فصلنامه علوم محیطی، دوره بیستم، شماره ۳، پائیز ۱۴۰۱

۲۱۰-۱۹۱

مقاله پژوهشی

تصفیه برخی از آلودگی‌های پساب صنعتی ورودی به حوضه آبریز دریای خزر با استفاده از گیاه وتیور

صاحبه حاجی‌پور، مرتضی محمدی دیلمانی، محدثه مومن‌زاده و منصور افشار محمدیان*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۴

حاجی‌پور، ص.، م. محمدی دیلمانی، م. مومن‌زاده و م. افشار محمدیان. ۱۴۰۱. تصفیه برخی از آلودگی‌های پساب صنعتی ورودی به حوضه آبریز دریای خزر با استفاده از گیاه وتیور. فصلنامه علوم محیطی. ۲۰(۳): ۱۹۱-۲۱۰.

سابقه و هدف: گیاه پالایی مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است که در آن گیاه از توانایی‌های طبیعی خود برای بازیابی محیط استفاده می‌کند. گیاهان مورد استفاده برای گیاه پالایی باید توانایی انباشت مقادیر زیادی از آلاینده‌های فلزی را بدون ایجاد سمیت در آنها داشته باشند. امروزه با افزایش جمعیت جهان و به دنبال آن توسعه صنایع و کارخانه‌ها، بر میزان پساب‌های وارده به محیط زیست که غالبا حاوی فلزات سنگین و آلاینده‌های مختلف می‌باشند، افزوده می‌شود. فلزات سنگین تاثیرات مخربی بر سلامت گیاهان و جانوران در اکوسیستم‌های مختلف دارد. با توجه به توانایی فلزات سنگین در تجمع و ایجاد سمیت در موجودات زنده، این نوع آلودگی یک مشکل جدی و اساسی محسوب می شود. استفاده از گیاهان به عنوان یک فناوری موثر و مقرون به صرفه برای حذف آلاینده های فلزی از خاک ها و آب های آلوده به عنوان یک روش جدید به جای سایر اقدامات پرهزینه توصیه شده است. بنابراین، حذف آلاینده‌ها از خاک و آب‌های آلوده به کمک گیاهان از طریق جذب و انباشت در ریشه، ساقه و برگ، به‌عنوان یکی از روش‌های پالایش برای حذف آلاینده‌های فلزی مطرح است. در این فرآیند، انتخاب گیاه مناسب با قابلیت جذبی بالا و سازگار با محیط، بدون عوارض منفی زیست محیطی، نقش بسیار مؤثری در میزان پالایش آلاینده‌ها دارد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی میزان جذب و انباشت فلزات سنگین توسط گیاهان، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار با استفاده از گیاه وتیور انجام شد. گیاهان تیمار با پساب صنعتی و گیاهان کنترل با آب شهری آبیاری شدند. همچنین گلدانی حاوی خاک فاقد گیاه نیز جهت سنجش میزان عناصر در خاک در نظر گرفته شد و در طول دوره شش ماه آزمایش، به طور منظم همراه با گلدان‌های دیگر با پساب صنعتی آبیاری شد. به منظور بررسی تاثیر آبیاری با پساب بر عملکرد گیاه وتیور، پس از دوره شش ماهه آزمایش، آنالیز عناصر سنگین و مطالعات آناتومیکی و فیزیولوژیکی بر روی گیاهان تحت تیمار پساب صنعتی و گیاهان شاهد انجام شد. فاکتورهای انتقال و تجمع که دو فاکتور مهم در سنجش توانایی گیاه برای گیاه‌پالایی محسوب می‌شوند، نیز مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث: نتایج این تحقیق نشان داد که بین بیشترین فلزات سنگین موجود در پساب صنعتی که شامل روی و کروم بودند، بیشترین

*Corresponding Author: *Email Address*. afshar@guilan.ac.ir
http://dx.doi.org/10.52547/envs.2022.1110
http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1401.20.3.13.6

ذخیره عناصر مذکور در ریشه گیاه وتیور صورت گرفت و به میزان کمتری در بخش‌های هوایی جمع شدند. همچنین نتایج آزمایش‌های صفات فیزیولوژیک نشان داد که فاکتورهای قندهای محلول و پرولین در گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت و غلظت مالون-دی‌آلدهید در گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد کاهش یافت. نتایج مطالعات ریشه در گیاهان شاهد و تیمار نشان داد که قطر ریشه، قطر استوانه مرکزی و تعداد دستجات آوندی در گیاهان تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که در فرآیند جذب فلزات سنگین، تغییراتی در برخی صفات آناتومیکی و فیزیولوژیکی گیاهان تحت تیمار ایجاد شد. بررسی فاکتورهای انتقال و تجمع زیستی نیز نشان داد که گیاه وتیور، توانایی جذب فلز روی و کروم را از طریق تثبیت گیاهی دارد.

واژه‌های کلیدی: پساب صنعتی، گیاه‌پالایی، فلزات سنگین، گیاه وتیور.

مقدمه

زندگی بدون یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی یعنی آب، غیر ممکن است. حدود ۷۰٪ کره خاکی ما را آب فرا گرفته است. در حال حاضر کیفیت آب به خاطر آلودگی‌های مختلف، کاهش پیدا کرده است و استفاده از آب را برای مصارف مختلف دچار مشکلات فراوانی کرده است (Yunus *et al*., 2020). آب پاک یکی از بزرگ‌ترین نگرانی‌های قرن ۲۱ است و به نحو فزاینده‌ای به یک منبع کمیاب و بسیار ارزشمند تبدیل شده است (Maharjan, 2017; UNESCO, 2021). صنعتی شدن سریع، باعث تولید و انتشار مقدار قابل توجهی از آلاینده‌ها در منابع آب و خاک شده و سبب آلودگی روز افزون منابع سطحی و زیرزمینی آب شده است (Girija *et al*., 2014; Darajeh *et al*., 2016).

با افزایش جمعیت جهان، به‌ویژه در جهان سوم و کشورهای در حال توسعه، تراکم مسکن به طور قابل توجهی افزایش یافته است و سیستم‌های فاضلاب برای اغلب خانه‌ها بسیار ضعیف است و در نتیجه خسارات قابل ملاحظه‌ای را به محیط زیست، شیلات، گردشگری و منابع آب شرب وارد می‌کنند (Gerrard, 2010). ممانعت از آلودگی منابع آب سطحی به‌عنوان عمده‌ترین منابع آب آشامیدنی مورد استفاده‌ی انسان، سهم عمده‌ای در توسعه‌ی بهداشت ملی و منطقه‌ای دارد (Khoshnavaz *et al*., 2014). استفاده روزافزون انواع فلزات سنگین در صنایع و کشاورزی، موجب نگرانی جدی برای آلودگی محیط زیست شده است و غلظت بالای این فلزات سنگین در فراورده‌های مختلف صنعتی و کودها و سموم کشاورزی، سبب آسیب جدی به موجودات جانوری و گیاهی می‌شود (Sinhal *et al*., 2010).

تصفیه ی پساب‌ها در جهان بسیار مهم است و هزینه‌های زیادی در کشورهای مختلف جهت انجام این کار صرف می‌شود. بدین منظور، استفاده از روش‌ها و تکنولوژی‌های مناسب، با توجه به شرایط آب و هوایی و اجتماعی و ویژگی‌های اقتصادی منطقه، بسیار مهم است. اساسا فاضلاب‌ها به دو دسته کلی شهری و صنعتی تقسیم می‌شوند. فاضلاب صنعتی به خاطر وجود انواع فلزات سنگین در آنها و نیز به دلیل ویژگی‌های پیچیده‌تر کیفی و کمی آن، از اهمیت بیشتری برخوردارند (Rahmani Sani and Dareini, 2014). فلزات سنگین با مشخصات فلزی (ضریب هدایت، پایداری کاتیونی و ویژگی لیگاند) و عدد اتمی بالاتر از ۲۰ شناخته می‌شوند (Kalbasi, 1987). البته اصطلاح فلز سنگین تعاریف متفاوتی دارد، اما این اصطلاح بیشتر در زمینه آلودگی محیط زیست مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تعریفی دیگر، فلزات سنگین را، فلزاتی که دارای وزن مخصوص بزرگ‌تر از ۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب هستند، توصیف می‌کنند.

بیشتر فلزات سنگین به عنوان فلزات سمی طبقه بندی می‌شوند و بر اساس طبقه بندی‌های صورت گرفته، غلظت آن‌ها در خاک بین ۱ تا ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

تغییر می‌کند (Roongtanakiat *et al.*, 2009). این فلزات پتانسیل آلوده نمودن خاک و آب را داشته و می‌توانند با نفوذ و تجمع در بخش‌های مختلف گیاهان و جانوران، توسط انسان مورد استفاده قرار گیرند (Wcisło *et al.*, 2002). همچنین می‌توانند با تجمع زیستی در زنجیره غذایی، سبب ایجاد سمیت مزمن و شدید شوند (Ahmed *et al.*, 2011). در مجموع، وجود فلزات در خاک، امری طبیعی محسوب می‌شود، اما مقادیر بیش از حد استاندارد، به‌دلیل جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره غذایی، به‌عنوان منابع آلوده کننده محیط زیست محسوب می‌شوند (Altas, 2009). آلوده شدن منابع آب و خاک به وسیله فلزات سنگین سبب شده تا نیاز به فنّاوری تصفیه به طور جدی دنبال شود (Karami and Shamsuddin, 2010). خاک‌های آلوده به دلیل طبیعت ناهمگن خاک و حجم بالای موادی که باید اصلاح شوند، محیطی پیچیده و پر هزینه برای پاک‌سازی هستند. بنابراین، تلاش‌های زیادی جهت رفع آلودگی از خاک‌های آلوده با به‌کارگیری مجموعه‌ای از روش‌های فیزیکی و شیمیایی در حال انجام است. گرچه این اقدامات تاکنون نتوانسته در حد کفایت، سبب حذف فلزات سنگین از خاک شوند و برای انجام این کار، هزینه‌های هنگفتی صرف شده است. در همین راستا، تاکنون مشخص شده که اصلاح اکوسیستم‌های آلوده توسط گیاهان، مقرون‌به‌صرفه‌ترین روش پاکسازی است (Tabande and Taheri , 2016).

اصطلاح گیاه‌پالایی به‌عنوان استفاده از گیاهان برای حذف و یا از بین بردن آلاینده‌های مضر از آب و خاک و هوا تعریف می‌شود. گیاه پالایی یا Phytoremediation از کلمه یونانی Phyto که اشاره به گیاه دارد و پسوند لاتین Remedium که درمان یا ترمیم است، تشکیل شده است. دلیل اصلی استفاده از این روش، جمع آوری آلاینده‌ها و تبدیل آن‌ها به فرم راحت و قابل استخراج از بافت‌های گیاه است (Karami and Shamsuddin, 2010). سیستم‌های تصفیه گیاهی عموما ساده، اقتصادی و فاقد آثار مخرب و زیان‌بار برای محیط زیست و منابع طبیعی هستند. مهم‌ترین فاکتور در اجرای سیستم‌های تصفیه بیولوژیک، انتخاب گونه گیاهی مناسب است که باید ویژگی‌های منحصربه‌فردی چون قابلیت بالای جذب آلاینده‌های آلی و معدنی، سازگاری و رشد مناسب در محیط‌های آلوده و تکثیر آسان و سریع داشته باشند. نتایج تحقیقات گوناگون نشان داده است که حتی در یک جنس، میزان جذب آلاینده‌ها از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است. از جمله ویژگی‌های دیگر یک گیاه برای گیاه‌پالایی این است که گیاه باید تحمل انباشت غلظت‌های بالای فلزات در اندام‌های خود را داشته باشد (Zaier *et al.*, 2010).

وتیور (*Vetiveria zizanioides* (L.)) گیاهی علفی، چند ساله با سازگاری بالای بوم‌شناختی و تولید ماده خشک زیاد است و اساسا بومی هند است و به نام خس (Khus) نیز معروف است و بیش از ۱۵۰ سانتی‌متر رشد می‌کند. این گیاه با نام مترادف *Cherysopogon zizanioides* نیز شناخته می‌شود و از خانواده Poaceae و از قبیله Andropogoneae است. برگ‌های وتیور ۱۲۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر رشد می‌کنند و در ارقامی‌که به گل می‌نشیند، طول گل آذین به ۱۵ تا ۳۰ سانتی‌متر می‌رسد (Bazobandi *et al.*, 2012). سیستم ریشه وتیور دارای ساختار بسیار قوی است و می‌تواند در طول سال اول ۳ تا ۴ متر رشد کند. گیاه وتیور تحمل بالایی نسبت به خشک‌سالی دارد. با توجه به ویژگی‌های اکولوژیکی و مورفولوژیکی این گیاه، وتیور به طور موثری برای بسیاری از برنامه‌های کاربردی مانند تثبیت شیب‌ها و حفاظت از محیط زیست کاربرد دارد و جنبه‌های دارویی و استفاده از روغن آن در عطر سازی نیز بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Mahajan and Pradhanang, 2017).

همچنین توانایی گیاه وتیور در جذب عناصر سنگین، نیترات و فسفات موجود در پساب‌ها، مورد توجه بسیاری از کشورهای دنیا قرار گرفته است (Bazobandi *et al.*,

2012). علاوه بر این، گیاه وتیور دارای توانایی جذب بسیاری از آلودگی‌های محیط زیست مانند حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و ترکیبات هیدروکربنی بدون تأثیر بر رشد آن می‌باشد. میزان استخراج مواد آلوده به میزان نفوذ ریشه این گیاه در خاک و آب بستگی دارد (Hasan *et al.*, 2016). از نظر استحکام کششی، ساختار گیاه وتیور حدود یک‌هشتم فولاد نرم است و آن را نسبت به تأثیرات و ناملایمات زیست‌محیطی مقاوم می‌کند (Gerrard, 2010). هدف از این تحقیق، بررسی جذب برخی از فلزات سنگین موجود در پساب صنعتی توسط گیاه وتیور و تاثیر آن بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و آناتومیکی و ارزیابی مقاومت گیاه وتیور در برابر فلزات سنگین موجود در پساب صنعتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان

بوته‌های گیاه وتیور اواخر فصل زمستان یعنی در اسفند ماه به تعداد ۲۴ عدد از بوته‌ی مادر از ناحیه یقه ریشه جدا شدند. در حین جدا کردن گیاهان از پاجوش دقت لازم به عمل آمد تا گیاهان از نظر اندازه یکسان باشند، سپس برای اطمینان کار، تمامی‌آن‌ها با ترازو وزن شدند و جهت کشت گلدانی مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی گلدان‌ها

تعداد ۱۲ عدد گلدان ۳۰×۳۰ با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در ۴ ردیف با طرح کامل تصادفی قرار داده شدند. هر گلدان نسبت به گلدان کناری خود با فاصله ۳۰ سانتی‌متری قرار داده شد. گلدان‌ها هر کدام با ۱۰ کیلوگرم خاک الک شده پر شده و در ۶ گلدان ۳ گیاه وتیور تقریبا هم‌وزن با فاصله ۱۰ سانتی‌متری از هم کاشته شدند. یک گلدان حاوی ۱۰ کیلوگرم خاک بدون گیاه نیز جهت آبیاری با پساب صنعتی در نظر گرفته شد. گلدان‌های آماده بلافاصله آبیاری شدند تا فواصل خالی بین خاک و ریشه پر شود و ریشه‌ها آسیب نبینند. گلدان‌ها از زمان کاشته شدن (۱۴ اسفند ۱۳۹۷) به مدت یک ماه با آب شهری (هفته‌ای دو بار، هر بار ۲۰۰ میلی‌لیتر) آبیاری شدند تا تنش‌هایی که بر اثر کندن و جدا کردن بوته‌ها به گیاه رسیده، کاهش یابد و گیاهان به یک رشد نسبی برسند.

از ماه دوم با افزایش دما گلدان‌های کنترل با ۵۰۰ میلی-لیتر آب شهری و گلدان‌های تحت تیمار با ۵۰۰ میلی‌لیتر پساب صنعتی هفته‌ای دو بار آبیاری شدند و این روند آبیاری گلدان‌های کنترل و تحت تیمار به مدت ۶ ماه ادامه یافت. علاوه بر این‌ها، گلدان حاوی ۱۰ کیلوگرم خاک الک شده فاقد گیاه نیز در طول ۶ ماه، همانند نمونه‌های تحت تیمار، با پساب آبیاری شد.

برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده شامل اسیدیته و هدایت الکتریکی در جدول زیر آمده است:

جدول ۱- برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده
Table 1. Some characteristics of the used soils

خاک Soil	pH	EC
خاک اولیه Primary soil	7.31	2.77
خاک کنترل (نهایی) Control soil (Final)	7.16	2.72
خاک حاوی پساب (نهایی) Soil containing wastewater (Final)	7.73	2.61

اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین گیاه وتیور

اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین اندام‌های مختلف گیاه وتیور با استفاده از روش ریوز و همکاران انجام شد (Reeves *et al.*, 2007). پس از ۶ ماه آبیاری، بخش‌های مختلف گیاه وتیور پس از جداسازی ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شستشو شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. پس از آسیاب کردن، نمونه‌ها از الک مش ۲۰۰ عبور داده شدند. ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر الک شده هر نمونه درون لوله‌های آزمایش قرار داده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی (مخلوط ۳:۱، HCL: HNO3) به آن‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها روی هیتر به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه حرارت دیدند تا هضم کامل انجام شود. پس از آن نمونه‌ها

به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند و محتوای لوله‌ها به کمک قیف شیشه‌ای و کاغذ واتمن ۴۲ صاف شدند. سپس میزان فلزات سنگین موجود در بخش‌های مختلف گیاهان مورد استفاده و خاک آنها با استفاده از دستگاه ICP مدل Spectro Arcos اندازه‌گیری شدند.

مطالعه‌ی ساختار تشریحی ریشه گیاه وتیور

به منظور ارزیابی ساختار رویشی گیاهان و ارتباط آنها با میزان پالایش فلزات سنگین، ریشه گیاهان وتیور پس از اتمام دوره تیماردهی از گلدان‌های شاهد و تحت تیمار جمع‌آوری شدند. به منظور بررسی ساختار بافتی، ابتدا نمونه‌های جمع‌آوری شده با آب مقطر شست‌وشو و به قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متری برش داده شدند. سپس به مدت یک ماه در محلول فیکساتور F.A.A قرار گرفتند. بعد از گذشت یک ماه، برش‌های عرضی نازکی با استفاده از تیغ به روش دستی از نمونه‌ها تهیه شد. نمونه‌ها با استفاده از روش متداول رنگ‌آمیزی مضاعف رنگ‌آمیزی شدند و در نهایت نمونه‌ها را روی لام گذاشته و با استفاده از میکروسکپ نوری NIKON، ساختار تشریحی نمونه‌ها بررسی شد (Bercu and Jianu., 2003).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی غشا (مالون‌دی-آلدهید)

به منظور بررسی پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول‌ها، میزان MDA به روش هس و پاکر اندازه گیری شد (Packer and Heath, 1968). ۰/۱ گرم بافت تازه فریز شده برگ با استفاده از ازت مایع درهاون چینی پودر شد. نمونه‌های پودر شده در فالکون ریخته شد و به هر فالکون ۱ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۵٪ (۵ گرم Tca در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) اضافه شده و با دستگاه ورتکس مدل Labtron به خوبی مخلوط شد. فالکون‌های حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. هم حجم سوپرناتانت بالا، تیوباربیوتوریک اسید ۰/۵ ٪ در Tca ۲۰ ٪ (۰/۵ گرم Tba در Tca ٪۲۰) به فالکون‌ها اضافه شد. نمونه‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه در بن‌ماری قرار داده و سپس بلافاصله فالکون‌ها به حمام یخ منتقل شدند (یخ از دستگاه یخ ساز مدل Scotsman تهیه شد). پس از سرد شدن، نمونه‌ها در ۷۵۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول در طول موج‌های ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار MDA هر نمونه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$MDA\ (\mu mol/gF.W.) = \left(\frac{\frac{A532nm}{155}}{0.1}\right) - \left(\frac{\frac{A600}{155}}{0.1}\right) \quad (1)$$

A532: جذب در ۵۳۲ نانومتر، A600 : جذب در ۶۰۰ نانومتر و ۰/۱: گرم وزن تر نمونه

اندازه گیری قندهای محلول برگ

قندهای محلول در برگ به روش ایریگوین اندازه‌گیری شد (Irigoyen *et al*., 1992). ۰/۱ گرم بافت تر فریز شده در ازت مایع درهاون چینی پودر شد و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۵ ساییده شد و سپس عصاره رویی را در فالکون ریخته و ته‌مانده برگی دوباره با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ ٪ ساییده و به فالکون اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر عصاره الکلی را برداشته و در لوله فالکون ریخته و سه میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ٪۷۲) به آن افزوده شد. جهت ایجاد فاز رنگی، لوله‌های فالکون به مدت ده دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه قرار داده شد و بعد از سرد شدن ۱/۵میلی‌لیتر فاز رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول واسنجی (۱ میلی‌لیتر اتانول٪۷۰+ ۳ میلی‌لیتر آنترون) در کووت ریخته شد و میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. محلول استاندارد گلوکز با غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و تمامی مراحل مذکور روی آنها نیز انجام شد. سپس منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد گلوکز رسم و میزان قندهای محلول نمونه بر

حسب میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان پرولین برگ

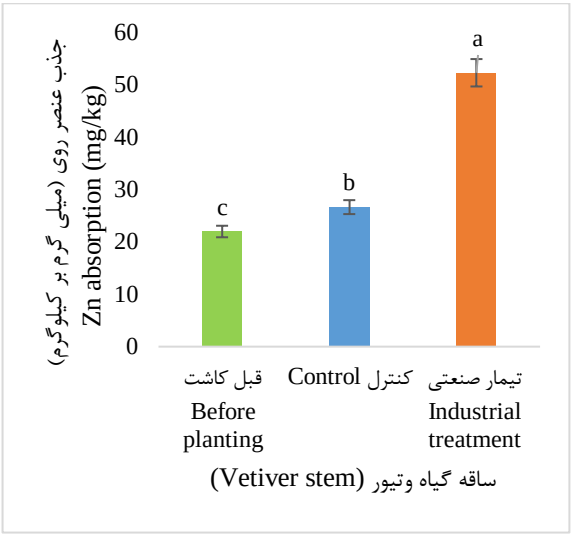
به منظور اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس استفاده شد (Bates, 1973). ۰/۱ گرم بافت تازه برگ درهاون چینی توسط ازت مایع پودر شد و در فالکون ریخته شد. به هر فالکون ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک ۳٪ اضافه شد و محلول با کاغذ واتمن شماره ۲ صاف شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با ۲ میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه در بن‌ماری قرار داده شد. سپس لوله‌های آزمایش به ظرف یخ خرد شده منتقل شدند تا سرد شوند (یخ از دستگاه یخ ساز مدل Scotsman تهیه شد). به لوله‌های آزمایش ۶ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد تا دو فاز تشکیل شود. از لایه فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. از محلول پرولین با غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۴۰، ۱۶۰، ۱۸۰، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار جهت رسم منحنی استاندارد و ازکووت شیشه‌ای با غلظت صفر پرولین به عنوان شاهد برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

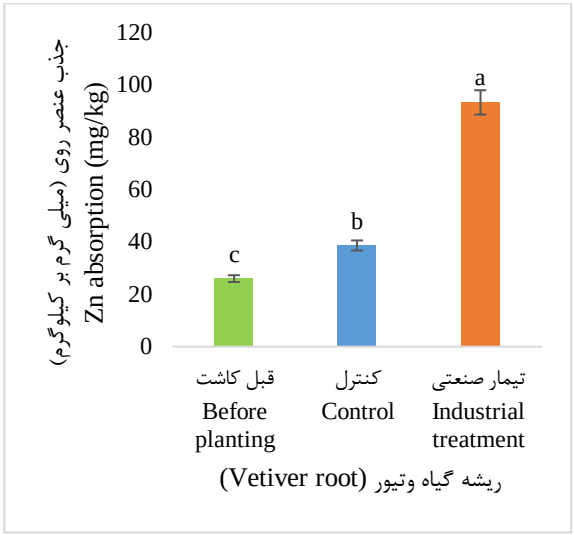
نتایج و بحث

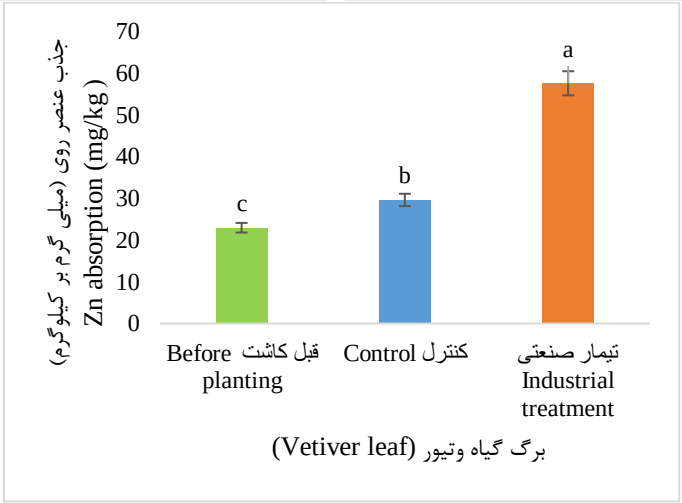
تجمع فلز روی در ریشه، ساقه و اندام‌های هوایی گیاه وتیور

بررسی تاثیر ۶ ماه آبیاری با پساب صنعتی و آب شهری بر میزان تجمع فلز روی در ریشه، ساقه و برگ گیاه وتیور در شکل ۱ ارائه شده است. با توجه به شکل ۱، طی شش ماه آبیاری با پساب صنعتی، میزان تجمع روی در ریشه، ساقه و برگ گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاهان کنترل افزایش یافت و این تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). بیشترین تجمع فلز روی در ریشه بود و درصد کمتری به اندام هوایی انتقال یافت. روی جزء عناصر غذایی کم مصرف، ولی ضروری برای گیاهان است که در بسیاری از فرایندهای متابولیکی گیاهان تاثیر دارد (Cakmak and Marshner, 1993). آنزیم‌های بسیاری مانند کربنیک آنیدراز، سوپراکسیددسیموتاز و RNA پلی مراز دارای فلز روی هستند (Nagajyoti *et al*., 2010). روی برای انتقال به بخش‌های دور در آوندهای چوبی، یا با اسیدآلی پیوند می‌یابد و یا به صورت کاتیون دو ظرفیتی آزاد ظاهر می‌شود (Ghorbanli and Babalar, 2003). در تحقیقی روی گیاه وتیور، گیاهان تحت تیمار که با پساب بیمارستانی حاوی عناصر سنگین آبیاری شده بودند، مشاهده شد که بیشترین تجمع روی در قسمت ریشه این گیاه بود و مقادیر کمتری به برگ و ساقه گیاه وتیور انتقال یافت (Dindarlou *et al.*, 2014). Ghaemi and Majdeddin (2016) نیز روی گیاه وتیور و اکالیپتوس مطالعاتی انجام دادند. آنها گیاهان تیمار را با پساب تصفیه نشده آبیاری کرده و روند تجمع عناصر را بررسی کردند و مشاهده کردند که میزان غلظت فلز روی در اندام هوایی اکالیپتوس بیشتر از گیاه وتیور بود و گیاه وتیور درصد بالایی از روی را در ریشه ذخیره کرد (Ghaemi and Majdeddin, 2016). تجمع بیشتر فلزات سنگین در ریشه نسبت به اندام هوایی نشان-دهنده مکانیسم تحمل گیاه در غلظت‌های بالای فلزات سنگین در خاک است (Brunetti *et al*., 20011). در پژوهش دیگری روی گیاه سورگوم و یونجه، گیاهان با پساب تصفیه شده آبیاری شدند و مشاهده شد که تجمع روی در اندام زیرزمینی بیشتر از بخش هوایی بود (Belaid *et al*., 2012). در پژوهشی روی گیاه اسفناج آبیاری شده با پساب کارخانه مشاهده شد که غلظت روی در ریشه گیاه آبیاری شده با پساب نسبت به اندام هوایی افزایش بیشتری داشت (Pathak *et al*., 2013). محققان دیگری نیز گزارش کردند که فلزات سنگینی مانند روی در ریشه شلغم نسبت به اندام هوایی بیشتر تجمع یافت (Parveen *et al*., 2014). برای ارزیابی توان یک گیاه در پالایش آلودگی، پس از مشخص شدن مقدار فلزات قابل استخراج در نمونه گیاهی و خاک، شاخص‌های TF (فاکتور انتقال؛ نسبت غلظت فلز در

اندام‌های هوایی گیاه به غلظت فلز در ریشه) و BCF (فاکتور تجمع بیولوژیکی؛ نسبت غلظت فلز در ریشه گیاه به غلظت فلز در خاک)، باید اندازه‌گیری شود. بر اساس این شاخص‌ها، توانایی گیاه برای گیاه پالایی ارزیابی می‌شود. گیاهانی که در آن‌ها مقدار TF کمتر از یک و مقدار BCF بیشتر از یک باشد، گیاه برای فرایند تثبیت گیاهی (Phytostabilization) مناسب است (Yoon *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر، فاکتور انتقال برای فلز روی کوچک‌تر از یک و فاکتور تجمع زیستی بزرگ‌تر از یک بود که مشخص می‌کند که گیاه وتیور فلز روی را بیشتر در ریشه انباشته کرده و انتقال به بخش‌های هوایی نسبت به ریشه کمتر بود و این موضوع بیانگر جذب فلز از طریق تثبیت گیاهی در وتیور می‌باشد. اسیدیته خاک یک فاکتور مهم در تعیین رشد گیاه می‌باشد، زیرا اسیدیته خاک روی دسترسی مواد غذایی مورد نیاز گیاه تأثیر زیادی دارد (Shivhare and Sharma, 2012). در تحقیق حاضر، pH خاک پس از شش ماه آبیاری با پساب صنعتی ۷/۷۳ بود که مطابق استاندارد pH برای آب آبیاری می‌باشد. معمولاً pH پایین یعنی اسیدی بودن خاک باعث کاهش جذب انواع یون‌های فلزی شامل Mn^{2+}، Zn^{2+} ، Cd^{2+} و Co^{2+} می‌شود (Gadd, 1990).







شکل ۱- میزان تجمع فلز روی در ریشه، ساقه و برگ گیاهان کنترل و تحت تیمار وتیور

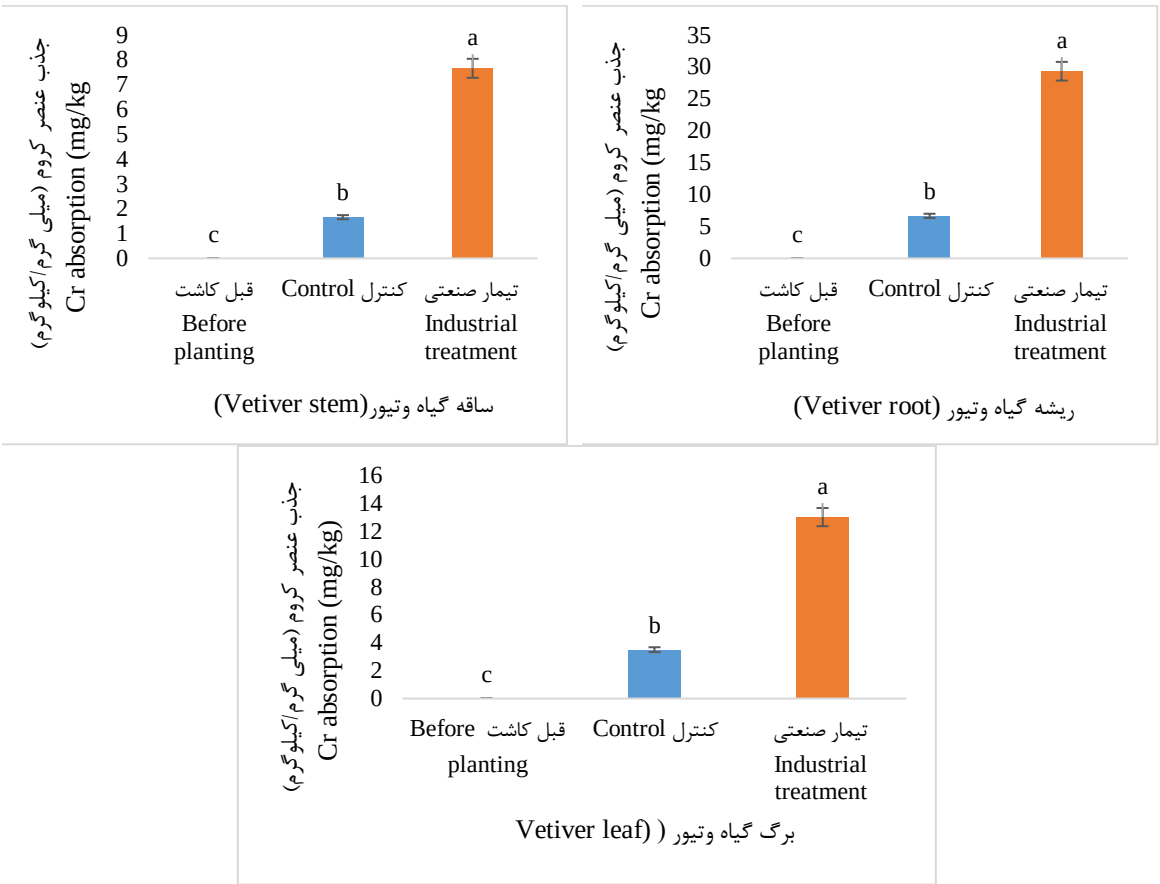
Fig. 1- Accumulation of Zn metal in roots, stems and leaves of control and treatment vetiver plants

تجمع فلز کروم در ریشه، ساقه و اندام هوایی گیاه وتیور

نتایج بررسی تاثیر ۶ ماه آبیاری با پساب صنعتی بر میزان تجمع فلز روی و کروم در نمونه‌های مختلف خاک در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. بر اساس شکل ۲، طی شش ماه آبیاری

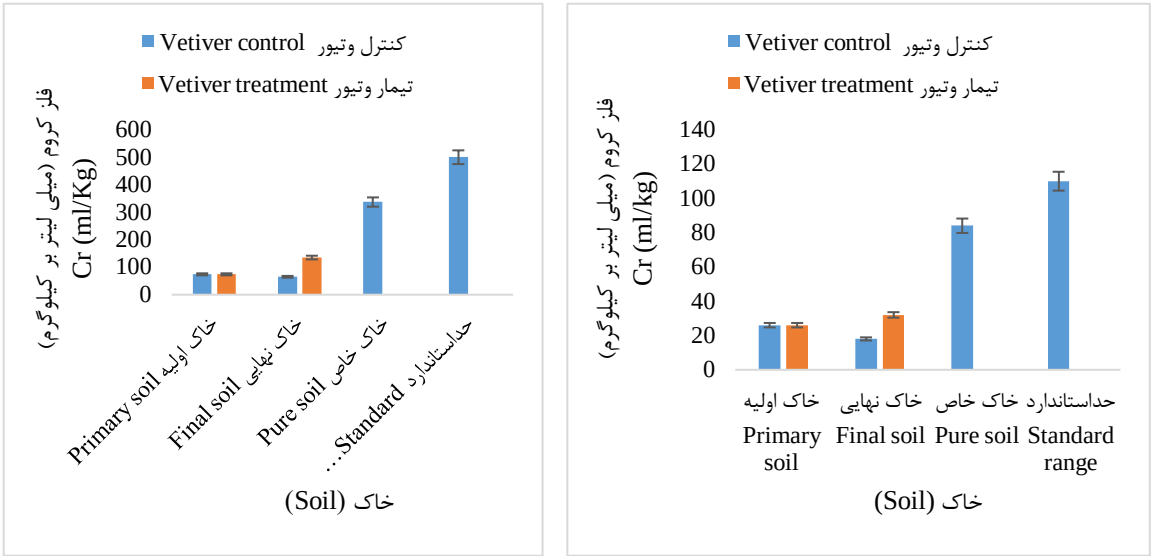
با پساب صنعتی، میزان تجمع کروم در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تحت تیمار نسبت به کنترل افزایش یافت و این تفاوت معنی‌دار بود. کروم در بخش زیرزمینی گیاهان تحت تیمار، تجمع بیشتری نسبت به اندام هوایی داشت. در یک تحقیق روی تاثیر غلظت کروم در برگ گیاهان جعفری و شاهی در خاک آبیاری شده با آب آلوده و مقایسه بین انباشت کروم در ریشه و بخش هوایی مشخص شد که مقدار کروم در ریشه چندین برابر مقدار آن در بخش هوایی بود (Nojabaee *et al.*, 2017). محققان در پژوهشی گزارش کردند که کروم به طور عمده در ریشه انباشته می‌شود و دلیل آن نیز غیرمتحرک شدن کروم در واکوئل‌های سلول‌های ریشه است (Shanker *et al.*, 2004). مطالعات با استفاده از کروم رادیواکتیو نشان داده که کروم در گیاه عمدتاً از طریق آوند چوبی حرکت می‌کند. محققان نشان داده‌اند که بیشترین مقدار کروم در ریشه‌ها و کمترین آن در اندام‌های رویشی و زایشی انباشته می‌شود (Shankar *et al.*, 2005).

Jafari *et al.* (2017) روی تاثیر کمپوست زباله شهری بر توانایی گونه *Bromus tomentellus boiss*، تحقیقی انجام دادند و دریافتند که در همه تیمارهای مورد استفاده در این مطالعه، فاکتور TF برای کروم کمتر از یک بود، بنابراین این گیاه نمی‌تواند با فرآیند استخراج گیاهی باعث پالایش کروم خاک شود در این تحقیق، نتایج بررسی داده‌های مربوط به فلز کروم نشان داد که مقدار TF (فاکتور انتقال) برای این فلز کوچک‌تر از یک و مقدار فاکتور BCF (تجمع زیستی) بزرگ‌تر از یک بود. Vajpayee *et al.* (2000) در بررسی تجمع زیستی کروم در ریشه‌های گیاه *Nelumbonu cifera* دلیل این امر را اتصال یون کروم در جایگاه‌های تبادلی کاتیونی در ریشه و در نتیجه غیر-متحرک شدن آن عنوان کردند (Vajpayee *et al.*, 2000). بیشتر گیاهان توانایی جذب گستره وسیعی از فلزات از خاک را دارند، با این حال آنها فلزاتی را بیشتر جذب می‌کنند که در رشد و متابولیسم آنها ضروری است (Chen and Cutright, 2001).



شکل ۲- میزان تجمع فلز کروم در ریشه، ساقه و برگ گیاهان کنترل و تحت تیمار وتیور

Fig. 2- Accumulation of Cr metal in roots, stems and leaves of control and treatment vetiver plants



شکل ۳- میزان تجمع فلز روی و کروم در نمونه‌های مختلف خاک

Fig. 3- Accumulation of Cr metal and Zn metal in roots, stems and leaves of control and treatment vetiver plants

بررسی تاثیر آبیاری با پساب صنعتی بر ساختار تشریحی ریشه گیاه وتیور

نتایج بررسی تاثیر ۶ ماه آبیاری با پساب صنعتی بر ساختار تشریحی ریشه گیاه وتیور در جدول ۲ آمده است: نتایج آنالیز صفات آناتومیکی گیاهان تحت تیمار و شاهد با استفاده از نرم افزار image j نشان داد که قطر ریشه و قطر استوانه مرکزی و همچنین تعداد دستجات آوندی در گیاهان تحت تیمار با پساب صنعتی نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت (جدول ۲). در تحقیق حاضر، میزان عنصر روی و کروم در خاک در محدوه مجاز بود و گیاهان تیمار بیشترین مقدار این عناصر را در ریشه ذخیره کردند و مقدار کمی از این عناصر به اندام هوایی انتقال یافت. افزایش تعداد دستجات آوندی، قطر سیستم آوندی و افزایش قطر ریشه، از یک سو می‌تواند به دلیل مقاومت نسبی گیاهان تحت تیمار در برابر عناصر موجود در پساب باشد که در نتیجه آن قطر و تعداد عناصر چوب (پروتوزایلم و متازایلم) افزایش یافت، زیرا آوندهای چوب مسئول انتقال مواد معدنی هستند و از سوی دیگر می‌تواند نشانه اثر مثبت فلز روی بر گیاهان تیمار باشد و ازآنجایی- که فلز روی در فرایندهای فتوسنتزی دخیل است، با افزایش غلظت انواع کلروفیل، می‌تواند باعث افزایش میزان فتوسنتز و به دنبال آن افزایش فرآورده‌های فتوسنتزی شود که این فرآورده‌ها توسط آوندهای آبکش حمل می‌شوند. اساسا فلزات سنگین روی آناتومی ریشه گیاهان مختلف، تاثیرات متفاوتی داشته و جذب و تجمع فلزات در غلظت‌های بالا منجر به تغیرات ساختاری و فراساختاری در ریشه گیاهان گوناگون شده است (Stojanor and Raychera, 2013). در تحقیقی روی آناتومی‌گیاه سورگوم تحت تنش کادمیم و مس، کاهش در ضخامت پارانشیم پوست، پارانشیم مغز، سیستم آوندی و آوند چوبی ریشه دیده شد (Kasim, 2006). در تحقیقی دیگر روی تاثیر کادمیم بر صفات آناتومیکی گیاه نیشکر مشاهده شد که به‌طورکلی ابعاد اغلب سلول‌های ریشه مثل آوندهای چوب (متازایلم و پروتوزایلم)، سلول‌های آندودرمی، سلول‌های اگزودرمی، سلول‌های آبکشی و سلول‌های پوستی تحت تاثیر تیمار کادمیم سیر افزایشی داشت. با افزایش غلظت کادمیم، آرایش سیستم آوندی در ریشه تغییر کرد. مقایسه کمی سلول مغز ریشه نشان دهنده سیر افزایشی ابعاد این سلول‌ها در گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع سلول‌های مغزی در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد (Yousefi *et al.*, 2017).

جدول ۲- بررسی صفات آناتومیکی ریشه گیاه وتیور (قطر بر حسب µm)
Table 2. Examination of anatomical traits of vetiver root

ردیف Row	صفت Character	کنترل Control	تیمار Treatment
۱	قطر ریشه (Root diameter)	2888.7±30.09	4308.0±125.2*
۲	قطر استوانه مرکزی (Diameter of the central cylinder)	773.6±41.9	2713.4±154.2*
۳	قطر پروتوزایلم (Protoxylem diameter)	11.4±0.86	19.9±3.27*
۴	قطر متازایلم (Metaxylem diameter)	70.32±3.18	100.01±2.05*
۵	تعداد دستجات آوندی (Number of vascular vessels)	14-16	23-25

علامت * معنی‌دار بودن صفات را نسبت به هم نشان می‌دهد

* Shows the significance of the traits in relation to each other

تاثیر آبیاری با پساب صنعتی بر غلظت مالون‌دی-آلدهید، قند و پرولین برگ

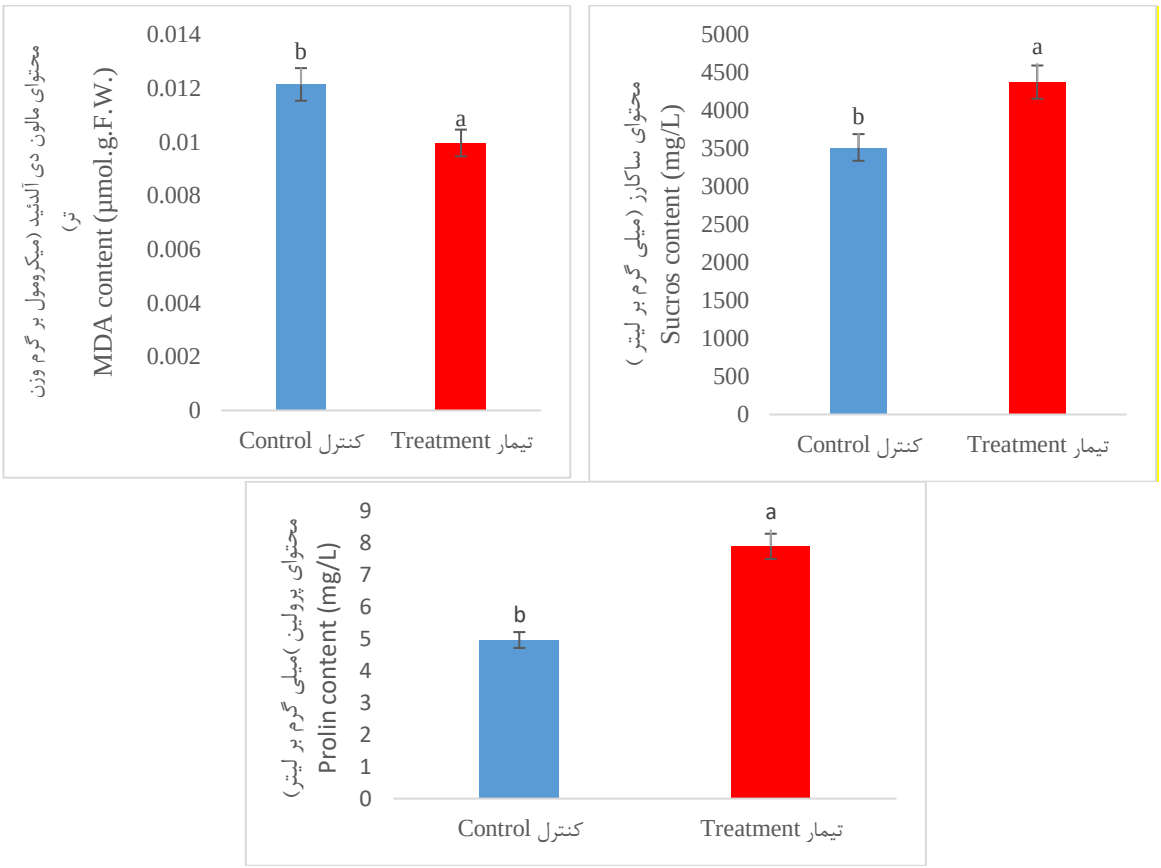
بر اساس نتایج این تحقیق، گیاهانی که تحت تیمار با پساب صنعتی بودند، میزان مالون‌دی‌آلدهید در برگ آنها نسبت به گیاهان شاهد کمتر بود، اما گیاهانی که تحت تیمار با پساب صنعتی بودند، میزان تولید قندهای محلول و پرولین در برگ آنها نسبت به گیاهان شاهد به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۴). نتایج مطالعات دیگر نشان می‌دهد که میزان مالون‌دی‌آلدهید در گیاهانی که با پساب تصفیه نشده آبیاری شدند، نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (Noorani *et al.*, 2010). مالون‌دی‌آلدهید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که به عنوان شاخص آسیب‌های اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Monni *et al.*, 2000). در تحقیق دیگری روی تاثیر آبیاری با پساب صنعتی کارخانه نساجی بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه *Tagetes erecta* مشاهده شد که میزان تولید مالون‌دی‌آلدهید پس از ۲۴ روز آبیاری با پساب تصفیه نشده کارخانه نساجی در گیاهان تیمار نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت (Gupta and Mittal, 2017). Liu (2008) گزارش کرد که در گیاه *Sedum alfredii* تیمار شده با کادمیم و سرب، محتوی مالون‌دی‌آلدهید در جوانه گندم، دانه رست، برگ‌ها، اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش یافت. در این تحقیق، دلیل کاهش تولید مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاهان تحت تیمار با پساب صنعتی نسبت به گیاهان شاهد، احتمالا وجود مقادیر عناصر سنگین به میزان استاندارد در پساب بود. معمولا فلزات سنگینی مانند روی، کادمیوم و مس که در غلظت‌های بهینه برای رشد گیاه لازم هستند، در غلظت‌های بالا می‌توانند مانع رشد و متابولیسم شوند (Poor Akbar *et al.*, 2014). با توجه به غلظت‌های استاندارد این عناصر در پساب صنعتی در تحقیق حاضر، احتمالا پساب صنعتی همانند کود برای گیاهان تیمار ایفای نقش کرده و در نتیجه آسیب‌های غشایی در گیاهان تیمار کاهش یافته و میزان تولید مالون‌دی‌آلدهید که شاخص آسیب غشای سلولی است، در گیاهان تیمار حتی نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. همان‌گونه که در شکل ۴ تحقیق حاضر مشاهده می‌شود، گیاهانی که تحت تیمار با پساب صنعتی بودند، افزایش قابل‌توجهی در میزان قندهای محلول در برگ آنها نسبت به شاهد ایجاد شد. تجمع قندهای محلول سبب پایداری فسفولیپیدهای غشاء شده و مانع تغییرات ساختاری پروتئین‌های محلول سلول می‌شود (Parvaiz and Satyawati, 2008). قندهای محلول اصولا به‌عنوان منابع متابولیکی و مواد ساختاری سلول‌ها عمل می‌کنند. قندها، مانند هورمون‌ها می‌توانند به‌عنوان پیام‌رسان‌های اصلی عمل کرده و سیگنال‌هایی را تنظیم کنند که بیان ژن‌های مختلف درگیر در رشد و متابولیسم گیاه را کنترل می‌کنند (Rosa *et al.*, 2009).

Azizian *et al.* (2018) بر روی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه ریحان به غلظت‌های مختلف عنصر روی تحقیقاتی را انجام

دادند و دریافتند که میزان قندهای محلول با افزایش غلظت روی در محیط کشت افزایش یافت و در غلظت ۴۰۰ میلی-گرم در لیتر به بیشترین میزان خود رسید و در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی، میزان قندهای محلول در گیاهان تیمار شده کاهش یافت. تحقیقات نشان داده که برخی فلزات سنگین مانند روی، کادمیم و کروم که در غلظت‌های بهینه برای رشد گیاه لازم هستند، در غلظت‌های بالاتر می‌توانند مانع رشد و متابولیسم درونی گیاه شوند (Tewari *et al.*, 2006). همچنین محققان دریافتند که در برگ‌های گیاه *Camellia sinensis*، مقادیر اضافی روی، باعث افت تولید قندهای احیا کننده شد (Mukhopadhyay *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای، تاثیر کادمیم بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گندم بررسی شد و علایم ظاهری در گیاهچه‌های گندم شاهد و تیمار شده با کادمیم نشان داد که افزایش غلظت کادمیم موجب بروز کلروز برگی و تغییر رنگ برگ‌ها به رنگ سبز متمایل به زرد شد. کاهش قند محلول تحت تیمار کادمیم ممکن است ناشی از کاهش فتوسنتز و توقف رشد باشد. (Ehdaie *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر، فلز روی به عنوان عنصری که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان شرکت می‌کند، در پساب صنعتی در محدوده استاندارد قرار داشت. البته در طول آبیاری با پساب، این میزان افزایش یافت و این می‌تواند یکی از دلایل افزایش قندهای محلول برگ باشد. گیاهان تیمار توانستند کربوهیدرات‌های محلول را برای متابولیسم پایه سلول در حد بهینه نگاه دارند و باعث حفظ غشاء سلول‌ها و مولکول‌های زیستی شوند.

همچنین بر اساس نتایج این تحقیق، گیاهانی که تحت تیمار با پساب صنعتی بودند، میزان تولید پرولین در برگ آنها نسبت به گیاهان شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۴). پرولین در سلول‌های تحت تنش، نقش آنتی‌اکسیدانی را در حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده تحت تنش ایفا می‌کند (Zhang *et al.*, 2010). پرولین علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، در تنظیم اسمزی، تنظیم اسیدیته سلول و تنظیم اکسیداسیون و احیا سلول‌ها هم نقش دارد (Dubey and Singh, 1999). در واقع انباشت پرولین یکی از اولین فرایندهای بیوشیمیایی مشاهده شده در گیاهان عالی تحت تنش می‌باشد. البته برخی محققان ارزش این مواد محلول را به‌عنوان شاخص مثبتی برای تحمل به تنش به چالش کشیده‌اند (Omidi *et al.*, 2018). در بین اسیدهای آمینه موجود در گیاهان، پرولین حساسیت بیشتری به تنش‌های محیطی نشان می‌دهد. تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش میزان آن در گیاه در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین، توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2010; Andrade *et al.*, 2009; Schaller, 2003). در مطالعه ای در مورد تاثیر تنش کادمیم بر تجمع پرولین آزاد در برگ گیاه برنج، گیاهان در یک دوره ۲۰ روزه با کادمیم تیمار شدند و مشاهده شد که پس از دوره ۲۰ روزه، غلظت پرولین آزاد در برگ گیاهان تیمار نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری یافت (Shen *et al.*, 2020). Gupta and Mittal (2017) مشاهده کردند که آبیاری گیاه *Tagetes erecta* با پساب صنعتی پس از مدت ۲۴ روز، میزان پرولین افزایش یافت و سپس با گذشت زمان و افزایش آبیاری با پساب، تولید پرولین در برگ‌های گیاه کاهش یافت. در تحقیق حاضر، با افزایش مقدار عناصر سنگین، میزان پرولین در برگ گیاهان تحت تیمار با پساب صنعتی نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. گرچه میزان فلزات سنگین در پساب اولیه در محدوده مجاز برای آبیاری قرار داشته باشد، ولی استفاده از پساب برای طولانی مدت باعث افزایش میزان فلزات سنگین در خاک و گیاه و بروز اثرات تنش زایی آنها می‌شود (Rattan *et al.*, 2005). تجمع پرولین باعث سازگاری بیشتر سلول با شرایط تنش و ساختارهای سلولی می‌شود (Di Toppi and Gabbrielli, 1999). در این تحقیق نیز باتوجه‌به آبیاری شش ماهه گیاهان با پساب صنعتی، افزایش میزان پرولین نشان‌دهنده بروز تنش در گیاهان

تحت تیمار می‌باشد. برخی پژوهش‌های انجام شده در مورد تجمع پرولین در تنش فلزات سنگین نشان داده‌اند که میزان این اسیدآمینه در شرایط تنش، به غلظت فلز و مرحله رشد گیاه بستگی دارد و میزان پرولین با توجه به این دو عامل می‌تواند در گیاهان افزایش یا کاهش یابد (Kazem Ali Lou and Rasouli Sedghiani, 2012).



شکل ۴- تاثیر آبیاری با پساب صنعتی بر غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) برگ، غلظت قندهای محلول برگ، غلظت پرولین برگ وتیور، شش ماه پس از آبیاری با پساب صنعتی در مقایسه با کنترل

Fig. 4- Effect of some industrial wastewater contaminants on malondialdehyde (MDA) concentration, soluble sugar concentration, proline concentration on leaf compared to control

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، پس از شش ماه آبیاری با پساب صنعتی، هیچ‌گونه تاثیر منفی از پساب بر خصوصیات ظاهری گیاه وتیور مشاهده نشد. آبیاری گیاهان با پساب صنعتی، باعث تجمع عنصر روی و کروم در گیاهان تحت تیمار شد و درصد بالایی از این عناصر در ریشه وتیور تجمع یافت و مقدار کمتری به اندام هوایی منتقل شد. فاکتور انتقال کوچک‌تر از یک و فاکتور تجمع زیستی بزرگ‌تر از یک بود. این نتایج نشان می‌دهد که گیاه وتیور عنصر روی و کروم را از طریق تثبیت گیاهی در ریشه خود ذخیره می‌کند و جاذب خوبی برای فلزات روی و کروم است. تغییرات در آناتومی ریشه گیاهان تحت تیمار پساب صنعتی نسبت به شاهد نیز نشان داد که گیاه وتیور می‌تواند از طریق تغییر در صفات آناتومیکی، در عین جذب فلزات سنگین موجود در پساب، در برابر فلزات سنگین از خود مقاومت نشان دهد. نتایج حاصل از آزمایش بررسی برخی صفات فیزیولوژیکی نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار غلظت پرولین و قندهای محلول در گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد بود و غلظت مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان تیمار کمتر از گیاهان شاهد بود. با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که می‌توان از گیاه وتیور به‌عنوان گیاه زینتی برای ایجاد فضای سبز، خصوصا در مناطق آلوده استفاده کرد. همچنین با توجه به

اینکه گیاه مذکور موفق به جذب درصد بالایی از عناصر در ریشه و اندام هوایی خود شد، می‌توان به منظور صرفه‌جویی در مصرف آب شیرین، از پساب نیز برای آبیاری این گیاه در ایجاد فضای سبز استفاده کرد. البته استفاده از پساب در امر آبیاری باید بر پایه یک مدیریت صحیح و مطابق با استانداردهای ارائه شده و در نهایت براساس ویژگی‌های آب، خاک، گیاه و محیط هر محل صورت گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر دانشگاه گیلان، اداره کل محیط زیست استان گیلان، دانشگاه گیلان، مؤسسه دوستداران پایش اقلیم کاسپین به سبب حمایت مالی و تجهیزاتی لازم جهت انجام این پروژه تحقیقاتی و خانم مهندس سیده فاطمه فلاح به خاطر کمک‌های ایشان صمیمانه قدردانی می‌کنند.

منابع

Ahmed, K., Mehedi, Y., Haque, R. and Mondol, P., 2011. Heavy metal concentrations in some macrobenthic fauna of the Sundarbans mangrove forest, south west coast of Bangladesh. Environmental Monitoring and Assessment. 177(1-4), 505-514.

Andrade, S.A., Gratão, P.L., Schiavinato, M.A., Silveira, A.P., Azevedo, R.A. and Mazzafera, P., 2009. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. Chemosphere. 75(10), 1363-1370.

Altaş, L., 2009. Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge. Journal of Hazardous Materials. 162(2-3), 1551-1556.

Azizian, A., Ein Ali, A. and Valizadeh, J., 2018. Physiological and biochemical responses of basil (*Ocimum basilicum*) due to different concentrations of zinc. Iranian Plant Biology. 36, 56-35. (In Persian with English abstract).

Brunetti, G., Farrag, K, Rovira, P.S., Nigro, F. and Senesi, N., 2011. Greenhouse and field studies on Cr, Cu, Pb and Zn phytoextraction by Brassica napus from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. Geoderma. 160(3-4), 517-523.

Bercu, R. and Jianu, L.D., 2003. Practicum de Morfologia Si Anatomia Plantelor. Ovidius University Press, in Constanța, Romania.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39(1), 205-207.

Belaid, N., Neel, C., Lenain, J.F., Buzier, R., Kallel, M., Ayoub, T. and Baudu, M., 2012. Assessment of metal accumulation in calcareous soil and forage crops subjected to long-term irrigation using treated wastewater: case of El Hajeb-Sfax, Tunisia. Agriculture, Ecosystems and Environment. 158, 83-93.

Bazobandi, M., HadiZadeh, M.H. and Arian, H., 2012. Efficiency of graminicides and glyphosate in control of Vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash). Journal of Weed Research. 4(1), 62-71. (In Persian with English abstract).

Cakmak, I. and Marschner, H., 1993. Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. In Plant Nutrition—from Genetic Engineering to Field Practice. Springer, 1993, 133-136.

Chen, H. and Cutright, T., 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by Helianthus annuus. Chemosphere. 45(1), 21-28.

Darajeh, N., Idris, A., Truong, P., Abdul Aziz, A., Abu Bakar, R. and Che Man, H., 2014. Phytoremediation potential of vetiver system

technology for improving the quality of palm oil mill effluent. Advances in Materials Science and Engineering, pp. 1-10.

Dindarlou, A., Hedayat, M. and Hosseini A., 2016. Evaluation of Absorption of Cd, Zn, Pb, Ni, Fe, and Cu Present in Hospital Wastewater by Phytoremediation Using Vetiver Grass. Journal of Water and Wastewater. 27(1), 1-10. (In Persian with English abstract).

Dubey, R.S. and Singh, A.K., 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. Biologia Plantarum. 42(2), 233-239.

Di Toppi, L.S. and Gabbrielli, R., 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany. 41(2), 105-130.

Ehdaie, B., Alloush, G.A, Madore, M.A. and Waines, J.G., 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. Postanthesis changes in internode dry matter. Crop Science. 46(2), 735-746.

Gadd, G.M., Gray, D.J. and Newby, P.J., 1990. Role of melanin in fungal biosorption of tributyltin chloride. Applied Microbiology and Biotechnology. 34(1), 116-121.

Ghaemi, A.S. and Majdeddin, F., 2016. Investigation of the phytoremediation of Vetiver and eucalyptus by Absorption of heavy metals from sewage in a contaminated soil with landfill leachate. Water Resources Engineering. 9(28), 95-106. (In Persian with English abstract)

Girija, N., Nair, M.M., Lakshmi, S. and Pillai, S.S., 2016. Phytoremediation Potential of Vetiver Zizanioides: A Green Technology to Remove Pollutants from Pampa River by Hydroponic Technique. Indian Journal of Advances in Chemical Science. 4(4), 464-468.

Gerrard, A.M., 2010. The ability of vetiver grass to act as a primary purifier of wastewater; an answer to low cost sanitation and freshwater pollution. Methodology. 5(6), 2-18.

Ghorbanli, M. and Babalar, M., 2003. Plants mineral nutrition. Press Teacher Training University of Tehran.

Gupta, R. and Mittal, A., 2017. Effect of textile industry effluent on growth and biochemical parameters of Tagetes erecta. Indian Journal of Science and Technology. 10, 1-7. (In Persian with English abstract).

Hasan, S.N.M.S., Kusin, F.M., Lee, A.L.S., Ukang, T.A., Yusuff, F.M. and Ibrahim, Z.Z., 2017. Performance of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for phytoremediation of contaminated water. In MATEC web of conferences (Vol. 103, p. 06003). EDP Sciences.

Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125(1), 189-198.

Jafari, M., Moameri, M. and Jahantab, E., Zargham N., 2017 Effects of municipal solid waste compost and biochar on the phytoremediation potential of *Bromus tomentellus Boiss* in greenhouse condition. Iranian Society of Range Management. 2(11), 194-206. (In Persian with English abstract).

Kasim, W.A., 2006. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. International Journal of Agriculture and Biology. 8(1), 123-128.

Kalbasi, M., Racz, G.J. and Lewen-Rudgers, L.A., 1978. Reaction products and solubility of applied zinc compounds in some Manitoba soils. Soil Science. 125(1), 55.

Karami, A. and Shamsuddin, Z.H., 2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. African Journal of Biotechnology. 9(25), 3689-3698.

Khoshnavaz, S., Boroomand Nasab, S. and Moazed, H., 2014. Investigation onnitrate removal efficiency of Karun agro-industry agricultural wastewater at surface flow constructed wetland with cultivated vetiver grass. Wetland Ecobiology. 6 (3), 5-14 (In Persian with English abstract).

Kazem Ali Lou, S. and Rasouli Sedghiani, M., 2012. The effect of soil cadmium contamination on physiological indices of *Hyoscyamus niger* L. in the presence and absence of microorganisms that stimulate plant growth. Journal of Soil and Water Science. 4, 30-18. (In Persian with English abstract).

Monni, S., Salemaa, M. and Millar, N., 2000. The tolerance of Empetrum nigrum to copper and nickel. Environmental Pollution. 109(2), 221-229.

Mukhopadhyay, M., Das, A., Subba, P., Bantawa, P., Sarkar, B., Ghosh, P. and Mondal, T.K., 2013. Structural, physiological, and biochemical profiling of tea plantlets under zinc stress. Biologia Plantarum. 57(3), 474-480.

Nagajyoti, P.C., Lee, K.D. and Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters. 8, 199–216.

Nojabaee, S.A., Ghajar Sepanlou, M., Bahmanyar, M.A., 2017. Concentration of lead and chromium in leaves of cress and parsley in soils irrigated with contaminated water. Journal of Water Research in Agriculture. 31(2), 181-194. (In Persian with English abstract).

Noorani Azad, H., Choobineh D., Haji Bagheri, M. and Kafilzadeh, F., 2010. Study of copper toxicity on growth and tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars Sun-33. Iranian Journal of Biological Sciences. 2, 67-74. (In Persian with English abstract).

Omidi, N., Sidi, N., Shafiei, A. and Abbaspour, N., 2018. The effect of air pollution stress on proline, hydrocarbon and photosynthetic pigments of ornamental maple tree (*Acer negundo* L.). Journal of Plant Research. 3, 13-1. (In Persian with English abstract).

Parveen, T., Mehrotra, I. and Rao, M.S., 2014. Impact of treated municipal wastewater irrigation on turnip (*Brassica rapa*). Journal of Plant Interactions. 9(1), 200-211.

Pathak, C., Chopra, A.K. and Srivastava, S., 2013. Accumulation of heavy metals in Spinacia oleracea irrigated with paper mill effluent and sewage. Environmental Monitoring and Assessment. 185(9), 7343-7352.

Parvaiz, A. and Satyawati, S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. Plant Soil and Environment. 54(3), 89.

PoorAkbar, L. and Ebrahimzadeh, N., 2014. Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to copper and nickel. Journal of Agriculture. 103, 157-148. (In Persian with English abstract)

Reeves, R.D., Baker, A.J.M. and Romero, R., 2007. The ultramafic flora of the Santa Elena peninsula, Costa Rica: a biogeochemical reconnaissance. Journal of Geochemical Exploration. 93(3), 153-159.

Roongtanakiat, N., Osotsapar, Y. and Yindiram, C., 2009. Influence of heavy metals and soil, on vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) grown in zinc mine soil. Kasetsart Journal (Natural Sciences). 43, 37-49.

Rosa., M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J.A., Hilal, M. and Prado F.E., 2009. Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress. Plant Signaling and Behavior. 4(5), 388-393.

Raycheva T. and Stojanov, K., 2013. Comparative anatomical study of five species of genus Asparagus in Bulgaria. Trakia Journal of Sciences. 2, 104-109.

Rattan, R.K., Datta, S.P., Chhonkar, P.K., Suribabu, K. and Singh, A.K., 2005. Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater—a case study. Agriculture, Ecosystems and Environment. 109(3-4), 310-322.

Sinhal, V.K., Srivastava, A. and Singh, V.P., 2010. EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta*). Journal of Environmental Biology. 31(3), 255-259.

Schaller, H., 2003. The role of sterols in plant growth and development. Progress in lipid research. 42(3), 163-175.

Shankar, A.K., Cervanters, C, Loza- Tavera, H. and Avudainayagam, S., 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International. 31, 739-753.

Shanker, A.K., Djanaguiraman, M, Sudhagar, R, Chandrashekar, C.N. and Pathmanabhan, G., 2004. Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram roots. Plant Science. 166, 1035-1043.

Shivhare, L. and Sharma, S., 2012. Effect of toxic heavy metal contaminated soil on an ornamental plant Georgina wild (Dahlia). International Journal of Current Research and Review. 4(19), 25.

Shen, T., Zhang, C., Liu, F., Wang, W., Lu, Y., Chen, R. and He, Y., 2020. High-Throughput screening of free proline content in rice leaf under cadmium stress using hyperspectral imaging with chemometrics. Sensors. 20(11), 3229.

Tabande, L. and Taheri, M., 2016. Evaluation of Exposure to Heavy Metals Cu, Zn, Cd and Pb in Vegetables Grown in the Olericultures of Zanjan Province's Fields. Iranian Journal of Health and Environment. 9 (1), 41-56 (In Persian with English abstract).

Tewari, R.K., Kumar, P. and Sharma, P.N., 2006. Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. Planta. 223(6), 1145-1153.

UNESCO, 2021. The United Nations world water development report 2021: valuing water, P. 187.

Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Ali M.B. and Singh S.N., 2000. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. Chemosphere. 41, 1075-1082.

Wcisło, E., Ioven, D., Kucharski, R. and Szdzuj, J., 2002. Human health risk assessment case study: an abandoned metal smelter site in Poland. Chemosphere. 47(5), 507-515.

Yoon, J., Cao, X, Zhou, Q. and Ma, L. Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. Science of the total environment. 368(2-3), 456-464.

Yousefi Z., Kolahi M., Majd A. and Jonoubi P., 2017. Cadmium Effect on Morphologic-Anatomic Characteristics and Pigmentation of Sugarcane (*Saccarum officinarum* L.) Var Cp48-103 In vitro Culture.

Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 31, 996-1006. (In Persian with English abstract).

Yunus A., Yoshifumi M. and Yasuaki H., 2020. COVID-19 and surface water quality: Improved lake water quality during the lockdown. Science of The Total Environment. 731, 1-8.

Zaier, H., Ghnaya, T., Ben Rejeb, K, Lakhdar, A, Rejeb, S. and Jemal, F., 2010. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. Bioresource Technology. 101, 3978–3983.

Zhang, H.H., Tang, M., Chen, H., Zheng, C.L. and Niu, Z.C., 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. European Journal of Soil Biology. 46(5), 306-311.

Zhang, Z., Rengel Z. and Meney, K., 2008. Interactive Effects of N and P on Growth but Not on Resource Allocation of Canna Indica in Wetland Microcosms. Aquatic Botany. 89, 317–323.

Environmental Sciences Vol.20 / No.3 / Autumn 2022

191-210
Original Article

Purification of some industrial waste water contaminants entering the Caspian Sea basin using the vetiver plant

Sahebeh Hajipour, Morteza Mohammadi Deylamani, Mohadeseh Momen Zadeh and Mansour Afshar Mohammadian*

Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 2021.10.19 Accepted: 2022.04.24

Hajipour, S., Mohammadi Deylamani, m., Momen Zadeh, M. and Afshar Mohammadian, M., 2022. Purification of some industrial waste water contaminants entering the Caspian Sea basin using the vetiver plant. Environmental Sciences. 20(3): 191-210.

Introduction: Plant remediation is cost-effective and environmentally friendly, in which the plant uses its natural abilities to restore the environment. Plants used for phytoremediation must have the ability to accumulate large amounts of metal pollutants without causing toxicity in them. Today, with the increase in the world's population and the development of industries and factories, the amount of wastewater entering the environment, which often contains heavy metals and various pollutants, increases. Heavy metals have destructive effects on the health of plants and animals in different ecosystems. Considering the ability of heavy metals to accumulate and cause toxicity in living organisms, this type of pollution is considered a serious and fundamental problem. The use of plants as an effective and cost-effective technology to remove metal pollutants from contaminated soils and waters has been recommended as a new method instead of other costly measures. Therefore, the removal of pollutants from soil and polluted waters with the help of plants through absorption and accumulation in roots, stems and leaves is considered as one of the purification methods to remove metal pollutants. In this process, choosing the right plant with high absorption capacity and compatible with the environment, without negative environmental effects, plays a very effective role in the amount of pollutant purification.

Material and methods: In this regard, in order to investigate the uptake and accumulation of heavy metals by plants, an experiment was conducted in a completely randomized design with three replications using vetiver plant. Plants treated with industrial effluent and control plants were irrigated with municipal water. Also, pots

*Corresponding Author: *Email Address*. afshar@guilan.ac.ir
http://dx.doi.org/10.52547/envs.2022.1110
http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1401.20.3.13.6

containing soil without plants were considered to measure the amount of elements in the soil during the six-month experiment period, they were regularly irrigated with other pots with industrial effluent. In order to investigate the effect of irrigation with effluent on the yield of vetiver plant, after a six-month period of experiment, heavy element analysis and anatomical and physiological studies were performed on plants treated with industrial effluent and control plants. Transfer and accumulation factors, which are two important factors in measuring plant ability for phytoremediation, were also examined.

Results and discussion: The results of this study showed that among the most heavy metals in industrial effluents, which included zinc and chromium, most of the mentioned elements were stored in the roots of vetiver and less were collected in the aerial parts. Also, the results of physiological traits experiments showed that the factors of soluble sugars and proline in the treated plants increased compared to the control and the concentration of malondialdehyde in the treated plants decreased compared to the control. The results of root analyses in control and treated plants showed that root diameter, central cylinder diameter and number of vascular clusters in treated plants increased compared to the control.

Conclusion: Overall, the results of this study showed that in the process of absorption of heavy metals, changes were made in some anatomical and physiological traits of treated plants. Examination of transfer and bioaccumulation factors also showed that vetiver has the ability to absorb zinc and chromium through plant stabilization.

Keywords: Industrial effluent, Phytoremediation, Heavy metals, Vetiver plant.