

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هشتم، شماره بیست و هشتم، تابستان ۱۳۹۵، صفحه ۷۹-۹۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۱۶

تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۸/۱۷

تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۱۱/۱۷

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۳/۲۲

## پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه *Vetiver zizanioides* به شیرابه پسماند شهری

ساسان محسن‌زاده\*، نادره نادری و مهدی نظری

بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

### چکیده

گیاه *Vetiver zizanioides* (وتیور) به دلیل تحمل به تغییرات اسیدیته خاک و دماهای متفاوت، رشد سریع توده زیستی و داشتن آستانه تحمل بالا در برابر ترکیبات آلی و غیرآلی از جمله فلزات سنگین موجود در شیرابه ناشی از عملیات دفن پسماند، گیاه مناسبی برای کاشت در دفن‌گاه پسماند است. در پژوهش حاضر، پاسخ‌های فیزیولوژیکی این گیاه به شیرابه پسماند شهری بررسی شد. از طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی استفاده و در هر بلوک پنج سطح تیمار با غلظت‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد نسبت به شیرابه اصلی پسماند قرار داده شد. شیرابه از منطقه دفن‌گاه شیراز جمع‌آوری و به گلخانه منتقل شد. در این بررسی، میزان سطح برگ، وزن خشک، کلروفیل، آنتوسیانین، پرولین، قندهای محلول و پروتئین کل اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان دادند که سطح برگ، وزن خشک، کلروفیل و آنتوسیانین با افزایش غلظت شیرابه کاهش می‌یابد، اما آب نسبی برگ، قندهای محلول و پروتئین کل با افزایش غلظت شیرابه افزایش یافت. میزان پرولین در غلظت ۱۵ درصد افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. در حالی که در غلظت‌های بالاتر شیرابه روند کاهشی را نشان داد. با توجه به نتایج، توصیه می‌گردد از شیرابه ۴۵ درصد که حداکثر غلظتی است که گیاه در آن زنده می‌ماند، پس از تصفیه مقدماتی جهت آبیاری گیاه وتیور در محیط دفن‌گاه پسماند شهری استفاده شود. اگر رشد بیشتر گیاه یا استفاده از مواد عطری ریشه گیاه مورد نظر باشد، شیرابه با غلظت‌های کمتر مناسب‌تر است.

**واژه‌های کلیدی:** پسماند شهری، دفن‌گاه، شیرابه، فلز سنگین، گیاه‌پالایی، *Vetiver zizanioides*

### مقدمه

(2006). نام عمومی وتیور در ایران، خاس یا بیخی‌والا و دست کاشت است و پراکندگی طبیعی در ایران ندارد (Greenfield, 1989). برگ‌ها و ساقه‌های افراشته و سفت وتیور می‌تواند تا ۳ متر ارتفاع بگیرد. این گیاه از

گیاه وتیور با نام علمی *Vetiver zizanioides* L. به طور گسترده‌ای در آفریقا، هند، میانمار، سریلانکا و جنوب شرقی آسیا پراکندگی دارد (Moore et al.,

\* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: mohsenzadeh@susc.ac.ir شماره تماس: ۰۷۱۳۶۱۳۷۳۱۳

Copyright©2016, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

سطح بالایی از آلاینده‌های سمی تعریف شده است (Farrokhi *et al.*, 2009). در مورد دفنگاه‌ها، آلودگی اصلی به علت تولید گازهای قابل اشتعال و شیرابه مایع است. هدایت جریان شیرابه‌ها به سوی گیاهان می‌تواند باعث مدیریت مناسب شیرابه و سم‌زدایی آن گردد (Jones *et al.*, 2006). شیرابه حاوی انواع گوناگونی ترکیبات آلی و غیرآلی است که می‌توانند محلول یا معلق باشند (Zulquer and Jawed, 2010). این ترکیبات خطرات جدی را متوجه منابع آب سطحی و زیرزمینی منطقه می‌سازد (Bila *et al.*, 2005). شاخص‌های متعددی بر تولید و ترکیب شیرابه تأثیر می‌گذارد. یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها وضعیت آب و هوای محل دفن است (Zvinowanda *et al.*, 2009). گیاهان مختلفی برای گیاه‌پالایی مورد آزمایش قرار گرفته است از جمله گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) که میزان جذب سرب در ریشه و اندام هوایی آن و در نهایت ارزیابی راندمان استخراج گیاهی سرب در این گیاه بررسی شده است (Rastghalam *et al.*, 2011). همچنین، اثر غلظت‌های مختلف پساب نفتی بر گیاه آکاسیا (*Acacia nilotica* L.) در مرحله گیاهچه‌ای انجام شده است (Rezazadeh *et al.*, 2011). به علاوه، اثر متقابل و رقابتی سرب و کادمیوم بر وزن خشک و میزان تجمع این عناصر با استفاده از ترکیبات غلظتی متفاوت سرب و کادمیوم در گیاه *Matthiola chenopodiifolia* بررسی شده است (Jamali Hajiani and Ghaderian, 2011). همچنین، میزان جذب و انباشتگی کروم در گیاه عدسک آبی در تنش غلظت‌های بالای کروم در دو نوع محیط کشت بررسی شده است (Moosavi Khattat and Lahoti, 2011).

تیره گندمیان است (Cheng *et al.*, 2003). این گیاه به آفات، بیماری‌ها و آتش‌سوزی بسیار مقاوم است و بلافاصله پس از اتمام تنش‌های خشکی، سرما، آتش و شوری شروع به رشد مجدد می‌نماید؛ همچنین، بدون نیاز به اصلاح خاک، تحمل زیادی به طیف وسیعی از اسیدیته خاک را دارد. آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها روی و تیور اثری ندارند و تجزیه مواد آلی مرتبط با آفت‌کش و علف‌کش‌ها را نیز انجام می‌دهد. و تیور تحمل سازگاری با اقلیم‌هایی با شرایط متفاوت همانند خشکی‌های طولانی مدت، سیلاب و غرقاب شدن را دارد؛ همچنین قادر است دمای تا ۵۰ درجه سانتیگراد را تحمل کند. دمای بهینه برای رشد و تیور ۲۵ درجه سانتیگراد است. در شرایط یخ‌زدگی، رشد هوایی آن از نوک سرشاخه‌ها شروع به از بین رفتن می‌کند. اما نقاط رشد زیرزمینی آن زنده می‌ماند (Truong *et al.*, 1996). گیاه و تیور ارزش خوراکی یا دامی ندارد اما از فرسایش خاک جلوگیری می‌کند. این گیاه یکی از گیاهان مورد استفاده در پروژه‌های مهندسی زیستی محسوب می‌شود. کارکرد خارق‌العاده و خواص ویژه این گیاه در حفاظت از خاک و حفظ و تقویت منابع آب، و تیور را به چهره‌ای جهانی تبدیل کرده است (Truong *et al.*, 1996). قسمت‌های قطور ریشه و تیور محتوی یک نوع اسانس است که در صنعت عطرسازی استفاده می‌شود (Moore *et al.*, 2006). تولید شیرابه یکی از پیامدهای عملیات دفن پسماند در دفنگاه (landfill) است، به طوری که یکی از مهم‌ترین مسایل در طراحی و بهره‌برداری از اماکن دفن پسماند، مدیریت شیرابه است (Wang *et al.*, 2008). شیرابه زباله، نوعی فاضلاب با غلظت بالایی از ترکیبات آلی و معدنی است و گاهی اوقات، فاضلابی با

## مواد و روش‌ها

**تهیه گیاه، خاک و تیمار دهی:** گیاه وتیور از شهرداری شیراز بخش پسماند شهری تهیه شد. ۳۰ عدد نهال همسان انتخاب و به گلدان‌های محتوای خاک دفنگاه از محیط غیر آلوده با وزن ۳۸ کیلوگرم در حالت خشک منتقل شد. طرح آماری مورد استفاده، بلوک‌های کامل تصادفی بود. هر بلوک دارای پنج سطح تیمار شیرابه با غلظت‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد نسبت به شیرابه اصلی بود. غلظت‌ها شامل کم و زیاد با نظم حسابی انتخاب شد که در آزمایش‌های اولیه مناسب تشخیص داده شد. تعداد تکرار شش بار بود. بافت خاک مورد استفاده، با همکاری آزمایشگاه شرکت زاگرس فارس لوم-رسی تشخیص داده شد. وزن مخصوص ظاهری خاک از رابطه ۱ به دست آمد:

$$\text{رابطه ۱: } d = \frac{P}{V}$$

$d$  = وزن مخصوص ظاهری بر حسب گرم بر سانتی‌متر مکعب،  $P$  = وزن خاک خشک در ۱۰۵ درجه سانتیگراد در حالت طبیعی بر حسب گرم،  $V$  = حجم خاک خشک شده در ۱۰۵ درجه سانتیگراد در حالت طبیعی بر حسب سانتی‌متر مکعب.

در این آزمایش، حجم خاک خشک شده در آون ۵۶/۶۵ سانتی‌متر مکعب و وزن آن ۷۹/۳ گرم بود. همچنین، ظرفیت زراعی خاک و نقطه پژمردگی اندازه‌گیری گردید. ظرفیت زراعی که تابعی از بافت و ساختمان خاک است، مقدار رطوبتی است که یک خاک اشباع شده پس از خارج شدن آب ثقلی در خود نگه می‌دارد. در این آزمایش، پس از ۴۸ ساعت از خروج آب ثقلی یک کیلوگرم خاک وزن شد و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد خشک و دوباره وزن

در ایران، آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از دفن پسماندها به ویژه در شهرهای پرجمعیت افزایش یافته است. یکی از راه‌های پیشگیری از آلودگی، پالایش و حفاظت از منابع آب و خاک گیاه پالایی است. گیاه وتیور از جمله گیاهان مورد استفاده در این راستا است که دارای صفات ویژه‌ای همچون: جذب فلزات سنگین، مقاومت در برابر خشکی، شوری، قلیایی، اسیدی و سدیمی بودن خاک است. امکان استفاده از وتیور در محوطه دفن پسماندهای شهری دارای اهمیت است (Jalalipoor and Ghaemi, 2013). این گیاه، توان رشد در طیف وسیعی از اقلیم‌ها و شرایط خاکی را دارا است و اگر به درستی کشت شود، می‌تواند در هر شرایطی تحت اقلیم‌های گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و مدیترانه‌ای مورد استفاده قرار گیرد. نتایج بسیاری از آزمایش‌ها و به کارگیری تجربی گیاه وتیور در ۲۰ سال گذشته در بسیاری از کشورها نشان داده است که این گونه به ویژه در کاهش فجایع طبیعی (مانند: سیل، ریزش کوه، فروپاشی دامنه‌های اطراف جاده‌ها، کناره رودخانه‌ها و کانال‌های آبیاری، فرسایش ساحلی، ناتوانی سازه‌های آبی در نگهداری آب)، حفاظت محیط‌زیست (شامل کاهش آلودگی زمین و آب، تیمار مواد جامد و مایع فاضلاب و تقویت خاک) و بسیاری دیگر از این دست مؤثر است (Truong *et al.*, 2008). با توجه به قابلیت‌های ذکر شده برای گیاه وتیور و مشکل تجمع شیرابه دفنگاه پسماند شهری و نیاز به فضای سبز در آن مکان، در پژوهش حاضر، برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه وتیور به شیرابه پسماند شهری به منظور امکان آبیاری این گیاه در اطراف محیط دفنگاه با شیرابه بررسی گردید.

گلخانه در ارتفاع ۴۰ سانتی متری از سطح زمین روی میزی در جای خنک و سایه قرار داده شد و با قرار دادن چند لایه گونی نخی در اطراف بشکه و تعبیه یک شلنگ آب سوراخ‌دار در بین لایه های گونی و تبخیر آب از اطراف آن‌ها، شیرابه خنک نگه داشته شد تا از تغییر اکسیژن مورد نیاز زیستی جلوگیری شود. به ازای هر لیتر شیرابه، مقدار ۵ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه شد تا فلزات سنگین آن تغییر کمتری داشته باشند (Yan et al., 2014).

پس از اتمام دوره آبیاری بوته‌ها با آب لوله کشی به مدت سه ماه، اضافه کردن غلظت‌های مختلف شیرابه به گلدان‌ها آغاز شد. شیرابه درون بشکه، پیش از هر آبیاری با شیرابه به مدت ده دقیقه به کمک یک قطعه چوب استوانه‌ای بلند، هم زده شد تا غیریکنواختی احتمالی آن که در نتیجه سکون و ته‌نشست احتمالی مواد به وجود آمده است؛ برطرف و همگن شود. سپس، غلظت‌های مختلف شیرابه به گلدان‌های مشخص، داده شد.

#### اندازه‌گیری سطح برگ: اندازه‌گیری ارتفاع هر

برگ به وسیله خط‌کش‌های چوبی ۲/۵ متری مخصوص هر گلدان که از سقف آویزان شده بودند و بر سطح خاک قرار گرفته بودند، انجام شد. سطح برگ بوته‌ها و پنجه‌ها به طور جداگانه محاسبه شد. روش کار بدین صورت بود که پهنای سه منطقه از هر برگ شامل فاصله ۱۰ سانتی متر از نوک، وسط برگ و محل جدا شدن برگ از غلاف اندازه‌گیری شد و میانگین آن محاسبه گردید و در ارتفاع برگ ضرب شد تا سطح برگی به دست آید. اندازه‌گیری، هر ۱۵ روز یک بار برای هر گلدان انجام شد. جداسازی از برگ اول و دوم سبز به طول ۵ سانتی متر از ناحیه نشانه‌دار نزدیک غلاف

گردید. این مقدار آب، ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد است و می‌توان با توجه به آن، ظرفیت زراعی خاک مورد استفاده را به صورت درصدی از ظرفیت زراعی خاک اشباع محاسبه نمود. نقطه پژمرده گیاه پژمرده می‌شود و با توجه به پژمردگی پیش آمده در برگ گیاه مورد آزمایش، مشابه روش فوق درصد آب خاک محاسبه می‌شود. واحد W بر حسب سانتی متر آب به سانتی متر عمق خاک تعیین گردید (Bybord, 2004). عمق خاک در سطل کاشت گیاه، ۳۰ سانتی متر بود، بنابراین W برابر با ۳/۳۶ به دست آمد. با توجه به میزان آب مورد استفاده و تیور و مقدار عدد W، آبیاری به گونه‌ای صورت گرفت که رطوبت قابل دسترس ۸۵ درصد مقدار W باشد. مقدار آبیاری از طریق رابطه ۲ به دست آمد:

$$V = 0.85 W \times \pi r^2 \quad \text{رابطه ۲:}$$

V = حجم آب برای آبیاری بر حسب میلی لیتر، r = شعاع دهانه گلدان بر حسب سانتی متر. شعاع دهانه سطل ۱۵ سانتی متر بود، در نتیجه حجم آب برای آبیاری ۲۰۱۷ میلی لیتر یا معادل ۲ لیتر محاسبه شد.

#### شیرابه و آبیاری گلدان‌ها: به دلیل این که احتمال

دارد در قسمت‌های مختلف خروج شیرابه از زباله‌ها ناهمگونی فلزات سنگین وجود داشته باشد؛ برای کمتر کردن خطا، جمع‌آوری شیرابه از نقاط مختلف صورت گرفت. آوردن شیرابه از دفن‌گاه در طول دوره آبیاری با شیرابه، ۴ بار صورت گرفت که هر بار شیرابه جدید توسط ۲۵ گالن ۲۰ لیتری، به سرعت از دفن‌گاه به گلخانه منتقل گردید تا از گرم شدن و تغییرات آن جلوگیری شود. در هر نوبت، شیرابه‌ها در گلخانه در یک بشکه ۵۰۰ لیتری استوانه‌ای فایبرگلاس شیردار ریخته شد. ارتفاع هر بشکه ۱۲۰ سانتی متر بود و در

آلمان) اندازه‌گیری شد.

### اندازه‌گیری میزان پرولین، قندهای محلول و

**پروتئین برگ:** برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. ابتدا ۲۰۰ میلی گرم از برگ خرد و توسط ازت مایع در هاون پودر و ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت، ۲ میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های فوق در فالكون دیگر ریخته و به هر یک ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید افزوده شد و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۷۸ درجه سانتیگراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن، در هر فالكون، ۴ میلی‌لیتر تولوئن ریخته و به وسیله همزن به مدت ۲۰ ثانیه به هم زده شد. از فاز فوقانی که حاوی کمپلکس قرمز رنگ است برای اندازه‌گیری پرولین استفاده گردید.

قندهای محلول مطابق روش Nelson (۱۹۴۴) استخراج و اندازه‌گیری گردید. ابتدا ۲۰۰ میلی گرم برگ، خرد و توسط ازت مایع در هاون پودر و درون فالكون ریخته شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به هر یک اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت، به ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول موجود در فالكون، ۰/۹ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر محلول مس قلیایی اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۷۸ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن، یک میلی‌لیتر محلول آرسنومولیدات و ۷ میلی‌لیتر آب مقطر به هر لوله افزوده و توسط دستگاه همزن به هم زده شد. جذب نور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و با کمک منحنی استاندارد، میزان قندهای محلول در گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار مشخص شد.

برگ جهت اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک انجام شد. سپس در داخل فویل آلومینیومی پیچیده و به وسیله ازت مایع به سرعت منجمد و در فریزر قرار داده شد. **اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ:** پس از اتمام دوره که به مدت ۸ ماه به طول انجامید؛ یک گرم برگ از هر گلدان جدا و بلافاصله در لوله‌های استوانه‌ای شیشه‌ای حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر سرد قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری شد و سپس برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد در آون تهویه‌دار قرار داده شد. پس از آن، وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری گردید. محتوای نسبی آب برگ از رابطه ۳ محاسبه گردید.

رابطه ۳:  $RWC = ((Fw - Dw) / (Sw - Dw)) \times 100$

Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری،  
Dw: وزن خشک برگ پس از قرار گرفتن در آون،  
Sw: وزن اشباع برگ پس از قرار گرفتن در آب مقطر.

### اندازه‌گیری کلروفیل و آنتوسیانین برگ:

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل از روش Arnon (۱۹۶۷) و برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. بدین صورت که بافت ابتدا با قیچی خرد شده و دازت در هاون پودر گردید. پودرها در لوله آزمایش ریخته و به آن ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی اضافه گردید. اطراف فالكون‌ها آلومینیوم پیچیده و به مدت یک شب در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس، جذب آنها در طول موج ۵۵۰ نانومتر برای مقدار آنتوسیانین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Spekol، شرکت Analytic Jena،

اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین برگ گیاه و تیور با روش Reeves و همکاران (۲۰۰۷) با دستگاه Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES) (مدل Jy70، شرکت PerkinElmer، آمریکا) اندازه‌گیری گردید. به دلیل هزینه بالای اندازه‌گیری هر نمونه با دستگاه ICP-AES تنها فلزات Ni، Zn و Cu در تیمارهای مختلف برگ و ریشه و تیور به طور جداگانه و شیرابه اندازه‌گیری شدند. سه فلز مذکور به پیشنهاد کارشناسان مدیریت پسماند شهرداری شیراز برای مقایسه با نتایج پژوهش‌های پیشین آنها انتخاب شدند.

**تحلیل داده‌ها:** تمامی داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری‌ها و انجام آزمایش‌ها با برنامه SPSS نسخه ۱۶ با آزمون دانکن و در سطح ۵ درصد تحلیل شد و نمودارها و منحنی‌های استاندارد با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ ترسیم گردید.

### نتایج

وزن ظاهری خاک مورد استفاده ۱/۴ گرم بر سانتی متر مکعب محاسبه شد. ظرفیت زراعی خاک مورد استفاده و نقطه پژمردگی هر کدام به ترتیب برابر با ۲۸ و ۲۰ درصد اندازه‌گیری شد. حجم آب برای هر نوبت آبیاری معادل ۲ لیتر محاسبه شد. با توجه به مقدار وجود ۳۴/۲ درصد رس، ۲۵/۶ درصد سیلت و ۴۰/۲ درصد شن، بافت خاک مورد استفاده، لوم-رسی تشخیص داده شد. اسیدیته شیرابه برابر با ۸/۳ اندازه‌گیری شد. سایر مشخصات شیرابه بر حسب میلی‌گرم بر لیتر به صورت زیر با دستگاه ICP-AES محاسبه گردید: COD ۱۹۱۰۰، BOD ۴۴۰۰،  $\text{NH}_3$  ۲۱۴۵، Zn ۰/۳، Cu ۰/۱، Ni ۰/۳، Pb ۰/۳. سطح برگ‌گی در طول هشت ماه آبیاری با شیرابه با

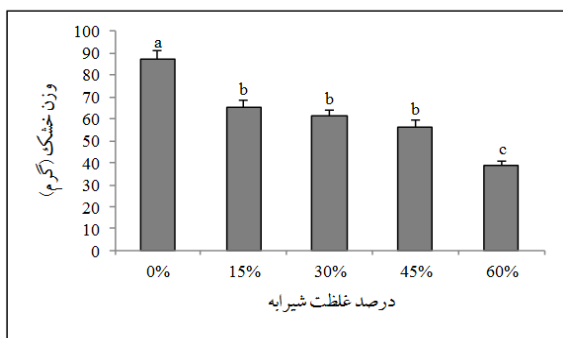
پروتئین کل توسط روش Bradford (۱۹۷۶) و Azeredo و همکاران (۲۰۰۳) اندازه‌گیری گردید. تمام مراحل استخراج پروتئین در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد و ۲۵۰ میلی‌گرم بافت برگ خرد و در هاون به وسیله ازت مایع پودر شد، سپس ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج سرد به آن اضافه گردید. میکروتیوب‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با نیروی ۱۴۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی که حاوی پروتئین بود برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین مقدار پروتئین نمونه‌ها، به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پروتئین استخراج شده، ۵ میلی‌لیتر محلول بردفورد افزوده شد و پس از دو دقیقه جذب آن در ۵۹۵ نانومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار پروتئین نمونه محاسبه گردید.

### اندازه‌گیری فلزات سنگین برگ: مقداری بافت

از قسمت نوک، وسط و قاعده برگ و بند اول و دو بند آخر ساقه هر گلدان به طور جداگانه توسط دستگاه آسیاب برقی پودر و از الک مش ۲۰۰ عبور داده شد. ۲۰۰ میلی‌گرم پودر الک شده با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (مدل IT0901752، شرکت Bel Engineering، ایتالیا) درون لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته و به هر یک از لوله‌های آزمایش مقدار ۵ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی (مخلوط ۳:۱ HCl:HNO<sub>3</sub>) اضافه گردید، سپس نمونه‌ها برای مدت ۴ ساعت درون آون (مدل UNB200، شرکت Memmert، آلمان) در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از خارج کردن نمونه‌ها از آون، به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد و محتوای لوله‌ها به کمک کیف شیشه‌ای و کاغذ واتمن ۴۲ صاف گردید. محتوای تمامی لوله‌ها به حجم ۸ میلی‌لیتر رسانده و با همزن هم‌زده شد.

نسبت به شاهد معنی دار است، اما بین شیرابه ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد غلظت تفاوت معنی داری مشاهده نمی‌شود. شیرابه ۶۰ درصد از همه غلظت‌ها بیشتر وزن خشک را کاهش داده است (شکل ۲). شیرابه با غلظت‌های: ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد حدود ۲۵ درصد و غلظت ۶۰ درصد ۵۵/۲۴ درصد وزن خشک را نسبت به شاهد کاهش داده است.

شکل ۱- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر تغییرات سطح برگ گیاه و تیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.



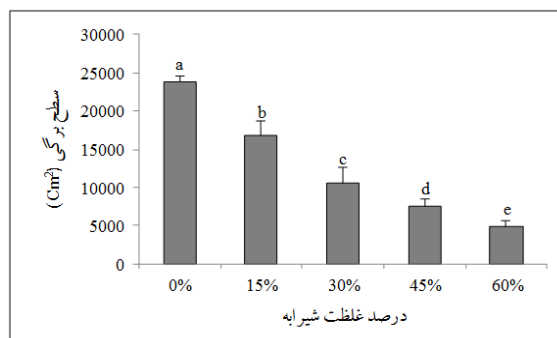
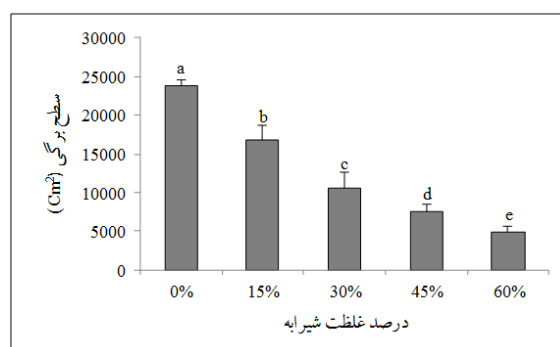
شکل ۲- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر وزن خشک گیاه و تیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.

است.

در شکل ۴ ملاحظه می‌شود که با افزایش غلظت شیرابه، کلروفیل a برگ به طور معنی داری کاهش یافته است و شیب کاهشی در غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد بیشتر است، به طوری که حدود ۶۰ درصد مقدار کلروفیل کاهش یافته است، اما بین غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد کاهش معنی داری مشاهده نشد. درصد کاهش‌ها

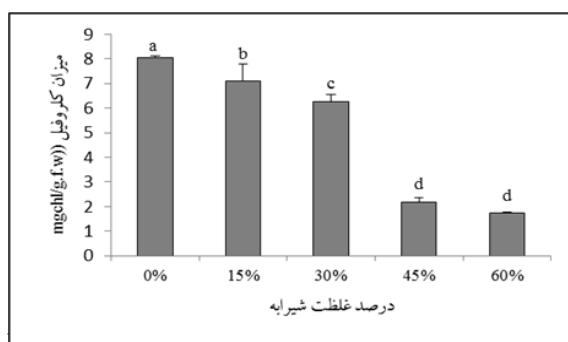
افزایش غلظت شیرابه نسبت به شاهد به ترتیب: ۳۰، ۵۴، ۶۹ و ۷۹ درصد کاهش یافت (شکل ۱). تمامی غلظت‌های شیرابه با شاهد و با یکدیگر در سطح  $P < 0.05$  اختلاف معنی دار دارند.

با افزایش غلظت شیرابه، وزن خشک گیاهان و تیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه کاهش یافت. تفاوت وزن خشک گیاهانی که با شیرابه آبیاری شده بودند

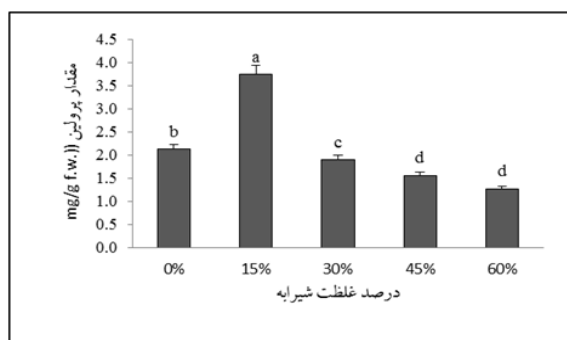


با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان محتوای نسبی آب برگ به تدریج افزایش یافته است، به طوری که در غلظت‌های ۴۰ و ۶۰ درصد شیرابه بالاترین مقدار نسبی آب برگ مشاهده می‌شود و اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با شاهد دارد (شکل ۳). شیرابه با غلظت‌های: ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد میزان نسبی آب برگ را به ترتیب ۱، ۳، ۵/۳ و ۶/۲۵ درصد افزایش داده

با افزایش درصد غلظت شیرابه، مقدار پرولین برگ در غلظت ۱۵ درصد شیرابه نسبت به شاهد به طور معنی‌داری حدود ۴۱ درصد افزایش داشت، اما در غلظت‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد شیرابه به ترتیب نسبت به شاهد حدود ۱۴، ۳۲ و ۴۳ درصد کاهش یافته است (شکل ۶). بین غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد نیز کاهش معنی‌داری مشاهده نشد، اما بین غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ درصد کاهش معنی‌دار ۵۰ درصدی وجود داشت.



شکل ۴- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر میزان کلروفیل برگ گیاه وتیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.



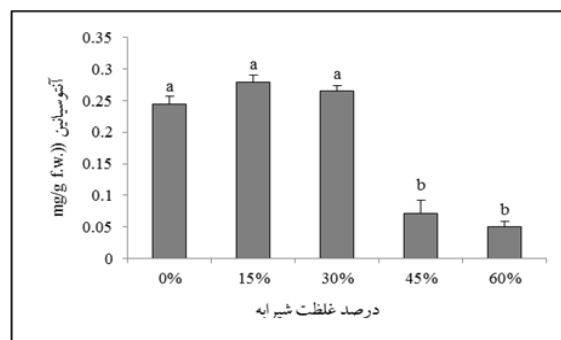
شکل ۶- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر میزان پرولین برگ گیاه وتیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.

نسبت به شاهد به ترتیب حدود: ۱۳، ۲۳، ۷۳ و ۷۸ درصد بوده است.

همان طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود با افزایش درصد غلظت شیرابه، غلظت آنتوسیانین برگ در غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد نسبت به شاهد حدود ۸۰ درصد کاهش معنی‌دار یافته است. اما بین غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد کاهش معنی‌داری مشاهده نشد. بین غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ درصد نیز کاهش معنی‌داری وجود نداشت.



شکل ۳- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر محتوای نسبی آب برگ گیاه وتیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.

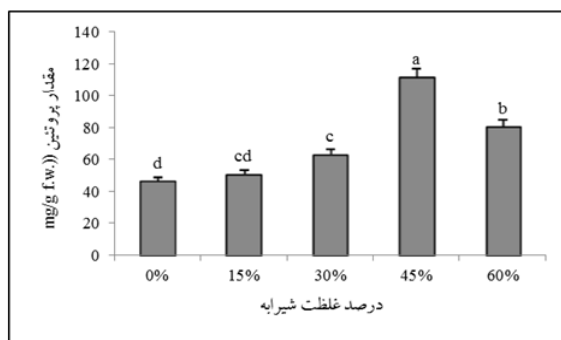


شکل ۵- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر میزان آنتوسیانین برگ گیاه وتیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.



شیرابه نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. مقدار پروتئین برگ در غلظت شیرابه ۴۵ درصد نسبت به شیرابه ۳۰ درصد ۱/۷۵ برابر شده است.

میزان فلزات سنگین نیکل (Ni)، روی (Zn) و مس (Cu) در آب آبیاری لوله‌کشی شهری، خاک مورد استفاده، شیرابه پسماند شهری، برگ و ریشه گیاه و تیور در غلظت ۴۵ درصد شیرابه در شکل ۹ نشان داده شده است. غلظت ۴۵ درصد بالاترین غلظتی است که گیاهان و تیور با آبیاری شیرابه پس از هشت ماه هنوز به خوبی زنده بودند، بنابراین، از آن در این شکل استفاده گردید. میزان فلزات سنگین نیکل، روی و مس در ریشه به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از برگ و حتی شیرابه است.

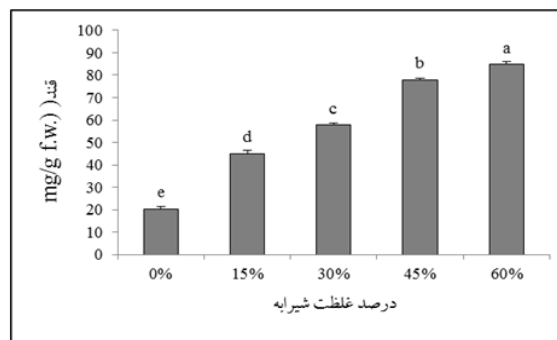


شکل ۸- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر میزان پروتئین برگ گیاه و تیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.

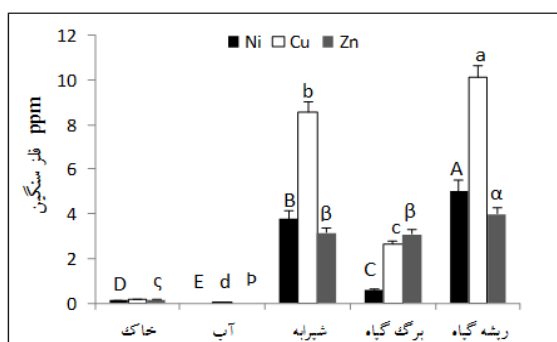
شکل ۹- میانگین تجمع چند فلز سنگین در شیرابه، آب آبیاری، خاک، برگ و ریشه گیاه و تیور در غلظت ۴۵ درصد شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.

با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان قند برگ به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. میزان قند برگ تحت تیمار آبیاری با شیرابه غلظت‌های: ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد به ترتیب حدود: ۲/۳، ۲/۸، ۳/۹ و ۴/۳ برابر شد (شکل ۷). میزان افزایش قند برگ با درصدهای مختلف غلظت شیرابه تقریباً از روند مشابهی برخوردار بود.

با افزایش غلظت شیرابه، میزان پروتئین برگ نسبت به شاهد به ترتیب: ۱/۱، ۱/۳، ۲/۴ و ۱/۷ برابر افزایش یافت، اما در غلظت ۶۰ درصد شیرابه، میزان پروتئین نسبت به غلظت ۴۵ درصد کاهش داشت (شکل ۸). مقدار افزایش پروتئین برگ در غلظت ۱۵ درصد



شکل ۷- میانگین اثر غلظت‌های مختلف شیرابه بر میزان قند برگ گیاه و تیور پس از هشت ماه آبیاری با شیرابه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (SD) با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. هر عدد، میانگین شش تکرار است.



## بحث

### تغییرات سطح برگ‌گی در غلظت‌های مختلف

**شیرابه:** با توجه به مدت هشت ماه که گیاهان و تیور تحت تیمار قرار گرفتند (شکل ۱)، با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان توسعه سطح برگ‌گی به طور معنی‌داری کاهش یافته است و بیشترین سطح برگ‌گی در گیاهان و تیور شاهد مشاهده شد. در دوره هشت ماهه، گیاهان و تیوری که با شیرابه ۶۰ درصد آبیاری شده بودند، ابتدا به تدریج علایم کلروز را نشان دادند و سپس نکروزه و خشک شدند.

عوامل مختلفی از جمله فلزات سنگین و ترکیبات آلی سمی موجود در شیرابه مانند: 4-methyl-, aniline، phenol، 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol و 4,4-(1-methylethylidene)bis-phenol که چهار ترکیب سمی مهم شیرابه پسماند شهری است (Ramírez-Sosa *et al.*, 2013)، موجب کاهش سطح برگ‌گی و وزن خشک و رشد و نمو شده‌اند. کاهش سطح برگ‌گی به علت کاهش فتوسنتز گیاه است که بیانگر اثر سوء مواد سمی بر آنزیم‌ها، سایر درشت‌مولکول‌ها، فرآیندهای بیوشیمیایی و ساختارهای سلولی است. با توجه به شکل ۹ میزان روی در شیرابه، ریشه و برگ گیاه و تیور بالا بود. روی به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان نقش ساختاری و عملکردی فراوانی در بسیاری از فرآیندهای متابولیک گیاهان بر عهده دارد، اما مقدار اضافی آن عامل محدودکننده رشد برای گیاه محسوب می‌شود (Zare Dehabadi *et al.*, 2007) و همکاران (۱۹۹۵) با مطالعه اثر فلز روی بر مرگ و میر سلول‌های برگ گیاه *Halophyla stipulecea* به این نتیجه رسیدند این فلز

در غلظت بالا از طریق کاهش جذب آهن موجب کلروز و کاهش رشد برگ‌ها می‌شود. گیاهانی که در معرض غلظت‌های بالای فلز روی قرار می‌گیرند ساختار میتوکندریایی در آنها تخریب شده، در نتیجه فرآیندهای انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول در آنها دچار اختلال می‌شود. فلز روی از طریق تأثیر بر میزان جذب و جابه‌جایی عناصر ضروری و نیز اثر بر میزان فعالیت برخی از آنزیم‌ها در جایگاه عملکردشان موجب اختلال در متابولیسم گیاهان می‌شود (Bonnet *et al.*, 2000؛ Candan and Tarhan, 2003). مهار رشد گیاهان در غلظت‌های بالای فلز روی ممکن است به علت رقابت این فلز با فسفر باشد (Rout and Das, 2003). تمام غلظت‌های شیرابه علاوه بر مقایسه با شاهد، با یکدیگر نیز در سطح  $P < 0.05$  اختلاف معنی‌داری داشتند. سطح برگ‌گی در طول هشت ماه آبیاری با شیرابه در غلظت ۴۵ درصد شیرابه که گیاهان آن تا آخر به خوبی زنده ماندند، ۶۹ درصد کاهش یافته است (شکل ۱). هرچند این کاهش زیاد است، اما با توجه به طویل بودن برگ گیاه و تیور و این که حتی پس از کاهش سطح برگ‌گی، گیاه دارای سطح برگ مناسبی برای رشد و ایجاد فضای سبز برای دفن‌گاه دارد و امکان مصرف زیاد شیرابه را که مشکل دفن‌گاه پسماند شهری است، در این غلظت، تا حد زیادی فراهم می‌شود، بنابراین، آبیاری گیاه با شیرابه ۴۵ درصد توصیه می‌شود.

### وزن خشک برگ‌گی در غلظت‌های مختلف

**شیرابه:** همان طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود با افزایش درصد غلظت شیرابه، وزن خشک گیاهان و تیور پس از هشت ماه کاهش یافته است. مطالعه روی گیاه

شکل ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان کلروفیل برگ کاهش یافته است و بیشترین میزان کلروفیل در گیاهان و تیور شاهد مشاهده می‌شود. میزان کلروفیل از ۸/۰۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه و تیور در شاهد به ۱/۷۳ میلی گرم بر گرم وزن تازه در شیرابه با غلظت ۶۰ درصد کاهش یافته است. سمیت روی باعث کاهش سنتز کلروفیل نیز می‌شود (Shaw, 1989؛ Beladi et al., 2010). کاهش محتوای کلروفیلی برگ به عنوان یک اثر عمومی سمیت فلزات سنگین در گیاهان شناخته شده است. این امر به دلیل اثر مستقیم این فلزات بر فرآیند بیوسنتز کلروفیل، القای تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو و در نتیجه تخریب ساختمان‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل است. فلز روی از طریق جلوگیری از انتقال برخی عناصر ضروری مانند آهن و منیزیم به کلروپلاست سلول‌های گیاهی در مسیر بیوسنتز کلروفیل اختلال ایجاد می‌کند (Rout and Das, 2003).

Gadallah (۱۹۹۴) طی تحقیقاتی بر گیاه لویسا مشاهده کرد که با افزایش غلظت نیکل، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. همچنین، Sharma و Gaur (۱۹۹۵) نیز به کاهش مقدار کلروفیل با افزایش غلظت نیکل در گیاه *Lemna polyrrhiza* اشاره کرده‌اند. در سال ۲۰۰۹ در مطالعه‌ای بر گیاه *Petroselinum crispum* مشخص گردید که با افزایش غلظت نیکل در تیمارها، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد (Khatib et al., 2009). تنش مس، محتوای کلروفیل را نسبت به شاهد در گیاه *Allium cepa* L. کاهش می‌دهد (Ghodrati et al., 2013). مس از طریق واکنش فنتون به افزایش رادیکال

برنج نیز نشان داده است که با افزایش غلظت نیکل و کادمیوم، وزن خشک بخش هوایی کاهش می‌یابد (Moya et al., 1993). اثر افزایش سمیت بر گیاه *Solanum melongena* L. به صورت کاهش در وزن خشک آن گزارش شده است (Tavakoli et al., 2011). علاوه بر سمیت ناشی از فلزات سنگین و سایر ترکیبات سمی موجود در شیرابه، اضافی برخی عناصر غذایی نیز می‌تواند موجب کاهش تولید و تجمع زیست‌توده و در نتیجه کاهش وزن شود (Taiz and Zeiger, 2014). کاهش وزن خشک گیاه در اثر افزایش غلظت نیکل در گیاه *Petroselinum crispum* (Molas *Hordeum vulgare*, (Khatib et al., 2009) and Baran, 2004) و *Papazoglou Arundo donax* (Papazoglou and Baran, 2004) et al., 2005) گزارش شده است. همچنین، افزایش فلز روی، موجب کاهش وزن خشک گیاه *Zea mays* L. می‌گردد (Hosseini and Pourakbar, 2013). با افزایش فلزات سنگین، وزن خشک گیاه یونجه *Corniculata* (Peralta-Videa et al., 2004) و *Pinus trigonella* (Parida et al., 2003) نیز کاهش یافت. همان‌طور که ذکر شد در شیرابه پسماند شهری مواد سمی دیگری غیر از فلز سنگین نیز وجود دارد که مانع رشد گیاه می‌شود.

### محتوای نسبی آب و میزان کلروفیل برگ در

**غلظت‌های مختلف شیرابه:** همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود؛ با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان محتوای نسبی آب برگ افزایش یافته است. با افزایش غلظت شیرابه جذب شده فشار اسمزی افزایش می‌یابد و موجب جذب بیشتر آب می‌شود. با مقایسه تیمارها در

ستز پرولین از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی به شمار می‌رود. در بین آمینواسیدها، پرولین حساسیت بیش‌تری به تنش‌های محیطی نشان می‌دهد. افزایش پرولین باعث سازش بیشتر سلول با شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود. پرولین نقش‌های متعددی در سلول ایفا می‌کند که عبارتند از: پایدار کردن پروتئین، محافظت در برابر سرما و تنظیم پتانسیل احیا (Ibarra-Caballero *et al.*, 1988; Sanita di Toppi and Gabrielli, 1999). پرولین در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد نیز نقش دارد (Bahadoran *et al.*, 2015). به همین دلایل، مقدار پرولین برای مقابله با سمیت در تیمار ۱۵ درصد شیرابه به عنوان تنش ملایم افزایش یافته است، اما به دنبال افزایش بیشتر غلظت شیرابه و صدمه بر بیوسنتز مواد آلی از جمله آمینو اسید پرولین، در غلظت‌های بالاتر روند نزولی داشته است. ترکیبات آلی و غیر آلی سمی موجود در شیرابه به عنوان تنش غیرزیستی بر میزان پرولین مؤثر هستند.

#### میزان قندهای محلول برگ در غلظت‌های

**مختلف شیرابه:** در شکل ۷ مشخص شد که با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان قند برگ افزایش یافته است. با توجه به آن که در سمیت شدید بیوسنتز کاهش می‌یابد، شاید افزایش قند گیاه در تنش شدید ناشی از جذب قند موجود در شیرابه بوده است که البته برای تأیید آن، آزمایش‌های تکمیلی مورد نیاز است.

فلز روی در شیرابه با توجه به شکل ۹ نسبتاً زیاد است و تجمع آن در گیاه و تیور نیز زیاد است. این فلز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان شرکت دارد به همین دلیل، احتمالاً یکی از علت‌های افزایش قند

$O_2^{0-}$  و اکسیژن یکتایی در کلروپلاست منجر می‌شود. این رادیکال‌ها به ترکیبات دارای پیوند دوگانه کلروفیل حمله کرده، باعث آزاد شدن کلروفیل از غشای تیلاکوئیدی و کاهش محتوای آن می‌شوند (Zhang *et al.*, 2003). هر چند سایر ترکیبات سمی آلی و غیر آلی شیرابه در این پژوهش بررسی نشده است، اما به احتمال زیاد در کاهش مقدار کلروفیل مؤثر بوده‌اند.

#### غلظت آنتوسیانین برگ در غلظت‌های مختلف

**شیرابه:** همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ درصد شیرابه، مقدار آنتوسیانین برگ را کاهش داده است. از میان سیستم‌های غیر آنزیمی دفاعی، آنتوسیانین‌ها فعال بوده، باعث حفظ گیاه در مقابل سمیت می‌شوند (Posmyk *et al.*, 2005; Dai *et al.*, 2006). آنتوسیانین‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی مانع از تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Kamei *et al.*, 1995). احتمالاً گیاه و تیور در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ درصد شیرابه، آنتوسیانین را برای مقابله با رادیکال‌های آزاد بالا نگه داشته است اما در غلظت‌های بالای شیرابه به علت آن که گیاه در تنش شدید سمیت است و توانایی خود را برای حفظ فیزیولوژی طبیعی و تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه از دست داده مقدار آنتوسیانین کاهش یافته است.

#### میزان پرولین برگ در غلظت‌های مختلف

**شیرابه:** با توجه به شکل ۶، با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان پرولین برگ پس از یک افزایش در غلظت ۱۵ درصد شیرابه کاهش یافته است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، تنظیم اسیدیته سلول، تنظیم اکسیداسیون و احیا، منبع کربن و نیتروژن احیا شده نیز محسوب می‌شود (Dubey and Singh, 1999). القای

را دارا بودند. نتایج نشان می‌دهد که غلظت روی در شیرابه و برگ گیاه اختلاف معنی‌داری نداشته است، اما با ریشه اختلاف معنی‌دار دارد که احتمالاً ناشی از تجمع آن در ریشه است. روی نقش مهمی در اثر بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه و تیور در تنش شیرابه دارد.

نتایج Jalalipoor و Ghaemi (۲۰۱۳) نشان داد که تیور تحت آبیاری با شیرابه دفن‌گاه تا غلظت ۲۰ درصد دچار هیچ‌گونه مشکلی از نظر رشد نمی‌شود، در صورتی که نمونه‌های تحت آبیاری با غلظت ۸۰ درصد پس از مدتی از بین رفتند. رشد نمونه‌های غلظت ۵۰ درصد در روزهای میانی کند شد، اما تا روزهای پایانی به رشد خود ادامه دادند. مقادیر جذب فلزات سنگین مثل نیکل، روی در همه نمونه‌ها پایین‌تر از حد سمیت تیور بود. میزان جذب مس در تیور در تیمار تحت آبیاری با غلظت ۸۰ درصد شیرابه برابر با ۱۴/۲۵ میلی‌گرم بود که در آستانه سمیت گیاه قرار داشت. نتایج به دست آمده مبین آن است که از تیور می‌توان در دفن‌گاه‌های قدیمی و حاشیه دفن‌گاه‌های جوان که فاقد سیستم زهکشی هستند به عنوان پوشش گیاهی برای پیشگیری از آلودگی، پالایش و حفاظت از منابع آب و خاک به طور مؤثر استفاده نمود. بر اساس نتایج آنها فلز سنگین نیکل بیشتر در شاخساره و ریشه جمع شده‌اند، حال آن که فلزات سنگین مس و روی بیشتر در ریشه جای گرفته‌اند (Jalalipoor and Ghaemi, 2013). در پژوهش حاضر نیز مقدار مس، نیکل و روی در ریشه بالا است به خصوص مس که جزو عناصر غیرمتحرک است و مقدار آن در ریشه بسیار بیشتر از برگ اندازه‌گیری شد. میزان فلزات سنگین نیکل، روی و مس در ریشه به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از

همراه با افزایش درصد غلظت شیرابه، افزایش مقدار روی موجود در آنها باشد. گیاهان در مقابله با تنش، سازوکارهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل قندهای محلول اشاره کرد (Mohsenzadeh *et al.*, 2006). با وارد شدن تنش اسمزی به گیاه و به هم خوردن تعادل اسمزی، گیاه برای حفظ بقا و تعدیل اسمزی، اقدام به افزایش پرولین و قند به عنوان نوعی سازوکارمقاومت به تنش می‌کند (Sudhakar *et al.*, 1992). پژوهشی در مورد اثر مس بر *Allium cepa* L. نشان داد که با افزایش مس، قندهای محلول برگ افزایش می‌یابد (Ghodrati *et al.*, 2013).

### پروتئین کل برگ در غلظت‌های مختلف

**شیرابه:** همان طور که در شکل ۸ ملاحظه می‌شود؛ با افزایش درصد غلظت شیرابه، میزان پروتئین برگ تا غلظت ۴۵ درصد شیرابه افزایش یافته است اما در غلظت ۶۰ درصد، میزان پروتئین کاهش می‌یابد. گیاه تیور توانسته تا غلظت ۴۵ درصد شیرابه مقاومت کند و پروتئین‌سازی داشته باشد. اما در غلظت ۶۰ درصد به دلیل افزایش شدید سمیت شیرابه مقدار ساخت پروتئین کاهش یافته است و همچنین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز زیاد شده است و گیاه به سمت مرگ پیش رفته است (Tripathi *et al.*, 2006).

### میزان فلزات سنگین شیرابه، ریشه و برگ گیاه:

فلزهای روی و نیکل در آب شهری مشاهده نشد (شکل ۹)، اما در خاک دفن‌گاه مورد استفاده و شیرابه یافت شد. فلز مس بیشترین مقدار فلز اندازه‌گیری شده در شیرابه بود که مقدار آن برابر با ۸/۵۷۳ ppm و پس از آن به ترتیب فلز نیکل و روی در شیرابه بیشترین مقدار

استفاده از شیرابه بیشتر در دفنگاه برای ایجاد فضای سبز با گیاهانی مانند تیور است، توصیه می‌گردد که از شیرابه ۴۵ درصد برای آبیاری تیور در محیط دفنگاه استفاده شود. علت انتخاب این غلظت آن است که در این غلظت گیاه در طولانی مدت زنده می‌ماند و از شیرابه نیز حداکثر استفاده شده است هر چند برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک مناسب‌تر شده، اما در مجموع با هدف ذکر شده یعنی استفاده هر چه بیشتر از شیرابه تجمع یافته در دفنگاه پسماند شهری، گیاه زنده و در حال رشد و نمو خواهیم داشت؛ اما اگر رشد بیشتر گیاه یا استفاده از مواد عطری ریشه گیاه مورد نظر باشد، شیرابه با غلظت‌های کمتر مناسب‌تر است. پیشنهاد می‌شود که شیرابه دفنگاه پسماند شهری را پس از تصفیه مقدماتی جهت آبیاری گیاه تیور استفاده نمایند تا بتوان مقدار بیشتری از شیرابه را مصرف نمود.

### سپاسگزاری

پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز سپاسگزاری می‌گردد. همچنین، یاد مرحوم محمدرضا جنتی کارشناس ارشد شهرداری شیراز که در اجرای این پژوهش کمک‌های فراوانی نمودند و متأسفانه در حادثه انفجار گاز متان در محل دفنگاه پسماند شهری شیراز به رحمت الهی پیوستند را گرامی می‌داریم.

برگ و حتی شیرابه بوده است (شکل ۹). این مشاهده نشان می‌دهد که گیاه تیور می‌تواند فلزات سنگین را در ریشه جمع نموده، در جهت پاک‌سازی محیط اقدام کند و از انتقال آنها به اندام هوایی نیز بکاهد. برخی از پژوهشگران ایرانی نیز در گیاه ریحان سبز به این موضوع اشاره نموده‌اند که گیاه از طریق سنتز فیتوکلاتین، گلوکاتیون و پرولین در ریشه، فلز سنگین را در اندامک‌های سلول‌های ریشه کده‌بندی نموده و از انتقال آن به بخش‌های بالایی گیاه جلوگیری می‌نماید (Zare Dehabadi et al., 2012). از محاسن این نوع جذب زیستی می‌توان به کینتیک سریع جذب و پایین بودن هزینه اشاره کرد (Ahmady-Asbchin and Jafari, 2014).

### جمع‌بندی

نتایج حاصل از آبیاری هشت ماهه گیاه تیور با غلظت‌های مختلف شیرابه پسماند شهری شهر شیراز نشان داد که با افزایش میزان غلظت شیرابه که افزایش فلزات سنگین و سایر ترکیبات سمی را به دنبال دارد مقدار سطح برگ، وزن خشک، کلروفیل و آنتوسیانین با افزایش غلظت شیرابه، کاهش می‌یابد و آب نسبی برگ، قندهای محلول و پروتئین کل با افزایش غلظت شیرابه افزایش نشان می‌دهد. آمینو اسید پرولین در تنش ملایم سمیت افزایش و در تنش شدیدتر سمیت کاهش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده و این که هدف،

### منابع

- Ahmady-Asbchin, S. and Jafari, N. (2014) Kinetics and isotherm of nickel ions elimination from aqueous solution, by brown alga (*Cystoseira indica*) from Oman Sea. Iranian Journal of Plant Biology 21: 1-8 (in Persian).
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

- Azeredo, L. D. C., Azeredo, M. A. A., Souza, S. R. D. and Dutra, V. M. L. (2003) Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry* 80(2): 249-254.
- Bahadoran, M., Abrishamchi, P., Ejtehadi, H. and Ghassemzadeh, F. (2015) Study on some physiological characteristics of *Salsola richteri* in drought condition in the two desert regions of the South Khorasan province. *Iranian Journal of Plant Biology* 24: 1-14 (in Persian).
- Bates, L. S. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Beladi, S. M., Kashani, A., Habibi, D., Paknezhad, F. and Golshan, M. (2010) Effect of lead and copper on physiological traits of plant species *Lathyrus sativus*. *New Findings in Agriculture* 1: 9-20 (in Persian).
- Bila, D. M., Montalvao, F., Silva, A. C. and Dezotti, M. (2005) Ozonation of a landfill leachate: evaluation of toxicity removal and biodegradability improvement. *Journal of Hazardous Materials* 117(2-3): 235-242.
- Bonnet, M., Camares, O. and Veisseire, P. (2000) Effect of zinc and influence of *Acremonium lolli* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity of ryegrass. *Experimental Botany* 51: 945-953.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bybordi, M. (2004) Principles of irrigation engineering, soil-water relationships. Tehran University Publications, Tehran.
- Candan, N. and Tarhan, L. (2003) Change in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. *Turkish Journal of Chemistry* 27: 21-30.
- Cheng, H., Yang, H., Liu, A., Fu, H. and Wan, M. (2003) A study on the performance and mechanism of soil-reinforcement by herb root system. In: Proceeding of the 3<sup>rd</sup> International Vetiver Conference, China.
- Dai, L. P., Xiong, Z. T., Huang, Y. and Li, M. J. (2006) Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics and phenylalanine ammonialyase activity in fronds of *Azolla imbricate*. *Environmental Toxicology* 21(5): 505-512.
- Dubey, R. S. and Singh, A. K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzyme in rice plants. *Biologia Plantarum* 42(2): 233-239.
- Farrokhi, M., Kouti, M., Mousavi, G. R. and Takdastan, A. (2009) The study on biodegradability enhancement of landfill leachate by Fenton oxidation. *Iranian Journal of Health and Environment* 2(2): 114-123 (in Persian).
- Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J. and Ramon-Vallejo, V. (2006) Response of *Pinus halepensis* Mill. Seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. *Environmental Pollution* 145(1): 316-323.
- Gadallah, M. A. A. (1994) Interactive effect of heavy metals and temperature on the growth and chlorophyll, saccharides and soluble nitrogen contents in *Phaseolous vulgaris*. *Biologia Plantrum* 36(3): 373-382.
- Ghodrati, M., Chaparzadeh, N. and Dilmaghani, K. (2013) Interactive effects of copper and ascorbic acid on some physiological characters in *Allium cepa* L.. *Iranian Journal of Plant Biology* 18: 52-37 (in Persian).

- Persian).
- Greenfield, J. C. (1989) Vetiver grass (*Vetiveria* spp.): The ideal plant for vegetative soil and moisture conservation. Asia Technical Department, Agriculture Division, The World Bank, Washington DC.
- 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).
- Ibarra-Caballero, J., Villanueva-Verduzco, C., Molina-Galan, J. and Sanchez-de-Jimenez, E. (1988) Proline accumulation as symptom of drought stress in maize: a tissue differentiation requirement. Journal of Experimental Botany 39(7): 889-897.
- Jalalipoor, H. and Ghaemi E. A. (2013) A study of the ability of Vetiver grass to refinement city landfill residuals. Journal of Iran Water Research 12: 45-52 (in Persian).
- Jamali Hajiani, N. and Ghaderian, S. M. (2011) Interaction studies of lead and cadmium on dry weight and metal accumulation in *Matthiola chenopodiifolia* a useful plant for phytoremediation. First National Phytoremediation Congress, Kerman, Iran (in Persian).
- Jones, D. L., Williamson, K. L. and Owen, A. G. (2006) Phytoremediation of landfill leachate. Waste Management 26(8): 825-837.
- Kamei, H., Kojima, T. and Hasegawa, M. (1995) Suppression of tumor cell growth by anthocyanin in vitro. Cancer Investigation 13(6): 590-594.
- Khatib, M., Rashed mohassel, M. H., Ganjeali, A. and Lahootee, M. (2009) The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (*Petroselinum crispum*). Journal of Iran Agricultural Research 6(2): 295-301.
- Malea, P., Kevrekidis, T. and Haritonidis, S. (1995) The short term uptake of zinc and cell mortality of the seagrass *Halophylla stipulecea*. Israel Journal of Plant Science 43: 21-30.
- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M. A., Razavi, K. and Farrahi-Aschtiani, S. (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. Environmental and Experimental Botany 56 (3): 314-322.
- Molas, J. and Baran, S. (2004) Relationship between the chemical form of nickel applied to the soil and its uptake and toxicity to barley plants (*Hordeum vulgare* L.). Geoderma 122(2-4): 247-255.
- Moore, G., Sanford, P. and Wiley, T. (2006) Vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*). Department of Agriculture and Food Western Australia, Bulletin 4690, Perth.
- Moosavi Khattat, M. and Lahoti, M. (2011) Comparative study of influence factors on phytoremediation capacity of chromate using water plant *Lemna minor* L. First National phytoremediation Congress, Kerman, Iran (in Persian).
- Moya, J. L., Ros, R. and Picazo, I. (1993) Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. Photosynthesis Research 36(2): 75-80.
- Nelson, N. (1944) A photometric adaption of the somogi method for the determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153(2): 375-380.
- Papazoglou, E. G., Karantounias, G. A., Vemmos, S. N. and Bouranis, D. L. (2005) Photosynthesis and growth responses of giant reed (*Arundo donax* L.) to the heavy metals Cd and Ni. Environment International 31(2): 243-249.
- Parida, B. K., Chhibba, I. M. and Nayyar, V. K. (2003) Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. Scientia Horticulturae 98:



- 113-119.
- Peralta-Videa, J. R., Dela Rosa, G., Gonzalez J. H. and Gardea-Torresdey, J. L. (2004) Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Advances in Environmental Research* 8: 679-685.
- Posmyk, M. M., Dobranowska, A. and Janas, K. M. (2005) Role of anthocyanin in red cabbage seedlings response to copper stress. *Ecological Chemistry and Engineering* 12(10): 1107-1112.
- Ramírez-Sosa, D. R., Castillo-Borges, E. R., Méndez-Novelo, R. I., Sauri-Riancho, M. R., Barceló-Quintalb, M., Marrufo-Gómez, J. M. (2013) Determination of organic compounds in landfill leachates treated by Fenton-Adsorption. *Waste Management* 33: 390-395.
- Rastghalam, Z., Hoodgi, M., Javanmard, H. R. and Vakili, N. (2011) Evaluation of plant extraction efficiency of *Brassica napus* L. in lead pollutant soils. First National phytoremediation Congress, Kerman, Iran (in Persian).
- 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: 153-159.
- Rezazadeh, K. S., Fotohi Ghazvini, A. and Fotohi Ghazvini, R. (2011) Study of some growth and physiological characters in *Acacia nilotica* L. in oil waste pollutant soil. First National phytoremediation Congress, Kerman, Iran (in Persian).
- Rout, G. R. and Das, P. (2003) Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. *Agronomy and Soil Science* 23: 3-11.
- Sanita di Toppi, L. and Gabrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105-130.
- Sharma, S. S. and Gaur, J. P. (1995) Potential of *Lemna polyrrhiza* for removal of heavy metals. *Ecological Engineering* 4(1): 37-43.
- Shaw, J. (1989) Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Florida.
- Sudhakar, C., Syamalabai, L. and Veeranjaneyulu, K. (1992) Lead tolerance of certain legume species grown on lead ore tailings. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 41(3-4): 253-261.
- Taiz, L. and Zeiger E. (2014) Plant physiology. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Tavakoli, M., Chehregani rad, A., Lariyazdi, H. and Pakdel, A. (2011) Study on the effects of different concentrations of Pb and salicylic acid on some growth factors in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Plant Biology* 7: 29-40 (in Persian).
- Tripathi, B. N., Mehta, S. K., Amar, A. and Gaur, J. P. (2006) Oxidative stress in *Scenedemus* sp. During short- and long-term exposure to  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$ . *Chemosphere* 62(4): 538-544.
- Truong, P., Gordon, I. and Baker, D. (1996) Tolerance of Vetiver grass to some adverse soil conditions. In: *Proceeding of the First International Vetiver Conference, Thailand*.
- Truong, P., Tan Ven, T. and Pinner, E. (2008) Vetiver system applications technical reference manual. 2<sup>nd</sup> edition, Create Space Independent Publishing, New Delhi.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64(1): 88-93.
- Wang, S., Wu, X., Wang, Y., Li, Q. and Tao, M. (2008) Removal of organic matter and ammonia nitrogen from landfill leachate by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 15(6): 933-937.
- Yan, Y., Gao, J., Wu, J. and Li, B. (2014) Effects of inorganic and organic acids on heavy metals

- leaching in contaminated sediment. In: Interdisciplinary response to mine water challenges (Eds. Sui, W., Sun, Y. and Wang, C.) 406-410. China University of Mining and Technology Press, Xuzhou.
- Zare Dehabadi, S., Asrar, Z. and Mehrabani, M. (2007) Effect of zinc on growth and some physiological and biochemical parameters of spearmint (*Mentha spicata* L.). Iranian Journal of Biology 20(3): 230-241 (in Persian).
- Zare Dehabadi, S., Asrar, Z., Shoushtari, A. N. and Pourseyedi, S. (2012) Investigation on the protective role of nitric oxide in alleviating arsenic acid toxicity in shoot and root of *Ocimum basilicum* L.. Iranian Journal of Plant Biology 18: 1-14 (in Persian).
- Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. and Xu, C. H. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in photosystem II with EPR spin trapping techniques. Photosynthesis Research 75: 41-48.
- Zulquer, N. M. and Jawed, M. (2010) Impact of sudden change in feed substrate types on steady response of suspended growth anaerobic reactors. International Journal of Environmental Research 4(2): 247-254.
- Zvinowanda, C. M., Okonkwo, J. O., Shabalala, P. N. and Agyei, N. M. (2009) A novel adsorbent for heavy metal remediation in aqueous environments. International Journal of Environmental Science and Technology 6(3): 425-434.

## Physiological responses of Vetiver plant (*Vetiver zizanioides*) to municipal waste leachate

Sasan Mohsenzadeh \*, Nadereh Naderi and Mahdi Nazari

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

### Abstract

Vetiver plant is tolerant to acidity and temperature variations. Has rapid growth for biomass production and has high tolerance to organic and non-organic compounds in municipal waste leachate for example heavy metals. So this plant is good for landfill cultivation. In this study, physiological responses to municipal waste leachate were studied. Statistical design was a randomized complete block and each block treated with different concentrations of latex at levels of zero, 15, 30, 45 and 60 percent compared to the original latex waste. The leachate collected from the Shiraz landfill and brought into the greenhouse. The physiological characterization including leaf area, dry weight, chlorophyll, anthocyanin, proline, soluble sugars and total protein were measured. The result indicated that the dry weight, chlorophyll and anthocyanin decrease with increasing of latex concentration. The leaf area, leaf relative water, soluble sugars and total protein increased with increasing latex concentration. Proline concentration at 15 percent of leachate increased significantly compared to controls, whereas at higher concentrations decreased. According to the results, it is recommended that 45 percent of leachate in a landfill can be used to irrigate Vetiver. This is the maximum concentration of leachate that Vetiver plant can survive as green space. Primary filtration of leachate before using is recommended. If the aim is more growth or perfume application from root, less concentration of leachate is better.

**Key words:** Municipal waste, Landfill, Leachate, Heavy metal, Phytoremediation, Vetiver

\* mohsenzadeh@susc.ac.ir