Applied Biology
Online ISSN: 2538-3434
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Investigating phytoremediation of soils contaminated with heavy metals by microorganisms

Alahyar Kamari | Master's Degree, Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran **(Corresponding author)**. a.kamari65@gmail.com
Asaf Orujzadeh | Master's Degree, Department of Environmental Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Orujzadeh77@gmail.com

Abstract

Purpose: The purpose of the present study was to investigate the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals by microorganisms.

Materials and methods: This study was conducted with a review-descriptive method on the studies conducted on herbal treatment.

Findings: The results of this study showed that many techniques have been developed to clean soils contaminated with heavy metals. Among these techniques, plant extraction (plant treatment) has been presented as an effective and cheap cleaning method, in which the absorption and collection of pollutants in plant tissues is considered. In this method, by harvesting plants from the soil, the pollutants are removed from the soil. In agricultural lands contaminated with heavy metals, the selection of metal-tolerant crops to remove pollutants from the soil can be a new strategy for land management. A number of cadmium accumulating species that have been reported based on the results of hydroponic and pot tests are species with high biomass, including corn, sunflower and Indian mustard for refining areas contaminated with heavy metals.

Conclusion: Various physical, chemical and biological methods have been suggested for the treatment of areas contaminated with heavy metals and other pollutants, which are mostly costly and uneconomical.

Keywords: Soil, Heavy metals, Microorganism, Pollutants, Phytoremediation.

Received: 2023/03/26 ; **Revised:** 2023/04/13 ; **Accepted:** 2023/05/01 ; **Published online:** 2023/05/04
Article type: Research Article © the authors **Publisher:** Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی
شاپا الکترونیکی: ۲۵۳۸-۳۴۳۴
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

بررسی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها

الهیار کمری | کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (**نویسنده مسئول**). a.kamari65@gmail.com
آصف اروج‌زاده | کارشناسی ارشد، گروه علوم محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. Orujzadeh77@gmail.com

چکیده

هدف: هدف پژوهش حاضر بررسی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه با روش مروری- توصیفی بر روی مطالعات انجام شده در مورد گیاه‌پالایی انجام شده است.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که تکنیک‌های بسیاری جهت پاکسازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گسترش یافته‌اند. در میان این تکنیک‌ها، استخراج گیاهی (گیاه‌پالایی) به عنوان یک روش پاکسازی مؤثر و ارزان عرضه شده است که در آن جذب و جمع‌آوری آلاینده‌ها در بافت‌های قابل برداشت گیاهی مد نظر می‌باشد. در این روش با برداشت گیاهان از خاک، آلاینده‌ها از خاک زدوده می‌شوند. در اراضی کشاورزی آلوده به فلزات سنگین، انتخاب گیاهان زراعی متحمل به فلزات، جهت برداشت آلاینده‌ها از خاک می‌تواند یک استراتژی جدید برای مدیریت اراضی باشد. تعدادی از گونه‌های انباشتگر کادمیوم که براساس نتایج حاصل از آزمایشات هیدروپونیک و گلدانی گزارش شده‌اند، گونه‌های با توده زیستی بالا شامل ذرت، آفتابگردان و خردل هندی برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین می‌باشند.

نتیجه‌گیری: برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین و دیگر آلاینده‌ها، روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی پیشنهاد شده است که عمدتاً پرهزینه و غیراقتصادی می‌باشند.

کلیدواژه‌ها: خاک، فلزات سنگین، میکروارگانیسم، آلاینده‌ها، گیاه‌پالایی.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۶ ؛ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۱/۲۴ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۲/۱۱ ؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۲/۰۲/۱۴

ناشر: دانشگاه قم
© نویسندگان
نوع مقاله: پژوهشی

۱. مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین از مهم‌ترین موضوعات و مباحث چالش‌برانگیز در جهان امروز است. باید به این موضوع توجه نمود که همه عناصر به‌طور طبیعی در خاک وجود دارند و غلظت طبیعی آنها در خاک به عوامل زمین‌شناسی و جغرافیایی بستگی دارد. فرایندهایی طبیعی مانند خاک‌سازی و هوازدگی سنگ بستر، باعث افزایش تدریجی غلظت عناصر مختلف در خاک می‌گردد. بشر با فعالیت‌های صنعتی بی‌رویه و بدون رعایت موازین زیست‌محیطی، باعث آلودگی محیط زیست به انواع مختلف فلزات سنگین، مواد رادیو اکتیو، مواد شیمیایی و مواد آلی مختلف شده و در این راستا، لزوم پاک‌سازی محیط از این آلودگی‌ها به‌منظور بهره‌برداری پایدار و طولانی مدت از محیط ضروری می‌باشد. پاکسازی محیط با روش‌های مهندسی مرسوم بسیار پر هزینه و قابل اجرا در سطح کوچک است و بدین علت لزوم به‌کارگیری روش پالایشی مناسب احساس می‌شود. برخی از فلزات سنگین در غلظت‌های پایین، برای گیاهان مواد غذایی محسوب می‌شوند؛ لیکن تمام فلزات سنگین در غلظت‌های بالا برای گیاهان سمیّت ایجاد می‌نمایند. نواحی گسترده‌ای از خاک در مناطق مختلف به وسیله فلزات سنگین آلوده هستند که این آلودگی‌ها از فعالیت‌های انسانی، فاضلاب‌های صنعتی یا مصرف فاضلاب‌ها و لجن فاضلاب‌ها نشئت می‌گیرند. از میان آلودگی‌ها، فلزات سنگین به ویژه سرب، کادمیوم و جیوه به دلیل پیامدهای وخیم زیست محیطی و اثرات زیادی که بر سلامتی انسان دارند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. گیاه پالایی، فناوری نوپایی برای زدودن آلودگی‌ها از محیط زیست است. این فناوری در مقایسه با سایر روش‌های پالایش، بسیار کم هزینه و ساده است. تکنیک‌های بسیاری جهت پاکسازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گسترش یافته‌اند. در میان این تکنیک‌ها، استخراج گیاهی (گیاه‌پالایی) به‌عنوان یک روش پاکسازی مؤثر و ارزان عرضه شده که در آن جذب و جمع‌آوری آلاینده‌ها در بافت‌های قابل برداشت گیاهی مد نظر می‌باشد (۱۶-۱۱). در این روش با برداشت گیاهان از خاك، آلاینده‌ها از خاك زدوده می‌شوند (۱۲). در اراضی کشاورزی آلوده به فلزات سنگین، انتخاب گیاهان زراعی متحمّل به فلزات، جهت برداشت آلاینده‌ها از خاك می‌تواند یک استراتژی جدید برای مدیریت اراضی باشد. تعدادی از گونه‌های انباشتگر کادمیوم که براساس نتایج حاصل از آزمایشات هیدروپونیک و گلدانی گزارش شده‌اند، گونه‌های با توده زیستی بالا شامل ذرت، آفتابگردان و خردل هندی برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین می‌باشند (۲۳-۱۷). تکنولوژی‌های جدید، همراه با یک‌سری مشکلات محیطی ازجمله آلودگی خاك، آب و هوا است. برخلاف آب و هوا، آلودگی خاك از نظر

ترکیبات شیمیایی به آسانی قابل اندازه‌گیری نبوده و با توسعه طرح‌های متعدد و آلوده شدن خاك بوسیله فلزات سنگین، ساختار خاك برای رشد و توسعه گیاهان مسموم و خطرناك می‌شود و تنوع زیستی خاك را به‌هم می‌زند (۵). فلزات سنگین که سرب، آلومینیوم، جیوه، مس، کادمیوم، مس، نیکل و آرسنیک را شامل می‌گردد، ابتدا توسط فیتوپلانکتونها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ارگانیسم‌های کوچک دیگر جذب شده و سپس به ترتیب توسط موجودات بزرگ‌تر خورده شده و در نهایت به راحتی از طریق مصرف محصولات کشت شده در خاک‌های آلوده، به زنجیره غذایی مصرف‌کنندگان وارد شده و سلامت انسان‌ها و حیوانات را به خطر می‌اندازد (۱، ۶). توسعه سریع تکنولوژی‌های جدید، همراه با یک‌سری مشکلات محیطی ازجمله آلودگی خاك، آب و هوا است. آلوده شدن خاك بوسیله فلزات سنگین، ساختار و تنوع زیستی خاك را به‌هم می‌زند. آلودگی خاك با فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی در بسیاری از نقاط جهان است. مهم‌ترین راه ورود فلزات سنگین به محیط از طریق کاربرد فاضلاب‌های شهری، حشره‌کش‌ها، کوددهی، آبیاری با هرزاب‌ها، صنایع رنگ‌سازی، کارخانجات سیمان، لاستیک‌سازی، سوخت خودرو و صنایع ذوب فلز می‌باشد. کادمیوم یکی از مهم‌ترین فلزات شناخته شده آلاینده‌های محیط زیست است (۴-۱). برخی فلزات به مقدار ناچیز برای عملکرد طبیعی بدن ضروری می‌باشند، اما ورود بیش از اندازه آنها به بدن مسمومیت ایجاد خواهد کرد. ایراد اصلی فلزات سنگین این است که در بدن متابولیزه نمی‌گردند. در واقع فلزات سنگین پس از ورود به بدن، دیگر از بدن دفع نشده و در بافت‌های بدن انباشت می‌شوند. همین امر موجب بروز بیماری‌ها و عوارض متعددی در بدن خواهد شد. فلزات سنگین همچنین جایگزین دیگر املاح و مواد معدنی مورد نیاز در بدن می‌گردند. ازجمله مهم‌ترین مضرّات فلزات سنگین اختلالات عصبی (پارکینسون، آلزایمر، افسردگی، اسکیزوفرنی)، انواع سرطان‌ها، فقر مواد مغذی، برهم خوردن تعادل هورمون‌ها، چاقی، سقط جنین، اختلالات تنفسی و قلبی- عروقی، آسیب به کبد، کلیه‌ها و مغز، آلرژی و آسم، اختلالات غدد درون‌ریز، عفونت‌های ویروسی مزمن، کاهش آستانه تحمل بدن، اختلال در عملکرد آنزیم‌ها، تغییر در سوخت‌وساز، ناباروری، کم‌خونی، خستگی، تهوع و استفراغ، سردرد و سرگیجه، تحریک‌پذیری، تضعیف سیستم ایمنی بدن، تخریب ژن‌ها، پیری زودرس، اختلالات پوستی، کاهش حافظه، بی‌اشتهایی، التهاب مفاصل، ریزش مو، پوکی استخوان، بی‌خوابی و مرگ می‌باشد (۱۰-۶). برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین و دیگر آلاینده‌ها، روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی پیشنهاد شده است که عمدتاً پرهزینه و غیراقتصادی می‌باشند. گیاه‌پالایی تکنیک پالایش در محل خاك، آب و رسوبات آلوده

است که اقتصادی، دوستدار محیط زیست و در حال گسترش است (۲۶-۲۴). روش‌های معمول برای خروج فلزات سنگین از خاك‌های آلوده عموماً پرهزینه بوده و همچنین سبب تغییرات در بعضی از ویژگی‌های خاك مانند ساختمان، مواد آلی و جمعیت ریزموجودات خاك می‌شوند (۲۷). بعضی از گونه‌های اختصاصی گیاهان می‌توانند فلزات سنگین را به اندام هوایی انتقال دهند (۲۸). به طور کلی برای انتخاب یک گیاه جهت گیاه‌پالایی خاك، باید قدرت جذب بالای گیاه، تولید زیست توده بالا و انتقال زیاد عنصر از ریشه به ساقه مد نظر قرار بگیرد (۳۱-۲۹).

۲. واکنش گیاهان به فلزات سنگین

گیاهان ۳ راهبرد پایه برای رشد در خاك‌های آلوده به فلزات سنگین دارند. گونه‌هایی که از ورود فلزات به بخش‌های هوایی خود جلوگیری کرده یا غلظت فلزات را در خاك پایین نگه می‌دارند؛ گونه‌هایی که فلزات را در اندام‌های هوایی خود تجمع داده و دوباره به خاك برمی‌گردانند و گیاهانی که می‌توانند فلزات را در اندام‌های هوایی خود تغلیظ کنند، به طوری که چندین برابر غلظت فلز در خاك شود و گیاهانی که غلظت بالایی از آلاینده‌ها را جذب کرده و در ریشه، ساقه یا برگ‌ها تغلیظ می‌کنند (۳۰).

۳. گیاه‌پالایی

گیاه‌پالایی با استفاده از مهندسی گیاهان سبز شامل گونه‌های علفی و چوبی برای برداشت مواد آلاینده از آب و خاك یا کاهش خطرات آلاینده‌های محیط زیست نظیر فلزات سنگین، عناصر کمیاب، ترکیبات آلی و مواد رادیواکتیو به‌کار برده می‌شود (۲۹). مهم‌ترین ترکیبات معدنی آلاینده فلزات سنگین بوده و میکروارگانیسم‌های خاك قادر به تجزیه آلاینده‌های آلی هستند، اما برای تجزیه میکروبی فلزات نیاز به آلی شدن یا تغییرات فلزی آنها وجود دارد که امروزه از گیاهان برای این بخش استفاده می‌شود. خاك علاوه‌بر اینکه پایگاه موجودات خشکی‌زی بویژه جوامع انسانی است، محیط منحصربه فردی برای زندگی انواع حیات، بخصوص گیاهان به‌شمار می‌رود. با توسعه طرح‌های انسان‌ساخت و آلوده شدن خاك‌ها به وسیله فلزات سنگین، ساختار خاك برای رشد و توسعه گیاهان مسموم و خطرناك می‌شود و تنوع زیستی خاك را نیز به‌هم می‌ریزد. در روش گیاه‌پالایی، گیاهان براساس مکانیسم جذب طبقه‌بندی شده و آلودگی خاك به فلزات سنگین، از طریق روش‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی کاهش داده می‌شود. براساس تحقیقات دفتر بررسی آلودگی آب و خاك سازمان حفاظت محیط زیست، رفع آلودگی خاك معمولاً با ۲ روش خارج از محل و در

محل صورت می‌گیرد (۲۸). در روش خارج از محل، خاك آلوده به مکان دیگری انتقال یافته و پس از رفع آلودگی، به مکان اولیه برگردانده می‌شود. در روش دیگر که نیاز به جابه‌جایی و انتقال ندارد، آلاینده‌ها با آلی شدن، از قابلیت جذب زیستی آنها کاسته می‌شود. برای کاهش آلودگی آلاینده‌های معدنی در خاك می‌توان از روش‌های آلی کردن، کمپلکس کردن و افزایش خاك بوسیله آهک استفاده کرد، اما بیشتر این روش‌ها گران بوده و سبب تخریب محیط زیست می‌شوند. در فناوری استفاده از گیاهان با عنوان گیاه‌پالایی، از گیاهان سبز و ارتباط آنها با میکروارگانیسم‌های خاك برای کاهش آلودگی خاك و آب‌های زیرزمینی استفاده می‌شود. این فناوری می‌تواند برای رفع هر دو نوع آلاینده خاك، یعنی معدنی و آلی به‌کار رود. کاربرد تکنیک‌های فیزیکوشیمیایی سبب از میان رفتن میکروارگانیسم‌های مفید خاك مانند تثبیت‌کننده‌های نیتروژن می‌شود که در نتیجه، فعالیت‌های بیولوژیکی خاك را ضعیف می‌کند و در مقایسه با تکنیک گیاه‌پالایی بسیار هزینه‌بر است. در روش ریزوفیلتراسیون از گیاهان خاکی و آبی استفاده می‌شود که آلاینده‌های منابع آبی آلوده با غلظت کمتر در ریشه‌هایشان تغلیظ یا رسوب می‌کنند که این روش بخصوص برای فاضلاب‌های صنعتی، روان‌آب کشاورزی و یا فاضلاب معادن اسیدی کاربرد دارد و برای فلزاتی مانند سرب، کادمیم، مس، نیکل، روی و کرم مناسب است. گیاهانی مانند خردل هندی، آفتابگردان، تنباکو، چاودار و ذرت دارای این توانایی هستند (۲۸). آنها دارای قدرت جذب سرب از فاضلاب می‌باشند که در این میان، آفتابگردان بیشترین قدرت و توانایی را دارد. در روش دیگری با استفاده از قدرت ریشه، محدود کردن تحرك و قابلیت دسترسی آلاینده‌ها در خاك صورت می‌گیرد. این روش معمولاً برای کاهش آلودگی در خاك، رسوب و لجن استفاده می‌شود و از طریق جذب، رسوب، کمپلکس و یا کاهش ظرفیت انجام می‌پذیرد. در روش تبخیر گیاهی، گیاهان آلاینده‌ها را از خاك جذب و سپس به بخار تبدیل کرده و با عمل تعرق به اتمسفر انتقال می‌دهند. این روش در درختان در حال رشد برای جذب آلاینده‌های آلی و معدنی کاربرد دارد. در روش دیگری که به نام کاهش گیاهی معروف است، گیاه با متابولیسم خود از طریق انتقال، تجزیه، تثبیت و تصعید ترکیبات آلاینده به برطرف کردن آلودگی از خاك و آب‌های زیرزمینی کمک می‌کند. در این روش، ترکیبات آلی به مولکول‌های ساده‌تر شکسته شده که می‌تواند به درون بافت گیاه وارد شود (۲۵).

٤. مکانیسم‌های گیاه‌پالایی

۱) **Rhizofilteration:** گیاهان به‌منظور جذب، تغلیظ و رسوب مواد آلوده‌کننده، آنها را توسط

ریشه‌هایشان از چرخه انتقال خارج کرده و تجمع می‌دهند. این عمل برای فلزاتی چون کادمیوم، مس، کروم، سرب و روی صورت می‌گیرد (۲۷).

۲) Phytostabilization: این روش وابسته به توانایی ریشه برای دور ساختن و کاهش قابلیت دسترسی زیستی مواد آلوده‌کننده در خاك می‌باشد. این روش به صورت جذب، رسوب، ایجاد کمپلکس و یا کاهش تعادل فلزی انجام می‌گیرد (۲۳). هدف اولیه گیاهان، کاهش مقدار آب تراوش شده از طریق ماتریکس خاك بوده که ممکن است منجربه تشکیل تراوشات خطرناك شود، بنابراین، از فرسایش خاك و توزیع مواد سمّی به سایر نواحی جلوگیری می‌شود (۲۱).

۳) Phytoextraction: این روش بهترین رویکرد برای برداشت مواد آلوده‌کننده از خاك و جداسازی آن بدون تخریب ساختمان و حاصلخیزی خاك می‌باشد. این روش به Phytoaccumulation نیز معروف است (۱۶). دو استراتژی اصلی این روش شامل موارد زیر می‌باشد:

الف) Phytoextraction با کمک کلات یا Phytoextraction القاء شده؛ در این روش کلات‌های مصنوعی برای افزایش تحرك و جذب مواد آلوده‌کننده اضافه می‌شود (۱۷).

ب) Phytoextraction متمادی و پیوسته؛ در این روش برداشت فلزات، وابسته به توانایی طبیعی گیاه برای ترمیم می‌باشد (۱۵).

کشت گونه‌های گیاهی که توانایی تجمع غلظت‌های بالای فلزات را دارند، به پیشرفت این تکنولوژی کمک می‌کند. برای تسهیل این تکنولوژی، گیاهان باید غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین را توسط ریشه‌هایشان استخراج کنند و این فلزات را به بیومس (زیست توده) انتقال دهند و مقدار بالایی از بیومس تولید کنند. فلزات سنگین استخراج شده ممکن است از بیومس گیاه آلوده شده مجدداً وارد چرخه شوند (۱۳).

۵. کاربردهای phytoextraction

۵-۱. پاک‌سازی محیط‌های آلوده

حدود سال ۱۹۸۰ میلادی، کاربردی تحت عنوان phytoremediation برای گیاهان ابرجاذب ارائه شد. این روش که اولین بار توسط دانشمندان آمریکایی و اروپایی گزارش گردید، شامل استفاده از گیاهان و جمعیت میکروارگانیسم‌های اطراف ریشه آنها برای جذب آلوده‌کننده‌ها و کاهش آنها از محیط می‌باشد. امروزه قابلیت رشد و جذب فلزات سنگین در محیط‌های شدیداً

آلوده در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی به اثبات رسیده است و گونه‌های زیادی از گیاهان، Brassica juncea Thlaspi sp، Salix spp، Populus spp، Helianthus هم‌اکنون در حال استفاده تجاری یا گذراندن مراحل آزمایشی برای استفاده در پاک‌سازی محیط می‌باشند (۱۱). در این روش گیاهان ابرجاذبی که جزو گیاهان زراعی هستند، برای خاک‌های آلوده یا غنی از یک یا چند فلز استفاده می‌شوند، تا این مواد را در اندام‌های هوایی خود طی دوران رشد و نمو ذخیره کنند. این گیاهان جمع‌آوری و سوزانده می‌شوند و خاکستر حاصل که غنی از مواد مذکور است، دفع می‌گردد. از این روش برای پاک‌سازی برخی از نقاط دنیا از آلودگی استفاده می‌شود.

۵-۲. استخراج فلزات کمیاب

از گیاهان می‌توان برای استخراج فلزات کمیاب و دارای ارزش اقتصادی مانند طلا، نقره، پلاتینیوم و پالادیوم نیز استفاده نمود. این روش امروزه با نام phytomining توسط گیاهان شناخته می‌شود. گیاهان برای جذب فلزات دارای یک مکانیسم خاص فیزیولوژیک می‌باشند. آنها با ترشح ترکیبات کلاته شده از ریشه، موجب افزایش انحلال فلز شده و جریان انتقال فلز محلول به سمت دیواره ریشه را تسهیل می‌کنند. قابلیت جذب طلا توسط گیاهان از چند صد سال پیش شناخته شده است. اما گیاهی که بتواند آن را در غلظت بالا جذب کند، شناخته نشده بود که علت آن مربوط به قابلیت انحلال پایین فلز طلا در محلول خاك است. برخی از گیاهان به طور طبیعی موادی از خود ترشح می‌کنند که می‌تواند فلز طلا را به صورت محلول درآورد، ولی اغلب گیاهان چنین خاصیتی ندارند. در استفاده از گیاهان برای استخراج طلا از مواد شیمیایی استفاده می‌گردد، این مواد زمانی استفاده می‌شوند که گیاه به حداکثر رشد و ماده خشک خود رسیده و دارای بالاترین تعرق باشد (۲۹).

۴) Phytovolatilizatio: این روش شامل کاربرد گیاهان برای جذب آلودگی‌ها از خاك، تغییر شکل آنها به فرم فرّار و وارد کردن آنها به اتمسفر می‌باشد. این روش در ابتدا برای برداشت جیوه بکار رفت. در این روش جیوه یونی به شکل جیوه فلزی که سمّیت کمتری دارد، تبدیل می‌شود. اشکال این روش این است که جیوه رها شده به اتمسفر مجدداً بوسیله بارندگی وارد چرخه اکوسیستم می‌شود (۳۰).

۵) Phytodegradation: این روش شامل شکست مولکول‌های آلی جذب شده توسط گیاه به مولکول‌های ساده‌تر است. گیاهان دارای آنزیم‌های بی‌نظیر دی‌مالوژناز، اکسیژنازها و ردوکتازها

هستند که می‌توانند فرایند شکست و تبدیل را انجام دهند. فلزات سنگین اغلب به شکل یونی، کمپلکس و کلات‌های آلی غیره یونیزه می‌باشند. حلالیت این فلزات در خاك توسط PH، مقدار فلز، ظرفیت تبادل کاتیونی، محتوای کربن آلی، وضعیت اکسیداسیون ترکیبات معدنی و پتانسیل ردوکس سیستم کنترل می‌شود. با افزایش PH، حلالیت کاتیون‌های فلزی کاهش می‌یابد.

٦. عوامل موثر بر گیاه‌پالایی

مهم‌ترین عوامل در موفقیت گیاه‌پالایی به عنوان یکی از فن‌آوری‌های موجود در تمیز کردن محیط زیست شامل: توانایی حذف زیستی فلزات در خاك، توانایی گیاه در جذب، انتقال و تجمع فلزات سنگین در اندام‌ها و ریشه گیاه و فعل و انفعالات میکروبی گیاه می‌باشد. متأسفانه به نظر می‌رسد، مکانیسم‌های اساسی بیولوژیکی رفع آلودگی گیاه هنوز به طور کامل مورد شناسایی قرار نگرفته‌اند و هنوز اطلاعات بسیاری در مورد فرآیندهای مؤثر در نحوه رفع آلودگی ناشناخته باقی مانده است (۱۲).

۷. مزایا و معایب گیاه‌پالایی

این روش نیز مانند بسیاری از روش‌های دیگر مزایا و معایبی دارد که در اینجا به چند نمونه مهم آن اشاره شده است. از مهم‌ترین مزایای این روش ارزان بودن، ایجاد شرایط مناسب برای رشد و استقرار گیاه، افزایش فعالیت‌های طبیعی پاك‌سازی، تغیر نکردن حاصلخیزی خاك بعد از برداشت فلزهای سنگین و دست‌خوردگی کم خاك، قابل استفاده بودن برای ترکیبات آلی و معدنی متنوع، کاربردهای In-situ مقدار تخریب خاك را در مقایسه با روش‌های معمولی کاهش می‌دهد، کاربردهای In-situ گسترش آلودگی از طریق آب و هوا را کاهش می‌دهد، عدم نیاز به تجهیزات گران‌قیمت و افراد متخصص، ایجاد انرژی حرارتی در حجم وسیع با استفاده از انرژی پتانسیل ذخیره شده، همچنین حضور پوشش گیاهی در سطح خاك مانع از فرسایش و هدررفت خاك و ایجاد گرد و غبار می‌شود (۱۷). از مشخص‌ترین معایب این روش، محدود بودن به سایت‌های آلوده با عمق کم، زمان‌بر بودن آن (چندین سال طول می‌کشد تا یک سایت آلوده اصلاح شود)، محدود بودن به سایت‌ها با آلودگی پایین می‌باشد. بیومس گیاهان تجمع‌کننده فلزات جزو مواد زائد خطرناك به حساب می‌آیند و از این‌رو باید برای از بین بردن آنها توجه کرد. شرایط آب و هوایی فاکتور محدودکننده می‌باشد و مصرف و استفاده بیومس گیاهی آلوده شده خطرناك است (۱۳).

۸. آینده گیاه‌پالایی

اگرچه این علم هم‌اکنون با سرعت در حال توسعه است، اما بررسی‌ها نشان داده که گیاه‌پالایی تجاری از لحاظ زمانی باید با فناوری‌های دیگر قابل رقابت باشد. بیشتر آزمایش‌های گیاه‌پالایی در مقیاس آزمایشگاه در محیط هیدروپونیک انجام شده و فلزات سنگین به آنها داده شده است، در حالی که محیط خاك کاملاً متفاوت است. در خاك واقعی بسیاری از فلزات در شکل‌های نامحلول وجود دارند و قابلیت دسترسی آنها کم و این بزرگ‌ترین مشکل است. بسیاری از گیاهان هنوز شناخته نشده‌اند که باید شناسایی شوند و درباره فیزیولوژی آنها بیشتر دانست. بهینه‌سازی فرایند جذب فلزات سنگین توسط گیاه و مصرف مناسب بیومس تولید شده هنوز باید مورد بررسی و تحقیق قرار گیرد تا نتایج آزمایشگاهی با عمل و واقعیت همخوانی داشته باشند. اگرچه ۱۰ سال از کاربرد اولیه فناوری گیاه‌پالایی در دنیا می‌گذرد، اما این علم توسعه بسیار سریعی داشته است و امروزه گیاه‌پالایی در مورد مواد آلی، معدنی و رادیواکتیو کاربرد دارد (۴). این فرایند پایدار و ارزان است و برای کشورهای در حال توسعه بسیار مناسب بوده و صرفه اقتصادی دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که راندمان این روش با کاربرد گیاهان با رشد سریع، با بیومس بالا و قدرت جذب بالای فلزات سنگین افزایش می‌یابد. در بیشتر مکان‌های آلوده، گونه‌های مناسب جهت رفع آلودگی قابل شناسایی است (۱۴). دو روش کمپوست و متراکم کردن می‌تواند جزو مراحل مقدماتی برای کاهش حجم تولیدات این گیاهان باشد، اما باید دقت کرد که شیرابه حاصل از تراکم به‌طور کامل جمع‌آوری شود. محققان معتقدند بین روش‌هایی که بیومس آلاینده‌ها را کاهش می‌دهد، به نظر می‌رسد خاکستر کردن کمترین زمان را مصرف می‌کند و در مقایسه با سوزاندن مستقیم از لحاظ زیست‌محیطی نیز مناسب‌تر باشد. به این ترتیب مشاهده می‌شود که دنیای امروز می‌تواند با الهام از طبیعت و سیستم نقص‌ناپذیر بکر آن برای آنچه بشر با دست خود خراب کرده است، اصلاحاتی صورت دهد که بی‌شک سهل‌تر از جلوگیری از آلودگی منابع، بویژه منابع خاك نیست (۱۴).

۹. مواد و روش‌ها

روش پژوهش حاضر مروری- توصیفی بوده و بر روی مطالعات انجام شده در مورد گیاه‌پالایی توسط گیاهان انجام شده است. معیار ورود اطلاعات مقالات مرتبط با موضوع و حاوی کلمات کلیدی تحقیق بود.

۱۰. یافته‌ها

گیاه پالایی، استفاده از گیاهان سبز برای رفع آلودگی از خاک، به عنوان روش پالایی دوستدار محیط زیست و مقرون به صرفه بودن توجه زیادی جلب کرده است.این تکنولوژی، استفاده از گیاهان بیش انباشتگر را که آلاینده‌ها را از خاک استخراج کرده و آنها را در بیومس قابل برداشت بخش‌های هوایی خود انباشته کنند، ممکن می‌سازد. شناسایی گونه‌های گیاهی مناسب جهت پالایش خاک‌های آلوده به عناصر سنگین یکی از مسائل مهم در روش‌های گیاه پالایی خاک‌ها می‌باشد. پتانسیل انتقال فلزهای سمی از خاک به اندام‌های هوایی در گیاهان عالی خشک‌زی و انباشتگی این عناصر در اندام‌های هوایی توجه بسیاری از دانشمندان را در زمینه تکامل اکولوژی و فیزیولوژی گیاهان جلب کرده است. برای بهسازی خاک می‌توان با استفاده از کاشت کونه‌های خاص مرتعی، گیاه پالایی انجام داده گیاهان با توانایی جذب بالا اغلب از خانواده‌های *Asteraceae*، *Brassicaceae*، *Fabaceae*، *Poaceae* و *Amaranthaceae* هستند تعدادی از گونه‌های مرتعی که خاصیت گیاه پالایی آنها مطالعه شده است، شامل گون، کلاوه میر حسین، فستوکا، یونجه، شبدر سفید،قدومه، گاو پونه، جاز، درمنه دشتی، شاه تره و جو سیخ می‌باشد(۳).

بهبود و ارتقاء کارآمدی تکنیک گیاه پالایی به دلیل کاربرد موفق آن در خاک‌های آلوده فلزی که نیازمند فهمی دقیق از مکانیسم‌هایی است که گیاهان بیش انباشتگر، فلزات سنگین را حرکت داده و جذب می‌کنند، مهم و اساسی است.

تاکنون مطالعات گسترده ای برای آشکار شدن مکانیسم‌های اساسی بیش انباشتگری فلزات سنگین انجام شده است. این امر گویای آن است که طیف وسیعی از ژن‌های حامل از قبیل Zn_{T1} و Zn_{T2} و Zip_1 بیان شده‌اند که به طور مؤثر و کارآمد با بارگیری آوند چوبی، فلزات را از ریشه به جوانه‌ها منتقل می‌کند، اینها احتمالا در جذب و جابجاشدگی فلزات در بیش انباشتگرها دخیل هستند. در ضمن این گیاهان هم چنین به جداسازی مقدار زیادی از فلزات سنگین در بخش‌های کمتر فعال- متابولیسمی خود نیازمندند.(۶).

محل تجمع و انباشت فلزات سنگین در سطح بافت گیاه انباشت‌کننده متفاوت است در گیاه *Hybanthus Floribundus* که انباشت‌کننده نیکل است، مقادیر بالای از این فلز در سلول‌های اپیدرمی برگ موجود می‌باشد. در پاره ای دیگر از گیاهان، مقادیر بالایی از این فلز در لایه‌های بیرونی تر برگ و ریشه‌ها وجود دارد. (در گیاه انباشت‌کننده روی *Thlaspi Caerulescens* بیشترین مقدار روی در سلول‌های پارانشیمی، اپیدرمی و زیر اپیدرمی در ریشه‌ها و برگ‌ها گزارش شده است.

هم چنین مقدار فلزات در بافت‌ها یا اندام‌های مختلف گیاهان انباشت‌کننده نیز متفاوت است (۱۸).

گیاهان فرا انباشت‌کننده گیاهانی هستند که بیش از ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عناصری مانند مس، کبالت، نیکل یا سرب یا غلظت‌های بیش از ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی یا منگنز را در اندام‌های خود ذخیره نمایند. گونه‌های فرا انباشت‌کننده به طور معمول مربوط به مناطق خشک و محدود به گونه‌های بومی رشد یافته در خاک‌های معدنی این مناطق می‌باشند.

واژه بیش انباشتگر، گروهی از گیاهان را که به تیره‌های مختلف تعلق دارد توصیف می‌کند. این گیاهان توانایی رشد در خاک‌های طبیعی فلزدار و تجمع غیرمعمول مقادیر بالای فلزات سنگین در اندام‌های هوایی، بیشتر از مقدار یافته شده که در اغلب گونه‌ها، دیده می‌شود، بدون نشان دادن علائم سمیت گیاهی، را دارند. سه نشان اصلی که تشخیص گیاهان عالی تجمع‌کننده را از گیاهان را از تاکسون‌های تجمع‌کننده ممکن می‌سازد.

تاکنون حدود ۴۵۰ گونه از نهاندانگان به‌عنوان بیش انباشتگر فلزات سنگین (آرسنیک، کادمیوم، کبالت، مس، منگنز، نیکل، سرب، آنتیموان، سلنیم، تیتانیوم و روی) شناسایی شده اند، که این کمتر از ۰/۲ درصد کل گونه‌های شناخته شده می‌باشد. بنابراین همچنان بسیاری از بیش انباشتگرهای ناشناخته در طبیعت وجود دارد. شواهد بیانگر این است که گونه‌های نهاندانگان در زمین‌های مرطوب، صرف‌نظر از خاستگاهشان، قادرند در غلظت‌های بالای فلزی رشد کنند و هنگام قرار گرفتن در معرض سطوح بالای فلزات، تمایل به تحمل دارند (۱۲).

بیش انباشتگری فلزات سنگین، در خاک‌های غنی از فلز مناطق گرمسیری و مناطق معتدل رخ می‌دهد. این گیاهان در آفریقای جنوبی، کالدونیای جدید، آمریکای لاتین، آمریکای شمالی و اروپا دیده شده‌اند.

در ابتدا واژه بیش انباشتگری به گیاهانی گفته می‌شد که قادرند نیکل را بیش از ۱ میلی گرم بر گرم (وزن خشک) در جوانه‌های خود انباشته کنند تا اینکه غلظت زیاد فلزات سنگین مورد توجه قرار گرفت، در اغلب گیاهان سمیت نیکل به ۱۵ تا ۱۰ میکروگرم بر گرم رسید. حد آستانه بیش انباشتگری هر فلز سنگینی بر اساس سمیت گیاهی خاص آن تعیین می‌شود. بنابراین بیش انباشتگرها گیاهانی هستند که هنگام رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، میزان انباشتگری برخی از فلزات سنگین در اندام‌های هوایی خود بدون متحمل شدن آسیب سمیت گیاهی، به ترتیب زیر باشد: روی یا منگنز، ۱۰ میلی گرم بر گرم (۱%)، آرسنیک، کبالت، کروم، مس، نیکل، سرب، آنتیموان، سلنیم یا تیتانیوم، ۱ میلی گرم بر گرم (۰/۱%) و کادمیوم ۰/۱ میلی گرم بر گرم (۰/۰۱%) است (۹).

نکته قابل توجه این است که گیاهانی وجود دارند درخاک‌های فلزدار طبیعی و حتی در محیط‌های آلوده شده با فعالیت‌های مصنوعی بشر، زنده مانده، رشد و تکثیر می‌کنند.اغلب گونه‌هایی که غلظت‌های بالای فلزات سنگین را که برای سایر گیاهان سمی است، تحمل می‌کنند همانند گیاهان دفع‌کننده رفتار می‌کنند، استراتژی‌های گیاهان بیش مقاوم در محدود کردن ورود فلزات سنگین مؤثر است، متکی می‌باشد. آنها اغلب فلزات سنگین را با کمترین جابجایی و انتقال به برگ‌ها که سلول‌هایشان به سمیت فلزات سنگین حساس هستند، در بافت‌های ریشه حفظ و سم‌زدایی می‌کنند. متأسفانه اکثر گونه‌های بیش انباشتگر به علت کارآمدی محدود جهت گندزدایی وسیع خاک‌های آلوده، بیومس پایین و سرعت رشد کمی دارند.

گیاهان بیش انباشتگر فلزات سنگین که به طور طبیعی در مکان‌های غنی فلزی می‌توانند رشد کنند، که این گیاهان بهترین کاندید برای Phytoextraction هستند، چرا که این گیاهان، فلزات سنگین را ۳-۲ برابر بیشتر از گونه‌های گیاهی در خاک‌های غیر آلوده کشت می‌شوند، فلزات را از خاک جذب می‌کنند.

فیتومینینگ زیرشاخه‌ای از استخراج گیاهی است. برای بهبود بازدهی تولید مقادیر بالای فلزات از بیومس گیاهان[1] جهت عرضه در بازار می‌باشد. که این با استفاده از گیاهان برای استخراج فلزات سنگین[2] ارزشمند از خاک‌های آلوده یا خاک‌های معدنی صورت می‌گیرد (۷).

فیتومینینگ با استفاده از گیاهان بیش انباشتگر با بیومس بالا می‌تواند مزیت اقتصادی بر تکنیک‌های زیستی استخراج معدن داشته باشد. به ویژه در مواردی که فلزات استخراج شده از اهداف زیستی معدنکاوی بوده و دارای ارزش اقتصادی باشد و انرژی حاصل از احتراق بیومس می‌تواند به فروش برسد. تجاری سازی فیتومینینگ با استفاده از گیاهان بیش انباشتگر با بیومس بالا اساسا به غلظت فلز در گیاه، تولید بیومس سالانه گیاه و قیمت جهانی فلز مورد نظر بستگی دارد (۵).

مزایای استفاده از گیاه‌پالایی آفتابگردان برای حذف فلزات سنگین عبارتند از: هزینه آن نسبت به سایر روش‌ها ارزان‌تر و از نظر اجرا نیز ساده می‌باشد، دیگر مزیت‌های این روش طبیعی در رفع آلودگی خاك این است که به خاك آسیب نمی‌رساند و مواد شیمیایی خطرناك به‌طور عمده مصرف نمی‌شوند، عدم وجود آلودگی‌های ثانویه نظیر آلودگی‌های صوتی، عدم نیاز به تکنیک‌های پیچیده

1. Bio-ores
2. Phytoextraction

مهندسی برای اجرا و قابلیت استفاده برای گستره وسیعی از آلودگی‌ها.

۱۱. نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین غلظت کادمیوم در اندام هوایی و همچنین ریشه گیاه آفتابگردان وجود دارد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین فاکتورهای انتقال و تجمع زیستی در گیاه آفتابگردان مشاهده شد. بنابراین، آفتابگردان پتانسیل استخراج گیاهی بالاتری نسبت به بسیاری از گیاهان دارد. در مجموع با توجه به سمّیت فلزات کادمیوم و سرب حتی در غلظت‌های کم، باید توجه کافی به منابع ورودی این آلاینده به محیط زیست معطوف گردد. از سوی دیگر، شناسایی، جداسازی و کاربرد باکتری‌های بومی محرك رشد گیاه و مقاوم به تنش‌ها نیز به واسطه تأثیر بر رشد گیاه آفتابگردان، تنش وارده را کاسته و به بهبود رشد گیاه آفتابگردان کمک می‌کنند. براساس نتایج تحقیق، کادمیوم دارای توانایی بالایی در انتقال از ریشه به اندام هوایی و تجمع در گیاه آفتابگردان در خاك‌های آهکی بوده، لذا با توجه به سمّیت بالای این فلز برای گیاه و خطر ورود به زنجیره غذایی، لازم است به منظور اطمینان از سلامت محصول، دقت و نظارت کافی در مراحل مختلف تولید تا مصرف محصولات کشاورزی به عمل آید. غلظت سرب و کادمیم جذب شده در بخش هوایی گیاه آفتابگردان نسبت به ریشه گیاه بیشتر بوده است. مهم‌ترین چالش پیش روی گیاه‌پالایی، تخریب و انهدام مواد گیاهی آلوده و حجم عظیم بیومس تولید شده است که باید کاهش داده شود.

References

1. Yang XE, Long XX, Ye HB, He ZL, Calvert DV & Stoffella PJ. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn hyperaccumulating plant species (Sedum alfredii Hence). *J Plant Soil.* 2004; 259: 181-189.
2. Dinakar N, Nagajyothi PC, Suresh S, Udaykiran Y & Damodharam T. Phytotoxicity of cadmium on protein, praline and antioxidant enzyme activities in growing Arachis hypogaea L. seedling. *J Environ Sci.* 2008; 20: 199-206.
3. Pal M, Horvath E, Janda T, Paldi E & Szalai G. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2006; 169: 239-246.
4. Joner EJ, Leyval C & Colpaert JV. Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere. *J Environ Poll.* 2006; 142: 34-38.
5. Maradanpour F & Mehrabi AM. *The use of biotechnology in relation to phytoremediation*. In: Regional Conference on Food and Biotechnology, Islamic Azad University of Kermanshah; 2008: 1-5.
6. Sadat Taghavirad S, Davar H & Mohammadi MJ. A study on concentration of BETX vapors during winter in the department of ports and shipping located in one of the southern cities of Iran. *Int J Cur Life Sci*. 2014; 4(9): 5416-5420.
7. Geravandi S, Mohammadi MJ, Goudarzi G, Ahmadi Angali K, Neisi AK & Zalaghi E. Health effects of exposure to particulate matter less than 10 microns (PM10) in Ahvaz. *J Qazvin Univ Med Sci*. 2014; 18(5): 45-53.
8. Johnson DL, Anderson DR & McGrath SP. Soil microbial response during the phytoremediation of a PAH contaminated soil. *J Soil Bio & Bioch.* 2005; 37: 2334-2336.
9. Goudarzi G, Geravandi S, Naimabadi A, Mohammadi MJ, Neisi AK & Sadat Taghavirad S. Cardiovascular deaths related to Carbon monoxide Exposure in Ahvaz, Iran. *Iranian J Health, Safety & Environ*. 2014; 1(3): 126-131.
10. Hall JL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 2002; 53(366): 1-11.
11. Mattina MJ, Lannucci-Berger W, Musante C & White JC. Concurrent plant uptake of heavy metal and persistent organic pollutants from soil. *J Environ Poll*. 2003; 124: 375-378.
12. Chen H & Cutright TJ. The interactive effects of chelator, fertilizer, and rhizobacteria for enhancing phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *J Soils Sedi.* 2002; 2: 203-210.
13. Fayiga AO, Ma LQ, Cao X & Rathinasabapathi B. Effects of heavy metals on growth and arsenic accumulation in the arsenic hyper accumulator Petri vitiate L. *J Environ Poll*. 2004; 2: 289-296.
14. Dushenkov S & Kapulnik Y. *Phytofilttration of metals. In: I. Raskin and B.D. Ensley (Eds), Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*. John Wiley and Sons, Inc. New York; 2002: 89-106.
15. Lasat MM & et al. Molecular physiology of zinc transportin the Zn hyperaccumulator

Thlaspi caerulescens. *Journal Experimental Botany*. 2000; 51: 71-79.
16. Raskin I, Kumar PB, Dushenkov V & Salt DE. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr Opin. J Biotechnology*. 1994; 5: 285-290.
17. Mertens J, Vervaeke P, Meers E & Tack FMG. Seasonal changes of metals in willow. stands for phytoremediation on dredged sediment. *J Environ Sci Technol*. 2006; 40: 1962–1968.
18. Zallaghi E, Goudarzi G, Geravandi S, Mohammadi MJ, Vosoughi Niri M & Vesyi E. Estimating the prevalence of cardiovascular and respiratory diseases due to particulate air pollutants in Tabriz air. *Sci J Ilam Univ Medi Sci*. 2014; 22(1): 84-91.
19. Prasad MNV. Sunflower (Helinathus annuus L.) - A Potential Crop for Environmental Industry. *J HELIA*. 2007; 30(46): 167-174.
20. Bragato M & El Seoud OA. Formation, properties, and bex situQ soil decontamination by vegetable oil-based micro emulsions. *J Surfactants Deterge.* 2003; 6: 143-150.
21. Pannu JK, Singh A & Ward OP. Vegetable oil as a contaminated soil remediation amendment: application of peanut oil for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. *J Process Biochem*. 2004; 39: 1211-6.
22. Li TQ, Yang XE, Yang JY, HE ZL. Zn Accumulation and Subcellular Distribution in the Zn Hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance. *Pedosphere.* 2006; 16(5): 616-623.
23. Mauskar JM. *Cadmium – An Environment Toxicant, Central Pollution Control Board.* Ministry of Environment & Frosts, Govt of India. Parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Delhi; 2007: 11-32.
24. Lombi E, Zhao F, Dunham S & McGrath P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. *J Environ Qual.* 2001; 30: 1919-1926.
25. Chaney RL, Malik M, Lim YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS & Baker AJM. Phytoremediation of soil metals. *J Curr Opinion Biotechnol*. 1997; 8: 279-284.
26. Baker AJ, Reeves RD & Hajar AS. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte Thlaspi caerulescens J & C Presl (Brassicaceae). *J New Phyto.* 1994; 127: 61-68.
27. Terry N & Banuelos G. *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Pub, Boca Raton; 2000.
28. Blaylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, Zakharova O, Gussman C & Kapulnik Y. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soilapplied chelating agents. *J Environ Sci Technol.* 1997; 31: 860–865.
29. Raskin I & Ensley BD. *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean Up the Environment*. Wiley-Interscience Publication; 2000.
30. Davis A, Drexler JW, Ruby MV & Nicholson A. Micro mineralogy of mine wastes in relation to lead bioavailability, Butte, Montana. *J Environ Sci Technol.* 1993; 27: 1415–1425.
31. Zhang M, Alva AK, Li YC & Calvert DV. Chemical association of Cu, Zn, Mn, and Pb in selected sandy citrus soils. *J Soil Sci.* 1997; 162: 181–188.