



توانایی علف چشمه (*Nastutium officinale*) و پونه (*Mentha pulegium*)

در جذب نیترات و فسفات مازاد آب

زهرا احمد پور¹ - محمود خرمی وفا^{2*} - سعید جلالی هنرمند³ - کیانوش چقامیرزا⁴ - معصومه خان احمدی⁵

تاریخ دریافت: 1392/01/19

تاریخ پذیرش: 1394/07/13

چکیده

پاکسازی آب‌های سطحی آلوده به نیترات و فسفات پیش از انتشار آنها در محیط و ایجاد اوتریفیکاسیون با توجه به اهمیت سلامت آب و با در نظر گرفتن پیامدهای ناشی از نیترات و فسفات ضروری به نظر می‌رسد. از اینرو این پژوهش برای شناسایی توانمندی دو گیاه علف‌چشمه و پونه در پالایش آب‌های آلوده به نیترات و فسفات شامل دو آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در شرایط هیدروپونیک انجام شد. فاکتور اول شامل نوع گیاه (پونه و علف‌چشمه) و فاکتور دوم در آزمایش اول و دوم به ترتیب عبارت از نیترات (50، 100 و 150 میلی‌گرم در لیتر) و فسفات (5، 10 و 15 میلی‌گرم در لیتر) بود. دو گیاه از نظر انباشت فسفات در ریشه و اندام‌های هوایی با یکدیگر اختلاف داشتند. با اینحال روند تغییرات شاخص غلظت زیستی فسفر در اندام هوایی بین دو گیاه مشابه بود. به نحوی که افزایش غلظت فسفات در محلول کاهش معنی‌دار این شاخص را در هر دو گیاه در پی داشت. علف‌چشمه و پونه غلظت بالایی از نیترات و فسفر را در خود انباشت داده‌اند و انباشت این عناصر در اندام هوایی نسبت به ریشه‌ها بیشتر بود. بطوریکه فاکتور انتقال نیترات در علف‌چشمه و پونه به ترتیب 1/3 و 1/07 و فاکتور انتقال فسفر نیز به ترتیب 1/07 و 0/94 به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: گیاه‌پالایی، اکوسیستم‌های آبی، آلودگی آب، هیدروپونیک

مقدمه

میزان نیترات بیشتر از 50 میلی‌گرم در لیتر بودند که عامل اصلی آن استفاده از کودهای نیتروژنی در بخش کشاورزی است (10). آلودگی نیتراتی در حوزه قره‌سو در دشت گرگان به پساب‌های کشاورزی و چاه‌های فاضلاب شهر گرگان و ورود آب‌های سطحی آلوده نسبت داده شده است (13).

نیترات و آمونیوم به عنوان دو شکل معدنی و غالب نیتروژن مدت‌هاست که در کانون مباحث مربوط به آلاینده‌های محیط‌زیست و منابع آب قرار گرفته‌اند. در این میان، نیترات به دلایل گوناگونی چون پویایی زیاد و عامل بروز بیماری‌های مرگ‌آوری همچون برخی سرطان‌های دستگاه گوارش و غدد لنفاوی در بزرگسالان و بیماری متهموگلوبینمی⁶ در نوزادان گوی سبقت را از دیگر گونه معدنی نیتروژن یعنی آمونیوم که پویایی کمتری دارد، ربوده است (21). از اینرو بیشینه غلظت این یون در آب آشامیدنی به وسیله سازمان بهداشت جهانی (WHO) تنها 45 میلی‌گرم بر لیتر اعلام شده است (26).

فسفات‌ها بر اثر نشت از مواد معدنی و یا سنگ‌های معادن در فرآیندهای طبیعی، تجزیه محصولات پاک‌کننده، فاضلاب صنایع و

از آنجا که قابلیت حل شدن کودهای شیمیایی در آب زیاد است، پس از آبیاری زمین، این ترکیبات حل شده و مقداری از آن‌ها با آب مازاد آبیاری از مزارع خارج می‌شوند. بنابراین آب مازاد زمین‌هایی که به آن‌ها کود شیمیایی داده شده محتوی مقدار قابل توجهی نیترات، فسفات و کربنات پتاسیم است. با خروج این آب‌های آلوده از مزارع و پیوستن آن‌ها به آب‌های سطحی مانند رودخانه‌ها و نه‌رها، آلودگی در محیط انتشار می‌یابد و با ورود مداوم رودخانه‌های آلوده به دریاچه‌ها و دریاها، غلظت این مواد در منابع آب رو به افزایش می‌گذارد. به علت محلول بودن این ترکیبات در آب، آلودگی می‌تواند همراه آب به اعماق نفوذ کند، حتی سبب آلودگی منابع آب زیرزمینی گردد (12). در بررسی‌های انجام شده روی 311 چاه آب در همدان، 115 چاه دارای

1، 2، 3 و 4 - به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد آگروکولوژی، استادیار و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه

* - نویسنده مسئول: (Email: khoramivafa@razi.ac.ir)

5- عضو هیات علمی جهاد دانشگاهی استان کرمانشاه

پونه به علت ویژگی‌هایی چون سازگاری با بیشتر اقلیم‌های ایران، نیاز کم به مراقبت و رسیدگی، می‌توانند گیاهانی مناسب برای دستیابی به هدف یاد شده باشند. در صورت اثبات توان بالای این گیاهان در جذب زیستی نیترات و فسفات، می‌توان با ترمیم چرخه نیتروژن و فسفر به سادگی از این دو گیاه به عنوان منابع آلی تامین نیتروژن و فسفر در خاک‌های زراعی بهره جست و از ورود آنها به آب‌های آزاد جلوگیری کرد. این موضوع به‌ویژه در مورد فسفر که چرخه‌ای کم و بیش کند دارد از اهمیت بیشتری برخوردار است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال 1389 در آزمایشگاه گیاهان دارویی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی به صورت هیدروپونیک در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده (دمای 25 درجه سانتی‌گراد و 16 ساعت نوردهی) به صورت دو آزمایش جداگانه فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور ها شامل نوع گیاه در دو سطح (پونه و علف‌چشمه) و نیترات (برای آزمایش اول) در سه سطح (50، 100 و 150 میلی‌گرم در لیتر) و فسفات (برای آزمایش دوم) در سه سطح (5، 10 و 15 میلی‌گرم در لیتر) بودند. نهال‌بذرهای علف‌چشمه و پونه (در حدود 10 تا 15 سانتی‌متر) از منطقه دهستان قلعه‌شاهین از توابع شهرستان سرپل ذهاب (34°، 19'، 56/11 N) و (45°، 58'، 37/08" E) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و پس از شستشوی ریشه آن‌ها، در گلدان‌های 3 لیتری جای داده شدند. به هر گلدان 2/5 لیتر آب مقطر به همراه محلول‌های غذایی به روش پریانیشنیکووا (Pryanishnikova) اضافه شد (جدول 1).

برای جلوگیری از ورود نور به داخل گلدان و در نتیجه جلوگیری از رشد جلبک دور هر گلدان با فویل آلومینیومی پوشیده شد. پس از سازگار شدن نشاها به شرایط آزمایشگاهی برای افزودن نیترات و فسفات به محیط رشد گیاهان به ترتیب از نمک‌های نیترات پتاسیم (KNO₃) و پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH₂PO₄) بر اساس جدول 2 استفاده گردید.

خانگی وارد آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شوند. غلظت‌های بالای فسفر باعث تسریع در پدیده اتریفیکاسیون در آب‌ها می‌شود که باعث تغییر طعم و بو در آب شده و نیز باعث ایجاد پدیده لایه‌بندی آب‌های سطحی یا رودخانه‌ها می‌گردد که این خود می‌تواند موجب مرگ و میر آبزیان گردیده و آب‌های سطحی را به سمت بی‌هوازی شدن پیش برد. برای به وجود آمدن پدیده شکوفایی جلبکی فقط غلظت 0/005-0/05 میلی‌گرم در لیتر فسفات بر حسب فسفر کافی است. استاندارد فسفات در آب‌های آشامیدنی 0/2 میلی‌گرم در لیتر اعلام شده است (24).

بررسی‌ها نشان داده است که روش استفاده از گیاهان آب دوست فرآیندی مطمئن، کارآمد، اقتصادی و آسان برای پالایش پساب آلوده شهری و روستایی، پساب‌های صنعتی و کشاورزی و دامی است که علاوه بر هزینه کم و مصرف انرژی بسیار پایین و راهبری ساده، باعث رفع آلودگی محیط زیست و بهبود آن شده و از نظر اقتصادی روی طرح‌های مهندسی مرتبط با رفع آلودگی تأثیر بسزایی دارد (27). اخیراً در دنیا بررسی توانایی جذب مواد آلاینده توسط دو کف‌های مورد توجه قرا گرفته است و مطالعات متعددی در زمینه میزان آلاینده‌های تجمع یافته در بافت دو کف‌های انجام گرفته است که به عنوان شاخصی جهت تعیین کیفیت آب و میزان آلاینده‌های موجود در آب به کار می‌رود. به علاوه، مطالعاتی در زمینه تعیین کارایی جلبک‌های سبز تک سلولی و میزان حذف آلاینده‌ها (فسفات و نیترات) توسط این جلبک‌ها نیز انجام شده است (9). در آزمایشی مشاهده شد که در تیمارهای با سرعت کم آب و تراکم پایین گیاه علف‌چشمه بیشترین نیترات و فسفات را جذب می‌کند و در تیمار با سرعت بالای آب و تراکم بالای گیاه علف‌چشمه بیشترین بیوماس و ارتفاع را دارا است (6). در یک بررسی مشخص شد که علف‌چشمه و لوبیا و تاج‌خروس توانایی گیاه‌پالایی بقایای آفتکش‌های فسفره را دارند و باکتری‌های ریزوسفری در این کار به این گیاهان کمک می‌کنند (2).

با توجه به اهمیت سلامت آب و با در نظر گرفتن عوارض ناشی از وجود ترکیباتی چون نیترات و فسفات، در این آزمایش امکان بهره‌گیری از دو گیاه علف‌چشمه و پونه برای حذف یا کاهش نیترات و فسفات مازاد آب در شرایط هیدروپونیک صورت گرفت. علف‌چشمه و

جدول 1- محلول غذایی مورد استفاده در آزمایش برای تامین مواد غذایی مورد نیاز گیاه بر اساس روش پریانیشنیکووا (16)

Table 1- Food solution used in the experiment to provide the plants nutrition based on Pryanishnykvva method

نمک‌ها Salts	مقدار مورد استفاده (گرم در لیتر) Amount (gr.Lit ⁻¹)
نیترات آمونیوم (NH ₄ NO ₃)	0.24
سولفات منیزیم (MgSO ₄)	0.06
دی‌کلسیم فسفات (CaHPO ₄ .2H ₂ O)	0.172
کلرید پتاسیم (KCl)	0.15
کلرید آهن (FeCl ₃)	0.025
سولفات کلسیم (CaSO ₄ .2H ₂ O)	0.344

جدول 2- مقدار نمک اضافه شده برای افزودن مقادیر مورد نظر از نیترات و فسفات به محیط رشد گیاهان (در حجم 2/5 لیتر آب)
Table 2- Amount of salt added to achieve required levels of nitrate and phosphate to the plants growth medium (in volume 2.5 liters of water)

Phosphate			Nitrate		
مقدار نمک برای غلظت 5، 10، 15 (میلی گرم)	KH ₂ PO ₄ (g)	جرم اتمی m _a (g)	مقدار نمک برای غلظت 5، 10، 15 (میلی گرم)	KNO ₃ (g)	جرم اتمی m _a (g)
Amount of salt for concentration 5, 10, 15 (mg)			Amount of salt for concentration 5, 10, 15 (mg)		
53.625, 35.75, 17.875	M=136.09 جرم مولی	94.99	21, 42, 63	M=101.11 جرم مولی	62.008

m_a: The atomic mass, M: Molarity

سولفوسالیسیلیک) به بالن ژوژه 50 میلی لیتری منتقل و سپس 10 میلی لیتر از محلول آمونیوم مولیبدات-وانادات به آن افزوده و به حجم رسانده شد. سپس مقدار جذب این نمونه‌ها در طول موج 470 نانومتر توسط دستگاه اسپکترومتر مدل carry قرائت شد. به این ترتیب مقدار فسفر نمونه‌ها با استفاده از معادله‌ای که از جذب استاندارد در این طول موج توسط اسپکترومتر به دست آمد، تعیین شد.²

پس از محاسبه انباشت فسفر و نیترات، شاخص‌های فاکتور غلظت زیستی³ (BCF) (17)، فاکتور انتقال⁴ (TF) (18)، شاخص تحمل⁵ (TI) (29) نیز بر اساس روابط زیر اندازه‌گیری گردید:

$$BCF = \frac{\text{میزان تجمع فلز در اندام مورد نظر}}{\text{میزان اولیه فلز در بستر کاشت}}$$

$$TF = \frac{\text{غلظت فلز در اندام هوایی}}{\text{غلظت فلز در اندام هوایی}}$$

$$TI = \frac{\text{وزن خشک گیاه در حضور آلاینده}}{\text{وزن خشک شاخه}}$$

برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای آماری MSTATC و EXCEL استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها هم به روش چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج بدست آمده دو گیاه از نظر انباشت فسفات در ریشه اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین سطوح مختلف نیترات و

غلظت نهایی نیترات و فسفات در آب با استفاده از اسپکترومتر به ترتیب در طول موج 410 نانومتر به روش سولفات بروسین و طول موج 690 به روش کلرید قلع ذکر شده در وبگاه روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب، اندازه‌گیری شد.¹ پس از اتمام آزمایش بوته‌های علف‌چشمه و پونه در هر واحد آزمایشی (گلدان) با دقت کامل از آب خارج، سپس هر بوته به دو قسمت ریشه و اندام هوایی تقسیم شد. ریشه‌ها و اندام‌های هوایی به صورت جداگانه درون فویل آلومینیومی قرار داده شدند و به مدت 48 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد درون آون کاملاً خشک گردید. وزن خشک نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت 0/001 گرم) اندازه‌گیری، سپس نمونه‌ها آسیاب و در کیسه‌های پلاستیکی برچسب‌دار نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری انباشت نیترات و فسفر در گیاه، از هر تکرار به ترتیب 0/4 و 0/3 گرم پودر خشک از اندام هوایی و ریشه علف‌چشمه و پونه مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور اندازه‌گیری نیترات گیاه 0/4 گرم از نمونه‌های گیاهی خشک پودر شده در ارلن 50 میلی لیتری ریخته شد. سپس 40 میلی لیتر سولفات آلومینیوم 0/025 (Al₂(SO₄)₃.16H₂O) مولار به آن افزوده و نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه با 200 دور در دقیقه شیک شد. بعد از صاف کردن، نمونه‌ها برای اندازه‌گیری نیترات آماده شد (11). 1/5 میلی لیتر از عصاره در ارلن 50 میلی لیتری ریخته و 0/8 میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک (5%) و 17/7 (C₇H₆O₆S.2H₂O) میلی لیتر سود (NaCl) 2 نرمال به آن اضافه و جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکترومتر مدل carry در طول موج 410 نانومتر قرائت شد. قبلاً دستگاه با محلول تهیه شده در غلظت صفر و نمونه‌های استاندارد تهیه شده توسط دستگاه قرائت شد (4).

بعد از هضم نمونه‌های گیاهی با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک و صاف کردن آن‌ها برای تعیین مقدار فسفر نمونه‌های گیاهی مقدار 10 میلی لیتر از عصاره‌های گیاهی و محلول غلظت صفر (اسید

2- Technical handbook of IR Iran Soil and water research institute. 1991. No. 893 and 982.

3- Bioconcentration Factor

4- Translocation Factor

5- Tolerance Index

1- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (<https://www.standardmethods.org>)

angustata L. انتقال فسفر به اندام‌های هوایی بیشتر است. همچنین گیاه آبی *Arundo donax* فسفر را در ریزوم خود ذخیره و سپس به قسمت‌های هوایی انتقال می‌دهد (23). در این رابطه پیشنهاد شده است که گیاهان باید بلافاصله پس از برداشت حذف شوند تا از آیشویی مواد غذایی از ساقه به آب جلوگیری شود (7).

دو گیاه در سطوح مختلف فسفات از نظر شاخص تحمل ریشه نیز با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول 3). هرچند افزایش غلظت فسفات در محلول به افزایش تحمل ریشه هر دو گیاه نسبت به فسفات منجر شد. به گونه‌ای که بیشترین شاخص تحمل ریشه علف‌چشمه (153/8) و پونه (138/9) به فسفات در سطح تیماری 15 میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (جدول 4).

همچنین نتایج نشان داد که بین دو گیاه از نظر شاخص تحمل اندام هوایی در غلظت‌های 5 و 15 میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌دار وجود داشت. ضمن اینکه با افزایش غلظت فسفات تحمل اندام هوایی دو گیاه افزایش یافت به گونه‌ای که بیشترین مقدار این شاخص در علف‌چشمه (142/5) و پونه (136/5) در سطح تیماری 15 میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (جدول 4).

دو گیاه از نظر انباشت نیترات در ریشه‌های خود اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و در غلظت‌های مختلف، مقادیر مشابهی از نیترات را در ریشه‌های خود انباشت دادند. افزایش غلظت نیترات تا سطح 100 میلی‌گرم در لیتر بر انباشت آن در ریشه دو گیاه تاثیر معنی‌دار داشت (جدول 7). این یافته‌ها با گزارش رید و هاگمان (19) مطابقت داشت. آن‌ها عنوان کردند که غلظت نیترات در ریشه به مقدار ناچیزی تحت تاثیر افزایش غلظت اولیه نیترات آب قرار گرفت. در آزمایش دیگری، در غلظت 1/25 میلی‌گرم در لیتر در آب و کمتر، غلظت نیتروژن در ریشه افزایش در حالی که با افزایش غلظت اولیه نیتروژن در آب، مقدار نیتروژن در ریشه کاهش یافت (14).

افزایش غلظت نیترات به افزایش معنی‌دار در انباشت آن در اندام هوایی منجر شد. به گونه‌ای که بیشترین مقدار آن در اندام هوایی (108/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در غلظت 150 میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (جدول 6). این نتیجه با یافته‌های رومئو و همکاران (20) مطابقت داشت. بر اساس نتایج آزمایش آن‌ها در شرایط کشت هیدروپونیک مشخص شد با افزایش غلظت نیتروژن در محیط ریشه، در بافت‌های نی، نیتروژن بیشتری انباشت یافت و به طور معنی‌داری رشد نسبی گیاه را تحت تاثیر قرار گرفت. در یک بررسی دیگر مشخص شد که با افزایش مقدار کود، مقدار نیترات در سبزیجات زیاد می‌شود به گونه‌ای که بیشترین عملکرد و تجمع نیترات در تیمار کودی 200 کیلوگرم در هکتار به دست آمد (1).

فسفات بر میزان انباشت آن در ریشه تاثیر معنی‌داری داشت. (جدول 3). در این ارتباط انباشت فسفر در ریشه‌های علف‌چشمه تا سطح 10 میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌دار افزایش یافت و مقدار آن در این غلظت به 4/3 میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید. این در حالی بود که در مورد پونه افزایش غلظت فسفات در محیط، تاثیر معنی‌داری در انباشت آن در ریشه نداشت. همچنین در غلظت‌های 5 و 10 میلی‌گرم در لیتر فسفات، پونه توانایی بیشتری در انباشت فسفر در ریشه‌های خود داشت (جدول 4).

دو گیاه از نظر انباشت فسفر در اندام‌های هوایی نیز رفتارهای متفاوتی داشتند. به نحوی که انباشت فسفر در اندام‌های هوایی علف‌چشمه تا سطح 10 میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌داری افزایش یافت و مقدار آن در این غلظت به 4/4 میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید. در حالیکه انباشت فسفر اندام‌های هوایی پونه تحت تاثیر افزایش غلظت آن (فسفات) در محیط قرار نگرفت. همچنین در غلظت‌های 5 و 15 میلی‌گرم در لیتر فسفات، پونه توانایی بیشتری در انباشت فسفر در اندام‌های هوایی خود نشان داد (جدول 4). گرین و همکاران (8) گزارش کردند که در غلظت‌های بالای فسفر، گیاه یک مکانیسم تنظیم‌کننده دارد که از جذب بیش از حد فسفر جلوگیری می‌کند.

از نظر غلظت زیستی فسفر در ریشه نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت. به طوریکه غلظت زیستی فسفر در ریشه علف‌چشمه و پونه با افزایش غلظت فسفات تا سطح 10 میلی‌گرم در لیتر کاهش داشت و مقدار آن در ریشه علف‌چشمه و پونه به ترتیب به 0/43 و 0/58 میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید. با اینحال روند تغییرات شاخص غلظت زیستی فسفر در اندام هوایی بین دو گیاه مشابه بود. به نحوی که افزایش غلظت فسفات در محلول کاهش معنی‌دار این شاخص را در هردو گیاه در پی داشت (جدول 4).

بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که بین دو گیاه از نظر فاکتور انتقال فسفر بین سطوح مختلف فسفات اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 3). در این رابطه در تیمار 5 میلی‌گرم در لیتر فسفات، فاکتور انتقال فسفر در علف‌چشمه بیشتر بود (1/3). به عبارت دیگر در این سطح تیماری علف‌چشمه توانایی بیشتری در انتقال فسفر به اندام هوایی داشت. با اینحال با افزایش غلظت فسفات مقدار انتقال فسفر در علف‌چشمه کاهش یافت و در سطح تیماری 15 میلی‌گرم در لیتر به 0/9 رسید ولی در پونه تغییر معنی‌داری نداشت. البته بطور کلی میانگین فاکتور انتقال فسفر در علف‌چشمه بیشتر از پونه بود (به ترتیب 1/07 و 0/94) (جدول 4). از اینرو چون این مقدار در علف‌چشمه بیشتر از یک بود، علف‌چشمه به عنوان فراانباشگر فسفر ولی پونه با توجه به مقدار این فاکتور که نزدیک به یک است، انباشتگر فسفر به حساب می‌آید. در ارتباط با انتقال فسفر از ریشه به اندام‌های هوایی، باس و همکاران (3) گزارش دادند که در گیاه *Tyaha*

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات فسفر

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	غلظت فسفر در ریشه Phosphorus concentration in roots	غلظت فسفر در اندام هوایی Phosphorus concentration in shoots	غلظت زیستی فسفر در ریشه Phosphorus Bioconcentration in roots	غلظت زیستی فسفر در اندام هوایی Phosphorus Bioconcentration in shoots	فاکتور انتقال فسفر Phosphorus translocation Factor	شاخص تحمل ریشه Tolerance Index of root	شاخص تحمل اندام هوایی Tolerance Index of shoot
گیاه Plant	1	10.27**	5.06**	0.19**	0.08**	0.08 ^{ns}	828.29**	35.51**
فسفات Phosphate	2	5.35**	0.89*	0.23**	0.42**	0.1*	410.88**	812.91**
گیاه × فسفات Phosphate×Plant	2	0.36 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.04**	0.016*	0.037 ^{ns}	19.57**	14.37*
خطا Error	12	0.52	0.19	0.006	0.004	0.02	2.17	2.11
ضرب تغییرات (CV%)		14.77	9.31	14.33	11.64	13.59	1.06	1.14

: non significant and significant ($\alpha=1\%$, 5%) respectively**,**,ns, ns, * و **، به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل گیاه و فسفر برای خصوصیات مربوط به فسفر
 Table 4- Mean comparison of plant × phosphorus interaction for phosphorus traits

گیاه Plants	تیمارهای فسفات (میلی گرم بر لیتر) Phosphate treatments (ml.L ⁻¹)	غلظت فسفر* Phosphorus concentration*		غلظت زیستی فسفر Phosphorus Bioconcentration		فاکتور انتقال فسفر ± Phosphorus Translocation Factor ± 0.08	شاخص تحمل ریشه Tolerance Index of root ± 0.85	شاخص تحمل اندام هوایی ± 0.84 Tolerance Index of shoot ± 0.84
		Roots ± 0.4	Shoots ± 0.2	roots ± 0.04	shoots ± 0.04			
علف چشمه Watercress	5	2.84 ^c	3.6 ^c	0.57 ^b	0.72 ^a	1.3 ^a	134.6 ^d	117.6 ^d
	10	4.3 ^b	4.4 ^b	0.43 ^c	0.44 ^{cd}	1.1 ^{ab}	147.8 ^b	126.8 ^e
	15	5.2 ^{ab}	4.4 ^b	0.34 ^c	0.29 ^c	0.9 ^b	153.8 ^a	142.5 ^a
پونه Pennyroyal	5	4.8 ^{ab}	4.9 ^{ab}	0.96 ^a	0.98 ^a	1.01 ^b	125.1 ^f	114.9 ^e
	10	5.8 ^a	5.2 ^{ab}	0.58 ^b	0.52 ^c	0.9 ^b	131.4 ^e	127.01 ^e
	15	6.2 ^a	5.6 ^a	0.41 ^b	0.37 ^{de}	0.9 ^b	138.9 ^e	136.5 ^b

Means with common letters in each column have not significant different ($p \leq 0.05$).
 میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی دار ندارند (p ≤ 0.05). * میلی گرم بر کیلوگرم mg/kg*

جدول 5- نتایج تجزیه واریانس خصوصیات نیترات در گیاه
Table 5- Analysis of variance nitrate traits

منابع تغییر SOV	df	MS							
		غلظت نیترات در ریشه Nitrate concentration in roots	غلظت نیترات در اندام‌های هوایی Nitrate concentration in shoots	غلظت زیستی نیترات در ریشه Nitrate Bioconcentration in roots	غلظت زیستی نیترات در اندام‌های هوایی Nitrate Bioconcentration in shoots	غلظت انتقال نیترات Nitrate Translocation Factor	شاخص تحمل ریشه Tolerance Index of root	شاخص تحمل اندام‌های هوایی Tolerance Index of shoot	
Plant	1	614.09 [*]	20.04 ^{ns}	0.07 [*]	0.00 ^{ns}	0.23 [*]	566.65 ^{**}	851.76 ^{ns}	
Nitrate	2	2122.47 ^{**}	6077.94 ^{**}	0.26 ^{**}	0.09 ^{**}	0.19 [*]	786.19 ^{**}	205.1 ^{ns}	
Nitrate × Plant	2	41.65 ^{ns}	31.95 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.02 ^{ns}	238.67 ^{**}	863.9 ^{ns}	
Error	12	90.87	48.82	0.012	0.005	0.04	12	346.05	
CV%		13.68	8.43	14.44	8.3	16.15	2.72	16.96	

*: non significant and significant ($\alpha=1\%$, 5%) respectively; **, ns, ns: * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد

جدول 6- مقایسه میانگین خصوصیات نیترات در بخش‌های مختلف گیاهان علف‌چشمه و پونه

تیمارهای نیترات (میلی گرم بر لیتر) Nitrate treatments (mL ⁻¹)	غلظت نیترات*		غلظت زیستی نیترات در ریشه ±		غلظت زیستی نیترات در اندام‌های هوایی ±		غلظت انتقال نیترات ±		شاخص تحمل ریشه ±	
	ریشه ± *۳/۸۹	اندام هوایی ± *۲/۸۵	Nitrate concentration in roots ± 0.04	Nitrate Bioconcentration in roots ± 0.04	Nitrate Bioconcentration in shoots ± 0.03	هوائی ± ۰/۰۳	Nitrate Bioconcentration in shoots ± 0.03	Nitrate Translocation Factor ± 0.08	Tolerance Index of root ± 1.4	Tolerance Index of shoot
50	49.44 ^c	47.24 ^c	0.99 ^a	0.94 ^a	0.98 ^b	0.98 ^b	۰/۰۸	۱۱۴.۹ ^c	۱۱۴.۹ ^c	
100	72.97 ^b	92.89 ^b	0.73 ^b	0.93 ^a	1.29 ^a	1.29 ^a	۰/۰۸	۱۳۷.۴ ^a	۱۳۷.۴ ^a	
150	86.62 ^a	۱۰۸.۵ ^a	0.58 ^c	0.72 ^b	۱.۲۸ ^a	۱.۲۸ ^a	۰/۰۸	۱۲۹.۸ ^b	۱۲۹.۸ ^b	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌دار ندارند ($p \leq 0.05$). *، میلی گرم بر کیلوگرم
mg/kg; Means with common letters in each column have not significant different ($p \leq 0.05$).

یون را به اندام هوایی خود انتقال داده‌اند ولی با افزایش غلظت نیترات از 50 به 100 میلی‌گرم در لیتر فاکتور انتقال نیترات در علف‌چشمه به طور معنی‌دار افزایش یافت و در غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر به بالا مقدار آن تغییر معنی‌داری نداشت. این در حالی بود که افزایش غلظت نیترات تاثیری در انتقال آن به اندام هوایی پونه نداشت. میانگین فاکتور انتقال این عنصر در غلظت‌های مختلف در علف‌چشمه 1/3 و در پونه 1/07 بود (جدول 7). بنابراین می‌توان با توجه به فاکتور انتقال نیترات که در این آزمایش بیشتر از یک بود دو گیاه را جزء فرا انباشتگرهای نیترات دانست. انباشت بیشتر نیترات در اندام هوایی را می‌توان به مقدار بیشتر آب در این بافت‌ها نسبت داد که این خود بیانگر فاکتور انتقال بیشتر نیترات به اندام‌های هوایی است (5 و 16). با افزایش غلظت نیترات تا سطح 100 میلی‌گرم در لیتر تحمل ریشه علف‌چشمه به طور معنی‌دار افزایش (139/4) و در غلظت بالاتر (150 میلی‌گرم در لیتر) کاهش یافت و مقدار آن به 118/4 رسید. این در حالی بود که تحمل ریشه پونه تا سطح 100 میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌دار افزایش یافت (135/4) و در غلظت بالاتر تحمل ریشه آن افزایش معنی‌داری نداشت. به بیانی دیگر ریشه پونه تحمل بیشتری نسبت به غلظت‌های بالای نیترات داشت (جدول 7).

نتیجه‌گیری کلی

در جریان این آزمایش مشخص شد که دو گیاه به عنوان پالاینده آلاینده‌های نیترات و فسفات عمل کرده‌اند (فاکتور انتقال نیترات در علف‌چشمه 1/3 و در پونه 1/07 و فاکتور انتقال فسفر در علف‌چشمه و پونه به ترتیب 1/07 و 0/94 بود).

علف‌چشمه و پونه غلظت بالایی از نیترات و فسفر را در خود انباشت داده‌اند و انباشت این عناصر در اندام هوایی نسبت به ریشه‌ها بیشتر بود. در این رابطه روئیز و ولاسکو (22) نتایج مشابهی را بدست آوردند. مطابق نتایج آن‌ها نیز میزان نیترات و فسفات در اندام‌های هوایی گیاه نی (*Phragmites australis*) بیشتر بود. یکی از دلایل عنوان شده این است که اندام‌های هوایی دارای مقدار آب بیشتر و واکنش‌های بزرگ‌تری هستند، بنابراین میزان نیترات بیشتری در این قسمت انباشت می‌یابد (28). دلیل دیگر این است که در شدت نور مناسب، فتوسنتز بیشتر و جذب این آلاینده‌ها بیشتر است (25).

یافته‌های آزمایش مشخص کرد که با افزایش غلظت نیترات در محلول، غلظت زیستی آن در ریشه و اندام هوایی به طور معنی‌داری کاهش یافت. به طوری که کمترین شاخص غلظت زیستی در ریشه (0/58 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در اندام هوایی (0/72 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در غلظت 150 میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول 6). افزایش غلظت نیترات در محیط کشت تا سطح 100 میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی‌دار غلظت زیستی آن در ریشه دو گیاه را در پی داشت به گونه‌ای غلظت زیستی آن در این سطح تیماری در ریشه علف‌چشمه و پونه به ترتیب 0/7 و 0/8 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بود. (جدول 7). جذب نیتروژن و فسفر به وسیله گیاه به دسترسی زیستی این عناصر در محیط ریشه، نسبت مواد غذایی در محیط و شرایط محیطی از جمله دما و اسیدیته بستگی دارد (3). طبق نتایج آزمایش حاضر مقدار شاخص غلظت زیستی نیترات در ریشه و اندام هوایی در تمامی غلظت‌های این عناصر مشابه بود (جدول 7). این یافته با گزارش لو و همکاران (15) که مبنی بر حداقل تفاوت این عناصر در ریشه و اندام هوایی است، مطابقت داشت.

اگرچه در سطوح مختلف نیترات دو گیاه مقادیر مشابهی از این

جدول 7- مقایسه میانگین اثر متقابل گیاه و نیترات برای اندازه‌گیری‌های مربوط به نیترات

Table 7- Mean comparison of plant and nitrate interaction for measurements of nitrate

گیاه Plants	تیمارهای نیترات (میلی‌گرم بر لیتر) Nitrate treatments (mL.L^{-1})	غلظت نیترات در ریشه $5/5 \pm$ Nitrate concentration in $5.5 \pm$ *roots	غلظت زیستی نیترات در ریشه $0/04 \pm$ Nitrate Bioconcentration in $0.04 \pm$ roots	فاکتور انتقال نیترات \pm 0/85 Nitrate Translocation $0.85 \pm$ Factor	شاخص تحمل ریشه $2 \pm$ Tolerance Index of root $2 \pm$
علف‌چشمه Watercress	50	46.01 ^d	0.9 ^{ab}	1.02 ^b	107.4 ^c
	100	67.5 ^{bc}	0.7 ^{cd}	1.4 ^a	139.4 ^a
	150	77.97 ^{ab}	0.5 ^d	1.4 ^a	118.4 ^b
پونه Pennyroyal	50	52.9 ^{cd}	1.1 ^a	0.9 ^b	122.4 ^b
	100	78.4 ^{ab}	0.8 ^{bc}	1.2 ^{ab}	135.4 ^a
	150	95.3 ^a	0.6 ^{cd}	1.1 ^{ab}	141.1 ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌دار ندارند ($p \leq 0/05$)
* میلی‌گرم بر کیلوگرم

Means with common letters in each column have not significant different ($p \leq 0.05$)

*mg/kg

بیشتری برخوردار است. از اینرو می توان دو نقش اصلی برای علف-چشمه و پونه در اکوسیستم‌های آبی متصور شد: نخست عمل کردن به صورت یک بیوفیلتر و بازگرداندن نیتروژن و فسفر از آب های سطحی یا فاضلاب برای جلوگیری از آبلشویی آنها و در نتیجه جلوگیری از انتشار و آلودگی بیشتر محیط و دوم به عنوان یک محصول فرعی قابل فروش و قابل بهره‌برداری برای نمونه به عنوان کود سبز و....

به طور کلی با استنباط از یافته‌های آزمایش، رفتار علف‌چشمه و پونه در رابطه با نیترات و فسفات رفتار کاملاً استخراج کننده‌ای بود. بنابراین با توجه به توان بالای این گیاهان در جذب زیستی نیترات و فسفر می‌توان با ترمیم چرخه نیتروژن و فسفر به سادگی از آنها به عنوان منابع آلی تامین نیتروژن و فسفر در خاک‌های زراعی بهره جست و از ورود آنها به آب‌های آزاد جلوگیری کرد. این موضوع به‌ویژه در مورد فسفر که چرخه‌ای کم و بیش کند دارد از اهمیت

منابع

- Ahmadi H., Akbarpour V., Dashti F., and Shojaeian A.A. 2010. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian spinach accessions. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 8(4):468-473.
- Al-Qurainy F., and Abdel Megeed A. 2009. Phytoremediation and detoxification of two organophosphorous pesticides residues in Riyadh area. *World Applied Sciences Journal*, 6 (7): 987-998.
- Bose S., Vedamati J., Rai V., and Ramanathan A.L. 2008. Metal uptake and transport by *Tyaha angustata* L. grown on metal contaminated waste amended soil: *Geoderma*, 145(1-2): 136-142. 145.
- Cataldo D.A., Haroon M., Schrader L.E., and Youngs V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitrification of salicylic acid. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 6(1):71-80.
- Chen W., Luo J.K., and Shen Q.R. 2005. Effect of $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratios on growth and some physiological parameters of *Chinese cabbage* cultivars. *Pedosphere*, 15(3): 310-320.
- Dyer DJ. 2006. Effectiveness of aquatic phytoremediation of nutrients (*Nasturtium officinale*), Basil (*Ocimum basilicum*), dill and lettuce (*Lactuca sativa*) from effluent of a flow-through operation. Thesis (M.S.), West Virginia University, 2006.
- Golterman, H.L. 2004. *The Chemistry of Phosphate and Nitrogen Compounds in Sediments*. Springer Netherlands Publishers.
- Green D.G., Ferguson W.S., and Warder F.G. 1973. Accumulation of Toxic Levels of Phosphorus in the Levels of Phosphorus. Deficient Barley. *Ganiadian Journal of Plant Science*, 53:241-246.
- Green R.H., Bailey R.C., Hinch S.G., Metcalfe J.L., and Young V.H. 1989. Use of freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) to monitor the nearshore environment of lakes. *Journal of Great Lakes Research*, 7(8): 635-644.
- Jalali M. 2005. Nitrates leaching from agricultural land in Hamadan, Western Iran. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 110(3-4): 210-218.
- Jones J.B. 2001. *Laboratory guide for conducting soil test and plant analysis*. CRC. Press.
- Jonoubi R. 1998. Contamination of water supply sources and prevent procedures it. West Azarbaijan rural water and Wastewater Company. Available at <http://www.abfar-wazar.ir>. (in Persian with English abstract)
- Kalantari N., and Naseri H. 2001. Study changes of nitrate in Gorgan Qarasou groundwater basin. Fifth Conference of Geological Society of Iran, Tehran, 28-30 August. (in Persian with English abstract)
- Lu Q. 2009. Evaluation of Aquatic Plants for Phytoremediation of Eutrophic Stormwaters. Thesis (PhD), University of Florida
- Lu Q., He Z.L., Graetz D.A., Stoffella P.J., and Yang X. 2008. Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 17(1):84-96.
- Meychik N.R., Yermakov I.P., Khonarmand S.D., and Nikolaeva Yu.I. 2009. Ion-Exchange Properties of Cell Walls in Chickpea Cultivars with Different Sensitivities to Salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57(5): 620-630.
- Odjegba V.J., and Fasidi I.O. 2007. Phytoremediation of Heavy Metals by *Eichhornia crassipes*. *The Environmentalist*, 27(3):349-355.
- Rabie G.H. 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil, *African Journal of Biotechnology*, 4(4): 332-345.
- Reed A.J., and Hageman R.H. 1980. Relationship between nitrate uptake, flux, and reduction and the accumulation of reduced nitrogen in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology*, 66:1184-1189.
- Romero J.A., Brix H., and Comin F.A. 1999. Interactive effects of N and P on growth, nutrient allocation and NH_4^+ uptake kinetics by *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 64:369-380.

- 21- Roskowski J., Motyka J., and Roskowski K. 2005. Nitrate in water of the vadose and phreatic zones, Crocow Jurassic-Poland. Proceedings of European meeting of the International Association of Hydrogeologists, Wisla, Poland, 4-7 June 2002.
- 22- Ruiz M., and Velasco J. 2009. Nutrient Bioaccumulation in *Phragmites australis*: Management tool for reduction of pollution in the Mar Menor. *Water, Air and Soil Pollution*, 205:173-185.
- 23- Sagehashi M., Kawazoe A., Fujii T., Hu H.Y., and Sakoda A. 2009. Cadmium removal by the hydroponic culture of Giant Reed (*Arundo donax*) and its concentration in the plant. *Journal of Water and Environment Technology*, 7 (2):143-154.
- 24- Samadi M.T., Saghi M.H., Ghadiri K., Hadi M., and Beikmohammadi M. 2010. Performance of simple nano zeolite Y and modified nano zeolite Y in phosphor removal from aqueous solutions. *Iranian Journal of Health & Environment*, 3(1):27-36. (in Persian with English abstract).
- 25- Smith, E.N. 2007. Watercress (*Nasturtium officinale*) production utilizing Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) flow-through aquaculture effluent. (M.S.), West Virginia University.
- 26- Sparks, D.L. 2003. *Environmental soil chemistry*. Academic Press, Elsevier Second Edition.
- 27- Van Oostrom A.J., and Russell J.M. 1994. Denitrification in Constructed Wastewater Wetlands Receiving High Concentrations of Nitrate. *Water Science and Technology*, 29(4): 7-14
- 28- Wang Z.H., and Li S.X. 1996. Relationships between nitrate contents and water, total N as well as total P in different organs of vegetable plants. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2(2):144-152.
- 29- Wilkins D.A. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytology*, 80: 623-633.



The Ability of Watercress (*Nasturtium officinale*) and Pennyroyal (*Mentha pulegium*) in Clean up Excess Nitrate and Phosphate of Water

Z. Ahmadpoor⁶ - M. Khoramivafa^{7*} - S. Jalali Honarmand³ - K. Cheghamirza⁴ - M. Khan Ahmadi⁵

Received: 04-08-2013

Accepted: 10-13-2015

Introduction: There is necessary to clean up the nitrate and phosphate from surface waters before effluence of them to environment and eutrophication formation because of water health importance and considering to nitrate and phosphate consequences. Nitrate and ammonium as the - forms of inorganic and nitrogen have been subjected to the center of issues related to environment pollutants and water resources in a long time. The nitrate is more important than other inorganic nitrogen forms such as ammonium because of various reasons such as high dynamics and causing diseases such as some of digestion system and lymph nodes cancers in adults and methemoglobinemia in infants. Therefore the maximum concentration of this ion in drinking water has been determined as 45 mg.Lit⁻¹ by WHO. Regarding the importance of the water health and the complications due to existence of some compounds such as nitrate and phosphate, in this experiment, the possibility of elimination or decreasing excess nitrate and phosphate from water in hydroponic conditions using of two watercress and pennyroyal plants was evaluated. Watercress (*Nasturtium officinale*) and pennyroyal (*Mentha pulegium*) were selected because of some properties such as adaptability with the most climates of Iran and less requirements care.

Materials and Methods: Two RCD factorial experiments were carried out to evaluate the ability of watercress and pennyroyal to biosorption of nitrate and phosphate from polluted water in hydroponic conditions. First factor was plant species including watercress and pennyroyal. Second factor included nitrate (50, 100, 150 Mg/L) and phosphate (5, 10, 15 Mg/L) in first and second experiment respectively. The final concentrations of nitrate and phosphate in water was measured using spectrophotometer in wavelength of 410 nm and 690 nm by sulphate brucine and chloride methods, respectively, which are mentioned in Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. At the end of the each experiment, watercress and pennyroyal plants were brought out from the pots carefully and their roots and shoots were separated. Roots and shoots were placed in aluminum foil separately and were dried by oven method (50°C and 48 h). The weights of dried samples were measured by a digital balance scale (0.001 gr accuracy). Three accumulation indices including Bio-concentration Factor, Translocation Factor and Tolerance Index were calculated by measuring of nitrate and phosphate accumulation in roots and shoots

Results and Discussion: According to the results, root phosphate accumulation in two plants was different significantly ($p \leq 0.05$). Also, the level values of nitrate and phosphate were resulted to their root accumulation significantly. In this regard, the phosphate accumulation in watercress root changed to 10 mg. Lit⁻¹ significantly and reached to 4.3 mg.Kg⁻¹ dry weight in this concentration. While for pennyroyal, there was no significant increasing in roots phosphate accumulation when its concentration was increased in medium ($p \leq 0.05$). Although phosphate accumulation was difference between the two plants in root and shoots, there was similar the alteration of phosphor bioconcentration trend. Because increasing of phosphate concentration resulted in significant decreasing of this index. Whilst both of watercress and pennyroyal accumulated high amount of nitrate and phosphate, quantity of accumulation in shoots was higher than of roots. Consequently, nitrate translocation factor was 1.3 in watercress and 1.07 in pennyroyal, and phosphor translocation factor was 1.07 and 0.94 in watercress and pennyroyal respectively.

Conclusions: Results indicated that two plants were pollutants purified of nitrate and phosphate (The nitrate translocation factors were 1.3 and 1.07 in watercress and pennyroyal and the phosphate translocation factors were 1.07 and 0.94 in watercress and pennyroyal, respectively). Generally, it was found that watercress and pennyroyal have extractive behavior completely about nitrate and phosphate. Because of the high ability of these plants in biosorption of phosphate and nitrate, with recovery of nitrogen and phosphorus cycle, they can be used as organic resources of nitrogen and phosphorus supply in agricultural soil and prevent from entrancing them to

6, 2, 3, 4- M.Sc Graduated, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Respectively

(* - Corresponding Author Email: khoramivafa@razi.ac.ir)

5- Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Kermanshah, Iran

seas. It is more important about phosphate, which has slowly cycle. Therefore two main roles for watercress and pennyroyal in aquatic ecosystems are expected. First, perform as bio-filter and returning the nitrogen and phosphor from surface water or wastewater for preventing the environmental pollution and second as secondary saleable or utilizable crop such as green manure and so on.

Keywords: Aquatic ecosystems, Hydroponic, Phytoremediation, Water pollution