فصلنامه انسان و محیط زیست، شماره ۵۰، پاییز ۹۸

تاثیر اتیلن‌دی‌آمین‌ترا استیک اسید بر ویژگی‌های مورفولوژیک و توانایی گیاه پالایی خردل هندی (*brassica juncea* L) در خاک‌های آلوده به نیکل

منصوره تشکری زاده*[۱]

mtashakorizadeh@yahoo.com

مصطفی علیزاده[۲]

تاریخ دریافت:۹۵/۰۵/۰۲ **تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۱۰**

چکیده

آلودگی خاک به فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مسایل زیست‌محیطی در دنیا محسوب می‌شود. پالایش گیاهی، یکی از روش‌های آلودگی‌زدایی و جلوگیری از پتانسیل خطرات فلزات سنگین در خاک می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید (EDTA) بر خصوصیات مورفولوژیک و کارایی آن در افزایش غلظت نیکل محلول در خاک و بررسی اثر آن بر توانایی جذب نیکل توسط گیاه خردل هندی (*brassica juncea* L) بود. بدین منظور، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نمونه‌های خاک با ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیکل از منبع سولفات نیکل مخلوط و بذرهای گیاه در خاک گلدان‌ها کاشته شدند. فاکتور آزمایشی شامل پنج سطح EDTA (۰، ۱، ۵، ۱۰و ۱۲میلی‌مول) بود که بعد از کشت بذر به خاک اضافه شدند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت EDTA، ویژگی‌های مورفولوژیکی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافتند ولی غلظت نیکل محلول در خاک و انتقال آن به داخل گیاه با افزایش غلظت EDTA صعود معنی‌داری داشت که این صعود مانع رسیدن عناصر مورد نیاز برای رشد، به اندام‌های مختلف و در نتیجه جلوگیری از رشد طبیعی گیاه گردید. به طور کلی نتایج نشان داد که گونه مورد بررسی قابلیت تحمل نیکل را دارد و EDTA پتانسیل افزایش جذب نیکل در گونه گیاهی مورد مطالعه را داشته ولی با توجه به تاثیرات بازدارنده این مواد بر رشد گیاه باید در غلظت‌های کم استفاده شود.

کلمات کلیدی: آلودگی خاک، استخراج گیاهی، خردل هندی، ویژگی‌های مورفولوژیک، اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید.

۱- عضو هیات علمی گروه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. * (مسوول مکاتبات)

۲- کارشناسی ارشد تکتونیک، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران.

Human and Environment., No. 50 Autumn 2019

Effect of Ethylene Diamine Tetra Acetic Acids on Morphological Characteristics and Phytoremediation Capacity of Indian mustard (*brassica juncea* L) in Nickel Contaminated Soil

Mansoureh Tashakori zadeh[*1] *(corresponding Authors).*
mtashakorizadeh@yahoo.com
Mostafa Alizadeh[2]

Abstract

Contaminated soil with heavy metal is one of the most important environmental issues in the world. The refining plant is one of the methods of refinement and prevent potential pollution hazards of heavy metals in soil. The purpose of this study, effects of various concentrations of EDTA on some morphological characteristics and the efficiency of EDTA for Increased Ni from soil and to compare their effects for enhancing of Ni extraction with Indian mustard (*brassica juncea* L). For this purpose, a greenhouse experiment was conducted in completely randomized design with four replications. Soil samples were mixed with 600 mg/kg of nickel sulfate and the seeds were planted in soil of pot. The experimental factor was including 0, 1, 5, 10 and 12 mmol EDTA that after the seed cultivation have been added to the soil. The results of the research showed that The application of different EDTA concentrations decreased morphological characteristics and increased soluble nickel concentrations in soil and transfer it to the inside of the plant and this changes was significant compared to the control treatment. The increase in soluble nickel concentrations in soil and transfer it to the inside of the plant inhibits the absorption of essential elements to the plants shoot and thus, repelled the growing process. In general, Indian mustard (*brassica juncea* L) due to high nickel resistance can be introduced as a Ni hyper accumulator to EDTA induced phytoextraction technology. But according to the preventive effects of these substances on the growth of the plant should be used for low concentrations.

Key words: Soil pollution, Phytoextraction, *Brassica juncea* L, Morphological characteristics, EDTA.

1- Faculty of Agriculture and Natural Resources, Payame Noor University (PNU), Tehran, I.R. Iran.
*(*Corresponding author*)
2- MSc of tectonic, Azad University, Kerman, I.R. Iran

مقدمه

فعالیت‌های روز افزون بشر مانند توسعه صنایع، استخراج معادن، ذوب فلزات، مصرف کودهای شیمیایی حاوی عناصر فلزی سنگین منجر به تجمع بیش‌تر فلزات سنگین در خاک می‌شود (۱). فلزات سنگین که سرب، آلومینیوم، جیوه، 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 و در نهایت به راحتی از طریق مصرف محصولات کشت شده در خاک‌های آلوده، به زنجیره غذایی مصرف کنندگان وارد شده و سلامت انسان‌ها و حیوانات را به خطر می‌اندازد (۲). رسوب فلزات سنگین در خاک و اثر آن بر روی پوشش گیاهی، می‌تواند بسیاری از پارامترهای مربوط به رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار دهد و مانع فعالیت بسیاری از واکنش‌های آنزیمی و متابولیکی در گیاهان شود (۳).

یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین از لحاظ سمیت در گیاهان و حیوانات، نیکل است (۴). این فلز به عنوان یک عنصر ضروری برای بسیاری از سیستم‌های زنده در نظر گرفته می‌شود و برای فعالیت‌های متابولیکی گیاه لازم می‌باشد (۵). اما غلظت‌های بالای این عنصر برای گیاه سمی بوده و ممکن است با بسیاری از فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان مداخله نماید (۵ و ۶). مطالعات نشان داده است که نیکل مازاد می‌تواند جوانه‌زنی دانه و رشد گیاه را مهار نموده، موجب تخریب کلروفیل گردیده و با فعالیت سیستم نوری مداخله نماید (۷ و ۸). از اولین آثار سمی نیکل در گیاه، پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی است که این امر با تغییر ساختار غشای سلول‌ها، موجب بازدارندگی رشد گیاه می‌شود (۹). تکنیک‌های بسیاری جهت پاک‌سازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گسترش یافته‌اند. در میان این تکنیک‌ها استخراج گیاهی (گیاه‌پالایی) به عنوان یک روش پاک‌سازی موثر و ارزان عرضه شده است که در آن جذب و جمع‌آوری آلاینده‌ها در بافت‌های قابل برداشت گیاهی مد نظر می‌باشد (۱۰). گیاه‌پالایی یک تکنیک پالایش در محل خاک، آب و رسوبات آلوده است که اقتصادی، دوست‌دار محیط زیست و در حال گسترش است(۱۱). لازمه موفقیت پالایش گیاهی استفاده از گونه‌های گیاهی با رشد سریع و عملکرد بالا و همچنین زیست فراهمی فلزات در محیط ریشه می‌باشد(۱۲). در اراضی آلوده به فلزات سنگین، انتخاب گیاهان متحمل به فلزات، جهت برداشت آلاینده‌ها از خاک می‌تواند یک استراتژی جدید برای مدیریت اراضی باشد. تعدادی از گونه‌های انباشتگر فلزات سنگین که بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات هیدروپونیک و گلدانی گزارش شده‌اند گونه‌هایی با توده زیستی بالا شامل ذرت، آفتابگردان و خردل هندی می‌باشند (۱۳). خردل هندی با نام علمی *(brassica juncea* L.*)* گیاهی است علفی، یک‌ساله، متعلق به خانواده شب بو (Brassicaceae) و جزو گیاهان روغنی است که از نظر مواد غذایی غنی می‌باشد و واریته‌های مختلف آن ۴۹-۳۷٪ روغن دارند که در صنایع مختلف استفاده می‌شود(۱۴). و همچنین استفاده از برخی ترکیبات کمپلکس کننده باعث افزایش فراهمی فلزات در محیط ریشه و انتقال آن به داخل گیاه می‌شود(۱۵) ازجمله این ترکیبات اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک می‌باشد که یکی از انواع این ترکیبات EDTA (اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید) است که علاوه بر رهاسازی فلزات به داخل فاز محلول خاک باعث تسهیل در انتقال فلز به بخش هوایی گیاه می‌شود(۱۶). EDTA هرچند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد، ولی غلظت‌های بالای این مواد برای گیاه و خاک سمی می‌باشد (۱۷). علاوه بر این با وجود کاربرد این مواد در افزایش گیاه‌پالایی، آب‌شویی این مواد و ورود آن‌ها به آب‌های زیرزمینی، کاربرد آن‌ها را محدود می‌کند و لازم است در غلظت مناسب استفاده شوند (۱۸).

هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید (EDTA) بر ویژگی‌های مورفولوژیک گونه خردل هندی (*brassica juncea* L) و افزایش توانایی این گیاه در جذب

نیکل در خاک‌های آلوده به این فلز سنگین در شرایط گلخانه‌ای می‌باشد.

روش بررسی

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور کرمان اجرا شد. خاک مورد استفاده در این پژوهش از خاک زراعی با بافت لومی‌شنی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر جمع‌آوری و از الک‌های ۵ و ۱۰ میلی‌متری عبور داده شد. در مرحله بعد برای ایجاد آلودگی، معادل ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیکل از منبع سولفات نیکل قبل از کشت به خاک اضافه و نمونه‌های خاک، آلوده شدند. خاک مورد نظر همراه با مواد تقویت کننده خاک در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی ریخته شد سپس خاک‌های آلوده در گلخانه به مدت یک هفته با رطوبت نزدیک به اشباع و به مدت پنج هفته با رطوبت در حد ظرفیت زراعی آبیاری و در شرایط دمایی مناسب (۱ ±۲۶ درجه سلسیوس) نگهداری شدند تا در حد امکان میان خاک و آلاینده تعادل برقرار شود. بذر گیاهان با تعداد بیش‌تر از نیاز با فواصل مناسب کشت شدند. پس از جوانه زدن بذرها، گیاهچه‌های سالم‌تر و قوی‌تر برای ماندن انتخاب و بقیه تنک گردیدند. بعد از کشت بذر، اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) با غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مول بر کیلوگرم به خاک اضافه شد. در انتهای دوره رشد برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی شامل: وزن خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه و سطح برگ تعیین شدند. برای تخمین وزن خشک گیاه، پس از جدا کردن اندام هوایی و ریشه از یکدیگر، نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت دو شبانه روز در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک شدند تا وزن خشک ثابت شود. سپس وزن خشک نمونه‌ها با دقت ۰/۰۰۱ ± توزین شد. جهت اندازه گیری ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه از خط کش با دقت ۱± میلی‌متر به وسیله‌ی شاخص ارتفاع اندازه‌گیری شد و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ از روش کپی کاغذی استفاده شد (۱۹).

جهت اندازه‌گیری غلظت نیکل موجود در اندام‌های گیاه، اندام‌هوایی و ریشه پس از برداشت از یکدیگر جدا و با اسید کلریدریک ۰/۰۱ مولار و آب مقطر شسته و در آون به مدت ۴۸ ساعت و دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و در نهایت آسیاب شدند. غلظت نیکل نمونه‌های گیاهی با روش اکسایش توسط اسید نیتریک، اسید کلریدریک و آب اکسیژنه و با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۲۰). جهت اندازه‌گیری نیکل محلول در خاک نمونه‌های خاک گلدان‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و غلظت نیکل محلول در خاک با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۲۱). جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی استفاده شد. اسیدیته با استفاده از دستگاه Ph متر، دانه‌بندی با روش دانسیمتر (روش بایکاس)، درصد مواد آلی با متد سرد یا والکلی و بلاک، هدایت الکتریکی توسط دستگاه هدایت الکتریکی سنج، ازت با روش کجدال، فسفر قابل جذب با روش السن و منیزیم با روش کمپلکسومتری (تیتراسیون) اندازه‌گیری شد (۲۲). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

یافته‌ها و بحث

-خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بر اساس روش‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین گردید (جدول۱).

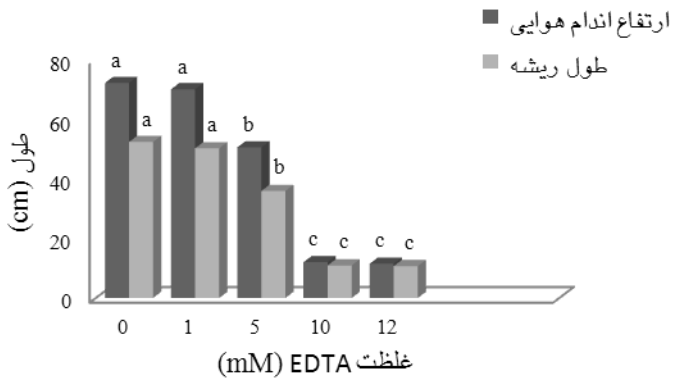
جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از اعمال تیمارها.

مشخصه	مقدار	مشخصه	مقدار
کلاس بافت خاک	لومی-شنی	pH	۷/۵
درصد مواد آلی	۰/۴۶	نیتروژن کل (درصد)	۰/۰۶
درصد ظرفیت زراعی	۱۵	فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	۹/۶
$EC(ds\ m^{-1})$	۱/۰۶	پتاسیم قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	۲۳۹
درصد مواد آلی	۰/۴۶	منیزیم قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	۳۱۸
درصد ظرفیت زراعی	۱۵	نیکل ($mg\ kg^{-1}$)	۶۱۱/۱

-اثر اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) بر ویژگی-های مورفولوژیکی

- ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه

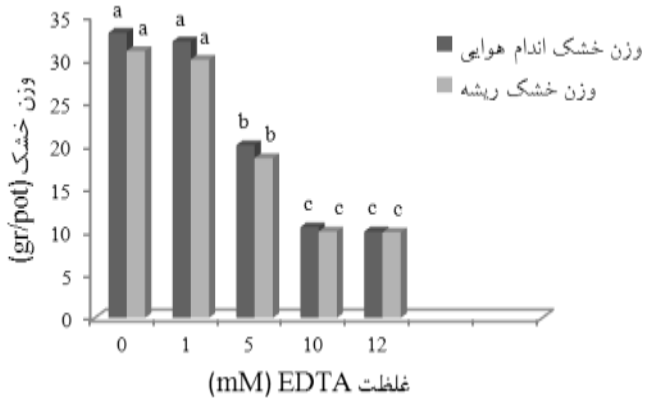
اثر غلظت‌های مختلف EDTA بر ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه خردل هندی نشان داد که با افزایش غلظت EDTA، ارتفاع اندام‌هوایی و طول ریشه کاهش معنی‌داری را در غلظت‌های پنج، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار در سطح پنج درصد نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف EDTA بر ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گیاه خردل هندی.

- وزن خشک اندام هوایی و ریشه

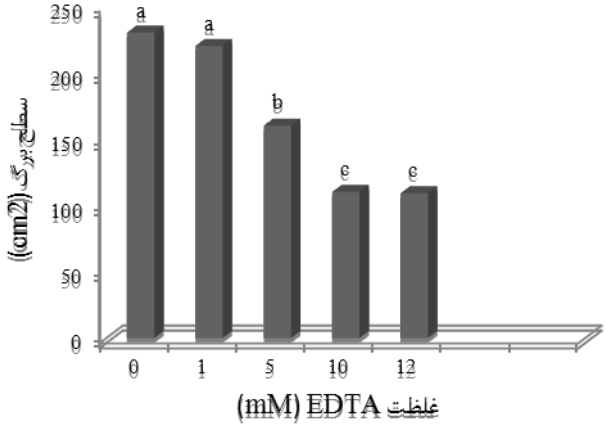
با افزایش غلظت EDTA وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش در غلظت‌های پنج، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار EDTA برای اندام‌هوایی و ریشه نسبت به گیاهان گروه شاهد در سطح پنج درصد معنی‌دار بود(شکل ۲).



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف EDTA بر وزن خشک اندام هوایی و طول ریشه گیاه خردل هندی.

- سطح برگ

افزایش غلظت EDTA، سطح برگ را به طور معنی‌داری کاهش داد. این کاهش در غلظت‌های پنج، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار EDTA نسبت به گروه شاهد از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار بود(شکل ۳).



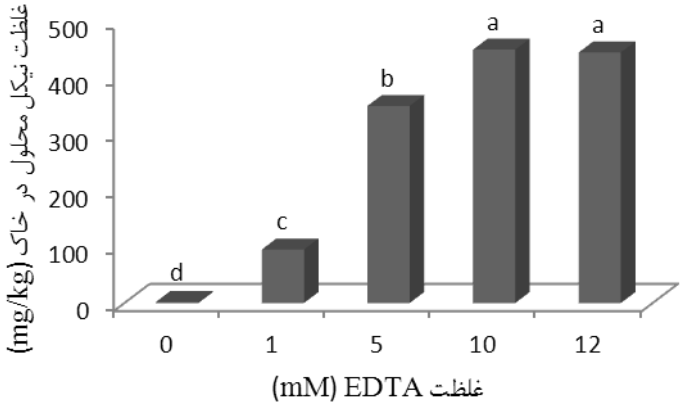
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف EDTA بر سطح برگ گیاه خردل هندی.

با وجود مطالعات موفق در زمینه کاربرد اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک در پالایش خاک‌های آلوده، محققان زیادی نگرانی خود را به علت افزایش غلظت زیاد فلزات سمی در خاک ناشی از کاربرد این مواد اظهار کرده‌اند. تولید زیست‌توده گیاهان در مواجه با غلظت‌های زیاد اسیدهای آمینوپلی‌کربوکسیلیک و فلزات سمی، در نتیجه کاهش جوانه‌زنی گیاه، کاهش فتوسنتز و خشک شدن اندام‌های هوایی، به شکل چشمگیری کاهش پیدا می‌کند(۲۳). تورگات و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی که بر روی گیاه پالایی کادمیوم، نیکل و کروم توسط *Helianthus annuus* انجام دادند گزارش کردند که افزودن EDTA هر چند قابلیت دسترسی فلزات را در خاک افزایش می‌دهد ولی غلظت‌های بالای این ماده برای گیاه سمی بوده و باعث کاهش زیست‌توده گیاه و

درنهایت کاهش غلظت فلز در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود(۲۴). یانگ و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعه روی جو و برنج نشان دادند که ارتفاع اندام هوایی و رشد طولی ریشه گیاهان با افزایش غلظت فلزات سنگین محلول در خاک کم شده و کاهش در ارتفاع اندام‌هوایی گیاه به علت رشد کم ریشه و در نتیجه کاهش انتقال آب و مواد غذایی به اندام‌های هوایی گیاه است (۲۵) و همچنین فلزات سنگین از جمله نیکل باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان و به طور کلی سبب کاهش بیوماس گیاهی می‌شوند (۲۶).

-اثر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر غلظت نیکل محلول در خاک

افزایش غلظت EDTA، غلظت نیکل محلول در خاک را به طور معنی‌داری افزایش داد. این صعود در غلظت‌های یک، پنج، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار EDTA نسبت به گروه شاهد از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار بود ولی بین غلظت های ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار EDTA تفاوت معنی‌داری در افزایش غلظت نیکل در سطح پنج درصد مشاهده نشد(شکل ۴). در حضور اتیلن دی آمین تترا استیک اسید بخش اعظم نیکل به صورت محلول در خاک درآمده و دسترسی گیاه به آن افزایش پیدا می کند. وجود پیوندهای آلی- فلزی در ترکیبات اسیدهای آمینوپلی-کربوکسیلیک و فلزات سبب می‌شود فلزات کم‌تر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته، لذا مانع از رسوب و تثبیت آن‌ها در خاک می‌شوند (۲۷). وجود کمپلکس‌های قوی و پایدار با تحرک بالا میان EDTA و فلزات سنگین در خاک باعث افزایش غلظت فلزات سنگین محلول در خاک می‌شود(۲۸).

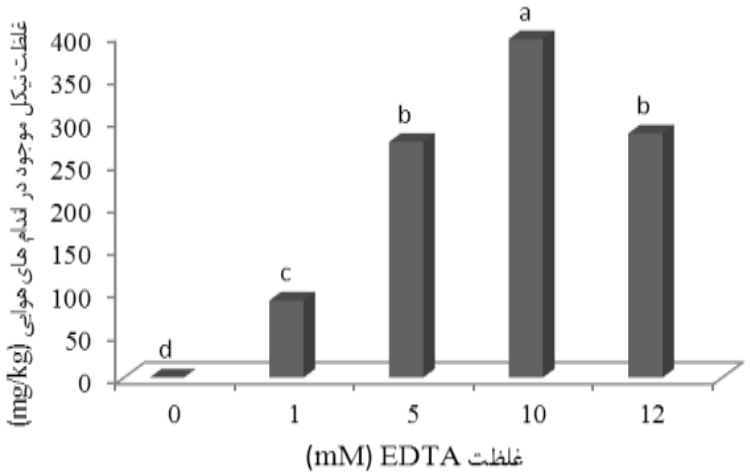


شکل ۴- اثر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر غلظت نیکل محلول در خاک

-اثر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر انتقال نیکل از خاک به اندام هوایی

با افزایش غلظت EDTA در خاک، غلظت نیکل در اندام‌های هوایی افزایش یافت که این صعود در غلظت‌های یک، پنج، ۱۰ و ۱۲ میلی‌مولار EDTA در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ۵). ورود هر یون به داخل سلول‌های ریشه و انتقال آن به آوند چوبی از دو مسیر سیمپلاست (انتقال از سلولی به سلول دیگر از محل پلاسمالما) و آپوپلاست (انتقال از فضای بین دیواره خارجی سلول) انجام می‌شود. انتقال از طریق مسیر آپوپلاست سریع‌تر است. در حضور اتیلن دی آمین تترا استیک اسید انتقال فلز از مسیر آپوپلاست صورت می‌گیرد در صورتی که در عدم حضور EDTA جذب فلز از مسیر سیمپلاست صورت می‌گیرد (۲۹). غلظت نیکل موجود در اندام‌های هوایی در غلظت

۱۲EDTA نسبت به ۱۰EDTA کاهش یافت که یکی از دلایل کاهش این است که سلول‌های ریشه گیاه درصورتی که اسیدهای آمینو پلی‌کربوکسیلیک در غلظت بالاتر از ۱۰ میلی مول در کیلوگرم استفاده شوند از بین می روند و آن به علت عملکرد اسیدهای آمینو پلی کربوکسیلیک در افزایش تحرک فلزات در خاک و تاثیر آن‌ها در دیواره سلولی ریشه گیاه است (۱۷). چن و همکاران علایم ناشی از سمیت غلظت های بالای EDTA شامل نکروز را در گیاه آفتابگردان و خردل هندی گزارش کردند(۳۰).



شکل ۵- اثر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر انتقال نیکل از خاک به اندام هوایی

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که گونه خردل هندی (*brassica juncea* L) برای پالایش خاک‌های آلوده به فلز سنگین نیکل در حضور EDTA مناسب می‌باشد. با افزایش غلظت EDTA میزان جذب نیکل افزایش یافت ولی در مقابل خصوصیات مورفولوژیک گیاه دچار آسیب و زیان شد. در نتیجه در مناطق آلوده به فلز سنگین نیکل کاشت گیاه خردل هندی و کاربرد غلظت‌های پایین EDTA مناسب به نظر می‌رسد.

منابع

1- Megateli, S., Semsari, S., Couderchet, M., 2009. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 72 (6), pp. 1774-1780.

2- Yang, X.E., Long, X.X., Ye, H.B., He, Z.L., Calvert, D.V., Stoffella, P.J., 2004. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn hyperaccumulating plant species (Sedum alfredii hence). J Plant Soil, vol. 259, pp. 181-189.

3- Baycu, G., Doganay, T., Hakan, O., Sureyya, G., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees. Istanbul Environmental Pollution, vol. 143, pp. 545-554.

4- Poulik, Z., 1999. Influence of nickel contaminated soils on lettuce and tomatoes. Scientiae Horticultural, vol. 81(3), pp. 243-250.

5- Chen, C., Huang, D., Liu, J., 2009. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. Clean- Soil, Air,Water, vol. 37, pp. 304–313.
6- Sharma, R.K., Madhulika, A., 2005. Biological effects of heavy metals: An overview. Environmental Biology, vol. 26, pp. 301-313.
7- Ahmad, M.S.A., Hussain, M., Ashraf, M., Ahmad, R. Ashraf, M.Y., 2009. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.). Pakistan Botany, vol. 41, pp. 1871–1882.
8- Ali, M.A., Ashraf, M., Athar, H.R., 2009. Influence of nickel stress on growth and some important physiological/ biochemical attributes in some diverse canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Hazardous Materials, vol. 172, pp. 964–969.
9- Panda, S.K., Chaudhury, I., Khan, M.H., 2003. Heavy metal induced lipid peroxidation affects antioxidants in wheat leaves. Biologiae Plantarum, vol. 46(2), pp. 289-294.
10- Mattina, M.J, Lannucci-Berger, W., Musante, C., White, J.C., 2003. Concurrent plant uptake of heavy metal and persistent organic pollutants from soil. J Environ Poll, vol. 124, pp. 375-378.
11- Lombi, e., Zhao, F., Dunham, S., McGrath, P., 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. J Environ Qual, vol. 30, pp. 1919-1926.
12- Kayser, A., Wenger, K., Keller, A., Attinger, W., Felix, H.R., Gupta, S.K., Schulin, R., 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil:the use of NTA and sulfur amendments. Environmental Science and Technology, vol. 34, pp. 1778-1783.
13- Mertens, J., Vervaeke, P., Meers, E., Tack, F.M.G., 2006. Seasonal changes of metals in willow. Stands for phytoremediation on dredged sediment. J Environ Sci Technol, vol. 40, pp. 1962–1968.
14- Al- Barrak, K.M., 2006. Irrigation interval and nitrogen level effects on growth and yield of canola (*Brassica napus L.*). Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), vol. 7(1), pp. 87-103.
15- Wu, J., Hsu, F., Cunningham, S., 1999. Chelate–assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation constrains. Environmental Science and Technology, vol.33, pp. 1898- 1904.
16- Blaylock, M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulink Y., Ensley B.D., Raskin I., 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. Environmental Science and Technology, vol.31, pp. 860-865.
17- Luo, C., Z.G. Shen, X. Li., Baker, A.J.M., 2006. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. Chemosphere, vol. 63, pp.1773-1784.
18- Shibata, M., Konno, T., Akaike, R., Xu, Y., Shen R.F., Ma, J.F., 2007. Phytoremediation of Pb contaminated

soil with polymercoated EDTA. J. Plant Soil, vol. 290, pp.201-208.

۱۹- هاشمی دزفولی، ا، فیزیولوژی گیاهان زراعی تکمیلی، انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، ۱۳۷۸.

20- Du Laing, G., Tack F.M.G., Verloo, M.G., 2003. Performance of selected destruction methods for the determination of heavy metals in reed plants (*Phragmites australis*). J. Anallytic Chimic Acta, vol. 497(8), pp. 191-198.

21- Gupta, P.K. 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer analysis. Agrobios. New Delhi, Indian. P. 438.

۲۲- زرین کفش، منوچهر، خاک شناسی کاربردی، انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۷۲.

23- Nascimento, C.W.A., Amarasiriwardena D., Xing B., 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. J. Environmental Pollution, vol. 140, pp. 114-123.

24- Turgut, C., Katie, M., Teresa, J.C., 2005. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. Chemosphere, vol. 58, pp. 1087-1095

25- Yang, X., Baligar, V.C., Martens, D.C., Clark, R.B., 1996. Plant tolerance to Ni toxicity. I. Influx, transport and accumulation of Ni in four species. J. Plant Nutr, vol. 19, pp.73–85.

26- Fuentes, D., Disante, K.B., Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R., 2006. Response of *Pinus halepensis mill* Seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. Environmental Pollution, XX PP 1-8.

27- Clemens, S., Palmgren, M.G., Kramer, U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. J. Trends in Plant Science, vol. 7, pp. 309-315.

28- Luo, C., Shen, Z., Li, X., 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. Chemosphere, vol. 59, pp. 1-11.

29- Nowack, B., Schulin, R., Robinson, B.H., 2006. Critical assessment of chelate-enhanced metal phytoextraction. Environmental Science and Technology, vol. 40, pp. 5225-5232.

30- Chen, Y., Li, X., Shen, Z., 2004. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. Chemosphere, vol. 57, pp.187-196.