روی به طور قابل توجهی بالاتر بودند (۴۵). در مقابل افزایش فراهمی فلزات و به تبع آن غلظت آن‌ها در گیاه منجر به تأثیر منفی بر زیست‌توده تر و خشک *M. cuneatum* گردید. افزودن EDTA به خاک در سطوح پایین‌تر باعث افزایش زیست‌توده ریشه و شاخساره شد، اما به طور کلی با رسیدن دوز EDTA به ۵ mmol/kg، زیست‌توده کاهش پیدا کرد. در تطابق با یافته‌های ما، کاربرد ۲/۵ و ۱/۵ mmol/kg EDTA به همراه عناصر بالقوه سمی باعث شد تا پارامترهای رشد گیاه *Brassica napus L* نسبت به حالت بدون EDTA به طور قابل توجهی بهبود پیدا کنند (۴۷، ۴۸). همچنین ۳ mmol/kg EDTA، باعث تقویت خصوصیات مورفولوژیکی گیاه بیش انباشتگر *Corchorus capsularis* در شرایط تنش مس شد (۴۹). در حالی که غلظت‌های بسیار بالاتر این ماده کلات کننده نیز منجر به بهبود رشد در گیاه *Brassica juncea* شد، که با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد (۲). در این راستا Saleem و همکاران بیان کردند که EDTA در شرایط تنش آلودگی‌ها می‌تواند غلظت کلروفیل گیاه را بالا برد و با افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، باعث تبدیل مؤثر نور در فرآیندهای فتوشیمیایی فتوسنتز شده و در نتیجه رشد و توسعه گیاه را بهبود ببخشد (۴۹). در مقابل، افزودن ۲ mmol/kg EDTA به خاک منجر به کاهش زیست‌توده هوایی و ریشه در گیاه *Iris halophila* شد و شاخص تحمل آن را کاهش داد (۵۰). همچنین مطالعات دیگری تداخل در

پارامترهای بیوشیمیایی خاک بهبود پیدا کردند و غلظت عناصر ریزمغذی در گیاه افزایش یافت، در حالی که غلظت اکثر درشت مغذی‌ها بعد از کاربرد دوز  $3 \text{ mmol/kg}$  شروع به کاهش کرد و با افزایش غلظت این ماده اصلاحی به  $5 \text{ mmol/kg}$  اثرات آن در مهار فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز خاک و کاهش محتوای فسفر تبادلی خاک نمایان شد. همچنین در این سطح، به جز کلسیم ریشه در تمامی موارد جذب عناصر درشت مغذی توسط گیاه کاهشی بود که در مجموع این عوامل، منجر به اختلال قابل توجه در رشد گیاه با کاربرد  $5 \text{ mmol/kg}$  EDTA شد. رابطه رگرسیونی پیش‌بینی بین غلظت EDTA و رشد شاخساره نشان داد که دوزهای بیش از  $2/4 \text{ mmol/kg}$  به تدریج منجر به کاهش زیست‌توده گیاه می‌شوند. از طرفی هر چند رشد گیاه تا غلظت  $3 \text{ mmol/kg}$  EDTA با محدودیت مواجه نشد ولی با این حال اکثر عناصر درشت مغذی در این سطح کاهشی شدند. بنابراین به طور کلی با توجه به نتایج حاصله پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده سطوح بیش از  $2/4 \text{ mmol/kg}$  این ماده کلات‌کننده مورد بررسی قرار گیرد تا دوز دقیقی که آغازگر تأثیرات منفی در خاک و گیاه است، مشخص شود.

### ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری دانشگاه تهران تحت عنوان "امکان‌سنجی استفاده از گیاهان برای پالایش خاک‌های آلوده (مطالعه موردی: معدن سرب و روی انگوران زنجان)" است. در اینجا از پرسنل آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران که در انجام این تحقیق همکاری داشتند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

پلاسمای نقش اساسی دارند. در این مطالعه مقدار این عنصر در ریشه با اعمال EDTA، بالا رفت که نشان از ایجاد کمپلکس‌های EDTA-Ca است، در حالی که انتقال این عنصر به بخش هوایی گیاه با محدودیت مواجه شد که احتمالاً به دلیل افزایش غلظت سرب است. در این راستا Lopez و همکاران بیان کردند که EDTA اتصال پایدار بالاتری برای سرب نسبت به کلسیم دارد (۵۷). از آنجا که EDTA یک نمک است، می‌تواند سبب تنش شوری در گیاه شود. در این مطالعه نسبت تجمع سدیم در برگ‌ها بیشتر از ریشه بود که بیانگر آن است که گیاه توانایی جلوگیری از انتقال سدیم به بخش هوایی را ندارد. تجمع املاح در گیاه باعث ایجاد رقابت در جذب یون سدیم و پتاسیم در گیاه شده و حتی ممکن است در نفوذپذیری غشاء نیز تغییر ایجاد کند (۵۸). در شرایط شوری بالا احتمال دارد که یون سدیم جایگزین یون کلسیم در گیاه شده و به تبع آن منجر به نشت پتاسیم از ریشه شود (۵۹). تجمع مقادیر زیاد سدیم و کلر در سلول‌های گیاه منجر به سوختگی و ریزش آن‌ها می‌شود (۶۰). همچنین کاهش غلظت کلروفیل، تخریب کلروپلاست و کاهش فتوسنتز در اثر بالا رفتن غلظت نمک در برگ‌های گیاهان گزارش شده است (۶۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد عامل کلات‌کننده EDTA در غلظت‌های بالا، با افزایش مقدار عناصر بالقوه سمی و از طرفی میزان سدیم در گیاه، جذب عناصر غذایی در گیاه را مختل کرده و با ایجاد تنش اکسیداتیو، رشد و توسعه گیاه را کاهش می‌دهد. هر چند در مطالعه حاضر پارامترهای زیادی مورد بررسی قرار گرفت، اما اندازه‌گیری برخی از خصوصیات کیفی خاک مانند شاخص تنفس میکروبی و همچنین فعالیت سایر آنزیم‌ها از جمله گلوکسیداز و کاتالاز به دلیل هزینه بالا نادیده گرفته شد. علاوه بر این به دلیل محدودیت زمانی و امکانات، شرایط اجرای این مطالعه در عرصه واقعی امکان‌پذیر نبود.

### نتیجه‌گیری

در سطوح ۱ و  $3 \text{ mmol/kg}$  عامل کلات‌کننده EDTA، اکثر

## References

1. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S, Cappai G. Investigating metal pollution in the food chain surrounding a lead-zinc mine (Northwestern Iran); an evaluation of health risks to humans and animals. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2023;195(8):946.
2. Rathika R, Srinivasan P, Alkahtani J, Al-Humaid L, Alwahibi MS, Mythili R, et al. Influence of biochar and EDTA on enhanced phytoremediation of lead contaminated soil by *Brassica juncea*. *Chemosphere*. 2021;271:129513.
3. Antonkiewicz J, Kołodziej B, Bielińska EJ, Witkowicz R, Tabor S. Using jerusalem artichoke to extract heavy metals from municipal sewage sludge amended soil. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2018;27(2):513-27.
4. Guo J, Lv X, Jia H, Hua L, Ren X, Muhammad H, et al. Effects of EDTA and plant growth-promoting rhizobacteria on plant growth and heavy metal uptake of hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Environmental Sciences*. 2020;88:361-9.
5. Kaurin A, Gluhar S, Tilikj N, Lestan D. Soil washing with biodegradable chelating agents and EDTA: Effect on soil properties and plant growth. *Chemosphere*. 2020;260:127673.
6. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S. Geochemical and ecological assessment of some heavy metals in the soil around the lead and zinc mine in northwestern of Iran. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2021;14(1):159-72 (in Persian).
7. Mortensen LH, Rønn R, Vestergård M. Bioaccumulation of cadmium in soil organisms—with focus on wood ash application. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018;156:452-62.
8. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S. Evaluation of the effect of municipal waste compost in reducing lead accumulation in animal diet and organs. *Journal of Research in Environmental Health*. 2024;9(4):387-402 (in Persian).
9. Raj K, Das AP. Lead pollution: Impact on environment and human health and approach for a sustainable solution. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2023;5:79-85.
10. Huang H, Rizwan M, Li M, Song F, Zhou S, He X, et al. Comparative efficacy of organic and inorganic silicon fertilizers on antioxidant response, Cd/Pb accumulation and health risk assessment in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental Pollution*. 2019;255:113146.
11. Wang Z, Sun Y, Yao W, Ba Q, Wang H. Effects of cadmium exposure on the immune system and immunoregulation. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:695484.
12. Sun T, Ji C, Li F, Wu H. Bioaccumulation and human health implications of trace metals in oysters from coastal areas of China. *Marine Environmental Research*. 2023;184:105872.
13. Rencheck ML, Libby C, Montgomery A, Stein JS. Managing potential environmental and human health risks of lead halide perovskite photovoltaic

- modules. *Solar Energy*. 2024;269:112337.
14. Lee JG, Hwang JY, Lee HE, Kim TH, Choi J-D, Gang GJ. Effects of food processing methods on migration of heavy metals to food. *Applied Biological Chemistry*. 2019;62:1-10.
  15. Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, Sadeghi M. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:643972.
  16. Hosseinniaee S, Mirzaei E. Phytoremediation-promising green technology for remediation of heavy metal contaminated lands. *Zist Sepehr Student Magazine*. 2022;15(1):37-44 (in Persian).
  17. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S, Cappai G, De Giudici G. Perspectives for phytoremediation capability of native plants growing on Angouran Pb–Zn mining complex in northwest of Iran. *Journal of Environmental Management*. 2022;315:115184.
  18. Awokunmi E, Asaolu S, Ajayi O, Adebayo O. The role of EDTA on heavy metals phytoextraction by *Jatropha gossypifolia* grown on soil collected from dumpsites in Ekiti state Nigeria. *British Journal of Environment and Climate Change*. 2012;2(2):153-62.
  19. He L, Wang S, Liu M, Chen Z, Xu J, Dong Y. Transport and transformation of atmospheric metals in ecosystems: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 2023;9:100218.
  20. García S, Zornoza P, Hernández L, Esteban E, Carpena R. Response of *Lupinus albus* to Pb–EDTA indicates relatively high tolerance. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 2017;99(9-10):1378-88.
  21. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S, Cappai G. Chelate facilitated phytoextraction of Pb, Cd, and Zn from a lead–zinc mine contaminated soil by three accumulator plants. *Scientific Reports*. 2023;13(1):21185.
  22. Khan AHA, Butt TA, Mirza CR, Yousaf S, Nawaz I, Iqbal M. Combined application of selected heavy metals and EDTA reduced the growth of *Petunia hybrida* L. *Scientific Reports*. 2019;9(1):1-12.
  23. Jiang M, Liu S, Li Y, Li X, Luo Z, Song H, et al. EDTA-facilitated toxic tolerance, absorption and translocation and phytoremediation of lead by dwarf bamboos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019;170:502-12.
  24. Li F-l, Qiu Y, Xu X, Yang F, Wang Z, Feng J, et al. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals from sludge soil by Italian ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020;191:110185.
  25. Aghelan N, Sobhanardakani S, Cheraghi M, Lorestani B, Merrikhpour H. Evaluation of some chelating agents on phytoremediation efficiency of *Amaranthus caudatus* L. and *Tagetes patula* L. in soils contaminated with lead. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2021;19:503-14.
  26. Zupanc V, Kastelec D, Lestan D, Grcman H. Soil physical characteristics after EDTA washing and amendment with inorganic and organic additives.

- Environmental Pollution. 2014;186:56-62.
27. Grčman H, Velikonja-Bolta Š, Vodnik D, Kos B, Leštan D. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil*. 2001;235:105-14.
28. Turekian KK, Wedepohl KH. Distribution of the elements in some major units of the earth's crust. *Geological Society of America Bulletin*. 1961;72(2):175-92.
29. Bouyoucos GJ. Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy Journal*. 1962;54(5):464-5.
30. Nelson DW, Sommers LE. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RH, Soltanpour PN, Tabatabai MA, et al., editors. *Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods*. New Jersey: Wiley; 1996. p. 961-1010.
31. Page AL. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. 2nd ed. New Jersey: Wiley; 1982.
32. Element C. Method 3051A Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. New York: U.S. Environmental Protection Agency; 2007.
33. Lindsay WL, Norvell W. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*. 1978;42(3):421-28.
34. Tabatabai M, Bremner J. Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 1972;4(4):479-87.
35. Thalmann A. On the methodology for determining dehydrogenase activity in soil using triphenyltetrazolium chloride (TTC) (Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)). *Landwirtsch Forsch*. 1968;21:249-58.
36. Bergey DH. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1994.
37. Abbas MHH, Abdelhafez AA. Role of EDTA in arsenic mobilization and its uptake by maize grown on an As-polluted soil. *Chemosphere*. 2013;90(2):588-94.
38. Arshad M, Naqvi N, Gul I, Yaqoob K, Bilal M, Kallerhoff J. Lead phytoextraction by *Pelargonium hortorum*: Comparative assessment of EDTA and DIPA for Pb mobility and toxicity. *Science of the Total Environment*. 2020;748:141496.
39. Ruf A, Kuzyakov Y, Lopatovskaya O. Carbon fluxes in soil food webs of increasing complexity revealed by <sup>14</sup>C labelling and <sup>13</sup>C natural abundance. *Soil Biology and Biochemistry*. 2006;38(8):2390-400.
40. Ren X, Yan R, Wang H-C, Kou Y-Y, Chae K-J, Kim IS, et al. Citric acid and ethylene diamine tetra-acetic acid as effective washing agents to treat sewage sludge for agricultural reuse. *Waste Management*. 2015;46:440-48.
41. Hosseinniaee S, Jafari M, Tavili A, Zare S. Role of compost in assisted phytostabilization

- via three naturally grown species on mine-contaminated soil and health risk alleviation for livestock. *Environmental Technology & Innovation*. 2024;36:103754.
42. Epelde L, Hernández-Allica J, Becerril JM, Blanco F, Garbisu C. Effects of chelates on plants and soil microbial community: comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Science of the Total Environment*. 2008;401(1-3):21-28.
43. Kaurin A, Cernilogar Z, Lestan D. Revitalisation of metal-contaminated, EDTA-washed soil by addition of unpolluted soil, compost and biochar: Effects on soil enzyme activity, microbial community composition and abundance. *Chemosphere*. 2018;193:726-36.
44. Shinta Y, Zaman B, Sumiyati S, editors. Citric acid and EDTA as chelating agents in phytoremediation of heavy metal in polluted soil: a review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; 2021; Bristol. 012023.
45. Kamal MA, Perveen K, Khan F, Sayyed R, Hock OG, Bhatt SC, et al. Effect of different levels of EDTA on phytoextraction of heavy metal and growth of *Brassica juncea* L. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1228117.
46. Singh J, Singh AV. Microbial strategies for enhanced phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. In: Bharagava RN, editor. *Environmental pollutants and their bioremediation approaches* 2017. p. 249-64.
47. Nawaz H, Ali A, Saleem MH, Ameer A, Hafeez A, Alharbi K, et al. Comparative effectiveness of EDTA and citric acid assisted phytoremediation of Ni contaminated soil by using canola (*Brassica napus*). *Brazilian Journal of Biology*. 2022;82:e261785.
48. Kanwal U, Ali S, Shakoor MB, Farid M, Hussain S, Yasmeen T, et al. EDTA ameliorates phytoextraction of lead and plant growth by reducing morphological and biochemical injuries in *Brassica napus* L. under lead stress. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21:9899-910.
49. Saleem MH, Ali S, Rehman M, Rizwan M, Kamran M, Mohamed IA, et al. Individual and combined application of EDTA and citric acid assisted phytoextraction of copper using jute (*Corchorus capsularis* L.) seedlings. *Environmental Technology & Innovation*. 2020;19:100895.
50. Han Y, Zhang L, Gu J, Zhao J, Fu J. 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*. 2018;128:15-21.
51. Xiao R, Ali A, Wang P, Li R, Tian X, Zhang Z. Comparison of the feasibility of different washing solutions for combined soil washing and phytoremediation for the detoxification of cadmium (Cd) and zinc (Zn) in contaminated soil. *Chemosphere*. 2019;230:510-8.
52. Maheshwari R, Dubey R. Nickel toxicity inhibits ribonuclease and protease activities in rice seedlings: protective effects of proline. *Plant Growth Regulation*. 2007;51:231-43.
53. Guo D, Ali A, Ren C, Du J, Li R, Lahori AH, et al. EDTA and organic acids assisted phytoextraction

- of Cd and Zn from a smelter contaminated soil by potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss) and evaluation of its bioindicators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019;167:396-403.
54. Alloway BJ. *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and Their Bioavailability*. Berlin: Springer Science & Business Media; 2012.
55. Kabata-Pendias A. *Trace Elements in Soils and Plants*. Florida: CRC Press; 2000.
56. Hosseinniaee S, Jafary M, Tavili A, Zare S. The effect of municipal solid waste compost on the reduction of lead and zinc toxicity and uptake of nutrients by two medicinal species *Marrubium cuneatum* and *Verbascum speciosum* in a soil contaminated with heavy metals. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2024;16(4):707-30 (in Persian).
57. López ML, Peralta-Videa JR, Benitez T, Duarte-Gardea M, Gardea-Torresdey JL. Effects of lead, EDTA, and IAA on nutrient uptake by alfalfa plants. *Journal of Plant Nutrition*. 2007;30(8):1247-61.
58. Tozlu I, Moore GA, Guy CL. Effects of increasing NaCl concentration on stem elongation, dry mass production, and macro-and micro-nutrient accumulation in *Poncirus trifoliata*. *Functional Plant Biology*. 2000;27(1):35-42.
59. Zekri M, Parsons LR. Salinity tolerance of citrus rootstocks: Effects of salt on root and leaf mineral concentrations. *Plant and Soil*. 1992;147:171-81.
60. Bates LS, Waldren R, Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 1973;39:205-07.
61. Li Y. Kinetics of the antioxidant response to salinity in the halophyte *Limonium bicolor*. *Plant, Soil and Environment*. 2008;54(11):493-07.



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



## Effect of EDTA on soil quality and growth and nutrients characteristics of the medicinal plant *Marrubium cuneatum* under potentially toxic elements stress

Sadegh Hosseinniaee, Mohammad Jafary, Ali Tavili\*, Salman Zare

Department of Reclamation of Arid and Mountainous Regions, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 17 July 2024  
**Revised:** 14 September 2024  
**Accepted:** 18 September 2024  
**Published:** 11 December 2024

**Keywords:** *Marrubium cuneatum*, EDTA, Nutrients, Biomass, Soil enzymes

**\*Corresponding Author:**  
atavili@ut.ac.ir

### ABSTRACT

**Background and Objective:** Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is known as a synthetic chelating agent used for the remediation of soils contaminated with potentially toxic elements. *Marrubium cuneatum* is a medicinal plant with phytoremediation capabilities. This study investigated the effect of EDTA on the morph-physiological characteristics of this species and its rhizosphere soil.

**Materials and Methods:** Under greenhouse conditions, *M. cuneatum* was grown for six months in mine-contaminated soil with different levels of EDTA (0, 1, 3, 5 mmol/kg). Subsequently, its biomass, concentration of macro- and micronutrients, and soil biochemical properties—such as organic matter content, soil enzyme activity, and microbial biomass—were measured. Additionally, a regression model was established between EDTA concentration and shoot weight to predict the plant's growth response.

**Results:** A concentration of 5 mmol/kg EDTA decreased the dry weight of shoots and roots by 11% and 21.9%, respectively, compared to the control. The reduction in root macronutrient content was less pronounced with EDTA application compared to that of the shoots, with the greatest decrease observed for shoot potassium (40.70% compared to the control). The potassium-to-sodium ratio also decreased significantly. Despite improvements in some soil biochemical parameters at low EDTA levels, the 5 mmol/kg dose resulted in a 30% and 10% inhibition of urease and dehydrogenase activity, respectively. The regression relationship between EDTA concentration and shoot weight indicated that the maximum dry weight was obtained at a concentration of 2.4 mmol/kg.

**Conclusion:** Considering the adverse effects of EDTA at concentrations of 3 mmol/kg on soil and plants, as well as the predictive model of the growth response of *M. cuneatum*, it is suggested to investigate EDTA levels above 2.4 mmol/kg to determine the precise dose that initiates negative effects in soil and plants.

Please cite this article as: Hosseinniaee S, Jafary M, Tavili A, Zare S. Effect of EDTA on soil quality and growth and nutrients characteristics of the medicinal plant *Marrubium cuneatum* under potentially toxic elements stress. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2024;17(3):511-30.

