

## بهبود خواص فیزیکی-شیمیایی خاک آلوده به مس، توسط گیاهان محلی در

### ناحیه آزاد معدنی شمال شرقی برزیل: رهنمودهایی برای بازیابی نواحی معدن خیز

#### چکیده

در این پژوهش ظرفیت تجمع مس در گیاهان خودرو در خاک آلوده به مس در نواحی معدنی شمال شرقی برزیل از طریق اندازه گیری فاکتورهای غنی شدگی (EF) و انتقال (TF) ارزیابی گردید. تاثیر تغییرات فیزیکی و شیمیایی خاک ریشه بر تحرک پذیری مس با استفاده از ترکیبات مختلفی ( $Melich3/MgCl_2$ ) برای استخراج Cu از نمونه های مختلف خاک (خاک توده/ریشه) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت رهنمودهای ممکن برای استفاده از این گونه های گیاهی در بازیابی ناحیه با محاسبه توازن بین Cu انتقال یافته در ریشه و Cu جذب شده توسط گیاه بررسی شد. بر اساس مقادیر EF و TF به دست آمده (>1) هیچ یک از گونه های مورد مطالعه (*Ruellia paniculate, Bidens pilosa, pityrogramma calomelanos, combretum leprosum,*) در دسته بندی تجمع کنندگان قوی قرار نمی گیرند. با این وجود رسیدگی به سطوح زیستی در دسترس (که از  $Mg_2$  استخراج شده و خاک های ریشه ای (در مقایسه با سطوح کلی و خاک توده) منجر به همبستگی بیشتر میزان فلز در بافت های گیاه می شود. در نتیجه این عمل برای تعیین ظرفیت گیاه برای انباشتن مس مناسب تر است. مشخصات مختلف خاک ریشه و توده تاثیر مستقیمی بر غلظت بالای Cu در خاک ها متفاوت است (در گستره 3604-9601 mg/kg). با محاسبه توازن میان مقادیر Cu انتقال یافته در ریشه و مقدار برداشت شده توسط گیاه، دریافتیم که حضور چنین گیاهانی در زمین می تواند اثرات رقابتی داشته باشد. دو گونه *p.calomelanos, B.pilosa* میزان مس موجود در بافت هایشان در مقایسه با میزان Cu مس ریشه بیشتر بود. این امر یک مشخصه مطلوب برای هدف بازیابی می باشد چون گیاه می تواند میزان

Cu قابل دسترس در خاک را کاهش دهد و به عنوان یک عامل تسهیل کننده برای بازیابی محیط عمل کند. در مقابل، در دو گونه دیگر (R.paniculata , C.leprosum) میزان Cu ای که در ریشه انتقال دادند به نسبت Cu جذب شده بیشتر بود که این امر منجر به انتقال Cu در دسترس به اکوسیستم می شود و برای بازیابی محیط زیست مناسب نیست.

**کلید واژه ها:** معدن، خاک های آلوده به مس، ریزوسفر فراهمی زیستی، گیاه پالایی، انباشتگی بیش از حد

## 1. مقدمه

تخلیه زباله های دارای فلز از آن جا که منشا اصلی تخلیه فلزات سمی در محیط زیست است در زمین های آزاد نماینده یک مشکل جهانی جدی می باشد (لوترموزر 2007). این امر ممکن است منجر به شرایط نامناسبی برای رشد گیاهان گردد که بر تنوع و فراوانی بسیاری از گونه ها تاثیر می گذارد و رشد مجدد گونه های گیاهی و در نتیجه بازسازی کل اکوسیستم را با چالش روبرو می کند. (ابراهام شاو 1997؛ آرویانو 2001؛ هرناندر و پاستور 2008، نارچی و همکاران 2012). با توجه به ترکیب زیست شیمیایی زباله معدنی، تخلیه آن در محیط می تواند تاثیرات مختلفی از جمله کاهش میزان مواد مغذی (شولز و ویگلب 2000؛ نیکو و همکاران 2010)؛ تخریب کیفیت فیزیکی خاک (شزار و لال 2011، کاهش ناگهانی PH (اسیدی یا بازی شدن) (جورجووک و همکاران 2002؛ آیکول و همکاران 2003) و تخلیه میزان زیادی از عناصر سمی (لبلانک و همکاران 2000؛ دو و همکاران 2011؛ زورنوار و همکاران 2012، ماتینز-ساندر و همکاران 2012، گارسیا؛ لورتر و همکاران 2012) را به همراه داشته باشد.

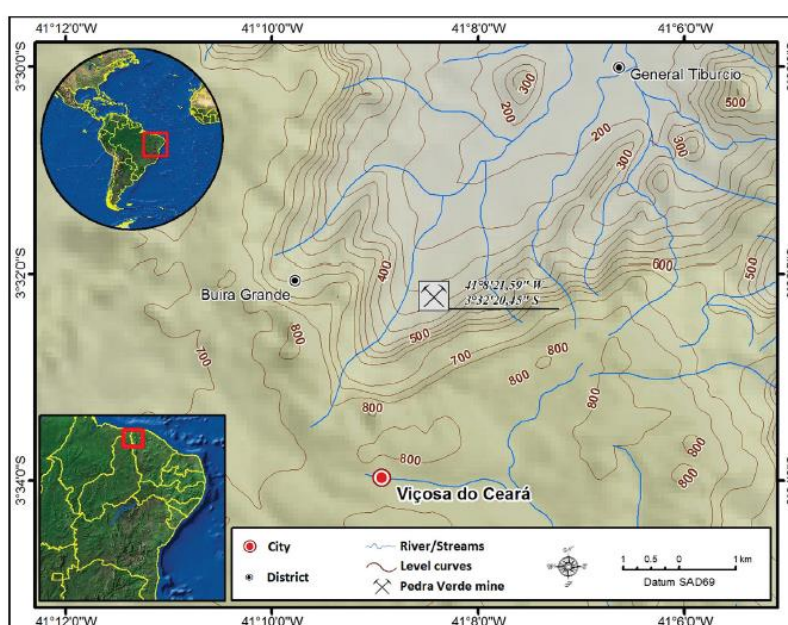
اکثر گیاهان قادر به تحمل غلظت های بالای فلز در خاک نیستند و شناسایی گونه هایی که به طور خود بخودی در محیط های آلودی رشد می کنند برای برنامه های بازیابی بسیار حائز اهمیت است (ویتینگ و همکاران 2004؛ بیلون اسمیتز و فریمن 2006) و به دانشمندان در درک مکانیسم اکولوژیستی تطابق با چینی محیط هایی کمک می کند. (بوید 2004؛ بوجار و گودرزی 2007؛ مانارا 2012؛ آناوار و همکاران 2013) گیاهان همچنین می توانند عناصر کمیابی

را به زنجیره غذایی موجودات بیفزایند. در نتیجه گونه هایی که توانایی انباشه کردن مقدار زیادی عناصر کمیاب در بافت های فرازمینی خود (برگ ها، شاخه ها، میوه و گل) هستند مستعد آزاد سازی این عناصر محیط زیست می باشند (مک لاگین 2001؛ بوید 2004؛ پیلو و ادموند 2005). همچنین گونه هایی با این مشخصات از آن جا که توانایی انباشته سازی مقدار زیادی آلاینده و سپس آزاد سازی آن ها در مکان مناسب دیگر و در نتیجه دفع آن ها را دارند برای استفاده در برنامه های گیاه پالایی (از جمله استخراج گیاهی) مناسب هستند (ریوز و بیکر 2000؛ زانتور و باکمپ 2002؛ پیلون اسمیتز 2005؛ ارنست 2005) در نقطه مقابل گونه های گیاهی که آلاینده ها را در ریشه خود ذخیره می کنند با توجه به معیارهایی که برای دسته بندی گیاهان تجمع کننده استفاده می شود، در این دسته قرار نمی گیرند (بیکر و بروکز 1989؛ ریوز 2006). با این وجود از آن جا که این گیاهان ممکن است در برنامه های تثبیت یا رشد مجدد گیاه مفید باشند حائز اهمیت هستند. این گونه ها می توانند آلاینده ها را در بافت های زیر زمینی خود تثبیت کننده و یا کمپلکس های فلزی در ریشه های خود به وجود آورند و انتقال فلزات در دسترس به سایر گونه ها را محدود کنند. با این عمل این گیاهان فرایند رشد و تکثیر گیاهی را تسهیل می کنند (ویتنگ و همکاران 2004؛ پیلون استیمر 2005؛ مندر و مایر 2008).

جزئیات مکانیسم حاکم بر روش جذب فلزات توسط گیاه همچنان کاملاً شناخته شده نیست، اما به طور کلی انباشته شدن یک منحصر در بافت های گیاهی توسط دسترس پذیری عنصر در محلول خاک کنترل می شود که این فاکتور نیز به متغیر های مختلفی از جمله فاکتورهای آب و هوایی، زیستی و زیست شیمیایی تعیین می شود (کاباتا پدرنایس 2004).

روش های مختلفی برای تعیین دسترس پذیری زیستی فلزات در خاک پیش بینی کسری از فلز داخل خاک که توسط گیاه جذب می شود وجود دارد. غلظت شبه کلی توسط اسیدهای قوی استخراج می شود ممکن است شامل شکل هایی از فلز که بسیار کم در اختیار گیاه قرار می گیرد مثل شکل های بلوری مواد معدنی اولیه یا کمپلکس های بسیار پایدار فلزات آلی، باشد. (فرناندز - کالونبو و همکاران 2009). استخراج کننده Melich3 به طور وسیعی برای استخراج فلزات در دسترس استفاده می شود چون توانایی استخراج کسر در دسترس و علاوه بر آن کسری که با

تغییرات جزئی در شرایط قابل دسترسی است همانند ترکیبات ریشه گیاه را دارد (Melich 1984؛ مونترز و همکاران 1999؛ اوترو و همکاران 2012). فلزی که توسط یک محلول نمکی مثل  $MgCl_2$  استخراج گردید دارای کسری غیر قابل جذب توسط خاک و در نتیجه در دسترس گیاه بود (فیلگیراس و همکاران 2002). پیشنهاد ما این است که در نظر گرفتن کسرهای مختلفی از فلز استخراج شده توسط خاک ریشه و توده، و نیز میزان جذب و جابجایی فلز توسط گیاه می تواند دیدگاهی واقعی برای درک پاسخ گیاه به افزایش غلظت فلز در خاک به دست دهد. این به امر گیاه پالایی و روشن کردن مکانسیم هایی که با این گیاه را قادر به بقا در محیط آلوده می کند، کمک می نماید.



شکل 1 مکان معدن پدرا و رد

اهداف ویژه این مطالعه بدین قرار است: (I) تعیین پتانسیل کلی میزان Cu در دسترس در خاک توده و ریشه تحت رشد خودبخودی گیاه در نواحی معدن خیز؛ (II) تعیین غلظت Cu در برگ و ریشه این گیاهان و بر اساس یافته ها؛ (III) تعیین پاسخ گیاه به بالا بودن غلظت Cu در خاک (تجمع / تثبیت / ممانعت) و در نتیجه تعیین مقدار بالقوه آن برای گیاه پالایی

## 2. مواد و روش ها

### 2.1 ناحیه مورد بررسی

این پژوهش در ناحیه "serra da Ibiapaba" در شمال شرقی برزیل (شکل 1) انجام شد. آب و هوا در مناطق کم ارتفاع (کمتر از 300 متر، در جایی که معدن وجود دارد) نیمه خشک استوایی و در مناطق بلندتر (بیش از 300 متر؛ در بالای ارتفاعات فلات "serra da Ibiapaba") نیمه مرطوب است. میزان متوسط بارش سالیانه در ناحیه vicosa do ceara (ارتفاع 710 متری) برابر 1470 میلی متر و در ناحیه Tiburcio (ارتفاع 220 متری) برابر 960.0 میلی متر است و در هر ناحیه بارش منحصر به فصل ژانویه و می است. متوسط دمای سالیانه در هر ناحیه بین 22 و 24°C است.

پوشش گیاهی ناحیه که تحت تاثیر مستقیم آب و هوا و ارتفاع است شامل جنگل های فصلی استوایی همیشه بهار در ارتفاع بالا (serra) و یک جنگل خشک استوایی (که به طور محلی با نام "caatinga" شناخته می شود، در نواحی کم ارتفاع تر و دشت ها می باشد (ارتفاع کمتر از 300 متر) (IBGE, 2012).

بدنه سنگ پدرا ورد ماهیت ابر ژن دارد و نواحی حاوی Cu معدنی در فلات ها به صورت کانسارهای سولفیدی و در ناحیه های اکسیدی روی سطح به صورت زائده های کربنی وجود دارد (کالینز و لوریرو 1971). مواد معدنی سولفید مس در سنگ بدنه شامل سنگ مس ( $CuFeS_2$ )، کاکتوسیت ( $Cu_2S$ )، بورینت ( $Cu_5FeS_4$ ) و کوولیت ( $CuS$ ) می شود. در بخش بالایی افق معدنی، آهن اکسید حاوی 0.1٪ مس و هماتیت ( $Fe_2O_3$ ) به عنوان یکی از سازندگان اصلی علاوه بر حضور منحنی کورپیت ( $Cu_2O$ ) غالب است (کالینز و لوریرو 1971).

ناحیه اکسید شده در سطح اساسا با کربنات های در مس رگه های نواحی اشباع مالاچیت ( $Cu_2(CO_3)(OH)_2$ ) شکل می گیرد که در طولی بیش از 100m در ناحیه شکاف و عمقی کمتر از 15 متر متمرکز شده اند. حضور شبه مالاچیت (یک ماده معدنی مسی) در معدن کشف شد (پرلاتی و همکاران 2014).

سنگ معدن های فلز دار عمدتا حاوی کوارتز فلدسپار، موسکویت، سرسیت، کلریت و کلیست است (کالیز و لوریرو 1971). در دهه 1980 معدن به منظور استخراج (و فراوری) Cu از سولفیدها (سنگ مس و کلکوسیت) و کربنات

(مالاچیت) بهره برداری شد. بعد از اینکه معدن در سال 1987 بسته شد، مواد معدنی فراوری شده روی تراس هایی که بر روی شیب ساخته شده بود جمع آوری و ذخیره گردید و در نتیجه فقدان نگهداری مناسب تراس ها، برخی از این توده ها خورده شده و زباله های معدنی به فاصله 1.5 کیلومتر در شیب پخش گردید. (شکل 2).

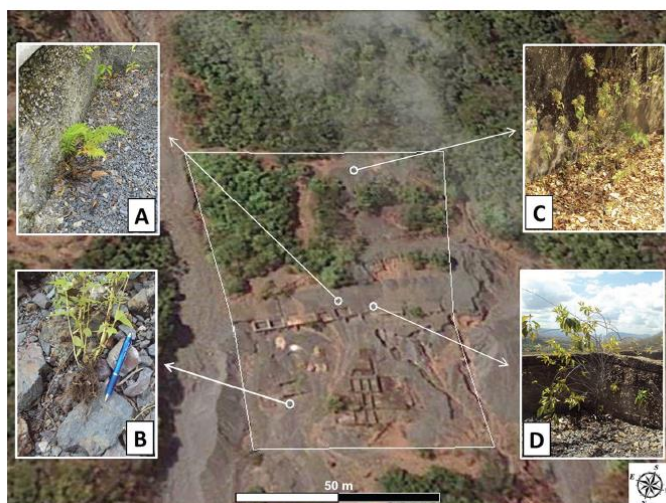
توده زباله معدنی ناهمگن است و گستره وسیعی از مواد نرم تا تخته سنگ را شامل می شود. این توده ضرورتاً شامل ماده دیواره سخره (ماده سنگ معدن فلزدار) که برای دسترسی به کانی کنده شده، و زباله فراوری تولید شده به وسیله فرآیند هیدرو فنالوژیکی کانی (یعنی مالاچیت، کاکوپیریت و کلکوسیت است).

## 2.2 فرآیند نمونه گیری و آنالیز

### 2.2.1 گیاهان

گونه های کمی از گیاهان به طور طبیعی در محل رشد می کنند. به منظور مطالعه، تنها گونه های که مستقیماً در ناحیه آلوده به زباله رشد نموده اند انتخاب گردید.

گونه ها و مکان نمونه گیری در شکل 2 نشان داده شده است. نمونه از هر گونه جمع آوری شد. کل گیاه *pityrogramma calomelanos* (شکل A2) و *Bidens pilosa* (شکل B2) جمع آوری و در آزمایشگاه به بخش های برگ (حدود 20 برگ از هر کدام) و ریشه تقسیم شد. *Ruellia paniculata* (شکل C2) و *combretum leprosum* (شکل 2D) گیاهان بزرگتری ایجاد می کنند و در نتیجه 20 عدد برگ برای هر نمونه جدا گردید. نمونه های ریشه پس از خاکبرداری در عمق 0-20 سانتی متری جمع آوری گردید.



شکل 2 محل نمونه گیری و گونه های شناخته شده (A) *pityrogramma culomelanos* L

(B) *Bidens pilosa* (C) *Ruellia paniculata* (D) *combretum leprosum*

در آزمایشگاه برگ ها و ریشه ها به وسیله شیراب و سپس سه مرتبه آب مقطر شسته شد سپس در  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت 48 ساعت خشک گردید. در آسیاب سرامیکی آسیاب شد. سپس نمونه ها قبل از آنالیز در یخچال ذخیره و نگهداری شد. یک پیش نمونه از ریشه ها برای حذف ذرات خاکی که ممکن است به وسیله آب جدا نشده باشد با سدیم دی تیونیت و سدیم سیترات (DC) شسته شد. این فرایند روش اغلب برای حذف آهن اکسید / هیدروکسید های که به ریشه چسبیده شده استفاده می شود (لیو و همکاران 2004-2006)؛ فرایندی که با استفاده از استخراج DCB که توسط تیلور و کرودر (1983) توصیف شده و معمولا برای مینیمم کردن آسیب های ساختاری ممکن برای ریشه های آسیب پذیر به کار می رود

سدیم سیترات ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) و 0.8g سدیم دی تیونیت ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) اضافه شد. سپس لوله ها به مدت 16 ساعت در دمای اتاق تکان داده شد؛ نمونه های ریشه جدا شد و سه بار با آب دیونیزه شسته شد و پس از آن به مدت 48 ساعت در  $60^{\circ}\text{C}$  خشک شده و تا زمان آنالیز درون یخچال قرار گرفت.

برای تعیین غلظت مس دریافت های گیاه، ماده خشک گیاه در لوله های تفلونی قرارداده شده و سپس 9 میلی لیتر نیتریک اسید 65٪ ( $\text{HNO}_3$ ) به آن اضافه گردید و نمونه ها به مدت 4 ساعت در دمای اتاق تجزیه گردید. 3 میلی لیتر پرکلریک اسید ( $\text{HClO}_4$ ) به لوله افزوده شد و به مدت یک شب محلول باقی ماند. لوله ها به مدت 35 دقیقه در

اجاق ماکروویو (labstation-milestone Ethos plus microwave) در دمای کنترل شده ( $200^{\circ}\text{C}$ ) قرار داده شد. مواد استخراج شده در اسپکتروفتومتر (سه برابر) جذب اتمی آنالیز شد (مدل پرکس المر 2380). به منظور کنترل کیفیت، ماده مرجع ( $^{\circ}\text{N}1547$ ، برگ هلو - NIST) نیز آنالیز گردید. نرخ بازیابی مس برابر  $104\pm 3\%$  بود.

## 2.2.2 خاک توده و ریشه

خاک توده اطراف گیاه از  $\text{cm}^3$  تا حدود  $\text{cm}^3 30$  از گیاه و در عمق 0-20 سانتی متر جمع آوری گردید. دقت گردید که نمونه شامل ریشه نباشد. نمونه ها جمع آوری و مخلوط شد تا نمونه مخلوطی از خاک توده به دست آید. برای نمونه خاک ریشه، ریشه گیاه جمع آوری شدن خاک تکان داده شد. خاک باقی مانده که به ریشه چسبیده بود با تکان دادن شدید و با مسواک جدا شد (برای جزئیات بیشتر به این منبع مراجعه کنید Chung and zazoski 1994) نمونه های جمع آوری گردید.

پس از اینکه خاک توده و ریشه جداسازی شد نمونه ها به مدت 72 ساعت در  $40^{\circ}\text{C}$  خشک شد و صافی 2 میلی متری عبور داده شد و قبل از آنالیز در یخچال ( $4^{\circ}\text{C}$ ) قرار داده شد. PH آب تعیین گردید (نسبت خاک به محلول 1:1.25) . S کلی در آنالیز در LECO SC-144DR و (TN) N کل و C کل (TC) در LECO 2000-CNS اندازه گیری شد. کربن آلی کل با استفاده از روش هایی که در مرجع شرح داده شده (Cambardella و همکاران 2001) تعیین گردید.

ما از 3 حلال با کمک شکل های مختلف Cu حاصل از خاک استفاده کردیم. مس کاملاً در دسترس با محلول 188 از  $\text{MgCl}_2$  در PH برابر 7 ( $\text{Cu-MgCl}_2$ ) استخراج گردید. مس دارای پتانسیل دسترسی توسط محلول  $\text{Melich}_3$  2 مولار  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0.25 مولار  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.015 مولار،  $\text{NH}_4\text{F}$  0.013 مولار EDTA و  $\text{HNO}_3$  0.001 مولار استخراج شد ( $\text{Cu-Me}$ ) و غلظت کلی Cu پس از تجزیه در ماکروویو با محلول آبی ( $\text{HNO}_3$  و HCL به نسبت 3:1) تعیین شد.



نمونه های خاک مرجع به عنوان نمونه شاهد به کار برده شد. خاک مرجع SO-2 و SO-3 از مرکز کانادایی تکنولوژی معدن و انرژی آنالیز شد و درصد بازیابی Cu به ترتیب برابر  $108 \pm 6\%$  و  $98 \pm 7\%$  بود. همه مواد استخراج شده توسط اسپکتر و متری جذب اتمی شعله (مدل پرکین المر 2380) و حد تشخیص Cu(d.L) برابر  $0.05 \text{ mg/kg}$  بود.

### 2.2.3 بررسی داده و آماری

تفاوت بین نمونه های خاک ریشه و توده توسط ANOVA از یک طرفه و پس از آن تست Turkey ی آنالیز یک طرفه Kruskal-walis و اختلاف رتبه داده های توزیع شده تعیین شد. برای تعیین رابطه بین اشکال مختلف Cu در خاک و گیاهان از نرم افزار minitab ورژن 16.2.4 برای محاسبه ضرایب رابطه spearman استفاده شد. ضرایب غنی شدن (EF) و انتقال (TF) برای تعیین پتانسیل گیاهان برای جمع آوری و انتقال مس محاسبه شد. EF نشان دهنده نسبت بین غلظت Cu خاک و برگ ها است و TF نماینده نسبت بین غلظت Cu در ریشه به غلظت آن در برگ است (برانکونیو 2007)

### 3. بحث و نتیجه گیری

#### 3.1 ویژگی های کلی و میزان Cu در خاک توده و ریشه

ویژگی های کلی خاک توده و ریشه در جدول 1 ارائه شده است. PH خاک *p.paniculata* نزدیک به ویژگی های خاک خنثی بود و اختلافی بین خاک توده و ریشه وجود نداشت. غلظت کربن آلی و غیر آلی، نیتروژن و گوگرد در خاک ریشه بیشتر از خاک توده بود. برای *b.pilosa* اختلاف چشمگیری بین پارامترهای اندازه گیری شده در خاک توده و ریشه وجود نداشت.

اختلافاتی بین خاک توده و ریشه در *p.calomelanos* و *C.leprosum* مشاهده شد. TOC و TN و TS در خاک ریشه به نسبت خاک توده بیشتر بود.

## جدول 1 خواص خاک انتخابی توده و ریشه

**Table 1**  
Selected soil properties from bulk and rhizosphere soils (means  $\pm$  s.d.).

Plant species	Soil location <sup>a</sup>	pH (H <sub>2</sub> O)	TOC (%)	TIC (%)	TN (%)	TS (%)
<i>R. paniculata</i>	Rhizosphere	6.2 $\pm$ 0.3	24.7 $\pm$ 3.43	0.56 $\pm$ 0.10	1.54 $\pm$ 0.14	0.13 $\pm$ 0.01
	Bulk	6.3	3.18	0.30	0.23	0.03
<i>B. pilosa</i>	Rhizosphere	5.1 $\pm$ 0.1	1.19 $\pm$ 0.50	0.23 $\pm$ 0.00	0.11 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01
	Bulk	5.0	0.89	0.23	0.12	0.01
<i>P. calomelanos</i>	Rhizosphere	5.9 $\pm$ 0.2	2.24 $\pm$ 1.48	0.25 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.10	0.13 $\pm$ 0.06
	Bulk	5.0	0.48	0.37	0.02	0.05
<i>C. leprosum</i>	Rhizosphere	5.6 $\pm$ 0.2	13.3 $\pm$ 6.05	0.34 $\pm$ 0.08	0.80 $\pm$ 0.35	0.12 $\pm$ 0.04
	Bulk	5.0	0.48	0.37	0.02	0.05

TOC: total organic carbon; TIC: total inorganic carbon; TN: total nitrogen; TS: total sulphur.

<sup>a</sup> Rhizosphere (n=3), bulk (n=1).

جدول 2 مس کاملاً در دسترس استخراج شده به وسیله 1M MgCl<sub>2</sub> (Cu-MgCl<sub>2</sub>)، مسی که به طور بالقوه در دسترس است و توسط محلول Melich3 استخراج شده (Cu-Me) و کل مس استخراج شده در خاک توده و ریشه

Plant species	Type of soil sample <sup>a</sup>	Cu-MgCl <sub>2</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu-Me (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu p-total (mg kg <sup>-1</sup> )
<i>R. paniculata</i>	Rhizosphere	20.7 $\pm$ 9.57	358 $\pm$ 25.0	6310 $\pm$ 2248
	Bulk	65.2	1281	9601
<i>B. pilosa</i>	Rhizosphere	205 $\pm$ 82.4	804 $\pm$ 112	3143 $\pm$ 555
	Bulk	246	880	3601
<i>P. calomelanos</i>	Rhizosphere	38.0 $\pm$ 33.1	281 $\pm$ 50.2	3701 $\pm$ 456
	Bulk	298	1081	41302
<i>C. leprosum</i>	Rhizosphere	15.9 $\pm$ 6.65	292 $\pm$ 5.66	1180 $\pm$ 450
	Bulk	298	1081	4302
Phytotoxic threshold	10.0 <sup>b</sup>	40-60.0 <sup>c</sup>	60-140 <sup>d</sup>	

<sup>a</sup> Rhizosphere (n=3), bulk (n=1).

<sup>b</sup> Yang et al. (2002).

<sup>c</sup> Monterroso et al. (1999).

<sup>d</sup> (CEC, 1986; CONAMA, 2009; Kabata-Pendias, 2010).

TIC در خاک ریشه *p.calamelamos* حداقل و در خاک ریشه *c.leprosum* حداکثر بود. عمل میکروارگانیزم ها و فعالیت بیولوژیکی ریشه ها ممکن است تغییرات چشمگیری در خواص خاک ایجاد کند. (H.singer و همکاران 2009) PH و TOC خاک فاکتوری کلیدی در دینامیک مس است (برون و همکاران 1998، سنگ و همکاران 2004، براوین و همکاران 2012).

داده ها نشان داد برای *R.paniculata* و *B.pilosa* تفاوتی در PH وجود ندارد اما برای *P.calomelanos* و *C.leprosum*، PH در ریشه بیشتر از توده بود.

حضور کربوهیدرات ها در صخره زباله (یعنی مالاچیت و کلسیت) می تواند PH را افزایش دهد چون ترشحات میکرواورگانسیم ها و یا ریشه ممکن است کربوهیدرات ها را افزایش دهد و در نتیجه  $\text{HCO}_3^-$  و  $\text{OH}^-$  آزاد شود و عمل بافری در مقابل اسیدیته ایجاد شده توسط فرایندهای ریشه داشته باشد (براوین و همکاران 2009).

غلظت Cu کلی و Cu-Me و Cu-MgCl<sub>2</sub> در خاک های ریشه و توده در جدول 2 ارائه شده و نشان دهنده درجه آلایندهی بالایی در خاک می باشد. به طور کلی غلظت Cu در خاک (گستره 60-14mg/kg) CEC 1986 ؛ (kabata pendias2012; CONAMA2009) در گستره 3601 و 9601 در خاک توده و بین 1180 تا 6310 mg/kg در خاک ریشه بود.

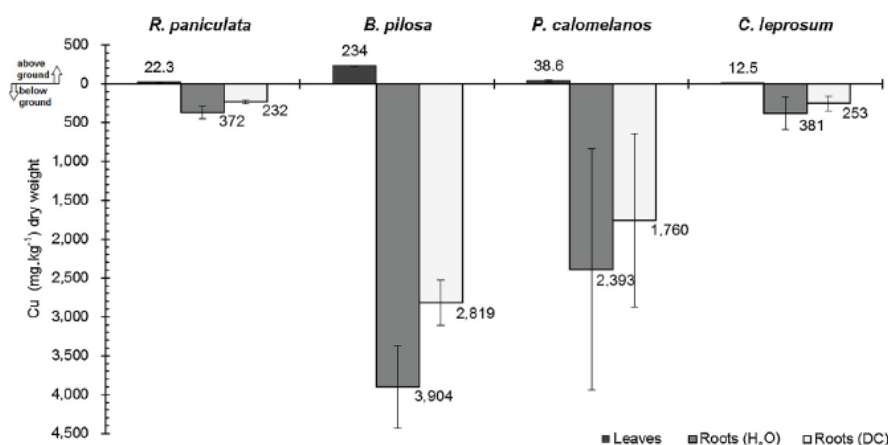
غلظت های Cu که پتانسیل دسترس پذیری دارد نیز بیشتر از حد مجاز سمیت بود. به عنوان مثال مونترزو و همکاران (1999) گزار داده اند سطح Me-Cu بین 40 تا 60 mg/kg محدوده مجاز سمیت است. با وجود اینکه میزان Cu در خاک ریشه همه گیاهان مورد نظر کمتر است اما مقدار Cu بالاتر از حد سمیت است. این امر برای محدوده Cu-MgCl<sub>2</sub> نیز صادق است. (یانگ و همکاران 2002) نشان دادند که غلظت های بالاتر از 10mg/L مش برای محلول سپس جهت بازدارندگی رشد گونه های گیاهی مختلفی کافی است.

به طور کلی غلظت Cu در خاک ریشه در مقادیر با خاک توده کمتر بود. این می تواند نشان دهنده این امر باشد که گیاهان به وسیله میکرواورگانسیم ها یا فعالیت زیستی خود گیاه، مس را در ناحیه ریشه به حرکت در می آورند. در واقع حرکت فلزات در ریشه توسط مطالعات مختلفی ثابت شده (تائو و همکاران؛ مارتینز و همکاران 2010) و می تواند خطری جدی برای اکوسیستم باشد چون در صورتی که میزان برداشت فلز توسط گیاه با میزان فلزی که انتقال داده برابر نباشد فلز باقی مانده می تواند به محیط منتقل شود.

### 3.2 غلظت مس در گیاهان، فاکتورهای غنی شدن و انتقال و رابطه آن با خواص خاک توده / ریشه.

متوسط میزان مس در برگ ها و ریشه ها در شکل 3 نشان داده شده و فاکتورهای EF و TF در جدول 3 خلاصه گردیده است.

علیرغم غلظت بالای مس در خاک و توده و ریشه، غلظت فلز در برگ ها به جز *B. pilosu* که در محدود 234mg/kg ، در محدوده 5-30mg/kg است (کاباتا - پنیالس 2010). در نقطه مقابل برداشت مس توسط گیاهان احتمالاً با تغییراتی که در مشخصات فیزیوشیمیایی خاک ریشه رخ می دهد و می تواند تاثیر مستقیمی بر حرکت مس و در نتیجه میزان فلز در دسترس داشته باشد، ارتباط دارد.



شکل 3. توزیع و غلظت مس در برگ ها و ریشه ها (ریشه  $H_2O$  : تنها با آب شسته شده ؛ DC ریشه ها با آب شسته شده و با دی تیونیت و سترات عملیاتی شده)

Plant species	Enrichment factor			Translocation factor
	Cu-MgCl <sub>2</sub>	Cu-Me	Cu p-total	
<i>R. paniculata</i>	1.17 ± 0.46	0.06 ± 0.01	0.004 ± 0.002	0.096 ± 0.016
<i>B. pilosa</i>	1.57 ± 0.65	0.28 ± 0.02	0.071 ± 0.009	0.084 ± 0.007
<i>P. calomelanos</i>	1.33 ± 0.82	0.14 ± 0.07	0.043 ± 0.031	0.031 ± 0.021
<i>C. leprosum</i>	1.11 ± 0.77	0.04 ± 0.01	0.009 ± 0.001	0.055 ± 0.034

E.F. = Cu shoots/Cu rhizosphere soil; T.F. = shoots/roots.

جدول 3 مقادیر متوسط ضریب غنی شدن و ضریب انتقال در گونه های گیاهی تحت مطالعه

موضوع دیگر ویژگی های فیزیولوژیکی هر گونه گیاهی برداشت و انتقال مواد غذایی و فلزات ( به عنوان مثال نفوذ یا انتقال جرم) است که در مطالعات بعدی بایستی مورد بررسی قرار گیرد.

با این وجود میزان CU در بافت های فرا زمینی در گونه های مورد مطالعه برای در نظر گرفتن گیاه به عنوان تجمع کننده کافی نبود و به حد لازم تجمع برابر 1mg/kg مش در برگ خشک نرسید (بیکروبروک 1989) یکی دیگر از

ملزوماتی که معمولاً در شناسایی گونه های تجمع کننده اعمال می شود نسبت فلز در بافت گیاه و در خاک است که به فاکتور غنی سازی (EF) نیز ارتباط می یابد. فاکتور EF بزرگتر از 1 نشان دهنده این است که میزان فلز در گیاه بیشتر از میزان آن در خاک است (برانکینو و همکاران 2007). در این مورد در صورتیکه Cu در دسترس در خاک را در نظر بگیریم مقادیر EF برای همه گونه ها بیشتر از 1 است اما این مقادیر برای Cu ای که پتانسیل دسترس پذیری دارد در همه گونه ها کمتر از 1 است. (جدول 3)

استفاده از غلظت کلی فلز در خاک بریا محاسبه EF بهترین نقطه نظر نیست. میزان کلی که توسط اسیدهای قوی از جمله  $HNO_3$  و  $HClO_2$  استخراج شده نشان دهنده فلز قابل دسترسی در گیاه نیست و در نتیجه این تکنیک ها Cu ای که در دسترس گیاه نیست مثل حالت بلوری و یا کمپلکس های پایدار فلزات آلی را استخراج می کند (آدریانو و همکاران 2004؛ فرناندر کالوینو و همکاران 2009).

همانطور که در جدول 4 نشان داده شده غلظت Cu در برگ ها رابطه نزدیکی با غلظت  $Cu-MgCl_2$  ( $r=0.875$ ) همانطور که در جدول 4 نشان داده شده غلظت Cu-Mg ( $r=0.962$   $P>0.01$ ) و Cu-Mg ( $P>0.01$ ) در ریشه گیاه مورد مطالعه دارد درحالیکه برای Cu کلی رابطه مشخصی وجود ندارد. نتایج مطالعه نشان می دهد کسر Cu ( $MgCl_2$ ) در دسترس یا ( $melich3$ ) که قابلیت دسترسی بهتری دارد برای محاسبه EF مناسب تر است. این نشان می دهد که گیاه به این اشکال Cu دسترسی بهتری دارد. (آدریانو و همکاران 2004).

ما از خاک توده نیز برای محاسبه EF استفاده نمودیم. همان طور که در جدول 4 نشان داده شده هیچ گونه رابطه ای بین غلظت Cu در خاک توده و گیاه وجود ندارد. با این وجود رابطه های ویژه ای بین غلظت های Cu-Mg و Cu کلی در خاک توده و گیاهان وجود دارد ( $Cu-Mg=-0.792,-0.838$ ،  $Cu\ p\ -total=-0.627,-P<0.01$ ،  $P<0.05,0.637$ ). این نتایج به وضوح نشان داد که استفاده از سطح Cu در خاک های توده را نمی توان به عنوان پارامتری برای دستیابی به توانایی گیاه در انباشتن فلزات در نظر گرفت چون منجر به تفسیر نادرست می شود.

علاوه بر این غلظت Cu در برگ ها بیشتر در مقایسه با  $Cu-MgCl_2$  در خاک توده شباهت بیشتری به  $Cu-MgCl_2$  در ریشه داشت. شکل 4 نشان دهنده یک نسبت 1:1 بین Cu برگ ها و  $Cu-MgCl_2$  در خاک ریشه است. این می

تواند نشان دهنده این امر باشد که اندازه گیری  $\text{Cu-MgCl}_2$  در ریشه مقدار قابل قبول تری از تجمع و غلظت به دست می دهد.

بیشتر مس جذب شده توسط گیاهان مورد بررسی در ریشه ها ذخیره شده بود (شکل 3). عملیات با سدیم سیترات و سدیم دی تیونیت نشان داد که حتی پس از چندین بار شستشو توسط آب ذرات خاک ممکن است به سطح ریشه چسبیده باشد و در نتیجه غلظت فلز در آن بخش های گیاه ممکن است بیش از حد واقعی تخمین زده شود. در واقع cook و همکاران (2009) نشان دادند که جداسازی کل خاک از ریشه بسیار دشوار است.

شستشو با دی تیونیت + سیترات (DC) حدود 37٪ مس را از *R.paniculata* ، 27٪ را از *B.pilosa* . 23٪ از *P.calaomelanos* و 29٪ را از ریشه *C.leprosum* حذف کرد. مقادیری که از ریشه های عملیاتی شده با DC به دست آمد برای محاسبه TF استفاده شد این روش از آن جهت که عملیات ، خاک های چسبیده شده را از ریشه جدا می کند و تخمین میزان Cu را دقیق تر می کند، بهتر است.

همانند برگ ها، غلظت Cu در دسترس و Cu با پتانسیل دسترسی در ریشه با غلظت Cu در ریشه رابطه دارد. ( $r=0.712$ ،  $P=0.05$  برای  $\text{MgCl}_2$ ) و ( $r=0.758$ ،  $P=0.01$  برای Cu-Mg) (جدول 4). با این وجود غلظت Cu در ریشه بیشتر بود (شکل 5). این امر ممکن است نشان دهنده این باشد که گونه ها مقادیر بیشتری از Cu را حتی با استخراج اشکال پایدارتر Cu خاک (یعنی Cu پیوسته به اکسیدها و سولفیدها) جذب کند که به طور طبیعی با melich3 جذب نمی شود.

به علت اینکه میزان Cu در ریشه گونه ها زیاد بود مقدار TF به نسبت این مقدار در گیاهان تجمع کننده کمتر بود یعنی کمتر از 1. جدول 3.

### 3.3 توازن بین Cu انتقال یافته در ریشه و Cu جذب شده توسط گیاه

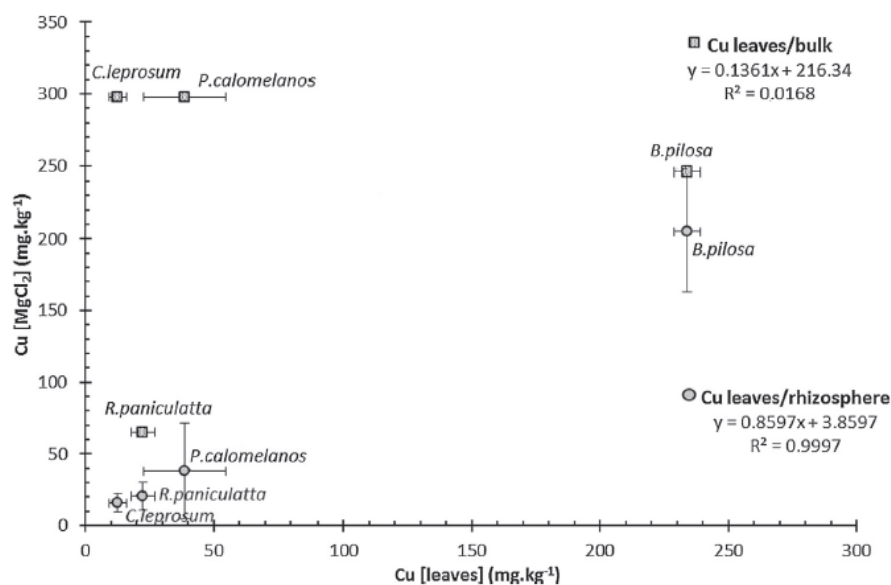
به منظور اثبات عملی نحوه تغییر دینامیک Cu به وسیله تغییرات خواص فیزیکوشیمیایی که در ریشه ایجاد می شود و نیز ارزیابی تاثیر این عامل بر بازیابی ناحیه موازنه بین Cu انتقال یافته در ریشه، Cu جذب شده توسط گیاه و مقدار Cu باقی مانده در این فرآیند محاسبه شد.

	Rhizosphere							Bulk						
	Cu-MgCl <sub>2</sub>	Cu-Me	Cu p-total	pH	TOC	TIC	TS	Cu-MgCl <sub>2</sub>	Cu-Me	Cu p-total	pH	TOC	TIC	TS
Cu leaves	0.875**	0.962**	-0.076	-0.873**	-0.566	-0.541	-0.702*	0.217	-0.838**	-0.498	-0.349	-0.154	-0.849**	-0.849**
Cu roots (H <sub>2</sub> O)	0.720*	0.765**	-0.119	-0.714*	-0.733**	-0.711*	-0.486	0.444	-0.792**	-0.627*	-0.533	-0.399	-0.500	-0.500
Cu roots (DC)	0.712*	0.758**	-0.171	-0.707*	-0.739**	-0.727*	-0.528	0.456	-0.797**	-0.637*	-0.545	-0.412	-0.490	-0.490

\*  $p < 0.05$ .  
\*\*  $p < 0.01$ .

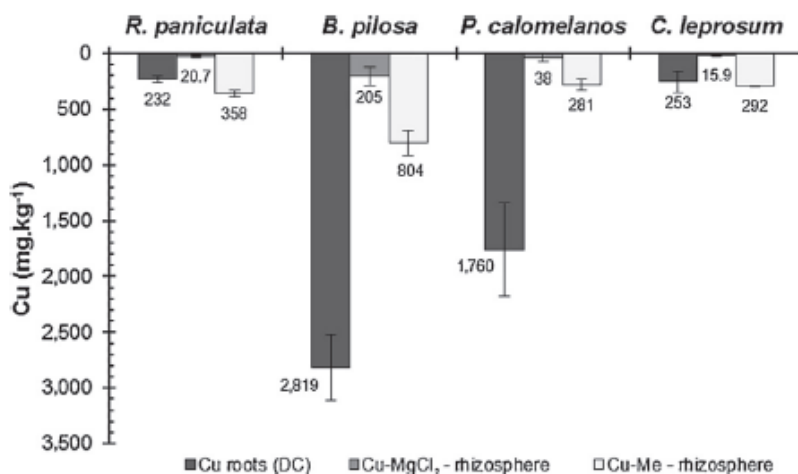
#### جدول 4 ضرایب پیرسون برای مس در گیاهان و خواص خاک

F. Perlatti et al./Ecological Engineering 82 (2015) 103–111



شکل 4 ضرایب معادله برای غلظت Cu در برگ ها و Cu در دسترس در خاک توده و ریشه

موازنه بین مس و انتقال یافته در ریشه و مس جذب شده توسط گیاه بسیار مهم است چون در صورتی که Cu انتقال یافته بیشتر از جذب شده باشد مقداری از Cu توسط استخراج در خاک باقی می ماند و خطر آلودگی خاک و آب در زنجیره غذایی را افزایش می دهد.



شکل 5 غلظت مس انباشته شده در ریشه ها و (Cu-MgCl<sub>2</sub>) در دسترس / با پتانسیل دسترسی (Cu-Me) در

#### خاک ریشه

Plant species	Total Cu in bulk soil [A] (mg kg <sup>-1</sup> )	Total Cu in rhizosphere soil [B] (mg kg <sup>-1</sup> )	Mobilized Cu <sup>a</sup> [C] (A-B) (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu in plants <sup>b</sup> [D] (mg kg <sup>-1</sup> )	Balance [E] (C-D) (mg kg <sup>-1</sup> )
<i>R. paniculata</i>	9601	6310	3291	254	+3037
<i>B. pilosa</i>	3601	3143	458	3053	-595
<i>P. calomelanos</i>	4302	3701	601	2431	-1830
<i>C. leprosum</i>	4302	1180	3122	266	+2857

<sup>a</sup> Copper in bulk soil less copper in rhizosphere soil.

<sup>b</sup> Leaves + roots (dry weight).

جدول 5 موازنه بین Cu در خاک توده و ریشه و برداشت شده توسط گیاه

در این مورد اجزای خاک نیز بسیار مهم است چون مس انتقال یافته می تواند مجددا جذب شود (یعنی با کربنات ها، اکسید ها و مواد آلی )

بنابراین گیاهانی که مس بیشتری نسبت به میزان انتقال یافته جذب می کند برای اهداف پالایشی مطلوب هستند چون مس جذب بافت های آن ها شده و در دسترس ارگانیزم ها قرار نمی گیرد.

جدول 5 گونه های ناحیه ای پدرا ورد را مشخص کرده است. هر دو گونه *R. paniculata* و *C. leprosum* موازنه مثبتی بین Cu انتقال یافته از ریشه (C) و Cu جذب شده (D) نشان می دهند که نمایانگر این امر است که گیاه ها مس ناپایدار را به سیستم اضافه می کنند؛ در صورتی که مقدار اضافی توسط سایر اجزا خاک جذب نشود از طریق استخراج از جامد وارد اکوسیستم می شود. در مقابل *B. pilosa* و *P. calomelanos* در موازنه منفی (E) بین Cu انتقال یافته و جذب شده وجود دارد و نشان می دهد که این گونه ها می توانند کل مس ناپایدار را جذب کنند.



این گونه ها برای اهداف گیاه پالایی مطلوب هستند چون فلز را در بافت خود انباشته کرده در دسترس ارگانسیم ها قرار نمی دهند.

#### 4. نتیجه گیری

با توجه به رابطه ژئوشیمیایی بین یون های Cu با اجزای مختلف خاک استفاده از غلظت کلی فلز در خاک به خصوص زمانی که این غلظت به عنوان پارامتری برای محاسبه ظرفیت گیاهان برای تجمع فلز به کار می رود، بایستی با دقت انجام شود. بر اساس یافته های ما استفاده از میزان فلز در دسترس ( $MgCl_2$  استخراج شده) یا میزان فلز با قابلیت دسترسی ( $Melich3$ ) چشم انداز بهتری ارائه می دهد. با توجه به اختلاف بین غلظت مس در خاک توده و ریشه اثبات گردیده که با استفاده از این پارامترها مناسب تر است چون خاک ریشه بازتاب دهنده محیط بیوشیمیایی رشد گیاه است. تغییرات حاصل از فعالیت ریشه می تواند باعث تغییرات PH یا میزان کربن آلی خاک شود که تاثیر مستقیمی بر انتقال Cu دارد.

هیچ یک از گیاهان مورد بررسی، طبقه بندی تجمع کننده را به طور کامل ارضا نمودند. (یعنی  $1000mg/kg >$  مس در بافت ها یا نسبت برگ به خاک بزرگتر از 1) گونه های *R.Paniculata* و *C.leprosum* همانند گونه های مانع عمل کردند چون با وجود تحمل شرایط محیطی میزان Cu انباشته در بافت هایشان بسیار ناچیز بود. این گونه ها توانایی جذب Cu انتقال یافته را نداشتند و با توجه به موازنه مثبت بین میزان Cu انتقال داده شده و میزان Cu انباشته شده در بافت هایشان می تواند خط آلایندهی محیط را افزایش دهند.

از طرف دیگر در *P.calomelanos* و *B.pilosa* نسبت بین Cu انتقال یافته در ریشه و Cu جذب شده در بافت ها منفی بود. نمایانگر این است که این گونه ها می توانند میزان Cu بیشتری نسبت به مقدار انتقال یافته را جذب کنند و میزان Cu در دسترس محیط را کاهش دهند. این گونه ها برای پالایش محیط مناسب هستند.

## References

- Adriano, D.C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risk of Metals, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
- Adriano, D.C., Wenzel, W.W., Vangronsveld, J., Bolan, N.S., 2004. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 122, 121–142.
- Anawar, H.M., Canha, N., Santa-Regina, I., Freitas, M.C., 2013. Adaptation, tolerance, and evolution of plant species in a pyrite mine in response to contamination level and properties of mine tailings: sustainable rehabilitation. *J. Soils Sediments* 13, 730–741.
- Aykol, A., Budakoglu, M., Kumral, M., Gultekin, A.H., Turhan, M., Esenli, V., Yavuz, F., Orgun, Y., 2003. Heavy metal pollution and acid drainage from the abandoned Balya Pb–Zn sulfide Mine, NW Anatolia, Turkey. *Environ. Geol.* 45, 198–208.
- Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81–126.
- Bell, L.C., 2001. Establishment of native ecosystems after mining – Australian experience across diverse biogeographic zones. *Ecol. Eng.* 17, 179–186.
- Boojar, M.M., Goodarzi, F., 2007. The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. *Chemosphere* 67, 2138–2147.
- Boyd, R., 2004. Ecology of metal hyperaccumulation. *New Phytol.* 162, 563–567.
- Bradshaw, A.D., 1997. Restoration of mined lands – using natural processes. *Ecol. Eng.* 8, 255–269.
- Branquinho, C., Serrano, H.C., Pinto, M.J., Martins-Loução, M.A., 2007. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. *Environ. Pollut.* 146, 437–443.
- Bravin, M.N., Garnier, C., Lenoble, V., Gérard, F., Dudal, Y., Hinsinger, P., 2012. Root-induced changes in pH and dissolved organic matter binding capacity affect copper dynamic speciation in the rhizosphere. *Geochim. Cosmochim. Acta* 84, 256–268.
- Filgueiras, A.V., Lavilla, I., Bendicho, C., 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *J. Environ. Monit.* 4, 823–857.
- FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos, 2014. <http://www.funceme.br/index.php/areas/tempo/chuvas-mensais-municipios> (accessed on 15.09.14).
- García-Lorenzo, M.L., Pérez-Sirvent, C., Martínez-Sánchez, M.J., Molina-Ruiz, J., 2012. Trace elements contamination in an abandoned mining site in a semi-arid zone. *J. Geochem. Explor.* 113, 23–35.
- Hernández, A.J., Pastor, J., 2008. Relationship between plant biodiversity and heavy metal bioavailability in grasslands overlying an abandoned mine. *Environ. Geochim. Health* 30, 127–133.
- Hinsinger, P., Bangough, A.G., Vetterlein, D., Young, I.A., 2009. Rhizosphere: biophysiology, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant Soil* 321, 117–152.
- IBGE – Brazilian Institute of Geography and Statistics, 2012. *Technical Handbook of the Brazilian Vegetation*, 2nd ed. Rio de Janeiro. ISSN 0103-9598.
- Jurjovec, J., Ptacek, C.J., Blowes, D.W., 2002. Acid neutralization mechanisms and metal release in mine tailings: a laboratory column experiment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66, 1511–1523.
- Kabata-Pendias, A., 2004. Soil–plant transfer of trace elements – an environmental issue. *Geoderma* 122, 143–149.
- Kabata-Pendias, A., 2010. *Trace Elements in Soils and Plants*, 4th ed. CRC Press, Boca Raton.
- Leblanc, M., Borrego, J.A.M., Elbaz-Poulichet, F., 2000. 4500-year-old mining pollution in southwestern Spain: long-term implications for modern mining pollution. *Econ. Geo.* 95, 655–662.
- Mehlich, A., 1984. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of Mehlich 2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 15, 1409–1416.
- Mendez, M.O., Maier, R.M., 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semi-arid environments – an emerging remediation technology. *Environ. Health Perspect.* 116, 278–283.
- Monterroso, C., Alvarez, E., Marcos, L.F., 1999. Evaluation of Mehlich 3 reagent as a multielement extractant in mine soils. *Land Degrad. Dev.* 10, 35–47.
- Närhi, P., Räsänen, M.L., Sutinen, M.L., Sutinen, R., 2012. Effect of tailings on wetland vegetation in Rautuvaara, a former iron–copper mining area in northern Finland. *J. Geochem. Explor.* 116–117, 60–65.
- Nikolic, N., Kostic, L., Djordjevic, A., Nikolic, M., 2010. Phosphorus deficiency is the major limiting factor for wheat on alluvium polluted by the copper mine pyrite tailings: a black box approach. *Plant Soil* 339, 485–498.
- Otero, X.L., Alvarez, E., Fernández-Sanjurjo, M.J., Macías, F., 2012. Micronutrients and toxic trace metals in the bulk and rhizospheric soil of the spontaneous vegetation at an abandoned copper mine in Galicia (NW Spain). *J. Geochem. Explor.* 112, 84–92.
- Peplow, D., Edmonds, R., 2005. The effects of mine waste contamination at multiple levels of biological organization. *Ecol. Eng.* 24, 101–119.
- Perlati, F., Otero, X.L., Macías, F., Ferreira, T.O., 2014. Geochemical speciation and dynamics of copper in tropical semi-arid soils exposed to metal-bearing mine wastes. *Sci. Total Environ.* 500–501, 91–102.
- Pilon-Smits, E.A.H., 2005. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 15–39.
- Pilon-Smits, E.A.H., Freeman, J.L., 2006. Environmental cleanup using plants: biotechnological advances and ecological considerations. *Front. Ecol. Environ.* 4, 203–210.
- Reeves, R.D., Baker, A.J.M., 2000. Metal-accumulating plants. In: Raskin, I., Ensley, B. D. (Eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals. Using Plants to Clean Up the Environment*. Wiley, New York.
- Bravin, M.N., Martí, A.L., Clairotte, M., Hinsinger, P., 2009. Rhizosphere alkalisation – a major driver of copper bioavailability over a broad pH range in an acidic, copper-contaminated soil. *Plant Soil* 318, 257–268.
- Brun, L.A., Mailliet, J., Richarte, J., Herrmann, P., Remy, J.C., 1998. Relationships between extractable copper: soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environ. Pollut.* 102, 151–161.
- Cambardella, C.A., Gajda, A.M., Doran, J.W., Wienhold, B.J., Kettler, T.A., 2001. Estimation of particulate and total organic matter by weight loss-on-ignition. In: Lal, R., Kimble, M., Follett, R.F., Stewart, B.A. (Eds.), *Assessment Methods for Soil Carbon*. Lewis, Boca Raton, pp. 349–359.
- Collins, J.J., Loureiro, R., 1971. A metamorphosed deposit of Precambrian supergene copper. *Econ. Geol.* 66, 192–199.
- CEC – Commission of the European Communities, 1986. Council directive on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. *J. Eur. Commun.* L181 (Annex 1A).
- Chung, J.B., Zazoski, R.J., 1994. Ammonium–potassium and ammonium–calcium exchange equilibrium in bulk and rhizosphere soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1368–1375.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente/Brasil, 2009. Resolução N° 420 – Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo. Ministério do Meio Ambiente, Brasília/DF.
- Cook, L., McGonigle, T.P., Inouye, R.S., 2009. Titanium as an indicator of residual soil on arid-land plants. *J. Environ. Qual.* 38, 188–199.
- Dzantor, E.K., Beauchamp, R.G., 2002. Phytoremediation, part 1: fundamental basis for the use of plants in remediation of organic and metal contamination. *Environ. Pract.* 4, 77–87.
- Ernst, W.H.O., 2005. Phytoremediation of mine wastes – options and impossibilities. *Chem. Erde – Geochem.* 65, 29–42.
- Fernández-Calvino, D., Pérez-Novio, C., Novoa-Munoz, J.C., Arias-Estevéz, M., 2009. Copper fractionation and release from soils devoted to different crops. *J. Hazard. Mater.* 167, 797–802.
- Liu, W.J., Zhu, Y.G., Smith, F.A., Smith, S.E., 2004. Do iron plaque and genotypes affect arsenate uptake and translocation by rice seedlings (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture? *J. Exp. Bot.* 55, 1707–1713.
- Liu, W.J., Zhu, Y.G., Hu, Y., Willian, P.N., Gault, A.G., Meharg, A.A., Charnock, J.M., Smith, F. A., 2006. Arsenic sequestration in iron plaque: its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza sativa* L.). *Environ. Sci. Technol.* 40, 5730–5736.
- Lottermoser, B.G., 2007. *Mine Wastes: Characterization, Treatment Environmental Impacts*, second ed. Springer, Heidelberg.
- Manara, A., 2012. Plant responses to heavy metal toxicity. In: Furini, A. (Ed.), *Plants and Heavy Metals*. Springer Briefs in Biometals, pp. 27–53. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-4441-7-2>.
- Martínez-Alcalá, I., Walker, D.J., Bernal, M.P., 2010. Chemical and biological properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* alter soil heavy metal fractionation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 595–602.
- Martínez-Sánchez, M., García-Lorenzo, M.L., Pérez-Sirvent, C., Bech, J., 2012. Trace element accumulation in plants from an aridic area affected by mining activities. *J. Geochem. Explor.* 123, 8–12.
- McLaughlin, M.J., 2001. Bioavailability of metals to terrestrial plants. In: Allen, H.E. (Ed.), *Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates Microbes and Plants*. SETAC Press, Pensacola, FL, pp. 39–68.
- Reeves, R.D., 2006. Hyperaccumulation of trace elements by plants p. 25–52. In: Morel, J.L., Echevarria, G., Goncharova, N. (Eds.), *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 346 p.
- Schulz, F., Wiegand, G., 2000. Development options of natural habitats in a post-mining landscape. *Land Degrad. Dev.* 11, 99–110.
- Shrestha, R.K., Lal, R., 2011. Changes in physical and chemical properties of soil after surface mining and reclamation. *Geoderma* 161, 168–176.
- Song, J., Zhao, F.J., Luo, Y.M., McGrath, S.P., Zhang, H., 2004. Copper uptake by *Elymus splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. *Environ. Pollut.* 128, 307–315.
- Tao, S., Chen, Y.J., Xu, F.L., Cao, J., Li, B.G., 2003. Changes of copper speciation in maize rhizosphere soil. *Environ. Pollut.* 122, 447–454.
- Taylor, G.J., Crowder, A.A., 1983. Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants. *Amer. J. Bot.* 70, 1254–1257.
- Wu, F., Liu, Y., Xia, Y., Shen, Z., Chen, Y., 2011. Copper contamination of soils and vegetables in the vicinity of Jiuhuashan copper mine. *China Environ. Earth Sci.* 64, 761–769.
- Whiting, S.N., Reeves, R.D., Richards, D., Johnson, M.S., Cooke, J.A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J.A.C., Angle, J.S., Chane, E.L., Ginocchio, R., Jaffré, T., Johns, R., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Schat, H., Zhao, F.J., Baker, A.J.M., 2004. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Restor. Ecol.* 12, 106–116.
- Yang, X.E., Long, X.X., Ni, W.Z., Ye, Z.Q., He, Z.L., Stoffella, P.J., Calver, D.V., 2002. Assessing copper thresholds for phytotoxicity and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. *J. Environ. Sci. Health B* 37, 625–635.
- Zornoza, R., Carmona, D.M., Acosta, J.A., Martínez-Martínez, S., Weiss, N., Faz, A., 2012. The effect of former mining activities on contamination dynamics in sediments, surface water and vegetation in El Avenque Stream, SE Spain. *Water Air Soil Pollut.* 223, 519–532.