

بررسی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان نخل مرداب (*Cyperus alternifolius*)، و تیور (*Chrysopogon zizanioides*) آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) تحت آبیاری با پساب شهری

ساره ابراهیمی نوکنده^۱، سید مهدی رضوی خسروشاهی^{۲*}، منصور افشار محمدیان^۳

چکیده

مقدمه: گیاه پالایی یک روش زیستی و مقرون به صرفه جهت حذف فلزات سنگین از خاک و محیط زیست آلوده می باشد و انتخاب گیاه مناسب به منظور گیاه پالایی با توجه به گسترش روزافزون آلودگی‌ها از جمله پساب‌های شهری، بسیار مهم است. **مواد و روش‌ها:** در این راستا آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و به مدت ۱۴ ماه در دانشگاه گیلان اجرا شد و شاخص انباشت فلزات (روی، کروم، سرب، مس، منگنز، نیکل، منیزیم) در سه گیاه نخل مرداب، تیور و آلوئه‌ورا تحت تیمار پساب شهری اندازه‌گیری شد و برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی این گیاهان نیز با هم مقایسه شدند. **نتایج و بحث:** نتایج نشان داد که تحت تیمار پساب شهری شاخص انباشت فلزات (*MAI*) در گیاه تیور و آلوئه‌ورا بیش‌تر از نخل مرداب بود. در هر سه گیاه مورد مطالعه شاخص‌های طول ریشه، طول اندام‌هوایی، زیست‌توده کل، شاخص جذب (*UI*) و شاخص تحمل (*TI*) نسبت به گیاه شاهد کاهش معنی‌داری داشتند و گیاه آلوئه‌ورا بیش‌ترین درصد کاهش را داشت. همچنین بالاترین درصد افزایش در قند محلول کل، محتوی فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، تانن کل و درصد بازدارندگی رادیکال آزاد *DPPH* در گیاه تیور مشاهده شد. بنابراین می‌توان گفت از نظر خصوصیات انباشت فلزات و ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بررسی شده، گیاه تیور موفق‌تر از بقیه بود.

واژه‌های کلیدی: شاخص انباشت فلز، فلزات سنگین، فلاونوئید کل، فنل کل، گیاه پالایی.

۱. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. (✉ ایمیل نویسنده مسئول: razavi694@gmail.com)
۳. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

مقدمه

از بزرگ‌ترین معایب دفن زائدات و پسماند، شیرابه تولیدی حاصل از آن در دفن‌گاه یا لندفیل است. شیرابه یا پساب، زهائی است که از سایت‌های دفن زباله خارج می‌شود و باعث آلودگی خاک، آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شود، به طوری که ورود حجم کمی از پساب به خاک و سفره آب زیرزمینی می‌تواند سطح وسیعی از این منابع را آلوده سازد (Wang et al., 2010). از جمله این آلودگی‌ها می‌توان به آلودگی فلزات سنگین اشاره کرد. واژه فلزات سنگین به فلزات و شبه فلزاتی که دارای عدد اتمی بالای ۲۰ و یا چگالی آن‌ها بیش از ۵ گرم بر سانتی متر مکعب می‌باشد، اطلاق می‌شود. البته برای تعریف این واژه به مفاهیمی چون سمیت و حضور پایدار در محیط زیست نیز استناد می‌شود، به طوری که همه فلزها و شبه فلزهای آسیب‌رسان و سمی (صرف نظر از عدد اتمی یا چگالی آن) با نام فلزات سنگین شناخته می‌شوند. سرب (Pb)، کادمیم (Cd)، نیکل (Ni)، روی (Zn)، آهن (Fe)، آرسنیک (As)، مولیبدن (Mo)، منگنز (Mn)، منیزیم (Mg)، کبالت (Co)، کروم (Cr)، مس (Cu)، جیوه (Hg)، نقره (Ag)، سلنیم (Se) از جمله این فلزات می‌باشند (Adriano, 2001).

محققان گزارش کرده‌اند که وجود فلزات سنگین در محیط زیست گیاهان، نوعی عامل تنش‌زا می‌باشد که باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شده و می‌تواند موجب کاهش توان رشد گیاه و در حالت شدیدتر باعث از بین رفتن گیاه شود (Gajic & Pavlovic, 2018; Ng et al., 2020). لذا در انتخاب و مقایسه گیاهان جهت گیاه‌پالایی در مناطق مختلف، باید به خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان نیز علاوه بر مسئله پالایش عناصر سنگین توجه کرد.

تاکنون تحقیقات زیادی در رابطه با اثر انواع پساب‌ها روی گیاهان و موضوع گیاه‌پالایی انجام شده است (Jalali & Hemati Matin, 2019; Kouhi & Moudi 2020; Petoussi and Kalogerakis, 2022; Placido & Lee, 2022). ولی نکته مهم آن است که اطلاعات این تحقیقات برای همه کشورها کاملاً مشابه و مستقیماً قابل استفاده نیست و محققان گیاه‌پالایی

در اروپا و آمریکا نیز اعلام نموده اند که در مورد پساب و گیاهان در هر منطقه به‌خصوص، باید مطالعات دقیق محلی انجام شود (Weinberg et al. 2004).

استان گیلان در شمال ایران دارای آب و هوای نیمه‌گرمسیری مرطوب و از نظر کشاورزی، استانی حاصل‌خیز است. جمعیت شهری در این استان روز به روز در حال افزایش است و پسماندهای شهری جای مناسبی برای تخلیه ندارند. به طوری‌که در برخی نقاط، پس از دفع زباله‌ها و جمع شدن آن‌ها روی هم، کوهی با ارتفاع زیادی از زباله ایجاد شده که پساب آن مستقیماً به رودخانه‌ها و مزارع و مناطق مسکونی سرازیر می‌شود.

با توجه به این‌که کاشت گیاهان با قابلیت گیاه‌پالایی خوب، در نزدیکی محل خروجی پساب، به عنوان کمربند سبز، عملی‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش به‌سازی می‌باشد و این روش می‌تواند علاوه بر زیبا سازی و تثبیت اراضی در برابر فرسایش‌های حاصل از باد و آب، منطقه آلوده را نیز پالایش کند، لذا در این مطالعه اثرات پساب شهری با تاکید بر برخی فلزات سنگین را بر سه گونه‌گیاهی شامل نخل مرداب (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) و تیور (*Cyperus alternifolius* L.) از خانواده جگن، و تیور (*Aloe vera* (L.) Burm.f.) از خانواده سریش را به عنوان عامل گیاه‌پالایی مورد بررسی قرار دادیم. علت انتخاب این گیاهان این بود که هر سه گونه مورد بررسی، همیشه سبز هستند و به راحتی در آب و هوای گیلان رشد می‌کنند (با اینکه بومی گیلان نیستند)، زیست توده بالایی تولید می‌کنند، سیستم ریشه‌ایی تقریباً وسیعی دارند، مورد تهاجم حیوانات قرار نمی‌گیرند و خطر ایجاد مسمومیت و یا تهاجم به مناطق دیگر را ندارند، مقاوم به شرایط نامساعد محیطی هستند و از طرفی، این سه گیاه تاکنون در منطقه آلوده مورد نظر در استان گیلان بررسی و مقایسه نشده بودند. لذا در این مطالعه به بررسی پتانسیل جذب و توانایی زیستی سه گیاه نخل مرداب، تیور، آلوئه‌ورا به عنوان یک گیاهان پالاینده برای حذف فلزات سنگین از خاک تحت تاثیر آلودگی پساب شهری در استان گیلان پرداخته شد و شاخص انباشت (هم‌زمان)

۴۰/ بررسی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان نخل مرداب ...

کل فلزات شامل: روی، کروم، سرب، مس، منگنز، نیکل، منیزیم و برخی ویژگی‌های رشد و نمو و فیزیولوژیکی آن‌ها ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه خاک و پساب

به منظور بررسی اثر پساب شهری بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا، آزمایش‌گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار، زیر فضای مسقف شیشه‌ای، در محوطه دانشکده علوم دانشگاه گیلان و شرایط دمایی محیط اجرا شد. در مدت انجام آزمایش، میانگین دمای هوا ۱۸/۲۵ و میانگین رطوبت هوا ۷۷/۲۵ بود (اداره کل هواشناسی استان گیلان). خاک مورد استفاده از منطقه‌ای در حاشیه جنگل سفارود واقع در استان گیلان از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر به‌طور تصادفی برداشت و الک شد. سپس خصوصیات فیزیکوشیمیایی (Walkley and Black, 1934; Richards 1954) (جدول ۱) و همچنین مقدار فلزات سنگین با استفاده از دستگاه Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) مدل (ARCOS, Spectro, Germany) در نمونه خاک اولیه و قبل از شروع آزمایش سنجش شد (Salt *et al.*, 1998; AL-Oud Saud, 2003) (جدول ۲). تیمارهای آزمایشی شامل دو گروه بودند: آب شهری به عنوان تیمار اول (شاهد)، تیمار دوم پساب زباله‌های شهری که از محل دفن زباله سراوان در استان گیلان برداشت شد. پساب به صورت ماهانه جمع‌آوری و در دبه‌های مخصوص و در سایه نگهداری می‌شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک اولیه (شاهد) (Nokande *et al.*, 2022).

Table 1. Physicochemical properties of primary soil (control)

بافت خاک	پتاسیم	فسفر	رس %	سیلت %	شن %	ازت کل %	کربن آلی %	اسیدیته گل اشباع	هدایت الکتریکی ds/m
	قابل جذب ppm	قابل جذب ppm							
لومی-شنی	۱۳۱	۱۳/۵	۱۴	۲۲	۶۴	۰/۲۸	۳/۱۹	۶/۶۳	۰/۸۸

جدول ۲- مقادیر فلزات سنگین در خاک اولیه (شاهد) (Nokande et al., 2022).

Table 2. The amounts of heavy metals in primary soil (control)

فلزات سنگین مورد بررسی	Zn	Cr	Pb	Cu	Mn	Ni	Mg
ppm	۱۶	۱۴	۸	۲۰	۲۴۰	۹	۲۴۰۰

آماده سازی گلدان‌ها

گیاهان سالم نخل‌مرداب، وتیور و آلونته‌ورا از محل‌های رشد و نمو آن‌ها در حوالی شهر رشت جمع‌آوری شدند و بوته‌های هم‌وزن پس از تقسیم‌بندی در گلدان‌های پلاستیکی به عرض ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر با ۱۱ کیلوگرم خاک الک شده کاشته شدند. برای جلوگیری از تاثیر تنش بر گیاهان و سازگاری با شرایط جدید، تمامی گیاهان آزمایشی به مدت ۴ هفته با آب شهری (هفته‌ای دو بار و هر بار ۳۰۰ میلی‌لیتر) آبیاری شدند. پس از یک ماه از شروع کشت، گلدان‌های شاهد با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب شهری و گلدان‌های تیمار با ۳۰۰ میلی‌لیتر پساب شهری ۲ بار در هفته به مدت ۱۴ ماه به طور جداگانه آبیاری شدند. در طول آزمایش، برگ‌هایی که در طی فصل رشد ریخته می‌شد نیز جمع‌آوری و خشک می‌شدند. به گیاهان اجازه داده شد در شرایط آب و هوای محیطی معمول زیر یک سقف شیشه‌ای رشد کنند. همچنین برای تعیین میزان کل عناصر اضافه شده از پساب به خاک، گلدان‌هایی با ۱۱ کیلوگرم خاک پر شده بدون گیاه در نظر گرفته و مانند گلدان‌های حاوی گیاهان آبیاری شدند.

برداشت خاک و گیاه

پس از گذشت ۱۴ ماه از شروع کشت، هر گلدان به آرامی برگردانده و خالی شد. مقداری از خاک هر گلدان نیز (پس از مخلوط و همگن کردن کل خاک) برداشت و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آن به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. همچنین خصوصیات pH و EC در

۴۲/ بررسی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان نخل مرداب ...

خاک نهایی (خاک گلدان‌های بدون گیاه) که تحت آبیاری آب شهری و پساب شهری قرار داشتند اندازه گیری شد (Richards, 1954; Uba *et al.*, 2009) که نتایج آن قبلاً منتشر شده است (Nokande *et al.*, 2022). برای pH مقادیر ۶/۵۷، ۵/۴۳ و برای EC مقادیر ۰/۷۹، ۸/۱۲ به ترتیب در تیمارهای آب شهری و پساب شهری می‌باشد.

ارزیابی طول ریشه، اندام‌هوایی و زیست توده کل

پس از برداشت کل گیاهان، اندازه‌گیری طول اندام ریشه و اندام‌هوایی انجام شد، سپس گیاهان ابتدا با آب معمولی شهری و سپس آب مقطر شستشو شدند. برای ارزیابی وزن خشک، اندام‌های گیاهان شاهد و تیمار در آون تحت دمای (میانگین) ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت (میانگین) ۹۶ ساعت خشک و سپس وزن شدند.

ارزیابی غلظت فلزات سنگین موجود در اندام گیاهان

اندام‌های (ریشه و اندام‌هوایی) خشک شده گیاهان توسط دستگاه آسیاب برقی کاملاً پودر شدند سپس با استفاده از دستگاه (ICP-OES)، غلظت نهایی فلزات سنگین در بخش‌های مختلف گیاهان و همچنین خاک سنجش شد (Salt *et al.*, 1998; AL-Oud, 2003). میزان کل عناصر فلزی که از طریق پساب شهری به صورت تیمار به گلدان‌ها داده شده بود، در جدول ۳ آمده است. با توجه به مطالعه قبلی ما (Nokande *et al.*, 2022) مقدار تمام فلزات اندازه‌گیری شده به غیر از عناصر کروم و نیکل، در گلدان‌های بدون گیاه (که جهت برآورد نهایی کل عناصر فلزی اضافه شده از پساب به خاک تعیبه شده بودند) از میزان استانداردهای جهانی بیشتر بودند (USEPA, 2005; WHO, 2000).

جدول ۳- مقادیر کل عناصر فلزی سنگین در خاک گلدان‌های شاهد (بدون گیاه) پس از پایان آزمایش و مقایسه با استاندارد خاک (USEPA, 2005; WHO, 2000).

Table 3. Total amount of heavy metals added to the soil, after 14 months, under different treatments (water and urban wastewater) and the standard rate of heavy metals in the soil (USEPA, 2005; WHO, 2000).

فلز سنگین ppm							نوع خاک
Mg	Ni	Mn	Cu	Pb	Cr	Zn	
۷۵۶۶/۶۷	۲۴	۶۶۳/۳۳	۷۹/۶۷	۵۲/۳۳	۴۲/۶۷	۱۱۷/۶۷	خاک پساب شهری
-	۳۳/۷	۴۳۷	۳۰	۱۰	۶۵	۵۰	استاندارد خاک

شاخص انباشت فلزات (MAI) Metal accumulation index

با توجه به اینکه اندام‌های گیاهی قادرند هم‌زمان چند نوع فلز را در ساختار خود جمع کنند، شاخص انباشت فلزات (MAI) برای بررسی مقدار تجمع هم‌زمان فلزات (Pb, Cr, Zn) ، (Mg, Ni, Mn, Cu) در هر سه گیاه از طریق رابطه ۱ محاسبه شد. رابطه ۱:

$$MAI = \left[\frac{1}{N} \right] \sum_{j=1}^N I_j$$

در این رابطه N تعداد فلزات اندازه‌گیری شده که در این آزمایش برابر با ۷ بود، زا برای هر فلز از تقسیم میانگین غلظت فلز در اندام گیاه شامل ریشه و برگ (X) به مقدار انحراف معیار آن (δx) به دست آمد (Liu et al., 2007).

شاخص جذب Uptake index

برای محاسبه U، غلظت فلز در اندام هوایی گیاه ضربدر وزن خشک اندام‌هوایی گیاه شد (Bi et al., 2011; Zoufan et al., 2016).

شاخص تحمل Tolerance index

برای محاسبه TI، وزن خشک کل گیاه در خاک آلوده به فلز سنگین تقسیم بر وزن خشک کل گیاه در خاک شاهد شد (Kabata-Pendias, 2000; Ng *et al.*, 2020).

سنجش قند محلول برگ

برای این منظور، ۰/۵ گرم پودر بافت خشک اندام هوایی با ۱۰ میلی لیتر محلول اتانول ۸۵ درصد و در حمام آب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی جمع آوری شد. ۲ میلی لیتر از محلول رویی با ۱ میلی لیتر محلول فنل ۵ درصد مخلوط شد. سپس ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به محلول بالا اضافه شد و در نهایت پس از ۴۵ دقیقه، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت (Schlegel, 1956) و با کمک منحنی استاندارد میزان قندهای محلول در گیاهان تیمار و شاهد مشخص شد.

سنجش محتوی فنل کل

ابتدا ۰/۱ گرم از پودر بافت خشک اندام هوایی در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ عصاره‌گیری شد. به محلول حاصل ۱ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۵ میلی لیتر فولین ۵ درصد و ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. شدت جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی، خوانده شد (Ainsworth *et al.*, 2007). از غلظت‌های مختلف گالیک اسید جهت رسم نمودار استاندارد استفاده شد و در نهایت میزان فنل کل براساس میلی گرم بر گرم وزن خشک ($\text{mg g}^{-1} \text{DW}$) بیان شد.

سنجش فلاونوئید کل

۰/۲ گرم از پودر بافت خشک اندام‌هوایی در ۱۰ میلی لیتر متانول عصاره گیری شد. به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره، ۴/۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد تا حجم ۵ میلی لیتر به دست آمد. سپس ۰/۳ میلی لیتر NaNO_2 ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۵ میلی لیتر از AlCl_3 ۱۰ درصد اضافه شد. در نهایت ۲ میلی لیتر NaOH ۱ مولار و ۲ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و شدت جذب محلول در طول ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری شد (Chang *et al.*, 2002). در این سنجش با استفاده از غلظت‌های مختلف کاتچین نمودار استاندارد تهیه و در آخر میزان فلاونوئید کل براساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ($\text{mg g}^{-1} \text{DW}$) بیان شد.

سنجش آنتوسیانین کل

ابتدا ۰/۵ گرم پودر بافت خشک اندام‌هوایی با متانول اسیدی (به نسبت ۱ به ۹۹) عصاره‌گیری شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از رابطه ۲ استفاده شد (Masukasu *et al.*, 2003).

رابطه ۲:

$$A = \epsilon BC$$

در این رابطه A، جذب محلول، ϵ برابر با ضریب خاموشی $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ، B، مساوی با ۱ سانتی‌متر عرض کووت و C، غلظت محلول مورد نظر براساس میکروگرم بر گرم وزن خشک بود.

سنجش تانن کل

ابتدا ۱ میلی لیتر از عصاره متانولی با ۱۰۰ میلی گرم پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (PVPP) مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس مخلوط واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی در ۷۶۰ نانومتر

اندازه‌گیری شد. سپس میزان تانن کل از حاصل تفاضل میزان فنل کل و فنل فاقد تانن به دست آمد (Omidbaigi, 2008).

ارزیابی فعالیت مهار رادیکالهای آزاد DPPH

در این روش، توانایی دادن الکترون یا اتم هیدروژن توسط عصاره سه گیاه، از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش رنگ رادیکال ۲-و-۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در متانول، سنجیده شد. ابتدا ۰/۵ گرم از پودر بافت خشک اندام‌هوایی توسط متانول استیک اسید (نسبت ۸۵ به ۱۵) عصاره‌گیری و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه و با سرعت ۶۰۰۰) و بخش روشناور نمونه‌ها جداسازی شدند. مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ها داخل لوله‌های فالكون کوچک ریخته شد و ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌نرمال به آن‌ها اضافه شد. محلول حاصل به سرعت به هم زده شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. نمونه بلانک و استاندارد به ترتیب شامل ۱ میلی‌لیتر حلال استخراج و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH بود. سپس میزان جذب استاندارد و نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (Hatano *et al.*, 1988).

رابطه ۳:

$$\text{Antioxidant activity (DPPH\%)} = (A_{\text{cont}} - A_{\text{samp}}) / A_{\text{cont}} \times 100$$

DPPH% = درصد بازدارندگی رادیکال

DPPH = A_{cont} میزان جذب DPPH

A_{samp} = میزان جذب (نمونه + DPPH)

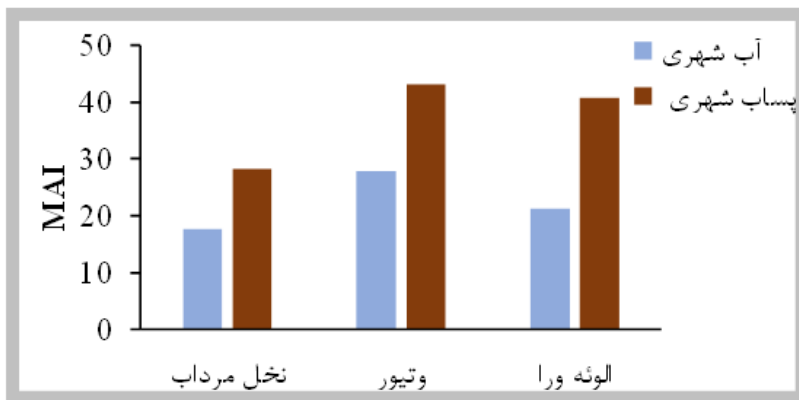
تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز واریانس برای هر یک از شاخص‌ها با استفاده از برنامه آماری (SPSS (24) آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال $P \leq 0/05$ انجام شد. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft excel 2019 رسم شدند.

نتایج و بحث

شاخص انباشت فلزات MAI

با توجه به نتایج شاخص انباشت فلزات Zn، Cr، Pb، Cu، Mn، Ni، Mg در گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا در پژوهش حاضر، مشخص شد که MAI هر سه گیاه، تحت تیمار پساب شهری بالاتر از تیمار شاهد بود (شکل ۱). بالاترین مقدار MAI در گیاه وتیور و در تیمار پساب شهری (۴۳/۲۲) مشاهده شد. مقادیر MAI به ترتیب در گیاه آلوئه‌ورا و گیاه نخل مرداب ۴۰/۷۶ و ۲۸/۳۰ بود. با توجه به اینکه عملکرد کلی گیاهان برای تجمع هم‌زمان عناصر فلزی بر اساس انحراف معیار آن در جذب فلز توسط MAI نشان داده می‌شود (Liu *et al.*, 2007) می‌توان گفت از نظر شاخص انباشت فلزات یا MAI بررسی شده در این تحقیق، گیاه وتیور عملکرد بهتری نسبت به گیاه آلوئه‌ورا و گیاه آلوئه‌ورا عملکرد بهتری نسبت به گیاه نخل مرداب داشت. گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین ناشی از پساب‌های شهری، دارای حساسیت و استراتژی‌های متفاوتی می‌باشند. میزان سمیت فلزات سنگین در گیاهان مختلف، متناسب با عواملی مانند نوع گیاه، مقدار فلز در پساب، نوع خاک و اقلیم، قابلیت دسترسی زیستی فلزات، میزان جذب فلز توسط گیاه و مقدار جابه‌جایی آن در اندام‌های گیاهی، تغییر می‌کند (Wang *et al.*, 2006; Usman *et al.*, 2005).



شکل ۱- شاخص انباشت فلزات (روی، کروم، سرب، مس، منگنز، نیکل، منیزیم) در کل گیاه (مجموع ریشه‌ها و اندام‌هوایی) نخل مرداب، وتیور، آلوئه‌ورا تحت تیمار آب شهری و پساب شهری.

Fig 1. Metal accumulation index (Zn, Cr, Pb, Cu, Mn, Ni, Mg) of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. under water and urban wastewater treatments.

مطالعات قبلی پیشنهاد کردند که گونه‌های گیاهی با ارزش MAI بالا باید به عنوان موانعی بین مناطق آلوده و آسیب پذیر مانند پارک‌ها و مناطق مسکونی استفاده شوند (Nadgorska-Socha *et al.*, 2017) اما بررسی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه در خاک به‌خصوصی که گیاه پالایی در آن صورت می‌گیرد، نیز یکی از ضروریاتی است که در تحقیقات گیاه پالایی مورد تاکید می‌باشد (Ruilian *et al.*, 2012). بر اساس نتایج آنالیز واریانس برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک در این تحقیق، (جدول ۴) مشاهده شد که اثر تک تیمار بر همه شاخص‌های آزمایش شده به غیر از قند محلول برگ در سطح اطمینان $P \leq 0.05$ معنی دار بود. اثر تک گونه نیز بر شاخص‌های طول ریشه، طول اندام هوایی، زیست توده کل، شاخص جذب، شاخص تحمل و محتوی فنل کل در سطح اطمینان ۵ درصد معنی دار بود. همچنین اثر متقابل تیمار و گونه گیاهی نیز در سطح اطمینان ۵ درصد بر شاخص‌های طول اندام‌هوایی، زیست توده کل، شاخص جذب، شاخص تحمل و محتوی فنل کل معنی دار بود.

جدول ۴- تجزیه واریانس تاثیر پساب شهری بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سه گیاه نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا^۱.

Table 4. The variance analysis of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f.

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول اندام‌هوایی	زیست‌توده کل	شاخص جذب (UI)	شاخص تحمل (TI)
تیمار	۱	*۹۴۴/۶۷	*۸۳۸۰/۸۰	*۰/۵۹	*۵۲۱۹۴۴/۹۶	*۰/۸۸
گونه‌گیاه	۲	*۴۸۹/۱۲	*۱۰۷۴۸/۶۶	*۰/۵۰	*۱۳۹۶۷۷۳/۷۴	*۰/۶۹
اثرمتقابل تیمار و گونه‌گیاه	۲	ns۸/۵۴	*۴۴۳/۸۰	*۰/۰۱	*۱۲۹۳۲۷۳/۴۹	*۰/۰۶
خطا	۱۲	۶/۷۲	۵۲/۴۰	۰/۰۰	۱۴۹۸۴/۵۹	۰/۰۰

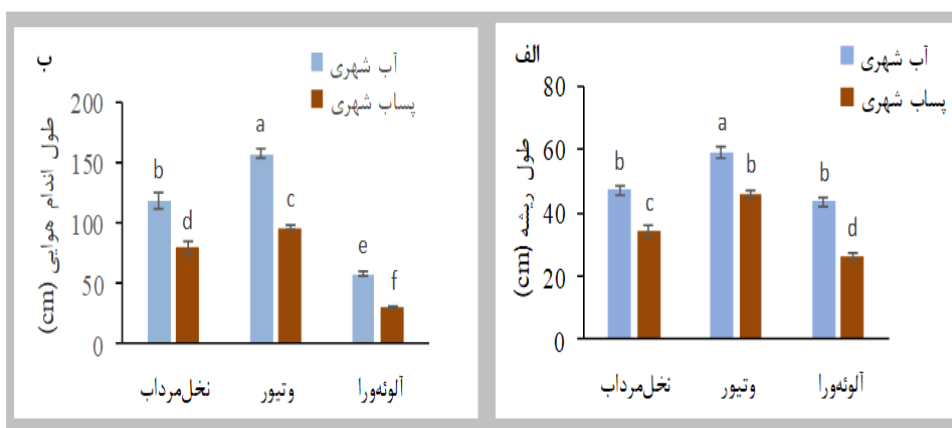
میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	قند محلول کل	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	تانن کل
تیمار	۱	ns۷۷۵/۹۴	*۰/۲۳	*۲۸/۵۰	*۰/۰۰	*۰/۲۵
گونه‌گیاه	۲	ns۲۲۳/۵۷	*۰/۰۲	ns۰/۳۵	ns۰/۰۰	ns۰/۰۱
اثرمتقابل تیمار و گونه‌گیاه	۲	۱۰۶۴/۴۷ ns	*۰/۰۱	ns۰/۵۴	ns۰/۰۰	ns۰/۰۱
خطا	۱۲	۳۴۳/۰۵	۰/۰۰	۰/۳۹	۰/۰۰	۰/۰۰

طول ریشه و اندام‌هوایی

بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین آزمون دانکن، بعد از ۱۴ ماه تیماردهی گیاهان با پساب شهری، از طول ریشه (شکل ۲- الف) و طول اندام‌هوایی (شکل ۲- ب) هر سه گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی‌داری کاسته شد. بالاترین درصد کاهش در طول ریشه و طول اندام‌هوایی مربوط به گیاه آلوئه‌ورا به ترتیب با ۳۹/۷۲ و ۴۸/۰۷ درصد کاهش بود. ریشه‌ها به عنوان اولین اندام جذب کننده آب و مواد غذایی، تاثیر زیادی در جذب آب و املاح دارند و عوامل مختلف محیطی از طریق تاثیر بر ریشه می‌توانند بر رشد گیاه اثر

۱. معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد (Significant at 0.05 probability level)

بگذارند. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدودکننده رشد ریشه است و کاهش رشد ریشه باعث تغییراتی در فعالیت‌های رشدی گیاه می‌شود. در این تحقیق آلودگی زیاد پساب شهری و همچنین بیشتر بودن MAI در گیاه آلوئه‌ورا ممکن است سبب عدم طویل شدن و گسترش مناسب سیستم ریشه‌ای و باعث کاهش سطوح جذب کننده مواد غذایی یا تغییر در ساختار غشا سلولی و کاهش جذب و محتوی آب شود که این امر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت موجب کاهش رشد در سایر قسمت‌های گیاه شود (Sharma and Dubey, 2005).



شکل ۲ - تاثیر پساب شهری بر الف) طول ریشه و ب) طول اندام‌هوایی گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا. در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $(P \leq 0.05)$ است.

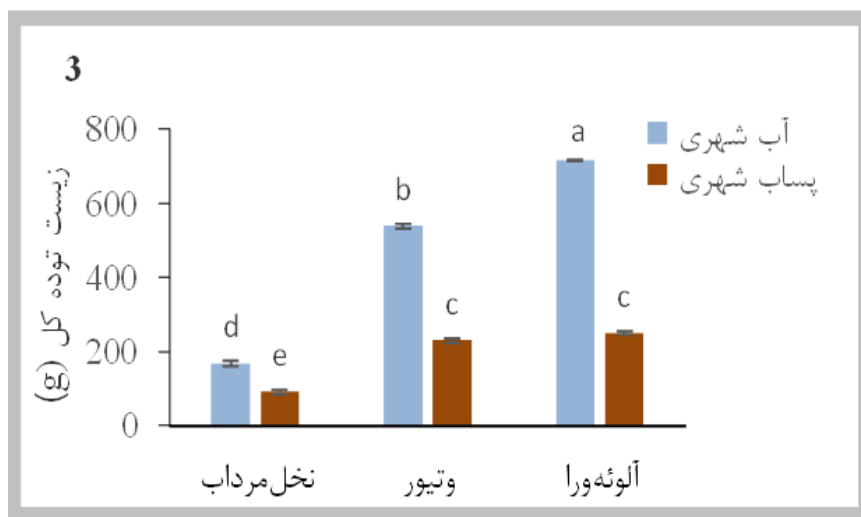
Figures 2. The effects of urban wastewater on (A) the root length and (B) shoot length of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

زیست توده کل

با توجه به شکل ۳، وزن خشک کل بوته در هر سه گیاه کاهش معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد خود داشت. کاهش زیست توده گیاهان بعد از ۱۴ ماه تیماردهی، برای گیاه آلوئه‌ورا ۶۵/۲۳ درصد، گیاه وتیور ۴۹/۴۵ درصد و برای گیاه نخل مرداب ۴۵/۲۷ درصد بود که نشان می‌دهد گیاه

آلوئه‌ورا کاهش بیش تری در زیست توده نسبت به گیاه شاهد خود داشته است. Malik و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که سطوح بالای فلزات در خاک، بسیاری از عملکردهای متابولیک گیاه را مهار می‌کند و در نتیجه باعث تاخیر در رشد و در نهایت باعث محدود شدن رشد ریشه و اندام‌های هوایی می‌شود. احتمالاً با افزایش تنش، میزان تولیدات گیاهی، اندازه سلول‌ها و در نتیجه وزن خشک اندام‌ها کاسته می‌شود (Yadollahi *et al.*, 2016). گزارش شده است که در پساب شهری، علاوه بر فلزات سنگین، ترکیبات آلی سمی دیگری نیز وجود دارد که مانع رشد گیاه شده و در نهایت باعث کاهش وزن خشک گیاهان می‌شود (Hosseini & Pourakbar, 2013; Ramirez-Sosa *et al.*, 2013; Mohsenzadeh *et al.*, 2016).

لازم به ذکر است که علاوه بر سمیت ناشی از فلزات سنگین و سایر ترکیبات موجود در پساب، مقادیر اضافی برخی عناصر غذایی نیز می‌تواند موجب کاهش تولید و تجمع زیست توده و در نتیجه کاهش وزن شود (Taiz & Zeiger, 2014; Mohsenzadeh *et al.*, 2016).



شکل ۳- تاثیر پساب شهری بر زیست توده کل گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا. در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (0.05) است.

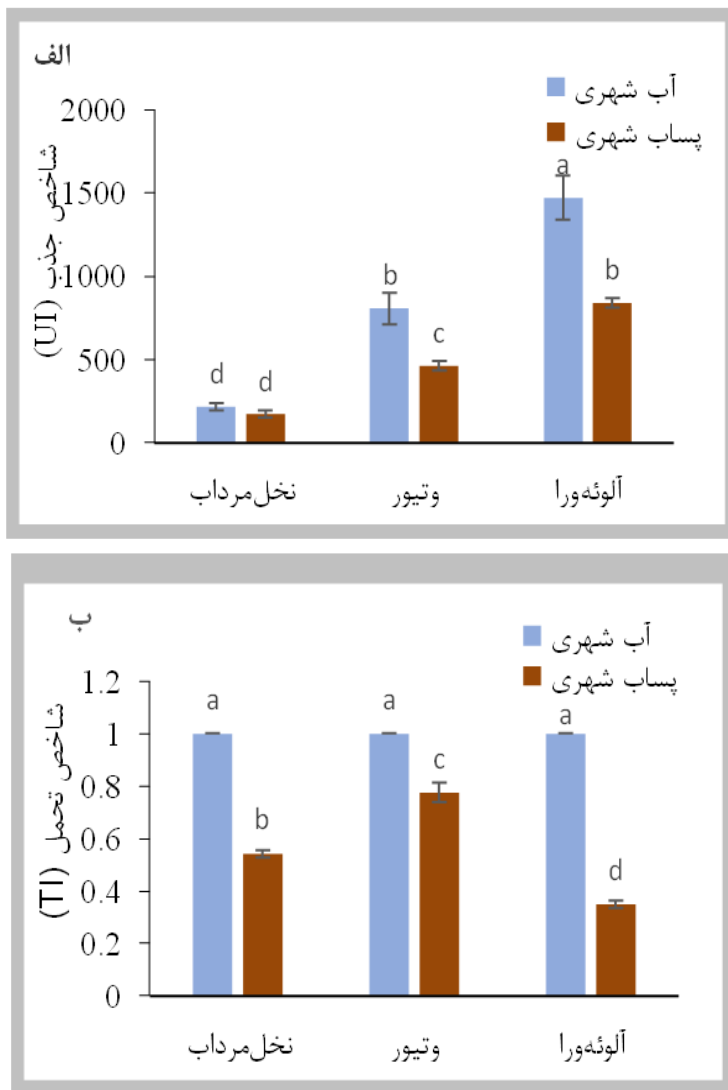
Figures 3. The effects of urban wastewater on biomass of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

شاخص جذب (UI)

بررسی شاخص UI با توجه به وزن خشک کل گیاه نشان داد که مقدار این شاخص در هر سه گیاه رشد یافته در پساب شهری با توجه به گیاه شاهد خود کاهش یافت (شکل ۴- الف). طبق نتایج این تحقیق، تحت تیمار پساب شهری نسبت به تیمار آب شهری گیاهان فلز بیش‌تری جذب کرده ولی همزمان وزن خشک گیاه نیز کم شده و به این ترتیب شاخص جذب (UI) هم عدد کمتری را نشان می‌دهد. بیش‌ترین درصد کاهش (۴۲/۹۱ و ۴۲/۸۸ درصد) در این شاخص به ترتیب در گیاه آلوئه‌ورا و وتیور مشاهده شد. مطالعات گذشته نشان دادند که غلظت فلزات در اندام‌گیاهی و تولید زیست‌توده گیاهی از مهم‌ترین عوامل برای تعیین راندمان گیاه که از طریق بررسی شاخص جذب می‌توان به آن دست یافت. البته در برخی مطالعات نیز از افزایش مقدار UI در تنش کم فلزات سنگین و کاهش مقدار UI در تنش شدید فلز سنگین گزارش شده است (Zoufan *et al.*, 2016 and 2018; Tahmasbian & Safari, 2016).

شاخص تحمل (TI)

با توجه به شکل ۴- ب، در هر سه گیاه با اثر پساب شهری به‌طور معنی‌داری از میزان TI کاسته شد. طبق نتایج تحقیق حاضر گیاه آلوئه‌ورا بیش‌ترین درصد کاهش (۶۶) و گیاه وتیور پایین‌ترین درصد کاهش (۲۳) را نسبت به گیاهان شاهد خود داشتند که نشان می‌دهد بین سه گیاه مورد مطالعه، گیاه وتیور شاخص تحمل بهتری داشت. در مطالعات دیگر نیز از پارامتر TI برای ارزیابی حساسیت گیاه در تنش فلزات سنگین استفاده شده است (Moradi & Sadaghiani, 2019; Ng *et al.*, 2020) و کاهش شاخص تحمل در تنش‌های شدید به‌خصوص تنش هم‌زمان چند فلز نسبت به تنش یک فلز گزارش شده است (Ng *et al.*, 2020).



شکل ۴- تاثیر پساب شهری بر الف) شاخص جذب و ب) شاخص تحمل گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا. در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی دار در سطح احتمال $(P \leq 0.05)$ است.

Figures 4. The effects of urban wastewater on (A) the uptake index and (B) tolerance index of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. . Different letters)The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

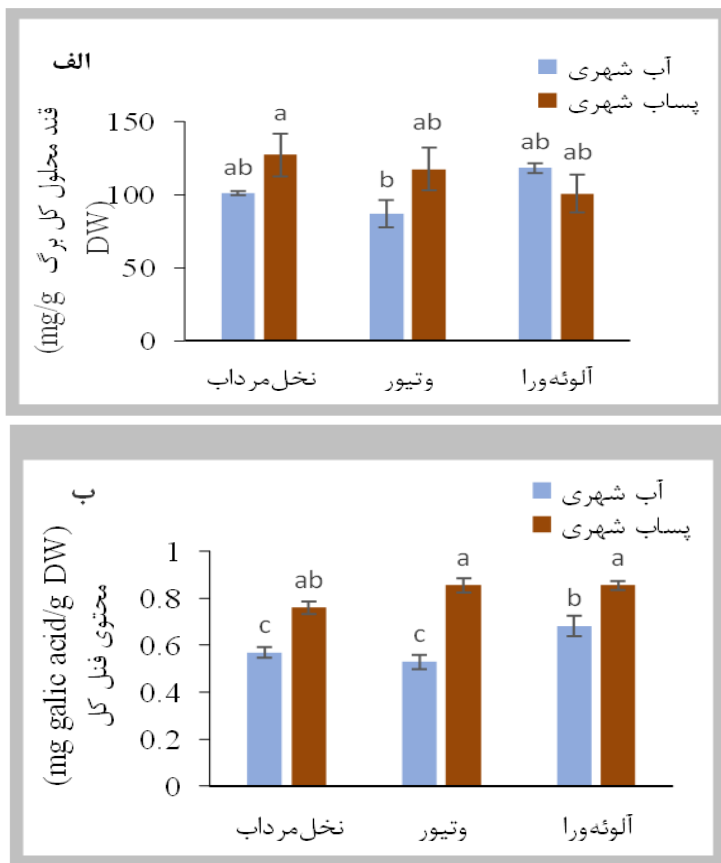
قند محلول کل

طبق شکل ۵- الف، سه گیاه بررسی شده، الگوی مشابهی در تغییرات قند محلول کل برگ نداشتند، به طوری که قند محلول کل در گیاهان نخل مرداب و وتیور به ترتیب افزایش ۲۵/۷۹ و ۳۵/۵۲ درصدی داشت و در گیاه آلوئه‌ورا کاهش ۱۴/۸۷ درصدی مشاهده شد. تجمع قند به‌عنوان نتیجه‌ای از تنش فلزات سنگین گزارش شده است که می‌تواند به مقاومت گیاه در برابر تنش کمک کند (Turakainen *et al.*, 2004; Hajiboland *et al.*, 2014;) (Aghaei *et al.*, 2019; Farjadi & Norastehnia, 2021). با توجه به نتایج به نظر می‌رسد این افزایش احتمالا مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط تنش فلزات سنگین است. از طرفی با افزایش قندهای محلول، گیاه می‌تواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (WJeddi *et al.*, 2021; Turakainen *et al.*, 2004). البته مطالعاتی نیز از کاهش قند محلول گیاهان در تنش شدید و یا بلند مدت موجود است (Grace *et al.*, 2008). بنابراین همه گیاهان در شرایط تنش، تجمع قند ندارند (zan *et al.*, 2007).

محتوی فنل کل

با توجه به شکل ۵- ب، تحت تیمار پساب شهری، محتوی فنل کل در هر سه گیاه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. بالاترین درصد افزایش (۶۵/۸۴ درصد) مربوط به گیاه وتیور بود و بعد از آن نخل مرداب و آلوئه‌ورا با درصد افزایش ۳۵/۸۴ و ۲۸/۱۷ قرار داشتند. در تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین، افزایش سطوح ترکیبات فنلی گزارش شده است (Kumar *et al.*, 2019; Mishra & Singh, 2019; Farjadi & Norastehnia, 2021; Mohammadi *et al.*, 2022). افزایش ترکیبات فنلی در تیمار پساب احتمالا برای مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در تنش است. ترکیبات فنلی رایج‌ترین و وسیع‌ترین گروه از متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات دفاعی بررسی شده در گیاهان هستند. گیاهان تحت تنش، مکانیسم‌های دفاعی خاصی را از قبیل افزایش غلظت فنل کل در برابر استرس

اکسیداتیو به کار می‌گیرند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از ویژگی اکسیداسیون-احیای آن‌هاست که می‌تواند نقش مهمی در جذب و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد داشته باشد و مانع پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی شود (Joyce et al., 2005; Turumtay et al., 2014).



شکل ۵- تاثیر پساب شهری بر الف) قند کل محلول و ب) محتوی فنل کل گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا. در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) است.

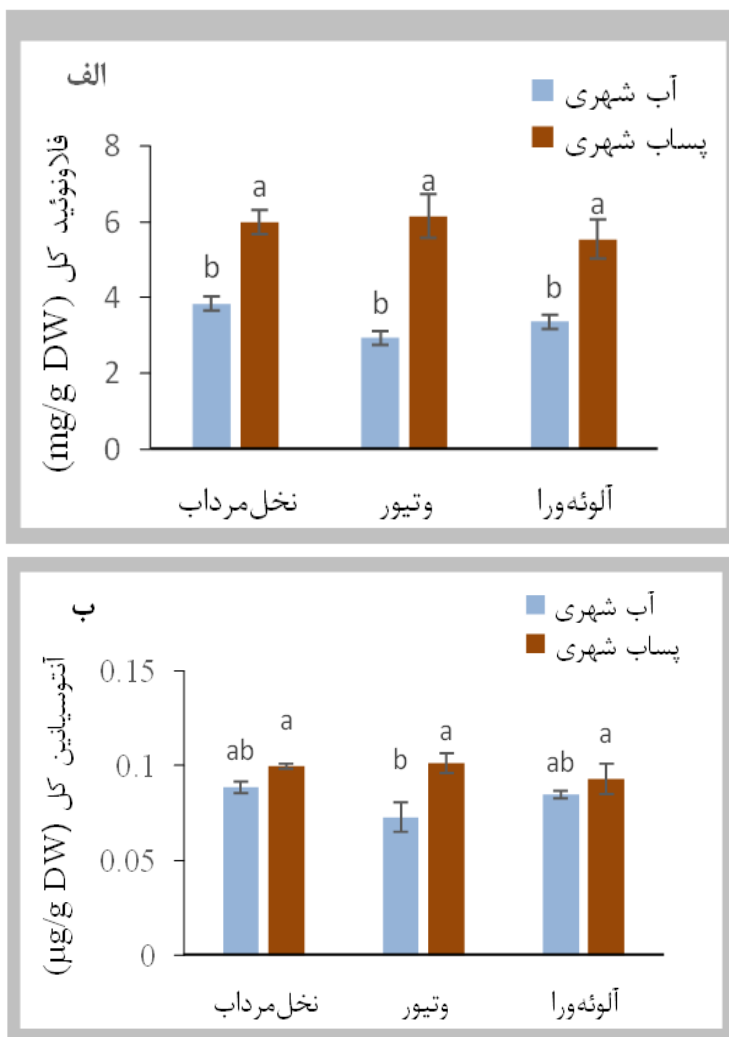
Figures 5. The effects of urban wastewater on (A) the total soluble sugar and (B) total of *Cyperus alternifolius* L, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and phenol contents. The data represents the average of three replicates \pm standard *Aloe vera* (L.) Burmf. error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

فلاونوئید کل

بر اساس نتایج، هر سه گیاه مورد بررسی در تغییرات میزان فلاونوئید کل، افزایش معنی داری نسبت به گیاه شاهد خود داشتند. در مطالعات گذشته نیز، افزایش فلاونوئید کل در تنش فلزات سنگین گزارش شده است (Farjadi & Norastehnia, 2021). با توجه به شکل ۶-الف، بالاترین افزایش در میزان فلاونوئید کل در گیاه وتیور مشاهده شد که به حدود سه برابر مقدار شاهد خود رسید. کمترین افزایش در میزان فلاونوئید کل مربوط به گیاه نخل مرداب (۲۶/۵۵ درصد) بود. به نظر می رسد که هر سه گیاه مورد مطالعه در زمان تنش به علت تضعیف شدن سیستم ایمنی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی خود را افزایش دادند. فلاونوئیدها جزو ترکیبات فنلی می باشند که می توانند به عنوان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی، خاموش کننده و حذف کننده رادیکال های آزاد اکسیژن در گیاهان عمل کنند. گزارش شده است گیاهان با تولید فلاونوئیدها و تجمع آن در لایه های اپیدرمی برگ و ساقه، می توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو در پی تنش های محیطی شوند (Joyce et al., 2005).

آنتوسیانین کل

میزان آنتوسیانین کل نیز در گیاهان وتیور، نخل مرداب و آلوئه ورا تحت تیمار پساب شهری افزایش یافت. به طوری که به ترتیب افزایش ۲۷/۴۰، ۵/۱۲ و ۲/۹ درصدی نسبت به شاهد خود داشتند شکل (۶-ب). متداول ترین گروه فلاونوئیدهای رنگیزه ای، آنتوسیانین ها هستند که نه تنها رادیکال های آزاد را از بین می برند، بلکه می توانند از تولید بیشتر آن ها در گیاه جلوگیری کنند. گیاهان با تولید و تجمع آنتوسیانین در لایه های اپیدرمی می توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو شوند (Hare & Cress, 2007; Mishra & Singh, 2019).



شکل ۶- تاثیر پساب شهری بر الف) محتوی فلاونوئید کل و ب) آنتوسیانین کل در برگ گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا.

در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (۰.۰۵) است.

Figures 6. The effects of urban wastewater on (A) the total flavonoids and (B) total of *Cyperus alternifolius* L, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and anthocyanins
The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

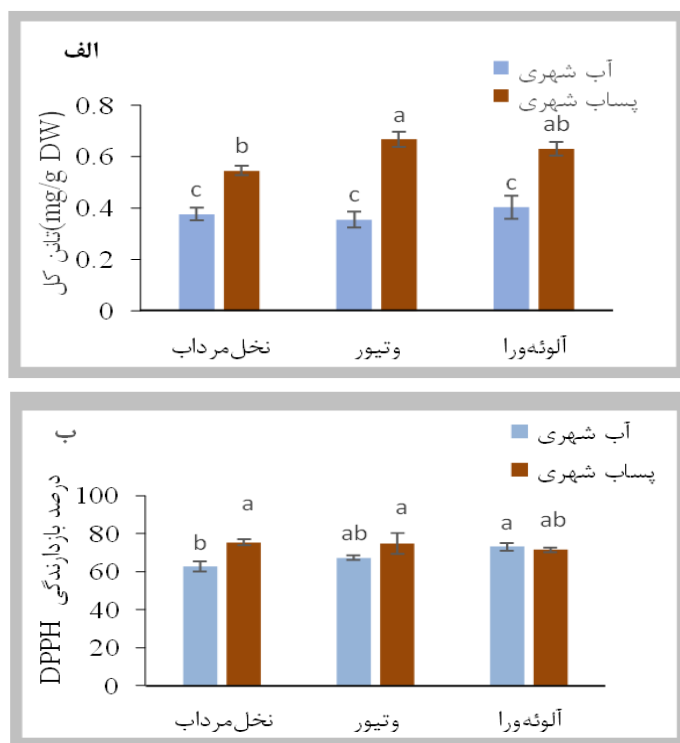
تانن کل

در هر سه گیاه مورد مطالعه، میزان تانن کل به طور معنی داری تحت تیمار پساب شهری افزایش یافت. بیشترین درصد افزایش در میزان تانن نسبت به گیاه شاهد در گیاه وتیور با ۸۸/۵۷ درصد مشاهده شد و پس از آن، گیاه آلوئه‌ورا با ۵۷/۵ درصد افزایش در رتبه دوم قرار داشت (شکل ۷-الف). تانن کل نیز همانند فنل کل، جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که در سطوح بالای تنش‌های محیطی می‌تواند افزایش یابد و نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند. تانن‌های گیاهی در تنش فلزات سنگین و از نظر کلات شدن با فلزات سنگین مورد توجه محققین هستند (Lavid *et al.*, 2001). گزارش شده است که تانن‌های موجود در گیاهان می‌توانند به عنوان جاذب رنگ‌ها، سورفکتانت‌ها و محصولات شیمیایی داخل پساب‌ها عمل کنند (Kavitha *et al.*, 2020).

فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

نتایج نشان داد که تیمار پساب شهری باعث ایجاد تغییرات معنی داری در درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH یا میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد. در گیاهان نخل مرداب و وتیور به ترتیب افزایش ۲۰/۳۱ و ۱۱/۲۲ درصدی در میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH مشاهده شد (شکل ۷-ب). در تحقیقات دیگر نیز افزایش درصد بازدارندگی در تنش‌های محیطی از جمله فلزات سنگین گزارش شده است (Mishra & Singh, 2019; Arsenov *et al.*, 2021; Jeddi *et al.*, 2021). اما در گیاه آلوئه‌ورا کاهش ۲/۲۱ درصدی (نسبت به گیاهان شاهد خود) در میزان درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH ایجاد شد. در برخی مطالعات نیز در تنش‌های شدید محیطی، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (Nokandeh *et al.*, 2015). به طور کلی تنش‌های غیرزیستی مسیرهای درگیر در بیوسنتز سه گروه اصلی از متابولیت‌های ثانویه شامل ترپن‌ها، فنل‌ها و ترکیبات حاوی نیتروژن را تحت تاثیر قرار می‌دهند و احتمالاً از این طریق مقادیر آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش و یا کاهش می‌دهند (Erturk *et al.*, 2007; Kabiri *et al.*, 2017; Mishra & Singh, 2019); تغییرات

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دیده شده در دو گیاه وتیور و نخل مرداب مشابه با تغییرات میزان فنل کل بود که در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است که افزایش غلظت ترکیبات فنلی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال آزاد افزایش می‌دهد. اما در گیاه آلوئه‌ورا علی‌رغم افزایش فنل، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان افزایش معنی‌داری نداشت که می‌توان آن را به تفاوت در ساختار شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی دانست و ممکن است با وجود بالا بودن میزان فنل (فنل‌های با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کم)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم شده باشد (Klimczak et al., 2007; Nokandeh et al., 2015).



شکل ۷- تاثیر پساب شهری بر الف) تانن کل و ب) درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH در برگ گیاهان نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا.

در نمودار مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیان‌گر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $(P \leq 0.05)$ است.

Figures 7. The effects of urban wastewater on (A) the total tannins and (B) DPPH radical-scavenging percentage of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p \leq 0.05$.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس داده‌های به‌دست آمده از عوامل بررسی شده در این تحقیق، هر سه گیاه نخل مرداب، وتیور و آلوئه‌ورا توانایی انباشت فلز را داشتند، اما دو گیاه وتیور و آلوئه‌ورا از نظر شاخص انباشت هم‌زمان فلزات نسبت به گیاه نخل مرداب موفق‌تر بودند و به نظر می‌رسد به طبع انباشت فلز زیاد، تحت تنش بیش‌تری نسبت به گیاه نخل مرداب قرار گرفتند. طبق نتایج، گیاه آلوئه‌ورا تحت تیمار پساب شهری در خصوصیات مورفولوژیکی، زیست‌توده کل، شاخص جذب، شاخص تحمل و همچنین قند کل، درصد کاهش بیش‌تری نشان داد و گیاه نخل مرداب و وتیور بهتر بودند. علاوه بر این، نتایج عوامل بررسی شده نشان داد که گیاه وتیور در عین این‌که انباشت فلز بیش‌تری در تیمار پساب شهری داشت و در پالایش موفق بود، توانست با بالا بردن قند محلول کل، فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، تانن کل و درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH، مقاومت بهتری داشته باشد. بنابراین در رتبه اول وتیور به عنوان گیاه پالایشگر برای کشت و ایجاد کمربند سبز در خاک پساب شهری سراوان پیشنهاد می‌شود. البته با توجه به پالایش قابل توجه فلزات در گیاه آلوئه‌ورا، همچنین پیشنهاد می‌شود از گیاه آلوئه‌ورا برای کشت و ایجاد کمربند سبز در خاک آلوده مسیرهای خروجی پساب شهری (با فاصله دورتری از محل اصلی دفن زباله شهری سراوان) استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از کلیه افرادی که در انجام این تحقیق آن‌ها را یاری کردند، اعلام دارند.

عدم تعارض منافع

در این راستا منافع تجاری وجود ندارد و نویسندگان در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده‌اند.

منابع

- Adriano, D. C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments; Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer-Verlag, New York.
- Ainsworth, E. A. and Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent, Nature Protocols, 2(4): 875-877.
- Aghaei, K., Rahkhoravani, B., Moghanlu, L. and Ghotbi Ravandi, A. A. (2019). Study of the effect of cadmium accumulation on some physiological and biochemical characteristics of basil plants (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Plant Process and Function, 8 (33):107-122. (In Persian).
- AL-Oud Saud, S. (2003). Heavy Metal Contents in Tea and Herb Leaves. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 208-21.
- Arsenov, D., Zupunski, M., Pajević, S., Nemes, I., Simin, N., Alnuqaydan, A. M. and Mimica-Dukic, N. (2021). Roots of *Apium graveolens* and *Petroselinum crispum*-Insight into phenolic status against toxicity level of trace elements. Plants, 10(9): 1785.
- Bi, R., Schlaak, M., Siefert, E., Lord, R. and Connolly, H. (2011). Influence of electrical fields (AC and DC) on phytoremediation of metal polluted soils with rapeseed (*Brassica napus*) and tobacco (*Nicotiana tabacum*). Chemosphere, 83:318–26.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182.
- Erturk, U., N. Sivritepe, C. Yerlikaya, M. Bor, F. Ozdemir and I. Turkan. (2007). Responses of the cherry rootstock to salinity in vitro. Biologia Plantarum, 51: 597-600.
- Farjadi, M. and Norastehnia, A. (2021). The effects of heavy metal mercury on some physiological responses in *Nicotiana Tabacum*. Nova Biologica Reperta, (8): 118-129. (In Persian).
- Grace, O. M., Simmon, M. S. J., Smith, G. F. and Van Wyk, A. E. (2008). Therapeutic uses of *Aloe* L (Asphodelaceae) in Southern Africa. Journal Ethnopharmacology, 119,604-614.
- Hare, P.D. and Cress, W.A. (2007). Metabolic implications of stress-induced accumulation in plants. Plant Growth Regulation, 21:79–103.
- Hatano, H. K. T., Yasuhara, T. and Okuda, T. (1989). Two new flavonoids and other constituents in licorice root their relative astringency and radical scavenging effect. Chemistry and Pharmacology Bulletin, (36): 1090-1097.

- Hajiboland, R., Keyvanfar, N., Joudmand, A., Rezaee, h. and Yousefnejad, m. (2014). Effect of selenium Treatment on Drought Tolerance of Canola Plants. Iranian Journal of Biology, 27(4): 557-568. (In Persian).
- Hosseini, Z. and Pourakbar, L. (2013). Investigation of interaction between zinc and organic acid (malic acid, citric acid) on antioxidant responses in *Zea mays* L. Journal of Plant Biology, 16: 1-12. (In Persian).
- Jalali, M. and Hemati Matin, N. (2019). Nutritional status and risks of potentially toxic elements in some paddy soils and rice tissues. International Journal of Phytoremediation, 18: 1-9.
- Jeddi, K., Siddique, K. H., Chaieb, M., and Hessini, K. (2021). Physiological and biochemical responses of *Lawsonia inermis* L. to heavy metal pollution in arid environments. South African Journal of Botany, 143: 7-16.
- Joyce, C., Pennycooke, S. and Stushnoff, C. (2005). Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in *Petunia*, (*Petunia* × *hybrida*). Environmental and Experimental Botany, 53: 225-232.
- Kavitha, V. U. and Kandasubramanian, B. Tannins for wastewater treatment. (2020). SN Applied Sciences, 2: 1081 (2020).
- Kibria, M. Gh. and Hoque, Md. (2017). Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. Rice Science, 24: 155-162.
- Klimczak, I., Maecka, M., Szlachta, M. and Gliszczyn, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. Journal of Food Composition and Analysis, 20: 313-322.
- Kouhi, S. M. M. and Moudi, M. (2020). Assessment of phytoremediation potential of native plant species naturally growing in a heavy metal-polluted saline-sodic soil. Environmental Science and Pollution Research, 27(9): 10027-10038.
- Kumar, V., Sharma, A., Kohli, S. K., Bali, S., Sharma, M., Kumar, R. and Thukral, A. K. (2019). Differential distribution of polyphenols in plants using multivariate techniques. Biotechnology Research and Innovation, 3(1): 1-21.
- Lavid, N., Schwartz, A. and Yarden, A. (2001). The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (*Nymphaeaceae*). Planta, 212: 323-331.
- Ling, W., Shen, Q., Gao, Y., Gu, X. and Yang, Z. (2008). Use of bentonite to control the release of copper from contaminated soils. Soil Research, 45(8): 618-623.
- Liu, Y. J., Zhu, Y. G. and Ding, H. (2007). Lead and cadmium in leaves of deciduous trees in Beijing. China: development of a metal accumulation index (MAI). Environmental Pollution, 145: 387-390.

- Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. (2003). Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. *Plant Science*, 164: 2: 259 - 265.
- Mishra, B. and Singh Sangwan, N. (2019). Amelioration of cadmium stress in *Withania somnifera* by ROS management: active participation of primary and secondary metabolism. *Plant Growth Regul*, 87: 403-412.
- Mohammadi, S., Pourakbar, L., Moghaddam, S. S. and Popovic-Djordjevic, J. (2021). The effect of EDTA and citric acid on biochemical processes and changes in phenolic compounds profile of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) under mercury stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208: 111607.
- Mohsenzadeh, S., Naderi, N. and Nazari, M. (2016). Physiological responses of *Vetiver zizanioides* to municipal waste leachate. *Plant Biology*, 8 (28): 79-96.
- Moradi, N. and Rasouli-Sadaghiani, M. (2019). The assessment of the potential of two rangeland plants for absorption and accumulation of lead (Pb) in a contaminated calcareous soil. *Journal of Agricultural Engineering Soil Science and Agricultural Mechanization. Scientific Journal of Agriculture*, 42(2), 115-130.
- Nakbanpote, W., Panitlertumpai, N., Sukadeetad, K., Meesungneon, O., and Noisanguan, W. (2010). Advances in phytoremediation research: a case study of *Gynura pseudochina* (L.) DC. *Advanced knowledge application in practice. Sciyo, Croatia*. 353-378.
- Ng, C. C., Boyce, A. N., Abas, M. R., Mahmood, N. Z. and Han, F. (2020). Evaluation of vetiver grass uptake efficiency in single and mixed heavy metal contaminated soil. *Environmental Processes*, 7(1): 207-226.
- Nokandeh, S. E., Mohammadian, M. A., Damsi, B. and Jamalomidi, M. (2015). The effect of salinity on some morphological and physiological characteristics of three varieties of (*Arachis hypogaea* L.). *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 16(4), 498-507.
- Nokande, S.E., Razavi, S.M. and Mohammadian, M.A. (2022). The capacity of heavy metal remediation by *Cyperus alternifolius*, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, and *Aloe vera* (L.) Burm.f. under industrial and urban wastewater treatment. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 21(4): e2022057.
- Omidbaigi, R. (2008). Production and processing of medicinal plants. 1st Ed, Beh-Nashr publication. Mashhad. pp: 112.
- Petoussi, M. A. and Kalogerakis, N. (2022). Olive mill wastewater phytoremediation employing economically important woody plants. *Journal of environmental management*, 302: 114076.
- Pilon Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 15–39.

- Placido, D. F. and Lee, C. C. (2022). Potential of industrial hemp for phytoremediation of heavy metals. *Plants*, 11(5): 595.
- Ramirez-Sosa, D. R., Castillo-Borges, E. R., Mendez-Novelo, R. I., Sauri-Riancho, M. R., Barcelo-Quintalb, M. and Marrufo-Gomez, J. M. (2013). Determination of organic compounds in landfill leachates treated by Fenton-Adsorption. *Waste Management*, 33: 390-395.
- Richards, L. A. (1954). *Agriculture, Handbook, phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens**. Plant and Soil. US Department of Agriculture, Washington.
- Salt, D. E., Smith, R. D. and Raskin, I. (1998). Phytoremediation: Annual Rev Plant Physiology. *Plant Molecular Biology*, 49: 643–668.
- Schlegel, H. G. (1956). Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. *Planta*, 47: 510-515
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Journal of Plant Physiology*, 17(1): 35–52.
- Tahmasbian, I. and Safari Sinegani, A. A. (2016). Improving the efficiency of phytoremediation using electrically charged plant and chelating agents. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3): 2479-2486.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2014). *Plant physiology*. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Turakainen, M., Hartikainen, H. and Seppanen, M. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 52: 5378–5382.
- Turumtay, E. A., İslamoglu, F., Cavus, D., Sahin, H., Turumtay, H. and Vanholme, B. (2014). Correlation between phenolic compounds and antioxidant activity of Anzer tea (*Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*). *Industrial Crops and Products*, 52: 687-694.
- Uba, S., Uzairu, A. and Okunola, O. J. (2009). Content of heavy metals in Lumbricus Terrestris and associated soils in dump sites. *International Journal of Environmental Research*, 3(3): 353- 358.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2005). United States of Environmental Protection Agency. Office of Water Regulations and Standards. EPA 440/5-86-001, p. 273.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2021). <http://www.epa.gov/hw/household-hazardous-waste-hhw>.
- Usman A., Kuzyakov, Y. and Stahrk, L. a. (2005). Effect of immobilizing substances and salinity on heavy metals availability to wheat grown on sewage sludge-contaminated soil. *Soil and Sediment Contamination*, 14: 329-344.

- Walkley, A. and Black, I. A. (1934). An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1): 29-38.
- Wang, L. J., Fan, L., Loescher, W. Duan, W., Liu, G. J., Cheng, J. S., Luo, H. B. and Li, S.H. (2010). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC plant biology*, 10 (1): 34.
- Weinberg, Z. G., Ashbell, G., Chen, Y., Gamburg, M. and Sela, S. (2004). The effect of sewage irrigation on safety and hygiene of forage crops and silage. *Animal feed science and technology*, 116(3-4); 271-280.
- WHO. (2000). Safety evaluation of certain food additives and contaminants. International Programme on Chemical Safety. WHO Food Additive Series 52.
- Yadollahi, P., Asgharipour, M. and Golshani, F. (2016). Effect of foliar application of Humic Acid on *Aloe vera* (*Aloe vera* L.) In Cadmium Contaminated Soil. *Journal of plant process and function*, 4: 51-59 (In Persian).
- Zoufan, P., Shiralipour, N. and Rastegharzadeh, S. (2016). Investigation of uptake and accumulation of zinc in *Malva parviflora*: a population collected from areas surrounding production industries of steel in Ahvaz. *Journal of Plant Process and Function*, 5 (15): 43-56
- Zoufan, P., Shiralipour, N. and Rastegharzadeh, S. (2018). Assessment of some growth indices and Cd accumulation in shoots and roots of *Malva parviflora* L. under hydroponic system. *Iranian Journal of Biology* .31(2), 316-331. (In Persian).
- Zan, M. J., Chang, H. W., Zhao, P. L. and Wei, J. G. (2007). Physiological and ecological characters studies on *Aloe vera* under soil salinity and seawater irrigation. *Process Biochemical*, 42: 710-714.

Investigation of some morphological and physiological characteristics of *Cyperus. alternifolius*, *Chrysopogon zizanioides* and *Aloe vera* irrigated with urban wastewater

S. Ebrahimi Nokande¹, S. M. Razavi Khosrowshahi^{2*}, M. Afshar Mohammadian³

Received: 2022.9.4

Accepted: 2023.1.21

Abstract

Introduction: Phytoremediation is a cost-effective and environmentally friendly method to remove heavy metals from contaminated soil and the environment and choosing the right plant for phytoremediation is important considering the increasing expansion of urban wastewater. In this regard, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with three replications for 14 months at Guilan University. **Methods:** In this study, the accumulation index of metals (MAI) including zinc, chromium, lead, copper, manganese, nickel, and magnesium was measured in three plants of *Cyperus alternifolius* L., *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty and *Aloe vera* (L.) Burm.f. treated with urban wastewater, and some of their morphological and physiological characteristics were compared. **Results & discussion:** The results showed that under urban wastewater treatment, the MAI in *C. zizanioides* and *A. vera* was higher than in *C. alternifolius*. In all three studied plants, the indices of root length, shoot length, total biomass, uptake index (UI), and tolerance index (TI) were significantly reduced compared to the control plant, and *A. Vera* had the highest percentage of reduction. Also, the highest percentage of increase in total soluble sugar, total phenol, total flavonoid, total anthocyanin, total tannin, and DPPH radical-scavenging percentage was observed in *C. zizanioides*. Therefore, it can be said that *C. zizanioides* was more successful in terms of metal accumulation and morphological and physiological characteristics.

Keywords: *Flavonoid, Heavy metals, Metal accumulation index, Phenol, Phytoremediation.*

1 . Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2 . Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(*Corresponding author: razavi694@gmail.com)

3 . Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht. Iran.