

(OPEN ACCESS)

Effect of EDTA and BTC on the Phytoremediation of Lead-Contaminated Soil by Marigold Plant (*Calendula officinalis*)

Narges Dahmardeh Ghaem Abad¹, Mehdi Dahmardeh^{*2},
Ahmad Gholamalizadeh Ahangar³, Somayeh Shahraki⁴, Issa Khammari⁵

1. M.Sc. Graduate of Agrotechnology, Dept. of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: ndahmardeh2019@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: dr.dahmardeh@uoz.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Soil Science, College of Water and Soil, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: ahangar@uoz.ac.ir
4. Associate Prof., Dept. of Chemistry, College of Science, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: s-shahraki@uoz.ac.ir
5. Associate Prof., Dept. of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: ikhammari@uoz.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Full Paper	Background and Objectives: Soil contamination with heavy metals, particularly lead (Pb), is considered one of the most serious environmental issues, posing significant negative impacts on the health of humans, plants, and other living organisms. In this context, bioremediation technologies, particularly phytoremediation, have attracted increasing attention as effective, economical, and environmentally friendly approaches for reducing heavy metal concentrations in soil. The marigold medicinal plant (<i>Calendula officinalis</i>) is regarded as a suitable candidate for this process due to its characteristics such as rapid growth, adaptability to diverse environmental conditions, and high capacity for elemental uptake. Furthermore, chelating agents such as EDTA and BTC can significantly enhance the uptake of metals by increasing their solubility and bioavailability. The effect of these compounds on the bioavailability of lead in soil and its translocation to various plant organs can play a decisive role in the success of phytoremediation. However, a simultaneous evaluation of their effects on metal uptake efficiency, physiological and biochemical responses of the plant and the potential environmental consequences of their application, particularly under controlled greenhouse conditions, requires more comprehensive studies. Accordingly, the present study was designed and conducted to investigate and compare the efficiency of marigold medicinal plant in the phytoremediation of lead-contaminated soil under the influence of the chelating agents EDTA and BTC in greenhouse conditions.
Article history: Received: 06.04.2025 Revised: 10.03.2025 Accepted: 12.18.2025	
Keywords: Bioavailable lead in soil, BTC, <i>Calendula officinalis</i> , EDTA, Phytoremediation	
	Materials and Methods: This study was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications and 32 treatments. The experiment was carried out under greenhouse conditions during the 2019-2020 growing season at the Agricultural Research Institute of Zabol University, located in Zahak County. Three factors were investigated: type of chelating agent (EDTA

and BTC), chelating agent concentration at four levels (0, 0.5, 1, and 1.5%), and soil lead concentration at four levels (0, 150, 300, and 450 mg/kg), with lead supplied in the form of lead nitrate. The lead-contaminated soil was incubated for two weeks and then transferred to one-kilogram pots. After planting marigold medicinal plant, the chelating agents were applied to the soil, and the pots were regularly irrigated. This research was conducted as a factorial experiment based on a Completely Randomized Design (CRD) with three replications, encompassing 32 treatments and 96 experimental units. The study was executed under greenhouse conditions during the agricultural year 2019-2020 at the Agricultural Research Institute of Zabol University, located in Zahak County. The three factors investigated were the type of chelating agent (EDTA and BTC), chelating agent concentration at four levels (0, 0.5, 1, and 1.5%), and soil lead (Pb) level at four levels (0, 150, 300, and 450 mg/kg), with lead supplied from lead nitrate (from Pb (NO₃)₂). For contamination, soil samples were first passed through a 2 mm sieve, weighed into 2 kg units, and then prepared for treatment. Specific amounts of lead and the chelating agents were applied as a solution using sprayers and thoroughly mixed with the soil. These contaminated samples were incubated for two weeks in the greenhouse at 25 C and maintained at a moisture level approximating field capacity. To ensure the stabilization of the heavy metal and better simulate natural contamination conditions, the soil was exposed to alternating wetting and drying cycles. Following the stabilization period, the contaminated and saturated soil was air-dried, compacted, and transferred to 1 kg pots. Calendula was planted in early December, and throughout the growth period, irrigation was meticulously controlled at field capacity using distilled water; this involved weighing the pots every two days to replenish the exact amount of water lost. Finally, at the conclusion of the growth period, the shoots and roots of the plants were harvested separately from each pot. Sampling was performed two months after planting, and the shoot and root parts were harvested separately. The evaluated parameters included photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids) and the concentration of lead in plant tissues and soil. Analysis of variance (ANOVA) was performed using the Proc GLM procedure, and mean comparisons were conducted using Duncan's multiple range test at the 5% significance level. All statistical analyses were performed using SAS software, version 9.4.

Results: The results of evaluating the effects of chelating agents and lead contamination on the photosynthetic pigments of *Calendula officinalis* showed that these factors had significant impacts on chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid contents. As lead concentration increased, the levels of all three pigments decreased. This reduction was more pronounced for chlorophyll a in the absence of chelating agents. The application of chelating agents, particularly EDTA, especially under lead-free conditions and at a concentration of 1.5%, resulted in a significant increase in chlorophyll a. The highest chlorophyll a content (6.38 mg kg⁻¹) was observed in the combined treatment of 1.5% EDTA and no lead. Moreover, EDTA partially mitigated the adverse effects of moderate and high levels of lead contamination (150 and 450 mg kg⁻¹ Pb). Regarding chlorophyll b, the highest value (12.01 mg kg⁻¹) was recorded in the control treatment (no chelator, no lead). Increasing lead concentration, especially at 450 mg kg⁻¹, led to a decline in chlorophyll b across all treatments. This decline was more substantial in treatments with high chelator

concentrations, particularly BTC, indicating a potential negative interaction between certain chelating agents and lead in chlorophyll b biosynthesis. For carotenoids, the application of chelators, especially 1% EDTA, resulted in a relative improvement in this pigment. The highest carotenoid content (2.90 mg kg^{-1}) was observed in the treatment without lead and with 1% EDTA. However, at a higher EDTA concentration (1.5%) and in the presence of lead, a further reduction in pigment levels was observed, suggesting a possible adverse interaction between these two factors. The study also demonstrated that the type and concentration of chelating agents play a crucial role in lead uptake, translocation, and distribution within the plant. Treatments with 1.5% EDTA under high lead contamination ($450 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$) led to the highest accumulation of lead in both the aerial parts (30.88 mg kg^{-1}) and roots (62.39 mg kg^{-1}). Compared to BTC, EDTA was more effective in facilitating lead transfer from soil to plant. In contrast, BTC significantly reduced residual lead in the soil (by up to 69.5% compared to the control), although lead uptake by the plant was lower, likely due to the greater stability of BTC–lead complexes. Overall, increasing the concentration of chelating agents, particularly EDTA, was generally associated with enhanced lead accumulation in the plant, whereas treatments without chelators showed the highest levels of residual lead in the soil.

Conclusion: The findings of this study highlight the critical role of chelator type and concentration in enhancing the efficiency of phytoremediation under heavy metal contamination, particularly lead. The use of an appropriate chelating agent, such as EDTA, at controlled concentrations and within defined timeframes, can not only mitigate the adverse effects of contamination on the plant's physiological and biochemical parameters but also enhance lead uptake and translocation, thereby reducing its residual levels in the soil. Therefore, the precise selection of the chelator type and dosage based on the severity of lead contamination is crucial, especially for preserving the health and performance of medicinal and ornamental plants. The success of this approach also depends on effective and sustainable environmental management to prevent unintended consequences, such as excessive accumulation of heavy metals in the consumable parts of the plant.

Cite this article: Dahmardeh Ghaem Abad, Narges, Dahmardeh, Mehdi, Gholamalizadeh Ahangar, Ahmad, Shahraki, Somayeh, Khammari, Issa. 2026. Effect of EDTA and BTC on the Phytoremediation of Lead-Contaminated Soil by Marigold Plant (*Calendula officinalis*). *Journal of Water and Soil Conservation*, 33 (2), 167-188.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jwsc.2026.23748.3811

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر EDTA و BTC بر گیاه‌پالایی سرب خاک توسط گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

نرگس دهمرده قائم‌آباد^۱، مهدی دهمرده^{۲*}، احمد غلامعلی‌زاده آهنگر^۳،
سمیه شهرکی^۴، عیسی خمری^۵

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد آگروتکنولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: ndahmardeh2019@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: dr.dahmardeh@uoz.ac.ir
۳. دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: ahangar@uoz.ac.ir
۴. دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: s-shahraki@uoz.ac.ir
۵. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: lkhammari@uoz.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: آلودگی خاک به فلزات سنگین، به‌ویژه سرب (Pb)، یکی از معضلات جدی زیست‌محیطی به‌شمار می‌رود که اثرات منفی قابل‌توجهی بر سلامت انسان، گیاهان و سایر موجودات زنده دارد. در این راستا، فناوری‌های پالایش زیستی، به‌ویژه گیاه‌پالایی، به‌عنوان روشی مؤثر، اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست برای کاهش غلظت این فلزات در خاک، با استقبال فزاینده‌ای مواجه شده‌اند. گیاه دارویی همیشه بهار (<i>Calendula officinalis</i>) با ویژگی‌هایی هم‌چون رشد سریع، سازگاری با شرایط متنوع محیطی و ظرفیت بالای جذب عناصر، گزینه‌ای مناسب برای این فرآیند محسوب می‌شود. هم‌چنین، ترکیبات کلات‌کننده‌ای نظیر EDTA و BTC، با افزایش حلالیت و قابلیت زیستی فلزات، می‌توانند جذب آن‌ها را توسط گیاهان به‌طور چشمگیری تقویت کنند. اثر این مواد بر فراهمی زیستی سرب در خاک و انتقال آن به اندام‌های مختلف گیاه، می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در موفقیت گیاه‌پالایی ایفا کند. با این حال، بررسی هم‌زمان تأثیر این ترکیبات بر کارایی جذب فلزات، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه و پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از کاربرد آن‌ها، به‌ویژه در شرایط کنترل شده گلخانه‌ای، نیازمند مطالعات جامع‌تری است. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی و مقایسه کارایی گیاه دارویی همیشه بهار در گیاه‌پالایی خاک آلوده به سرب، تحت تأثیر کی‌لیت‌کننده‌های EDTA و BTC، در شرایط گلخانه‌ای طراحی و اجرا شد.
تاریخ دریافت: ۱۴/۰۳/۰۴ تاریخ ویرایش: ۱۱/۰۷/۰۴ تاریخ پذیرش: ۲۷/۰۹/۰۴	
واژه‌های کلیدی: سرب قابل‌جذب خاک، گیاه‌پالایی، گیاه همیشه بهار، BTC، EDTA	

مواد و روش‌ها: این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۳۲ تیمار و ۹۶ واحد آزمایشی، تحت شرایط گلخانه‌ای و در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹

در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در شهرستان زهک اجرا شد. سه عامل مورد بررسی شامل نوع کی‌لیت‌کننده (EDTA و BTC)، غلظت کی‌لیت‌کننده در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) و میزان سرب خاک در چهار سطح (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود که سرب از منبع نیترات سرب تأمین شد. جهت آلوده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا نمونه‌های خاک پس از الک شدن با الک ۲ میلی‌متری، در واحدهای ۲ کیلوگرمی وزن شده و برای آلوده‌سازی آماده شدند. سپس، مقادیر معینی از سرب (از منبع نیترات سرب) و کی‌لیت‌کننده‌ها به شکل محلول و با استفاده از افشانه به خاک اعمال و کاملاً مخلوط گردیدند. این نمونه‌های آلوده به مدت ۲ هفته در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ظرفیت مزرعه تحت انکوباسیون قرار گرفتند. برای اطمینان از تثبیت فلز سنگین و شبیه‌سازی شرایط طبیعی، خاک در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن قرار داده شد. پس از دوره تثبیت، خاک آلوده و اشباع شده، هوا خشک و کوبیده شد و به گلدان‌های یک کیلوگرمی منتقل گردید. کاشت گیاه همیشه‌بهار در اوایل دی‌ماه صورت گرفت و آبیاری در کل دوره رشد با آب مقطر و در حد رطوبت ظرفیت مزرعه تنظیم شد؛ برای این منظور، گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار توزین می‌شدند تا آب از دست رفته جبران گردد. در نهایت، در پایان دوره رشد، بخش‌های هوایی و ریشه گیاه به صورت جداگانه از هر گلدان برداشت شدند. برداشت نمونه‌ها دو ماه پس از کاشت انجام شد و بخش‌های هوایی و ریشه به صورت جداگانه جمع‌آوری شدند. پارامترهای مورد ارزیابی شامل رنگیزه‌های فتوستتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید) و میزان سرب در اندام‌های گیاهی و خاک بود. تجزیه واریانس از طریق رویه Proc GLM و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد و همه محاسبات آماری با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج بررسی تأثیر کی‌لیت‌کننده‌ها و آلودگی سرب بر رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه همیشه بهار نشان داد که این عوامل به‌طور معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدها اثرگذار بودند. با افزایش غلظت سرب، مقدار هر سه رنگیزه کاهش یافت؛ این کاهش برای کلروفیل a در شرایط بدون استفاده از کی‌لیت‌کننده چشم‌گیرتر بود. کاربرد کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه EDTA، به‌خصوص در شرایط بدون سرب و در غلظت ۱/۵ درصد، موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a شد؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار آن (۶/۳۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ترکیبی EDTA 1.5% و بدون سرب مشاهده گردید. هم‌چنین، EDTA در شرایط آلودگی متوسط و شدید (۱۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم) تا حدودی اثرات منفی سرب را کاهش داد. در خصوص کلروفیل b، بیش‌ترین مقدار آن (۱۲/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار شاهد (بدون کی‌لیت و بدون سرب) مشاهده شد. افزایش غلظت سرب، به‌ویژه در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، باعث کاهش میزان این رنگیزه در همه تیمارها شد. این کاهش در تیمارهای حاوی غلظت بالای کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه BTC، بیش‌تر بود که نشان‌دهنده اثر منفی ترکیبی برخی کی‌لیت‌کننده‌ها با سرب بر سنتز کلروفیل b است. در مورد کارتنوئیدها نیز کاربرد کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه EDTA در غلظت ۱ درصد به بهبود نسبی این رنگیزه منجر شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار کارتنوئید (۲/۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار فاقد سرب و حاوی

۱ درصد EDTA مشاهده گردید. با این حال، در غلظت‌های بالای EDTA (۱/۵ درصد) و در حضور سرب، کاهش بیش‌تر رنگیزه‌ها مشاهده شد که بیانگر اثر منفی احتمالی ترکیب این دو عامل است. مطالعه هم‌چنین نشان داد که نوع و غلظت کی‌لیت‌کننده نقش مهمی در جذب، انتقال و توزیع سرب در گیاه دارند. تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد EDTA در شرایط آلودگی بالا (۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم) منجر به بیش‌ترین تجمع سرب در اندام هوایی (۳۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ریشه (۶۲/۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شدند. در مقایسه با BTC، EDTA اثربخشی بیش‌تری در تسهیل انتقال سرب از خاک به گیاه نشان داد، در حالی‌که استفاده از BTC موجب کاهش قابل توجه باقی‌مانده سرب در خاک (تا ۶۹/۵ درصد نسبت به شاهد) شد اما جذب سرب در گیاه کم‌تر بود؛ که احتمالاً ناشی از پایداری بیش‌تر کمپلکس‌های BTC - سرب است. در مجموع، افزایش غلظت کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه EDTA، معمولاً با افزایش تجمع سرب در گیاه همراه بود؛ در مقابل، تیمارهای فاقد کی‌لیت‌کننده بالاترین میزان باقی‌مانده سرب در خاک را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش بر نقش تعیین‌کننده نوع و غلظت کی‌لیت‌کننده‌ها در بهبود کارایی گیاه‌پالایی در شرایط آلودگی با فلزات سنگین، به‌ویژه سرب، تأکید دارد. استفاده از کی‌لیت مناسب مانند EDTA در غلظت‌های کنترل شده و در بازه‌های زمانی مشخص، می‌تواند ضمن کاهش اثرات منفی آلودگی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه، جذب و انتقال سرب را افزایش دهد و در نتیجه باقی‌مانده آن را در خاک کاهش دهد؛ بنابراین، انتخاب دقیق نوع و میزان کی‌لیت‌کننده متناسب با شدت آلودگی سرب، به‌ویژه برای حفظ سلامت و عملکرد گیاهان دارویی و زینتی، از اهمیت بالایی برخوردار است. موفقیت این رویکرد هم‌چنین نیازمند مدیریت زیست‌محیطی مؤثر و پایدار است تا از بروز پیامدهای ناخواسته، نظیر انتقال بیش از حد فلزات سنگین به بخش‌های مصرفی گیاه، جلوگیری شود.

استناد: دهمرده قائم‌آباد، نرگس، دهمرده، مهدی، غلامعلی‌زاده آهنگر، احمد، شهرکی، سمیه، خمری، عیسی (۱۴۰۵). تأثیر EDTA و BTC بر گیاه‌پالایی سرب خاک توسط گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*). پژوهش‌های حفاظت آب و خاک، ۳۳ (۲)، ۱۶۷-۱۸۸.

DOI: 10.22069/jwsc.2026.23748.3811



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

سرب (Pb)، به‌عنوان دومین آلاینده‌ی پرخطر در دسته فلزات سنگین، در ماتریس خاک تخریب‌ناپذیر و پایدار باقی می‌ماند. همچنین از منظر انتشار در محیط‌زیست، گسترده‌ترین عنصر سمی در میان فلزات سنگین محسوب می‌شود که پس از جذب، اثرات مخرب بر ارگانیسم‌های زنده بر جای می‌گذارد. به‌دلیل انباشت در افق سطحی خاک، سرب به سهولت در دسترس سیستم ریشه‌ای گیاهان قرار گرفته و جذب می‌شود. این امر به اختلال در فعالیت‌های متابولیکی، رشد و نمو (مانند فتوسنتز، تنفس و تعادل هورمونی) در ساختار گیاه منجر می‌شود. غلظت بحرانی سرب کل در خاک، به‌طور عمومی در محدوده ۶۰۰-۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده است (۱، ۲). این محدوده به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی سطح آلودگی و ریسک اکولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلودگی خاک به فلزات سنگین، به‌ویژه سرب، یکی از چالش‌های جدی برای سلامت انسان و محیط‌زیست به‌شمار می‌رود. این فلزات به‌دلیل سمیت بالا، پایداری در محیط و توانایی تجمع زیستی، تهدیدی پایدار برای سامانه‌های زیستی هستند. فعالیت‌های صنعتی، عملیات استخراج معدن و دفع غیراصولی پسماندها موجب افزایش غلظت سرب در خاک شده‌اند که این امر می‌تواند رشد گیاهان را مختل کرده و از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شود. روش‌های متداول پالایش خاک آلوده، مانند حفاری و استفاده از مواد شیمیایی، علاوه بر هزینه‌های زیاد، اغلب منجر به تخریب شدید محیط‌زیست می‌شوند (۳، ۴، ۵). برای کاهش خطر انتقال فلزات سنگین به موجودات زنده، از روش‌های مختلفی شامل تکنیک‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای اصلاح خاک‌های آلوده استفاده می‌شود (۵، ۶). در این میان،

گیاه‌پالایی^۱، به‌عنوان روشی پایدار، سازگار با محیط‌زیست و مقرون‌به‌صرفه که بر توانایی برخی گیاهان در جذب، تثبیت و حذف فلزات سنگین، به‌ویژه در خاک‌های آلوده به سرب، استوار است، به‌طور فزاینده‌ای مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (۴، ۵).

از میان گیاهان مختلفی که برای این منظور بررسی شده‌اند، گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) به دلیل داشتن ارزش زینتی، رشد سریع، مقاومت به شرایط سخت و سازگاری خوب با خاک‌های مختلف، گیاهی مناسب برای بررسی ظرفیت پالایشی فلزات سنگین، به‌ویژه سرب، محسوب می‌شود. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که این گیاه توانایی جذب فلزات سنگین مانند کادمیم (Cd) را دارد و به‌ویژه در حضور اصلاح‌کننده‌های شیمیایی، کارایی آن در جذب فلزات افزایش می‌یابد (۷، ۸). صفاری و صفاری (۲۰۲۰) در بررسی توان گیاه‌پالایی کادمیم توسط گونه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گزارش کردند که فاکتورهای تجمع و انتقال کادمیم در این گیاه همواره بالاتر از ۱ بوده است که این امر نشان‌دهنده قابلیت انباشت بالای این گونه نسبت به فلز کادمیم و نقش آن به‌عنوان یک گیاه انباشتگر فلزات سنگین می‌باشد (۱۰). در این راستا، استفاده از ترکیبات کی‌لیت‌کننده مانند اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) برای افزایش قابلیت جذب فلزات توسط گیاهان، کاربرد گسترده‌ای یافته است. EDTA با افزایش انحلال‌پذیری فلزات در خاک، قابلیت زیستی آن‌ها را برای گیاهان بیش‌تر می‌کند. با این حال، نگرانی‌هایی در مورد پایداری بالای EDTA در محیط، سمیت احتمالی آن برای گیاهان و خطرات زیست‌محیطی هم‌چون افزایش آبشویی فلزات سنگین وجود دارد که باید در استفاده از این ماده به‌دقت مدنظر قرار گیرند (۵، ۱۱، ۱۲). از

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ به‌صورت گلخانه‌ای در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل (چاه‌نیمه)، واقع در شهرستان زهک، با موقعیت جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه عرض شمالی و ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۴۸۳ متر از سطح دریا اجرا شد. شهرستان زابل از نظر آب‌وهوا دارای زمستان‌های سرد و خشک و تابستان‌های گرم و خشک است. براساس طبقه‌بندی اقلیمی کوپن، این منطقه در دسته آب‌وهوای بیابانی بسیار گرم و خشک قرار دارد. براساس آمار ایستگاه هواشناسی زابل میزان متوسط بارندگی سالیانه آن ۵۸/۹ میلی‌متر و متوسط دمای سالیانه آن ۲۲ درجه سانتی‌گراد است. هم‌چنین میزان تبخیر سالیانه در این منطقه ۴۸۶۵ میلی‌متر است که بیش از ۷۸ برابر متوسط بارندگی سالانه است (ایستگاه هواشناسی شهرستان زابل).

برای ارزیابی دقیق وضعیت خاک پیش از شروع آزمایش، نمونه‌برداری تصادفی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک در ۱۰ نقطه مختلف از زمین‌های کشاورزی منطقه انجام شد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با یکدیگر ترکیب گردید و نمونه مرکبی تهیه شد که بخشی از آن برای انجام تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه منتقل و برخی ویژگی‌های آن تعیین شد. بافت خاک به روش هیدرومتر (۱۶)، هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع (۱۷)، اسیدیته در گل اشباع به روش پتانسیومتری (۱۸)، نیتروژن کل به روش کلدال (۱۹)، فسفر کل به روش اولسن (۲۰)، پتاسیم قابل‌جذب به روش عصاره‌گیری استات آمونیوم یک مولار (۲۱)، کربن آلی به روش والکی-بلاک (۲۲) و مواد آلی (۲۳) اندازه‌گیری شدند. شایان‌ذکر است که خاک مورد‌استفاده در گلدان‌ها نیز از همین نمونه مرکب تهیه شد. نتایج حاصل از آزمون‌های خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

سوی دیگر، در سال‌های اخیر کی‌لیت‌کننده‌های مبتنی بر ساختارهای آروماتیک مانند بنزن (Benzene-based chelators) نیز به‌عنوان جایگزین‌های جدیدتر و در برخی موارد مؤثرتر از EDTA پیشنهاد شده‌اند. این ترکیبات می‌توانند با تشکیل کمپلکس‌های پایدار با یون‌های فلزی، هم تحرک فلزات در خاک را افزایش دهند و هم جذب آن‌ها را در گیاه بهبود بخشند. به‌ویژه، برخی ترکیبات مشتق‌شده از بنزن مانند بنزن‌تری‌کربوکسیلیک اسید (BTC (Benzene-1,3,5-Tricarboxylic Acid) و سایر لیگاندهای آروماتیک با گروه‌های کربوکسیلیک، به‌دلیل پایداری بالا و زیست‌تخریب‌پذیری مناسب، به‌عنوان گزینه‌های امیدوارکننده در پالایش زیستی مطرح شده‌اند (۱۳، ۱۴).

باوجود مطالعات متعدد در زمینه استفاده از EDTA (۱۵، ۱۶) و ترکیبات مبتنی بر بنزن (۱۴) در افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان مختلف، اطلاعات اندکی درباره مقایسه مستقیم عملکرد دو کی‌لیت‌کننده EDTA و BTC در افزایش جذب سرب توسط *Calendula officinalis*، به‌ویژه در شرایط آلودگی به سرب، در دسترس است. علاوه بر این، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه به تنش فلزات سنگین، در حضور و عدم حضور EDTA و BTC، به‌طور کامل بررسی نشده است؛ بنابراین، با توجه به اهمیت دارویی و زینتی گیاه همیشه‌بهار و نیز ظرفیت آن در گیاه‌پالایی و با در نظر گرفتن شرایط زیست‌محیطی خاص شهرستان زابل، ازجمله خشکی اقلیم، مخاطرات ناشی از آلودگی‌های خاک و کمبود پوشش گیاهی مؤثر در پالایش زیستی، هدف این پژوهش، بررسی و مقایسه اثربخشی کی‌لیت‌کننده‌های EDTA و BTC در افزایش جذب سرب و ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه در شرایط آلودگی به سرب در این منطقه است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک.

Table 1. Physical and chemical properties of soil.

بافت خاک	مواد آلی (OM)	کربن آلی (OC)	پتاسیم (K)	فسفر (P)	نیتروژن (N)	اسیدیته	هدایت الکتریکی
Soil texture	Organic matter	Organic carbon	Potassium	Phosphorus	Nitrogen	pH	EC
لوم‌شنی	%	%	ppm	ppm	%		dS m ⁻¹
Sandy loam	1.6	0.1	450	11.2	0.06	7.6	2.6

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی، با سه تکرار، ۳۲ تیمار و ۹۶ واحد آزمایشی اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه عامل، عامل اول، نوع کی‌لیت‌کننده در دو سطح (EDTA و BTC)؛ عامل دوم، سطوح کی‌لیت‌کننده در چهار سطح (صفر، ۰۰۵، ۱ و ۱۰۵ درصد)؛ و عامل سوم، میزان سرب در چهار سطح (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود.

نمونه‌های خاک پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری در واحدهای ۲ کیلوگرمی توزین شد و روی نایلون‌های پلاستیکی مخصوص ریخته شد. به منظور آلوده‌سازی خاک، مقادیر مشخص شده سرب از منبع نیترات سرب و کی‌لیت‌کننده‌ها به ازای هر کیلوگرم خاک به صورت محلول و با استفاده از افشانه‌ها بر خاک اعمال و با خاک مخلوط شد. نمونه‌ها کاملاً مخلوط و در ظروف پلاستیکی ریخته و به مدت ۲ هفته در فضای گلخانه و در دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ظرفیت مزرعه (تنظیم شده با روش توزین) قرار گرفتند. نمونه‌ها در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن قرار گرفت که تا حد ممکن واکنش بین فلز سنگین و خاک، رخ دهد و شرایط آلودگی به شرایط طبیعی نزدیک‌تر شود.

تاریخ کاشت اوایل دی‌ماه و زمان برداشت، دو ماه پس از کاشت بود. برای کاشت، گلدان‌های یک کیلویی انتخاب و خاک آلوده به فلز سرب که از پیش آماده و اشباع شده بود، هوا خشک گردیده و پس از کوبیدن به گلدان‌ها انتقال یافت. پس از کاشت گیاه

همیشه بهار در گلدان‌ها آبیاری با آب مقطر در حد رطوبت ظرفیت مزرعه در کل دوره رشد انجام شد. برای این منظور گلدان‌ها در فاصله زمانی هر دو روز یکبار توزین شده و آب از دست رفته تا رسیدن گلدان‌ها به وزن نهایی (رطوبت ظرفیت مزرعه) به گلدان‌ها اضافه گردید. در پایان دوره رشد، بخش‌های هوایی و ریشه گیاه به طور جداگانه از هر گلدان برداشت شدند.

در این پژوهش، ویژگی‌های کیفی شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید) و میزان سرب در اندام هوایی و ریشه در گیاه همیشه‌بهار، همچنین مقدار سرب موجود در خاک اندازه‌گیری شد.

تخمین غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی: محتوای کلروفیل بر اساس روش آرنون (۱۹۴۹) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (۲۴). برای این منظور، ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ گیاه در هاون چینی سائیده و با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط گردید. این مخلوط به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، عصاره شفاف استونی جدا شده و به بالن شیشه‌ای منتقل گردید. اندازه‌گیری رنگیزه‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۴ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کارتنوئید انجام شد. مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید به ترتیب بر اساس روابط ۱، ۲ و ۳ و به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

کی‌لیت‌کننده، سطوح کی‌لیت‌کننده، سطوح سرب، اغلب برهم‌کنش‌های دوگانه بین این عوامل (به‌جز برهم‌کنش نوع کی‌لیت‌کننده $\times$ سطوح کی‌لیت‌کننده) و نیز برهم‌کنش سه‌گانه آن‌ها قرار گرفت (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳)، به‌طور کلی، با افزایش غلظت سرب در خاک، مقدار کلروفیل a کاهش یافت؛ به‌ویژه در شرایط بدون مصرف کی‌لیت‌کننده، این کاهش معنی‌دار بود. برای مثال، در تیمار فاقد کی‌لیت‌کننده EDTA، مقدار کلروفیل a از ۴/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار بدون سرب به ۲/۶۴ در تیمار با ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب کاهش یافت (کاهشی معادل ۴۰ درصد). در تیمار مشابه با کی‌لیت BTC نیز، این مقدار از ۶/۲۵ به ۲/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید که بیانگر کاهش شدیدتر ۶۰ درصد است. این روند نشان‌دهنده اثر منفی قابل توجه آلودگی سرب بر ساختار و عملکرد رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه است. در شرایط فاقد سرب یا بدون آلودگی، استفاده از کی‌لیت‌کننده‌ها به‌ویژه در سطوح بالاتر (۱ و ۱/۵ درصد) باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل a شد. بیش‌ترین مقدار کلروفیل a در کل تیمارها، معادل ۶/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در تیمار ترکیبی EDTA با سطح ۱/۵ درصد و بدون حضور سرب مشاهده شد. هم‌چنین تیمار BTC در سطح صفر و بدون سرب نیز مقدار نسبتاً بالایی (۶/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) داشت، اما با افزایش سطح کی‌لیت‌کننده به ۱/۵ درصد، مقدار آن به ۵/۳۲ کاهش یافت که حدود ۱۵ درصد کم‌تر از EDTA بود. این مقایسه نشان‌دهنده اثربخشی بیش‌تر EDTA نسبت به BTC در افزایش تولید کلروفیل a است. در شرایط آلودگی سرب، استفاده از کی‌لیت‌کننده تا حدی توانست اثرات منفی را کاهش دهد. به‌عنوان مثال، در تیمار EDTA-1.5 با ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، مقدار کلروفیل a به ۴/۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید که نسبت به

$$\text{Chlorophyll a (Chl a, mg/g LFW)} = \quad (1)$$

$$(11/75 \times A2 - 664/350 \times A645)$$

$$\text{Chlorophyll b (Chl b, mg/g LFW)} = \quad (2)$$

$$(18/61 \times A3 - 645/960 \times A664)$$

$$\text{Carotenoid (Car, mg/g LFW)} = 1000(A470) \quad (3)$$

$$-2/270 (\text{mg Chl a}) - 81/4 (\text{mg Chl b})/227$$

اندازه‌گیری غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی: برای اندازه‌گیری غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی گیاه، از روش هضم خشک استفاده شد. برای این منظور، یک گرم از نمونه خشک شده گیاه با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در بوتله چینی ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ ساعت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن خاکستر حاصل، ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن افزوده شد. سوسپانسیون حاصل پس از رساندن حجم آن به ۵۰ میلی‌لیتر، از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد (۲۵). در نهایت، غلظت سرب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی (Shimadzu-AA670) اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از مرتب‌سازی داده‌ها، نرمال‌بودن آن‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و رویه Proc Univariate بررسی شد. تجزیه واریانس از طریق رویه Proc GLM انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گردید.

نتایج و بحث

اثر نوع و سطوح کی‌لیت‌کننده و سرب بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان کلروفیل a در گیاه همیشه بهار تحت‌تأثیر نوع

تیمار EDTA-0 با همان سطح سرب حدود ۱۱ درصد افزایش داشت. در سطوح بالای آلودگی (سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، تیمار EDTA-1.5 با مقدار ۳/۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشت. پایین‌ترین مقدار کلروفیل a در کل ترکیب‌های تیماری برابر با ۱/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و مربوط به تیمار حاوی ۱ درصد BTC در خاک آلوده به ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نترات سرب بود که نسبت به مقدار اولیه یا شاهد آن (۶/۲۵) کاهش شدید ۶۹ درصدی را نشان داد.

در مجموع، افزایش غلظت سرب به کاهش شدید کلروفیل a منجر شد، اما کاربرد کی‌لیت‌کننده، به‌ویژه EDTA، توانست تا حدی از این کاهش جلوگیری کند و به حفظ مقدار کلروفیل کمک نماید. تیمارهای حاوی EDTA در بیش‌تر شرایط عملکرد بهتری نسبت به BTC نشان دادند و مقدار کلروفیل a را نسبت به تیمارهای بدون کی‌لیت یا حاوی BTC تا ۱۵ تا ۴۰ درصد افزایش دادند.

مطابق با گزارش توکلی و همکاران (۲۰۱۱)، غلظت بالای سرب به فراساختار سلولی برگ‌ها آسیب می‌زند؛ از جمله تورم کلروپلاست‌ها، تخریب غشاهای کلروپلاستی و غیرفعال شدن آنزیم روبیسکو. همچنین، سرب فعالیت آنزیم دلتا آمینولولینیک اسید دهیدراتاز را مهار کرده و از سنتز کلروفیل جلوگیری می‌کند که در نهایت باعث بروز علائم کلروز و نکروز در برگ‌ها می‌شود (۲۶). بر اساس پژوهش اسلام و همکاران (۲۰۰۸)، کاهش فتوسنتز ناشی از آلودگی سرب، بیش‌تر به دلیل بسته شدن روزنه‌ها است تا تأثیر مستقیم آن بر فتوسنتز. افزون بر این، آسیب به ساختار داخلی کلروپلاست‌ها، از جمله تیلاکوئید، استروما و گرانا نیز از عوامل کاهش فتوسنتز محسوب می‌شوند (۲۷).

کلروفیل b: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میزان کلروفیل b تحت تأثیر اثرات ساده سطوح کی‌لیت‌کننده،

سطوح سرب، و همچنین برهمکنش‌های دوگانه و سه‌گانه قرار گرفت. اگرچه نوع کی‌لیت‌کننده به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری نداشت، اما نقش آن در برهمکنش‌ها قابل‌توجه بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل b (۱۲/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد (بدون کی‌لیت‌کننده و بدون سرب) بود که به‌عنوان مبنا برای مقایسه سایر تیمارها در نظر گرفته شد. با افزایش سطح سرب، به‌ویژه در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میزان کلروفیل b در تمامی تیمارها به‌طور چشم‌گیری کاهش یافت. کم‌ترین میزان کلروفیل b (۲/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ترکیبی BTC ۰/۵ درصد + سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. در تیمارهای حاوی EDTA و BTC همراه با سطح ۴۵۰ میلی‌گرم سرب نیز مقادیر نسبتاً پایین کلروفیل b ثبت شد؛ به‌عنوان مثال، در تیمار EDTA-0.5 میزان کلروفیل b برابر با ۲/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. با افزایش درصد کی‌لیت‌کننده‌ها، در بیش‌تر موارد کاهش بیش‌تری در میزان کلروفیل b مشاهده شد، به‌ویژه در حضور سطوح بالای سرب. حضور سرب در خاک، به‌عنوان یک عنصر سمی، اثر منفی آشکاری بر سنتز کلروفیل b دارد و این اثر در ترکیب با کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه BTC، تشدید می‌شود. هرچند هدف از استفاده از کی‌لیت‌کننده‌ها، کاهش اثرات زیان‌بار فلزات سنگین است، اما به نظر می‌رسد که در برخی سطوح و با برخی انواع (مانند BTC)، این ترکیبات می‌توانند اثر معکوس داشته باشند. کاهش حدود ۴۹ تا ۴۴ درصدی کلروفیل b در تیمارهای حاوی EDTA و BTC ۱/۵ درصد (همراه با ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) نسبت به شاهد، نشان‌دهنده اثر شدید ترکیبی این تیمارها بر گیاه است. به‌طور کلی، افزایش غلظت سرب در خاک، به‌ویژه در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش

مهار می‌کنند (۲۸، ۲۹). این عناصر با پیوند به گروه‌های آمینی و گوگردی موجود در پروتئین‌ها و لیگاندها، عملکرد آنزیم‌های کلیدی مانند α -آمینولولینیک دهیدراتاز را مختل کرده و باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌شوند (۳۰). افزایش غلظت سرب در محیط رشد، موجب انتقال بیش‌تر این عنصر از ریشه به اندام هوایی شده که این امر ممکن است ناشی از آسیب به ساختار غشای پلاسمایی و کاهش توان گیاه در محدودسازی جذب باشد (۲۹).

معنی‌دار کلروفیل b در گیاه همیشه بهار شد. این اثر در حضور کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه با BTC-0.5 درصد، تشدید گردید و منجر به کم‌ترین میزان کلروفیل b شد. بنابراین، استفاده از برخی کی‌لیت‌کننده‌ها در شرایط آلودگی شدید نه‌تنها کارایی محافظتی ندارد، بلکه ممکن است اثرات منفی را تشدید کند.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فلزات سنگین مانند سرب، نیکل و کادمیوم با ایجاد اختلال در جذب عناصر ضروری نظیر آهن و منیزیم و برهم‌زدن تعادل عناصر غذایی، سنتز کلروفیل (کلروفیل a، b و کل) را

جدول ۲- تجزیه واریانس برای صفات کیفی و محتوای سرب در خاک، ریشه و اندام هوایی گیاه همیشه‌بهار.

Table 2. Analysis of variance for qualitative traits and lead content in soil, roots, and shoots of marigold plant.

میانگین مربعات Mean Squares						درجه آزادی df	منابع تغییر S.O. V
سرب خاک Soil lead (mg kg ⁻¹)	سرب ریشه Root lead (mg kg ⁻¹)	سرب اندام‌های هوائی Shoots lead (mg kg ⁻¹)	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a		
76.61**	10.30**	544.00**	0.53**	0.88 ^{ns}	0.006**	1	نوع کی‌لیت‌کننده Chelator types
16.20**	466.97**	112.34**	1.48**	26.33**	6.12**	3	سطوح کی‌لیت‌کننده Chelator levels
3.27**	254.79**	4.91**	0.85**	3.72**	4.87**	3	سطوح سرب Lead levels
11.21**	87.31**	192.62**	2.70**	10.53**	0.64 ^{ns}	3	نوع کی‌لیت‌کننده × سطوح کی‌لیت‌کننده Chelator types × Chelator levels
8.56**	218.67**	23.65**	1.26**	9.27**	2.97**	9	سطوح کی‌لیت‌کننده × سرب Chelator levels × Lead
4.88**	324.37**	80.05**	1.47**	7.77**	6.71**	3	نوع کی‌لیت‌کننده × سرب Chelator types × Lead
3.35**	366.28**	79.33**	0.50**	12.05**	1.14**	9	نوع کی‌لیت‌کننده × سرب × سطوح کی‌لیت‌کننده Chelator types × Lead × Chelator levels
0.60	7.93	1.61	0.09	0.94	0.51	64	خطا Error
13.92	6.92	15.55	22.57	20.29	18.01	-	ضریب تغییرات Coefficient of Variance (CV, %)

** و ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

** and ^{ns} Significant at the 1% probability level ($\alpha=0.01$) and non-significant, respectively

بر اساس گزارش امینی و همکاران (۲۰۱۲)، تیمار یونجه با سرب و نیکل موجب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل کل در مقایسه با گیاه شاهد شد (۳۱). همچنین گزارش شده است که حتی غلظت‌های نسبتاً پایین فلزات سنگین (نظیر ۵۰ میکرومول بر لیتر سرب در خیار یا ۲ میلی‌مولار سرب در چغندر قند) می‌تواند به کاهش محسوس کلروفیل و بروز علائم کمبود آهن منجر شود (۳۲، ۳۳). در مطالعه‌ای دیگر، نشان داده شد که حضور فلزاتی مانند نیکل، سرب و روی موجب کاهش نرخ فتوسنتز در گیاه ذرت شده است، که این نتایج تأکیدی بر تأثیر منفی فلزات سنگین بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان است (۱۰).

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات کیفی گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر برهمکنش نوع کی‌لیت‌کننده × درصد کی‌لیت‌کننده × غلظت سرب.

Table 3. Mean comparison of marigold qualitative traits as affected by the interaction of chelator type × chelator percentage × lead concentration.

نوع کی‌لیت‌کننده Chelator types	سطوح کی‌لیت‌کننده Chelator levels (mg kg ⁻¹)	سطوح سرب Lead levels (mg kg ⁻¹)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹)	کارتنوئید Carotenoid (mg g ⁻¹)
EDTA	0	0	4.39 ^{c-f}	12.01 ^a	1.46 ^{d-g}
		150	4.36 ^{c-g}	7.25 ^{bc}	0.91 ^{g-m}
		300	3.16 ^{e-j}	4.88 ^{d-i}	0.68 ^{k-m}
		450	2.64 ^{i-k}	4.33 ^{e-k}	0.40 ^m
	0.5	0	3.60 ^{e-j}	5.60 ^{c-g}	1.33 ^{d-i}
		150	3.51 ^{e-j}	4.70 ^{d-j}	0.98 ^{g-l}
		300	3.45 ^{e-j}	4.21 ^{g-k}	0.81 ^{h-m}
		450	2.51 ^{jk}	2.78 ^{kl}	0.73 ^{j-m}
	1	0	5.99 ^{ab}	5.22 ^{d-h}	2.90 ^a
		150	3.75 ^{e-j}	4.83 ^{d-i}	1.89 ^{cd}
		300	3.25 ^{e-j}	3.94 ^{f-l}	1.40 ^{d-g}
		450	2.71 ^{i-k}	3.52 ^{h-l}	0.77 ^{i-m}
	1.5	0	6.38 ^a	5.88 ^{c-e}	2.73 ^{ab}
		150	4.84 ^{b-e}	4.00 ^{e-k}	2.43 ^{ab}
		300	4.19 ^{c-h}	3.67 ^{h-l}	1.56 ^{d-f}
		450	3.92 ^{e-i}	3.00 ^{i-l}	1.30 ^{d-i}
BTC	0	0	6.25 ^a	7.92 ^b	2.29 ^{bc}
		150	4.32 ^{c-g}	5.02 ^{d-h}	1.60 ^{de}
		300	2.96 ^{g-k}	4.62 ^{e-j}	1.34 ^{d-h}
		450	2.48 ^{jk}	3.83 ^{f-l}	0.36 ^m
	0.5	0	4.45 ^{c-f}	4.50 ^{e-k}	1.55 ^{d-f}
		150	4.30 ^{c-h}	3.71 ^{g-l}	1.45 ^{d-g}
		300	2.91 ^{h-k}	3.60 ^{h-l}	1.06 ^{e-k}
		450	2.62 ^{i-k}	2.28 ^l	0.72 ^{k-m}
	1	0	5.36 ^{a-c}	7.08 ^{bc}	1.61 ^{de}
		150	4.19 ^{c-h}	6.52 ^{b-d}	1.45 ^{d-g}
		300	3.50 ^{e-j}	4.59 ^{e-j}	1.29 ^{e-j}
		450	1.92 ^k	3.32 ^{h-l}	1.08 ^{e-l}
	1.5	0	5.32 ^{a-d}	4.63 ^{e-j}	1.57 ^{de}
		150	4.44 ^{c-f}	5.67 ^{c-f}	1.39 ^{d-g}
		300	4.15 ^{c-h}	3.53 ^{h-l}	0.68 ^{k-m}
		450	3.96 ^{c-h}	2.59 ^{kl}	0.46 ^{lm}

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، طبق آزمون چنددامنه‌ای دانکن، اختلاف معنی‌داری ندارند ($\alpha = 0.05$)

Means in each column by similar letter(s), according to Duncan's multiple range test, are not significantly different ($\alpha = 0.05$)

کارتونوئید: میزان کارتونوئید تحت تأثیر نوع و سطح کی‌لیت‌کننده، سطوح مختلف سرب، و برهمکنش‌های دوگانه و سه‌گانه این عوامل قرار گرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که با افزایش غلظت سرب از صفر تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مقدار کارتونوئید در اغلب تیمارها کاهش یافت. این کاهش در تیمارهای فاقد کی‌لیت‌کننده یا دارای غلظت پایین آن چشمگیرتر بود، در حالی که استفاده از کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه در غلظت‌های بهینه، تا حدی توانست اثر منفی سرب را تعدیل کند. در بین تیمارها، بیش‌ترین میزان کارتونوئید (۲/۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) در تیمار حاوی ۱ درصد EDTA و بدون سرب مشاهده شد که از نظر آماری نیز در رتبه نخست قرار گرفت. این یافته نقش مثبت EDTA را در افزایش سنتز رنگدانه‌ها در شرایط فاقد آلودگی سرب نشان می‌دهد. در مقابل، کم‌ترین میزان کارتونوئید (۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار بدون کی‌لیت‌کننده BTC و دارای ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود. این کاهش شدید نشان می‌دهد که حضور سرب به‌ویژه در غیاب کی‌لیت‌کننده تأثیر مخرب قابل توجهی بر سنتز کارتونوئید دارد. بررسی اثر درصد کی‌لیت‌کننده نشان داد که افزایش غلظت آن تا حد مشخصی مؤثر است، اما در غلظت‌های بالا (مانند ۱/۵ درصد)، به‌ویژه در ترکیب با سطوح بالای سرب، می‌تواند اثر معکوس داشته باشد. به‌عنوان مثال، در تیمار حاوی ۱/۵ درصد BTC و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب، میزان کارتونوئید فقط به ۰/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کاهش یافت. مقایسه دو نوع کی‌لیت‌کننده نیز نشان داد که تیمارهای حاوی EDTA، به‌ویژه در غیاب یا سطوح پایین سرب، عملکرد بهتری نسبت به تیمارهای حاوی BTC داشتند. در غلظت ۱ درصد، EDTA بیش‌ترین میزان کارتونوئید را موجب شد، در حالی که BTC در همان شرایط تنها به ۱/۶۱ میلی‌گرم

بر گرم وزن تر رسید. با این حال، در غلظت‌های بالاتر، کاهش میزان کارتونوئید در هر دو نوع کی‌لیت‌کننده مشاهده شد.

به‌طورکلی، نتایج نشان می‌دهد که استفاده از کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه EDTA در غلظت مناسب (۱ درصد)، می‌تواند اثرات منفی آلودگی سرب بر میزان کارتونوئید را تا حدی کاهش دهد. با این حال، در شرایط آلودگی شدید، حتی استفاده از کی‌لیت‌کننده‌ها نیز قادر به جلوگیری کامل از کاهش رنگدانه‌ها نیست. بنابراین، انتخاب دقیق نوع و غلظت کی‌لیت‌کننده متناسب با شدت آلودگی فلزی، در حفظ کیفیت گیاهان دارویی و زینتی مانند همیشه‌بهار، اهمیت زیادی دارد.

سرب یکی از فلزات سنگین با سمیت بالا برای گیاهان به‌شمار می‌رود که با تأثیر بر مکانیسم‌های انتقال الکترون، به‌ویژه در کلروپلاست و میتوکندری، موجب مهار فرآیندهای فتوسنتز و تنفس می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که حتی غلظت‌های پایین این فلز می‌تواند عملکرد تنفس میتوکندریایی را مختل کرده و تولید انرژی را در سلول کاهش دهد (۳۴). مطالعات متعدد، در توافق با نتایج مطالعه حاضر، نشان داده‌اند که آلودگی با سرب به‌طور معنی‌داری موجب کاهش کلروفیل a، b و کارتونوئیدها در گیاهان می‌شود، زیرا سرب با مختل کردن سنتز رنگیزه‌ها و تخریب سیستم فتوسنتزی، عملکرد فتوسنتز را کاهش می‌دهد (۳۲، ۲۵). باروانا و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که با افزایش غلظت سرب، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتونوئیدها و شاخص سبزیگی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۳۵). در مقابل، آدرس و همکاران (۲۰۱۵) افزایش در میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص سبزیگی را به بهبود عملکرد گیاه و کاهش غلظت سرب در برگ‌ها نسبت دادند (۳۶).

مطابق با یافته‌های ما، تحقیقات اخیر نیز تأیید کرده‌اند که کاربرد EDTA به‌طور چشمگیری باعث بهبود سطح کلروفیل و رشد گیاه در شرایط آلودگی با سرب می‌شود. به‌عنوان مثال، در گیاه *Brassica juncea* کاربرد برگی EDTA منجر به افزایش ۸۰ درصدی کلروفیل در مقایسه با تیمار شاهد شد (۵). هم‌چنین در کلزا (*Brassica napus*)، استفاده از EDTA کاهش ناشی از آلودگی در رنگیزه‌ها، رشد گیاه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را جبران کرد (۳۷). در مطالعات مقایسه‌ای نیز نشان داده شده است که EDTA معمولاً عملکرد بهتری نسبت به سایر کی‌لیت‌کننده‌ها مانند NTA، DIPA و حتی کی‌لیت‌های زیستی مانند EDDS در استخراج سرب از خاک و کاهش اثرات زیان‌بار آن بر گیاه دارد (۳، ۶). این نتایج با یافته‌های مطالعه ما که EDTA را مؤثرتر از BTC در حفظ یا افزایش کلروفیل معرفی کرده است، هم‌راستا می‌باشند. هم‌چنین، در تأیید نتایج ما، پژوهش‌ها تأکید کرده‌اند که هر چند EDTA در غلظت‌های مناسب کارآمد است، اما در سطوح بالاتر یا در شرایط آلودگی شدید، ممکن است خود به‌عنوان عامل تنش‌زا عمل کرده و موجب تشدید اثرات منفی گردد (۳۸).

اثر نوع و سطوح کی‌لیت‌کننده و سرب بر انتقال و تجمع سرب در خاک و اندام‌های گیاه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان سرب در اندام هوایی، ریشه و خاک تحت تأثیر نوع و سطح کی‌لیت‌کننده، سطوح مختلف سرب، و برهم‌کنش‌های دوگانه و سه‌گانه این عوامل قرار گرفتند (جدول ۲).

غلظت سرب در بخش‌های هوایی گیاه: مطابق با نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) و بررسی ترکیب‌های تیماری مختلف، مشخص شد که نوع و غلظت کی‌لیت‌کننده نقش بسیار مهمی در انتقال و تجمع سرب در بخش‌های هوایی گیاه ایفا می‌کنند؛ به‌ویژه در شرایط آلودگی بالای خاک به سرب. بیش‌ترین میزان

تجمع سرب در اندام هوایی گیاه برابر با ۳۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که مربوط به تیمار EDTA با غلظت ۱/۵ درصد و سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. این مقدار به‌طور چشمگیری بالاتر از سایر تیمارها بود و نشان می‌دهد که استفاده از EDTA در غلظت‌های بالا، به‌طور قابل‌توجهی توانایی انتقال سرب از خاک به اندام‌های هوایی را افزایش می‌دهد. در مقابل، کم‌ترین میزان سرب در اندام‌های هوایی (۲/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) در تیمار ۰/۵ درصد BTC و خاک تیمار نشده با نیترات سرب مشاهده شد. بنابراین، اختلاف چشمگیر میان بیشینه و کمینه میزان سرب در اندام‌های هوایی، بیانگر شدت تأثیر نوع کی‌لیت‌کننده و سطح آلودگی خاک به سرب بر میزان جذب و انتقال این فلز توسط گیاه است. مقایسه بین دو نوع کی‌لیت‌کننده در سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز نتایج قابل‌توجهی را نشان داد. در حالی‌که تیمار EDTA با غلظت ۱/۵ درصد منجر به تجمع ۳۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در اندام‌های هوایی شد، تیمار مشابه با کی‌لیت BTC تنها ۱۹/۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جذب نشان داد. این اختلاف معادل افزایش ۶۰/۸ درصدی در جذب توسط EDTA نسبت به BTC است و نشان می‌دهد که EDTA کارایی بالاتری در تسهیل انتقال سرب به اندام‌های هوایی دارد. افزایش تدریجی درصد کی‌لیت‌کننده نیز به‌طور معمول موجب افزایش تجمع سرب در اندام‌های هوایی شد، به‌ویژه در حضور EDTA. به‌عنوان مثال، در سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش درصد EDTA از صفر به ۱/۵ باعث افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی از ۱۶/۶۳ به ۳۰/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد که معادل ۸۵/۷ درصد افزایش است. این روند در مورد BTC نیز دیده شد، ولی با شدت کم‌تر؛ به‌طوری‌که در همین سطح سرب، مقدار سرب در اندام هوایی از ۷/۵۳ به ۱۹/۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت

تجمع فلزات سنگین در ریشه است. در سوی دیگر، در میان تیمارهای حاوی کی‌لیت BTC، بیش‌ترین میزان تجمع سرب در ریشه مربوط به تیمار با غلظت ۱/۵ درصد BTC و سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که مقدار آن ۵۴/۹۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد. این مقدار نسبت به تیمار متناظر EDTA (۶۲/۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، حدود ۱۱/۸ درصد کمتر بود. این اختلاف نشان می‌دهد که گرچه BTC نیز با افزایش غلظت و سطح آلودگی می‌تواند جذب سرب را افزایش دهد، اما کارایی آن در مقایسه با EDTA پایین‌تر است.

در مجموع، با افزایش درصد کی‌لیت‌کننده و سطح سرب، میزان تجمع سرب در ریشه افزایش یافت، اما شدت این افزایش در تیمارهای حاوی EDTA به‌مراتب بیش‌تر از تیمارهای BTC بود. به‌ویژه در تیمار با ۱/۵ درصد کی‌لیت‌کننده و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، کاربرد EDTA موجب حدود ۱۳/۵ درصد افزایش بیش‌تر در جذب سرب توسط ریشه نسبت به BTC شد. بنابراین، ترکیب تیماری $EDTA\ 1.5\% \times 450\ mg\ kg^{-1}$ سرب به‌عنوان مؤثرترین تیمار در افزایش جذب سرب توسط ریشه گیاه همیشه بهار شناخته می‌شود. صیادمنش شیاده و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی تأثیر عناصر سنگین شامل کروم، کادمیوم، نیکل و سرب در خاک و گیاه گلزا گزارش کردند با افزایش غلظت این عناصر در خاک، جذب آن‌ها توسط گیاه افزایش یافته و به دلیل تحرک پایین عناصر سنگین درون گیاه، تمرکز آن‌ها در ریشه‌ها بیشتر از سایر اندام‌ها مشاهده شده است (۴۰).

(حدود ۱۵۴/۹ درصد). به‌طورکلی، EDTA در تمام سطوح سرب و درصدهای مختلف، عملکرد بهتری نسبت به BTC در افزایش جذب و انتقال سرب به اندام‌های هوایی گیاه نشان داد. بنابراین، استفاده از EDTA، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، می‌تواند به‌عنوان روشی مؤثر در تصفیه گیاه‌پالایانه خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مانند سرب مورد استفاده قرار گیرد.

مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از عوامل کی‌لیت‌کننده مانند EDTA می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی جذب فلزات سنگین توسط گیاهان را افزایش دهد. به‌عنوان نمونه، افزودن ۳ میلی‌مول EDTA به خاک منجر به افزایش چشمگیر غلظت سرب در اندام‌های گیاه کلم طی ۷ تا ۱۴ روز پس از کاربرد شد، به‌طوری‌که میزان جذب سرب تا ۴۰ تا ۴۶ برابر بیش‌تر از تیمار شاهد گزارش شد (۳۹).

غلظت سرب در ریشه گیاه: بر اساس نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۴)، با افزایش سطح سرب و درصد کی‌لیت‌کننده، میزان تجمع سرب در ریشه افزایش یافت؛ به‌ویژه در حضور کی‌لیت‌کننده EDTA که در سطوح بالا عملکرد مؤثرتری در تسهیل انتقال سرب به ریشه نشان داد. بیش‌ترین میزان سرب در ریشه گیاه، برابر با ۶۲/۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در تیمار EDTA با غلظت ۱/۵ درصد و سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. این مقدار نسبت به کم‌ترین میزان جذب‌شده، که برابر با ۱۳/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مربوط به تیمار EDTA با غلظت صفر درصد و بدون افزودن سرب بود، حدود ۳۷۴ درصد افزایش نشان می‌دهد. این اختلاف قابل‌توجه بیانگر نقش برجسته ترکیب EDTA در غلظت بالا همراه با سطح بالای سرب در افزایش

جدول ۴- مقایسه میانگین محتوی سرب در خاک، ریشه و اندام هوایی گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر برهمکنش نوع کی‌لیت‌کننده × درصد کی‌لیت‌کننده × غلظت سرب.

Table 4. Mean comparison of lead content in soil, roots, and shoots of marigold as affected by the interaction of chelator type × chelator percentage × lead concentration.

نوع کی‌لیت‌کننده Chelator types	سطوح کی‌لیت‌کننده Chelator levels (mg kg ⁻¹)	سطوح سرب Lead levels (mg kg ⁻¹)	سرب اندام‌های هوایی Shoots lead (mg kg ⁻¹)	سرب ریشه Root lead (mg kg ⁻¹)	سرب خاک Soil lead (mg kg ⁻¹)
EDTA	0	0	4.96 ^{hi}	13.16 ^{lm}	3.83 ^{m-q}
		150	4.54 ⁱ	22.42 ^{g-i}	4.92 ^{h-o}
		300	5.79 ^{e-i}	39.79 ^{h-j}	8.28 ^{bc}
		450	16.63 ^{bc}	47.97 ^{c-f}	9.74 ^a
	0.5	0	5.83 ^{e-i}	24.35 ^{k-m}	3.50 ^{o-q}
		150	6.67 ^{e-i}	33.49 ^{lm}	4.59 ^{i-p}
		300	8.07 ^{de}	41.27 ^{j-l}	8.30 ^{bc}
		450	17.47 ^{bc}	51.27 ^{cd}	8.66 ^{ab}
	1	0	5.24 ^{f-i}	34.41 ^{k-m}	3.37 ^{p-q}
		150	7.65 ^{d-g}	35.05 ^{j-l}	4.74 ^{i-p}
		300	6.91 ^{d-i}	43.35 ^{f-i}	4.26 ^{k-q}
		450	18.28 ^b	56.85 ^b	6.68 ^{d-g}
	1.5	0	6.02 ^{e-i}	14.40 ^o	4.28 ^{k-q}
		150	7.16 ^{d-h}	33.38 ^{lm}	5.37 ^{g-l}
		300	15.62 ^c	46.71 ^{d-g}	5.53 ^{g-m}
		450	30.88 ^a	62.39 ^a	5.98 ^{e-j}
BTC	0	0	4.53 ⁱ	22.02 ^{g-j}	4.11 ^{k-q}
		150	5.21 ^{g-i}	22.32 ^{g-i}	5.04 ^{h-n}
		300	6.44 ⁱ	26.31 ^{c-e}	5.88 ^{e-j}
		450	7.53 ^{f-i}	31.65 ^{h-j}	7.69 ^{b-d}
	0.5	0	2.87 ^{hi}	29.76 ^{h-j}	2.97 ^q
		150	4.68 ^{e-i}	32.42 ^{g-i}	4.96 ^{e-j}
		300	7.50 ^{f-i}	38.19 ^{i-l}	6.88 ^{d-f}
		450	11.65 ^{e-i}	38.85 ^{i-k}	7.08 ^{c-e}
	1	0	4.89 ^{hi}	29.55 ^{mn}	3.00 ^{k-q}
		150	5.81 ^{e-i}	34.02 ^{k-m}	3.10 ^{k-q}
		300	9.09 ^{hi}	43.47 ^{f-i}	5.20 ^{e-i}
		450	17.76 ^{d-f}	45.68 ^{f-e}	5.30 ^{d-h}
	1.5	0	5.17 ^{g-i}	41.46 ^{f-h}	3.57 ^{n-q}
		150	6.50 ^{e-i}	45.40 ^{e-g}	3.93 ^{m-q}
		300	7.77 ^{e-i}	51.96 ^c	4.24 ^{e-i}
		450	19.20 ^d	54.99 ^c	5.09 ^{h-m}

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، طبق آزمون چنددامنه‌ای دانکن، اختلاف معنی‌داری ندارند ($\alpha = 0.05$)

Means in each column by similar letter(s), according to Duncan's multiple range test, are not significantly different ($\alpha = 0.05$).

استفاده از EDTA موجب کاهش ۱۱ درصدی غلظت سرب خاک شد (۳۷). در همخوانی با نتایج این مطالعه، یافته‌های پژوهشی دیگری نشان داد که گیاه *Parthenium hysterophorus* L. مقادیر قابل توجهی از فلزات سنگین مانند سرب و کادمیوم را از خاک جذب و در بافت‌های مختلف خود تجمع دهد. در این مطالعه که در شرایط گلخانه‌ای انجام شد، مقدار کلروفیل گیاه کاهش یافت. بیش‌ترین میزان کادمیوم در ساقه‌های گیاه بدون استفاده از EDTA برابر با ۲۸۳/۶ و با حضور EDTA برابر با ۳۰۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. همچنین، غلظت سرب در ساقه‌ها با استفاده از EDTA از ۴/۳۰ به ۹/۵۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. به‌طور کلی، غلظت‌های سرب و کادمیوم در ساقه‌های گیاه بیش‌تر از ریشه‌ها بود و این روند تحت‌تأثیر حضور EDTA نیز حفظ شد. علاوه بر این، استفاده از EDTA باعث افزایش تجمع یون‌های ضروری مانند پتاسیم، سدیم و کلسیم در گیاه شد (۴۳).

در تأیید نتایج ما، مطالعه‌ای که به مقایسه بین EDTA و DIPA پرداخت، نشان داد که گرچه EDTA توانایی بیش‌تری در جذب سرب داشت، اما سمیت بیش‌تری نیز ایجاد کرد (۵). همچنین در *Pisum sativum* کاربرد EDTA موجب انتقال بیش‌تر سرب به اندام‌های هوایی گردید، در حالی‌که کی‌لیت زیستی EDDS بیش‌تر در ریشه باقی ماند (۴۴).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که نوع و غلظت کی‌لیت‌کننده، به‌ویژه در شرایط آلودگی بالای سرب، نقش کلیدی در جذب، انتقال و توزیع این فلز سنگین در سیستم خاک-گیاه ایفا می‌کند. افزایش غلظت

غلظت سرب در خاک: بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۴، بالاترین مقدار سرب در خاک (۹/۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مربوط به تیمار بدون کی‌لیت‌کننده (صفر درصد EDTA) و با بالاترین سطح سرب (۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود؛ در حالی‌که کم‌ترین مقدار سرب در خاک (۲/۹۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار حاوی ۰/۵ درصد BTC و بدون افزودن سرب مشاهده شد. این تفاوت نشان‌دهنده کاهش تقریبی ۶۹/۵ درصدی سرب در خاک در تیمار با BTC نسبت به تیمار شاهد بدون کی‌لیت‌کننده است. علاوه بر این، در تیمارهای دارای ۴۵۰ میلی‌گرم سرب، مشاهده شد که استفاده از EDTA موجب کاهش باقی‌مانده سرب در خاک شده است؛ به‌طوری‌که در حضور صفر درصد EDTA مقدار سرب ۹/۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده، در حالی‌که با حضور ۰/۵ درصد EDTA این مقدار به ۸/۶۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش یافت (تقریباً ۱۱/۱ درصد کاهش).

جذب سرب توسط گیاهان به عوامل متعددی مانند گونه و نوع گیاه، نوع خاک و غلظت فلزات سنگین بستگی دارد (۴۱). مطابق با یافته‌های ما، مطالعات متعددی نشان داده‌اند که EDTA با افزایش تحرک فلزات سنگین در خاک، باعث افزایش قابل‌توجه جذب و انتقال سرب به اندام‌های هوایی گیاه می‌شود، در گیاه *Pelargonium hortorum* استفاده از EDTA منجر به افزایش ۵/۳ برابری جذب سرب نسبت به تیمار شاهد بدون EDTA شد (۳). در گیاه هویج (*Daucus carota*) نیز بالاترین تجمع سرب در اندام هوایی و ریشه، در تیمار حاوی ۱ میلی‌مولار EDTA مشاهده گردید (۴۲). مطالعه‌ای روی *Brassica napus* نشان داد که EDTA با افزایش انتقال سرب به گیاه، میزان باقی‌مانده آن در خاک را کاهش می‌دهد؛ مشابه یافته‌های ما که در آن

داده‌ها و اطلاعات

داده‌ها و اطلاعات از طریق نمونه‌برداری تیمارها در طی دوره رشد برداشت و اطلاعات اقلیمی مورد نیاز از طریق اداره هواشناسی زابل دریافت گردید.

تعارض منافع

در این مقاله تعارض منافی وجود ندارد و این مسأله مورد تأیید همه نویسندگان است.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول: کاشت و نمونه‌برداری، نویسنده دوم، تعریف پروپوزال و تجزیه و تحلیل داده‌ها، نویسنده سوم: ترکیب تیمارها و نحوه تیمار آن‌ها با خاک، نویسنده چهارم: تهیه کلات‌کننده‌ها و نویسنده پنجم: مشاوره نحوه کاشت و نمونه‌برداری در طول دوره کاشت تا برداشت.

اصول اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این اثر رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه نویسندگان است.

حمایت مالی

این مقاله با حمایت دانشگاه زابل در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد انجام شده است.

نیترا سرب در خاک، منجر به کاهش قابل‌توجه رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه همیشه‌بهار شد. با این‌حال، کاربرد کی‌لیت‌کننده‌ها، به‌ویژه EDTA در غلظت‌های بهینه مانند ۱ درصد، توانست این اثرات منفی را تعدیل کرده و موجب حفظ یا حتی افزایش میزان رنگیزه‌ها شود. بررسی محتوای سرب در بخش‌های مختلف گیاه نیز نشان داد که تیمارهای حاوی EDTA، به‌ویژه در غلظت ۱/۵ درصد و سطح سرب ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، باعث بیش‌ترین جذب و انتقال سرب به ریشه و اندام‌های هوایی شدند. این تیمارها هم‌چنین کاهش قابل‌توجهی در میزان سرب باقی‌مانده در خاک ایجاد کردند. در مقابل، تیمارهای حاوی BTC با وجود کاهش سطح سرب خاک، جذب پایین‌تری در اندام‌های گیاه نشان دادند. در مطالعات آینده، ترکیب EDTA با کی‌لیت‌کننده‌های زیست‌تخریب‌پذیر مانند EDDS برای حفظ کارایی و کاهش مخاطرات زیست‌محیطی و مقایسه اثربخشی کی‌لیت‌کننده‌ها در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای، برای سنجش قابلیت کاربرد آن‌ها در مقیاس واقعی پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

از مدیریت و کارکنان محترم پژوهشکده کشاورزی که در انجام این پایان‌نامه همکاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

- Defoe, P. P., Hettiarachchi, G. M., Benedict, C., & Martin, S. (2014). Safety of gardening on lead-and arsenic-contaminated urban brownfields. *Journal of Environmental Quality*, 43(6), 2064-2078.
- Kumar, V., Sharma, A., Kaur, P., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Bhardwaj, R., ... & Cerda, A. (2019). Pollution assessment of heavy metals in soils of India and ecological risk assessment: A state-of-the-art. *Chemosphere*, 216, 449-462.
- Arshad, M., Naqvi, N., Gul, I., Yaqoob, K., Bilal, M., & Kallerhoff, J. (2020). Lead phytoextraction by *Pelargonium hortorum*: Comparative assessment of EDTA and DIPA for Pb mobility and

- toxicity. *Science of the Total Environment*, 748, 141496. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141496>.
4. Islam, M. M., Saxena, N., & Sharma, D. (2024). Phytoremediation as a green and sustainable prospective method for heavy metal contamination: A review. *RSC Sustainability*, 2, 1269-1288. <https://doi.org/10.1039/D3SU00440F>.
5. Saman, R. U., Shahbaz, M., Maqsood, M. F., Lili, N., Zulfiqar, U., Haider, F. U., Naz, N., & Shahzad, B. (2022). Foliar application of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) improves the growth and yield of brown mustard (*Brassica juncea*) by modulating photosynthetic pigments, antioxidant defense, and osmolyte production under lead (Pb) stress. *Plants*, 12 (1), 115. <https://doi.org/10.3390/plants12010115>.
6. Hart, G., Koether, M., McElroy, T., & Greipsson, S. (2022). Evaluation of chelating agents used in phytoextraction by switchgrass of lead contaminated soil. *Plants*, 11 (8), 1012. <https://doi.org/10.3390/plants11081012>.
7. Amooaghaie, R., Heidari, J., & Kiani, S. (2024). The effect of EDTA on the growth and phytoremediation capacity of nickel in pot marigold (*Calendula tripterocarpa* Rupr.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 17 (2), 303-318. <https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5770.2174>. [In Persian]
8. Hasan, M. M., Uddin, M. N., Ara-Sharmeen, I., Alharby, F., Alzahrani, Y., Hakeem, K. R., & Zhang, L. (2019). Assisting phytoremediation of heavy metals using chemical amendments. *Plants*, 8 (9), 295. <https://doi.org/10.3390/plants8090295>.
9. Saffari, V. R., & Saffari, M. (2020). Effects of EDTA, citric acid, and tartaric acid application on growth, phytoremediation potential, and antioxidant response of *Calendula officinalis* L. in a cadmium-spiked calcareous soil. *International Journal of Phytoremediation*, 22 (11), 1204-1214. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1754758>.
10. Tripathi, A. K., Gupta, M. K., Verma, N., Sinha, S., & Bhushan, A. (2016). Antioxidative and biochemical responses in *Dalbergia sissoo* Roxb. seedlings growing under cobalt and lead stress. *Indian Journal of Forestry*, 39 (3), 1-4.
11. Suthar, V., Memon, K. S., & Mahmood-Ul-Hassan, M. (2014). EDTA-enhanced phytoremediation of contaminated calcareous soils: Heavy metal bioavailability, extractability, and uptake by maize and sesbania. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 3957-3968. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3671-3>.
12. Zhang, Q., Zhang, J., Zhang, H., Zhang, G., Fang, H., & Shang, K. (2025). Synergistic effect of compost mulch and EDTA on the phytoextraction of copper, lead, and zinc by ornamental trees: A field trial in Shanghai. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 1-13. <https://doi.org/10.1080/15320383.2025.2465884>.
13. Yi, S., Li, F., Wu, C., Wei, M., Tian, J., & Ge, F. (2022). Synergistic leaching of heavy metal-polycyclic aromatic hydrocarbon in co-contaminated soil by hydroxamate siderophore: Role of cation- π and chelation. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127514. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127514>.
14. Zarrabi, A., Ghasemi-Fasaei, R., Ronaghi, A., Zeinali, S., & Safarzadeh, S. (2024). Application of synthesized metal-trimesic acid frameworks for the remediation of a multi-metal polluted soil and investigation of quinoa responses. *PLoS One*, 19 (9), e0310054. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0310054>.
15. Kamal, M. A., Perveen, K., Khan, F., Sayyed, R. Z., Hock, O. G., Bhatt, S. C., Singh, J., & Qamar, M. O. (2023). Effect of different levels of EDTA on phytoextraction of heavy metal and growth of *Brassica juncea* L. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1228117.

- <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1228117>.
16. Sheldrick, B., Wang, C., & Carter, M. (1993). Soil sampling and methods of analysis. Particle Size Distribution. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA. 499-511.
 17. Miller, J. J., & Curtin, D. (2008). Electrical Conductivity and Soluble Ions. P 161-171, In: M.R. Carter and E.G. Gregorich (Eds.), Soil Sampling and Methods of Analysis. Canadian Society of Soil Science, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
 18. McLean, E.O. (1982). Soil pH and lime requirement. P 199-224, In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (Eds.), Methods of Soil Analyses. Part 2: Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
 19. Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1980). Total nitrogen analysis of soil and plant tissues. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 63(4), 770-778.
 20. Olsen, S. R., & Sommers, L. E. (1982). Phosphorus. In: Miller, A. L., Methods of soil analysis, part 2. Chemical and mineralogical properties (2nd Ed). Agronomy series NO.9. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. Pp: 403-430.
 21. Philip, A. H., & Sparks, D. L. (1996). Lithium, Sodium, Potassium, Rubidium and Cesium. In: D.L. Sparks (Ed), Methods of soil analysis. Part 3, chemical methods, Madison, Wisconsin, USA. Pp: 551-574.
 22. Walkley, A. (1947). A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science*, 63(4), 251-264.
 23. Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1996). Carbon, organic carbon and organic matter. P 961-1010. In Sparks D.L. (ed.) *Methods of Soil Analysis*. SSSA, Madison.
 24. Arnon, D. T. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
 25. Westerman, R. L. (1990). *Soil testing and plant analysis* (No. 3). SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
 26. Tavakoli, M., Chehregani Rad, A., Lari Yazdi, H., & Pakdel, A. (2011). Study on the effects of different concentrations of Pb and salicylic acid on some growth factors in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Plant Biological Sciences*, 3 (7), 29-40. [In Persian]
 27. Islam, E., Tingqiang, L., Xiaoe, Y., Xiaofen, J., Qaisar, M., Shengke, T., & Junying, L. (2008). Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials*, 154, 914-926.
 28. Zengin, F. K., & Munzuroglu, O. (2005). Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47 (2), 157-164.
 29. Zheljaskov, V. D., Craker, L. E., & Xing, B. (2006). Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. *Environmental and Experimental Botany*, 58 (1-3), 9-16.
 30. Ruley, A. T., Sharma, N. C., Sahi, S. V., Singh, S. R., & Sajwan, K. S. (2006). Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental Pollution*, 144 (1), 11-18.
 31. Amini, F., Noori, M., Askari, M., Foroughi, M., & Abbaspour, J. (2012). Ni induction changes to some biochemical traits and protein electrophoresis pattern of *Coronilla varia* under hydroponic culture. *Isfahan University of Technology - Journal of Crop Production and Processing*, 2 (5), 143-152.

32. Larbi, A., Morales, F., Abadía, A., Gogorcena, Y., Lucena, J. J., & Abadía, J. (2002). Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. *Functional Plant Biology*, 29 (12), 1453-1464.
33. Sarvari, É. (2002). Comparison of the effects of Pb treatment on thylakoid development in poplar and cucumber plants. *Acta Biologica Szegediensis*, 46 (3-4), 163-165.
34. Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 35-52.
35. Bharwana, S. A., Ali, A., Farooq, M. A., Iqbal, N., Hameed, A., Abbas, F., & Ahmad, M. S. (2014). Glycine betaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes, suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. *Turkish Journal of Botany*, 38, 281-292.
36. Adrees, M., Ali, S., Iqbal, M., Bharwana, S. A., Siddiqi, Z., Farid, M., Ali, Q., Saeed, R., & Rizwan, M. (2015). Mannitol alleviates chromium toxicity in wheat plants in relation to growth, yield, stimulation of anti-oxidative enzymes, oxidative stress and Cr uptake in sand and soil media. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 1-8.
37. Kanwal, U., Ali, S., Shakoob, M. B., Farid, M., Hussain, S., Yasmeen, T., Adrees, M., Bharwana, S. A., & Abbas, F. (2014). 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*, 21, 9899-9910. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3001-x>.
38. Yang, Y., Liao, J., Chen, Y., Tian, Y., Chen, Q., Gao, S., Luo, Z., Yu, X., Lei, T., & Jiang, M. (2022). Efficiency of heterogeneous chelating agents on the phytoremediation potential and growth of *Sasa argenteostriata* (Regel) EG Camus on Pb-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 238, 113603. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113603>.
39. Shen, Z. G., Li, X. D., Wang, C. C., Chen, H. M., & Chua, H. (2002). Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*, 31 (6), 1893-1900.
40. Sayadmanesh Shiadeh, S. M., Qajarsepanlu, M., & Bahmanyar, M. A. (2015). An investigation of heavy metals in canola and soil of farms irrigated with wastewater of the industrial city of Amol. *Journal of Water Research in Agriculture*, 29 (2), 141-155. [In Persian]
41. Clemente, R., Walker, D. J., & Pilar, M. (2005). Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Denmark): The effect of soil amendments. *Environmental Pollution*, 138 (3), 13-20.
42. Babaeian, E., Homaei, M., & Rahnemaie, R. (2016). Chelate-enhanced phytoextraction and phytostabilization of lead-contaminated soils by carrot (*Daucus carota*). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62 (3), 339-358. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1060320>.
43. Ejaz, U., Khan, S. M., Aqeel, M., Khalid, N., Sarfraz, W., Naeem, N., Han, H., Yu, J., Yue, G., & Raposo, A. (2022). Use of *Parthenium hysterophorus* with synthetic chelator for enhanced uptake of cadmium and lead from contaminated soils-A step toward better public health. *Frontiers in Public Health*, 10, 1009479. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1009479>.
44. Glińska, S., Michlewska, S., Gapińska, M., Seliger, P., & Bartosiewicz, R. (2014). The effect of EDTA and EDDS on lead uptake and localization in hydroponically grown *Pisum sativum* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 399-408. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1421-8>.