

تصفیه آلودگی‌های پساب شهری با استفاده از گیاهان وتیور و گل اختر

مرتضی محمدی دیلمانی^۱، محدثه مؤمن‌زاده^۲، صاحبه حاجی‌پور^۳ و منصور افشار محمدیان^{۴*}

چکیده

حذف آلاینده‌ها از خاک و آب‌های آلوده به کمک گیاهان از طریق جذب و انباشت در ریشه، ساقه و برگ، به‌عنوان یکی از روش‌های پالایش برای حذف آلاینده‌های فلزی مطرح است. در این فرایند، انتخاب گیاه مناسب، نقش بسیار مؤثری در میزان پالایش آلاینده‌ها دارد. در این راستا، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در گیاه وتیور و گل اختر انجام شد. گیاهان تحت تیمار با پساب شهری و گیاهان شاهد با آب شهری آبیاری شدند. همچنین گلدانی فاقد گیاه برای سنجش میزان عناصر جمع‌شده در خاک در نظر گرفته شد و به‌طور منظم همراه با گلدان‌های دیگر با پساب شهری آبیاری شد. سپس فلزهای روی و کروم در گیاهان وتیور و گل اختر، طی یک دوره شش‌ماهه آبیاری با پساب شهری، ارزیابی شدند. فاکتورهای انتقال و تجمع که دو فاکتور مهم در سنجش توانایی گیاه برای گیاه‌پالایی محسوب می‌شوند، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که روی و کروم، به‌عنوان بیشترین فلزات سنگین موجود در پساب شهری، بیشترین انباشت را در ریشه و سپس در بخش‌های هوایی گیاه وتیور و بیشترین انتقال را به بخش‌های هوایی گیاه گل اختر داشتند. بررسی فاکتورهای انتقال و تجمع زیستی نیز نشان داد که گیاه وتیور، توانایی جذب فلزات روی و کروم را از طریق تثبیت گیاهی دارد و گیاه گل اختر این دو فلز را از طریق استخراج گیاهی جذب می‌کند. نتایج بررسی‌های فیزیولوژیکی نشان داد که میزان قندهای محلول برگ در گیاهان وتیور و گل اختر نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. همچنین غلظت مالون دی‌آلدئید و محتوای پرولین در گیاهان وتیور و گل اختر نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج مطالعات آناتومیکی ریشه در گیاهان وتیور و گل اختر نیز نشان داد که تحت تیمار پساب شهری، قطر ریشه، تعداد دستجات آوندی، قطر استوانه مرکزی، قطر متازایلیم و پروتوزایلیم نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که در فرایند جذب فلزات سنگین، تغییراتی در برخی از عملکردهای آناتومیکی و فیزیولوژیکی گیاهان تحت تیمار ایجاد شد.

واژه‌های کلیدی: پساب، فلزات سنگین، گل اختر، گیاه پالایی، وتیور.

ارجاع: محمدی دیلمانی م. مؤمن‌زاده م. حاجی‌پور ص. و افشار محمدیان م. ۱۴۰۱. تصفیه آلودگی‌های پساب شهری با استفاده از گیاهان وتیور و گل اختر. مجله پژوهش آب ایران. ۴۷: ۶۹-۷۹. <https://dx.doi.org/10.22034/IWRJ.2022.14054.2451>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان.

۳- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گلستان، گرگان.

۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان.

* نویسنده مسئول: afshar@guilan.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۷

مقدمه

بشر در عین دستیابی به علوم مختلف و با وجود پیشرفت سریع فناوری، متأسفانه هنوز نتوانسته محیطی را که در آن زندگی می‌کند، مدیریت کند و این مسئله منجر به بحران‌های جدی در محیط‌زیست شده است (حسین‌نژاد، ۲۰۰۶). یکی از مهم‌ترین دلایل آلودگی‌های زیست‌محیطی در جهان با توجه به صنعتی‌شدن جوامع، فلزات سنگین هستند. تولید پساب یکی از معضلات انباشت پسماند در دفن‌گاه است، به طوری که مدیریت پساب باید به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مسائل در طراحی و بهره‌برداری از اماکن انباشت پسماند محسوب شود. پساب شهری تقریباً حاوی همه عناصر شیمیایی شناخته‌شده و آلاینده‌های پایدار در محیط، مانند فلزات سنگین است که قابلیت تجزیه زیستی ندارند (دی‌مورا و همکاران، ۲۰۰۴). به دلیل قابلیت تجمع فلزات سنگین و ایجاد سمیت در موجودات زنده، این نوع آلودگی یک مشکل جدی و اساسی به حساب می‌آید. انباشت فلزات سنگین در بافت‌های بدن موجب بروز بیماری‌ها و عوارض متعددی از جمله اختلالات عصبی، انواع سرطان‌ها و ... می‌شود. همچنین فلزات سنگین می‌توانند جایگزین دیگر املاح و مواد معدنی مورد نیاز در بدن شوند (طباطبایی و همکاران، ۲۰۲۰). فلزات سنگین هزاران سال در خاک باقی مانده و تأثیر منفی آن‌ها بر رشد گیاهان و جانوران و نیز بر میکروفلور خاک و آب به خوبی شناخته شده است. فلزات سنگین سرب، کبالت، کادمیم را می‌توان از دیگر آلاینده‌ها متمایز کرد، چون نه تنها تجزیه زیستی نمی‌شوند، بلکه می‌توانند در ساختار موجودات زنده انباشته شده و سبب ایجاد بیماری‌های مختلف، حتی در غلظت‌های بسیار پایین شوند (پنلیوان، ۲۰۰۹). استفاده از گیاهان برای حذف آلاینده‌های فلزی از خاک‌ها و آب‌های آلوده به‌عنوان یک روش جدید، مؤثر، مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست به جای اقدامات پرهزینه دیگر توصیه شده است. این تکنولوژی مبتنی بر محیط‌زیست، دارای مزایای اقتصادی، زیبایی‌شناختی و فنی بیشتری نسبت به روش‌های دیگر برای پالایش محیط‌زیست است. از آنجایی که فلزات سنگین در خاک معمولاً به‌عنوان رسوبات غیرمحلول حضور دارند، مقدار زیادی از آلاینده‌های فلزی توسط ریشه گیاهان در حال رشد جذب نمی‌شوند؛ بنابراین افزایش قابلیت دسترسی بیولوژیکی عناصر سنگین در خاک و نیز انتقال آن‌ها به

بخش‌های هوایی گیاه، برای موفقیت بیشتر در زمینه گیاه‌پالایی بسیار مهم است (زو آباگا و همکاران، ۲۰۱۴). گیاه وتیور (*Vetiveria zizanioides*) توانایی جذب بسیاری از آلاینده‌های محیط‌زیست مانند فلزات سنگین، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و ترکیبات هیدروکربنی را بدون تأثیر بر رشد خود دارد. از طریق این ویژگی‌ها، گیاه وتیور می‌تواند در پالایش محل‌های آلوده مورد استفاده قرار گیرد. میزان استخراج مواد آلوده، به عمق ریشه بستگی دارد، زیرا ریشه می‌تواند به‌عنوان جاذب و نیز انباشتگر فلزات سنگین عمل کند (حسن و همکاران، ۲۰۱۷). گیاه گل اختر از دیگر گیاهان توصیه شده برای گیاه‌پالایی است. گل اختر با نام علمی *Canna indica* معروف به گلوله هندی در تالاب‌ها، برای بهبود کیفیت آب دریاچه‌ها و رودخانه‌های آلوده‌شده توسط فاضلاب‌ها، به دلیل راندمان جذب نسبتاً زیاد مواد مغذی و نیز ارزش زیبایی‌شناختی آن مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ بنابراین شناخت و ارزیابی پاسخ گیاه گل اختر برای سنجش میزان تصفیه آلاینده‌های زیست‌محیطی اهمیت قابل توجهی دارد. گل اختر پتانسیل خوبی برای تصفیه فاضلاب‌های آلوده به فلزات مختلف دارد (سوتاپا و همکاران، ۲۰۰۸). هدف از این تحقیق، بررسی جذب برخی از فلزات سنگین موجود در پساب شهری توسط گیاهان وتیور و گل اختر و تأثیر آن بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و آناتومیکی و نیز ارزیابی مقاومت گیاه وتیور و گل اختر در برابر فلزات سنگین موجود در پساب شهری بود.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان

بوته‌های گیاه وتیور به تعداد ۲۴ عدد از بوته مادر از ناحیه یقه ریشه جدا شدند. در حین جداکردن گیاهان از پاجوش، دقت شد تا گیاهان از نظر اندازه یکسان باشند، سپس برای اطمینان کار، همه آن‌ها با ترازو وزن شدند. ریزوم‌های گیاه گل اختر که بخش تکثیری این گیاه محسوب می‌شود نیز از گیاه جدا شد و ریزوم‌های هم‌اندازه در اواخر فصل زمستان، یعنی اسفند، برای کشت گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی گلدان‌ها

در محوطه دانشگاه زیر سقف شیشه‌ای، ۱۲ عدد گلدان ۳۰×۳۰ با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در ۴ ردیف با طرح کامل تصادفی با فاصله ۳۰ سانتی‌متری نسبت به هم قرار داده شدند. گلدان‌ها هر کدام با ۱۰ کیلوگرم خاک الک شده پر شده و در ۶ گلدان ۳ گیاه وتیور تقریباً هم‌وزن و در ۶ گلدان دیگر نیز سه عدد ریزوم هم‌وزن گیاه گل اختر با فاصله ۱۰ سانتی‌متری از هم کاشته شدند. از ۶ گلدان کاشته شده برای هر یک از گیاهان، ۳ گلدان تیمار و ۳

گلدان دیگر شاهد بود. یک گلدان حاوی ۱۰ کیلوگرم خاک بدون گیاه نیز برای آبیاری با پساب شهری جمع‌آوری شده از محل دفن زباله واقع در منطقه سراوان رشت در نظر گرفته شد. گلدان‌های آماده شده بلافاصله آبیاری شدند تا فواصل خالی بین خاک و ریشه پر شود و ریشه‌ها آسیب نبینند. اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) خاک اولیه (کنترل) مورد استفاده در تحقیق و پس از ترکیب خاک با پساب شهری قبل از کاشت گیاهان در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) خاک اولیه (کنترل) مورد استفاده در تحقیق و پس از ترکیب خاک با پساب شهری قبل از کاشت گیاهان

خاک	pH	EC	خاک	pH	EC
خاک کنترل	۷/۳۱	۲/۷۷	ترکیب خاک و پساب	۷/۲۴	۲/۵۵

گلدان‌ها از زمان کاشته شدن (۱۵ اسفند ۱۳۹۵) به مدت یک ماه با آب شهری (هفته‌ای دو بار، هر بار ۲۰۰ میلی‌لیتر) آبیاری شدند تا تنش‌هایی که بر اثر کندن و جدا کردن بوته‌ها به گیاه رسیده، کاهش یابد. از ماه دوم، با افزایش دما، گلدان‌های کنترل با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب شهری و گلدان‌های تیمار با ۵۰۰ میلی‌لیتر پساب شهری هفته‌ای دو بار آبیاری شدند. این روند برای گلدان‌های کنترل و تحت تیمار به مدت ۶ ماه ادامه یافت. علاوه بر این‌ها، گلدان حاوی ۱۰ کیلوگرم خاک الک شده فاقد گیاه نیز در طول ۶ ماه، همانند نمونه‌های تحت تیمار، با پساب شهری آبیاری شد. میانگین دما و رطوبت در طول مدت آزمایش در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- میانگین رطوبت و دمای منطقه رشت از اسفند ۱۳۹۵ تا مرداد ۱۳۹۶

ماه‌ها	میانگین دما (°C)	میانگین رطوبت (%)
اسفند	۱۰/۸	۸۳
فروردین	۱۲/۴	۸۵
اردیبهشت	۱۸/۱	۷۸
خرداد	۲۴/۷	۷۰
تیر	۲۶/۴	۶۹
مرداد	۲۵/۴	۷۸

ارزیابی فلزات سنگین

اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین (روی و کروم) اندام‌های مختلف گیاه وتیور و گل اختر با استفاده از روش ریوز و

همکاران انجام شد (ریوز و همکاران، ۲۰۰۷). پس از ۶ ماه آبیاری، بخش‌های مختلف گیاه وتیور و گل اختر پس از جداسازی ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شست‌وشو شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. پس از آسیاب کردن، نمونه‌ها از الک مش ۲۰۰ عبور داده شدند. ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر الک شده هر نمونه درون لوله‌های آزمایش قرار داده شد و ۵ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی (مخلوط ۳:۱ HCL: HNO₃) به آن‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها روی هیتر به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دیدند تا هضم کامل انجام شود. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند و محتوای لوله‌ها به کمک کیف شیشه‌ای و کاغذ واتمن ۴۲ صاف شد. سپس میزان فلزات سنگین در بخش‌های مختلف گیاهان مورد سنجش قرار گرفت و خاک آن‌ها با استفاده از دستگاه ICP (Inductively Coupled Plasma) مدل Spectro Arcos اندازه‌گیری شد.

مطالعه ساختار تشریحی ریشه گیاه گل اختر و گیاه

وتیور

به‌منظور ارزیابی ساختار رویشی گیاهان و ارتباط آن‌ها با میزان پالایش فلزات سنگین، ریشه گیاهان گل اختر و وتیور پس از اتمام دوره تیماردهی، از گلدان‌های شاهد و تیمار جمع‌آوری شد. همچنین برای بررسی ساختار بافتی، ابتدا نمونه‌های جمع‌آوری شده شست‌وشو و به قطعات ۲ تا

هاون چینی توسط ازت مایع پودر شد و در فالكون ریخته شد. به هر فالكون ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک ۳ درصد اضافه و محلول با کاغذ واتمن شماره ۲ صاف شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده با ۲ میلی‌لیتر محلول نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه در بن‌ماری قرار گرفت. پس از سپری‌شدن این مدت، لوله‌های آزمایش به ظرف حاوی یخ‌های خردشده منتقل شدند تا سرد شوند. به لوله‌های آزمایش، ۶ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و لوله‌ها به‌خوبی تکان داده شدند تا دو فاز تشکیل شود. از لایه فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، استفاده شد. از محلول پرولین با غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۴۰، ۱۶۰، ۱۸۰، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار برای رسم منحنی استاندارد و از کووت با غلظت صفر پرولین به‌عنوان شاهد برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

اندازه‌گیری قندهای محلول برگ

قندهای محلول در برگ به روش ابریگین اندازه‌گیری شد (ابریگین و همکاران، ۱۹۹۲). ۰/۱ گرم بافت تازه فریزشده توسط ازت مایع در هاون چینی پودر شد و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده شد و سپس عصاره رویی را در فالكون ریخته و ته‌مانده برگی دوباره با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد ساییده و به فالكون اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر عصاره الکلی را برداشته و در لوله فالكون ریخته و سه میلی‌لیتر انترن تازه‌تهیه‌شده (۱۵۰ میلی‌گرم انترن + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) به آن افزوده شد. برای ایجاد فاز رنگی، لوله‌های فالكون به مدت ده دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد از سرد شدن، ۱/۵ میلی‌لیتر فاز رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد و ۳ میلی‌لیتر انترن، در کووت ریخته و میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد گلوکز با غلظت‌های ۰، ۲۵، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ تهیه و رسم شد و میزان قندهای محلول نمونه نیز بر حسب میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد.

۳ سانتی‌متری برش داده شدند و سپس به مدت یک ماه در محلول فیکساتور F.A.A قرار گرفتند. بعد از گذشت یک ماه، با استفاده از تیغ، برش‌های عرضی نازکی به روش دستی از نمونه‌ها تهیه شد. نمونه‌ها با استفاده از روش متداول رنگ‌آمیزی مضاعف، رنگ‌آمیزی شدند و در نهایت نمونه‌ها را روی لام گذاشته و با استفاده از میکروسکپ نوری NIKON، ساختار تشریحی آن‌ها بررسی شد (برکو و جیانو، ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی غشا (مالون دی آلدید)

به‌منظور بررسی پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول‌ها، میزان MDA (Malondialdehyde) به روش هیث و پکر اندازه‌گیری شد (هیث و پکر، ۱۹۶۸). ۰/۱ گرم بافت تازه فریزشده برگ با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر شد. نمونه‌های پودر شده در فالكون ریخته و به هر فالكون ۱ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۵ درصد (۵ گرم Tca در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) اضافه‌شد و با دستگاه ورتکس مدل Labtron به‌خوبی مخلوط شد. فالكون‌های حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. هم‌حجم سوپرناتانت بالا، تیوباربیوتوریک اسید ۰/۵ درصد در Tca ۲۰ درصد (۰/۵ گرم Tba در Tca ۲۰ درصد) به فالكون‌ها اضافه شد. نمونه‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه در بن‌ماری قرار داده و سپس بلافاصله فالكون‌ها به ظرف حاوی یخ‌های خردشده منتقل شد (یخ از دستگاه یخ‌ساز مدل Scotsman تهیه شد). پس از سرد شدن، نمونه‌ها در ۷۵۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول در طول موج‌های ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار MDA هر نمونه با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$MDA \left(\frac{\mu\text{mol}}{g} \cdot F.W. \right) = \left(\frac{A_{532nm}}{155} \right) - \left(\frac{A_{600nm}}{0.1} \right) \quad (1)$$

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

اندازه‌گیری میزان پرولین برگ

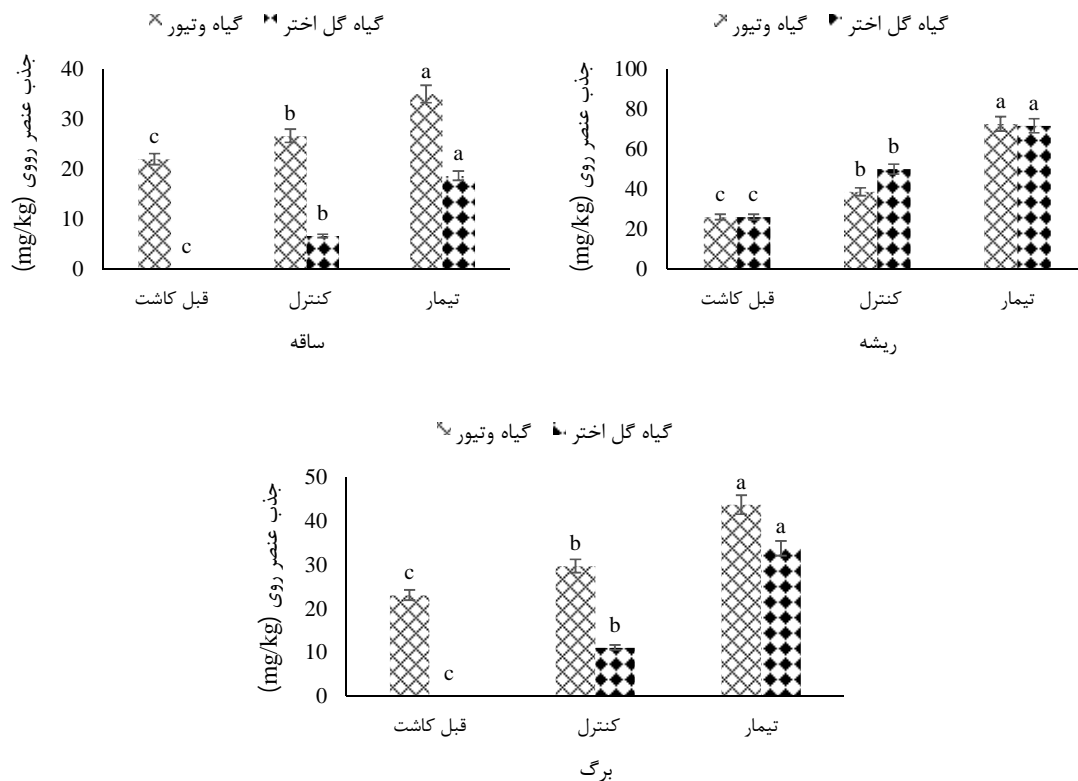
به‌منظور اندازه‌گیری پرولین از روش بی‌تس استفاده شد (بی‌تس و همکاران، ۱۹۷۳). ۰/۱ گرم بافت تازه برگ در

نتایج و بحث

بررسی تجمع فلز روی (Zn) در قسمت‌های مختلف گیاه وتیور و گل اختر

بررسی تأثیر ۶ ماه آبیاری با پساب شهری و آب شهری بر میزان تجمع فلز روی در ریشه، ساقه و برگ گیاه وتیور و گل اختر در شکل ۱ نشان داده شده است. استاندارد آلودگی عنصر روی در خاک کشاورزی و اسیدی برابر با ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است که در این مطالعه در خاک خالص، میزان روی بیش از حد استاندارد بود. فاکتور انتقال (TF) برای عنصر روی (Zn) ۰/۷۲ محاسبه شد که بیانگر تجمع عنصر روی در ریشه وتیور تحت تیمار بود. با وجود جذب زیاد روی -حدود ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توسط گیاهان تحت تیمار- مقدار قابل توجهی از عنصر روی در خاک نهایی مشاهده شد که بیانگر آلودگی بالای پساب شهری به عنصر روی بود. تجمع زیستی عنصر روی در تحقیق حاضر ۲/۴۵ بود و این موضوع نشان‌دهنده این است که گیاه وتیور یک تجمع‌دهنده گیاهی خوب برای

عنصر روی در ریشه است؛ به‌علاوه، بیشترین میزان تجمع عنصر روی، در ریشه گیاه گل اختر وجود داشت. همچنین با وجود جذب زیاد عنصر روی در حدود ۱۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توسط گیاهان تحت تیمار و تجمع ۱۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم این عنصر در گیاه، مقدار قابل توجهی از عنصر روی در خاک نهایی مشاهده شد که بیانگر آلودگی بالای پساب شهری رشت به عنصر روی است. فاکتور انتقال برای عنصر روی ۱/۵۲ به دست آمد که بیانگر قابلیت انتقال آلاینده به اندام‌های هوایی (Phytoextraction) توسط گیاه گل اختر است. همچنین فاکتور تجمع زیستی رسوب (BASF) بیشتر از یک، نشان‌دهنده توانایی جذب بالای این فلز توسط گیاه گل اختر است. در پژوهشی دیگر که توسط سباشنی و سوامی (۲۰۱۴) انجام شد، میزان انباشت فلز روی در ریشه گیاه *C. indica* بیشتر از فلزات دیگر بود که نتایج تحقیق حاضر با نتایج این محققان همخوانی دارد.



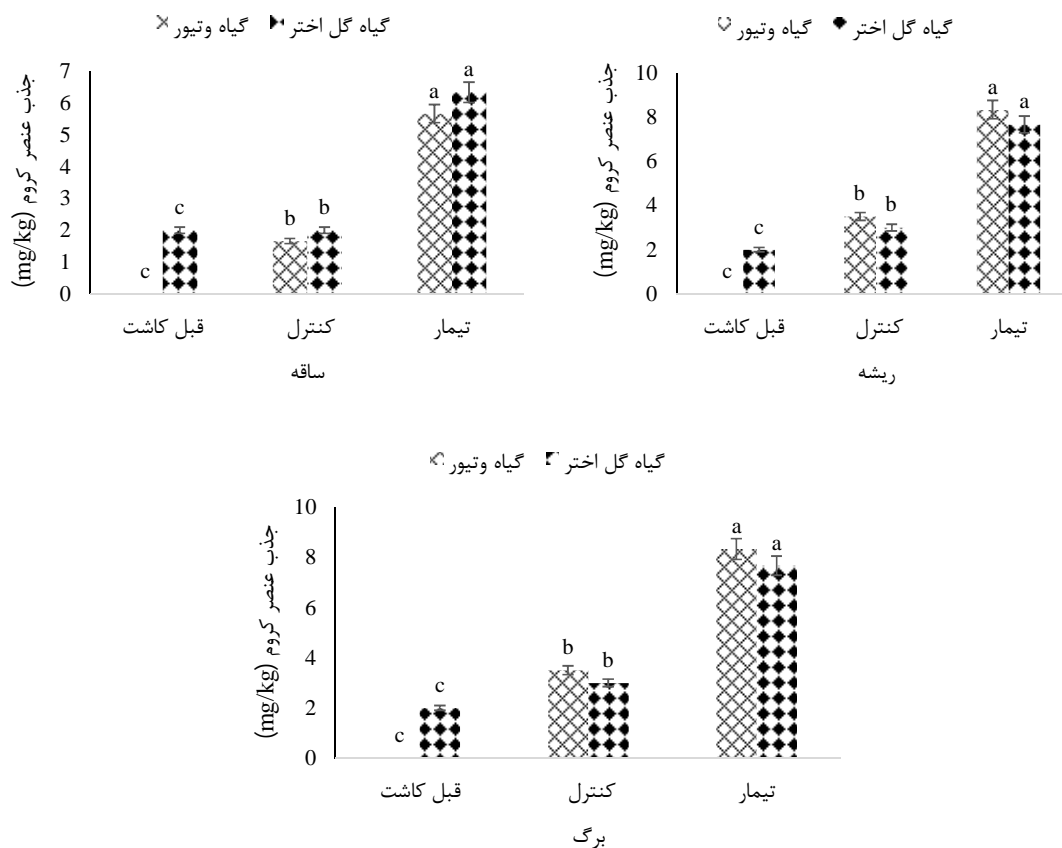
شکل ۱- میزان تجمع فلز روی در ریشه، ساقه و برگ گیاهان وتیور و گل اختر (mg/kg) شاهد و تحت تیمار پساب شهری

برای کروم است. فاکتور انتقال (TF) که نسبت غلظت فلز کروم در وزن خشک اندام هوایی به ریشه است، برای گیاه گل اختر ۱/۶۴ شد. این میزان نشان می‌دهد که انتقال کروم به اندام‌های هوایی بیشتر اتفاق افتاده است، هرچند عنصر کروم در ریشه‌ها نیز تجمع قابل توجهی داشت. در پژوهش سباشنی و سوامی (۲۰۱۴)، انباشت فلز کروم در ریشه گیاه *C.indica* بیشتر از بخش‌های هوایی بود، درحالی‌که در این گیاه، فاکتور انتقال فلز به بخش‌های هوایی گیاه بالاتر از یک بود که نتایج ما با یافته‌های این محققان مطابقت دارد. همچنین در این تحقیق، میزان کروم در خاک نهایی نسبت به کنترل، افزایش معنی‌داری داشت. تجمع کروم در خاک خالص که بدون کشت گیاه بود و تنها با هر بار آبیاری به همراه سایر گلدان‌ها با پساب آبیاری می‌شد، کمتر از حد استاندارد آلودگی تعریف شده برای کروم در خاک اسیدی (۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود.

احتمالاً گیاه از طریق فعال کردن سیستم‌های دفاعی در ریشه، باعث رسوب دادن روی در ریشه می‌شود یا مسیرهایی که امکان انتقال روی از این طریق امکان‌پذیر باشد را مسدود می‌کند. در واقع این واکنش نشان‌دهنده مقاومت گیاه در برابر انتقال روی از ریشه به اندام هوایی است و به نوعی می‌تواند نشانگر نوعی سازوکار دفاعی و مقاومت به غلظت زیاد روی باشد (جایان‌تی و همکاران، ۲۰۱۵).

بررسی تجمع فلز کروم (Cr) در قسمت‌های مختلف گیاه وتیور و گل اختر

نتایج بررسی تأثیر ۶ ماه آبیاری با پساب شهری و آب شهری بر میزان تجمع فلز کروم در ریشه، ساقه و برگ گیاه وتیور و گل اختر در شکل ۲ آمده است. میزان تجمع زیستی کروم در گیاه گل اختر تحت تیمار ۴/۴۳ شد و می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که گل اختر جاذب خوبی



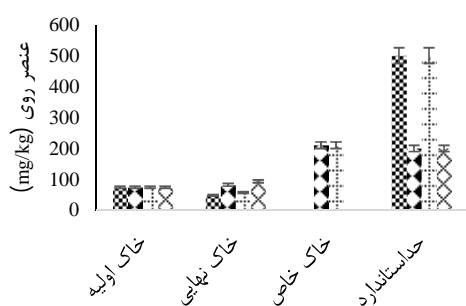
شکل ۲- میزان تجمع فلز کروم (Cr) در ریشه، ساقه و برگ گیاهان وتیور و گل اختر (mg/kg) شاهد و تحت تیمار پساب شهری

ریشه‌های گیاه *Nelumbonu cifera*، اتصال یون کروم به جایگاه‌های تبادل کاتیونی ریشه و در نتیجه غیرمتحرک شدن آن است (واجبایی و همکاران، ۲۰۰۰). در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار کروم جذب شده توسط گیاه در ریشه‌ها باقی ماند و تنها مقدار کمی از آن به اندام‌های هوایی منتقل شد؛ بنابراین ریشه‌های وتیور تحت تیمار، دارای تجمع کروم بسیار بیشتری نسبت به اندام هوایی بودند که با نتایج گزارش شده در مورد گیاهان گندم، ذرت و گل کلم نیز مطابقت دارد (شارما، ۲۰۰۳).

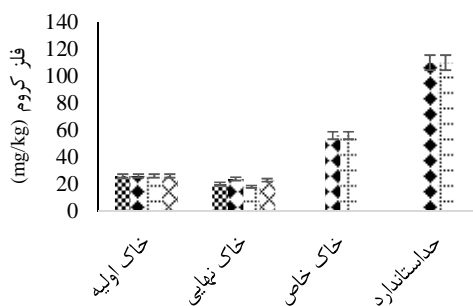
با توجه به شکل ۳، فلز روی و کروم در هر دو خاک تیمار با پساب شهری و شاهد وجود داشت. وجود عناصر مذکور در خاک شاهد سبب شد تا در گیاهان شاهد نیز تجمعی از این عناصر مشاهده شود. با توجه به اسیدی شدن خاک پس از شش ماه آبیاری با پساب شهری و حد استاندارد تعیین شده برای فلز روی، مشاهده شد که فلز روی در خاک خالص (خاک فاقد گیاه که در هر دوره آبیاری با پساب آبیاری می‌شد) بیشتر از حد استاندارد بود.

دانگ و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که مقادیر بالاتر از یک برای فاکتور تجمع بیولوژیکی (BCF) نشان‌دهنده گیاه تجمع‌دهنده است. میزان تجمع زیستی کروم در گیاه وتیور تحت تیمار ۵/۵۵ شد که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که این گیاه تجمع‌دهنده خوبی برای کروم است. فاکتور انتقال (TF) برای گیاه وتیور ۰/۸۳ شد. این میزان نشان می‌دهد که در غلظت‌های بالای کروم در خاک، انتقال این فلز به اندام‌های هوایی کمتر بوده و بیشتر تجمع در ریشه‌ها صورت می‌گیرد. کروم یک عنصر سمی و غیرضروری برای گیاهان است و مکانیسم خاصی برای جذب آن وجود ندارد. جذب کروم توسط حامل‌های عناصر آهن و گوگرد و پتاسیم انجام می‌شود. در واقع این عناصر در جذب با کروم رقابت می‌کنند. کاهش نیتروژن، فسفر و پتاسیم و عناصر دیگر می‌تواند منجر به کاهش رشد ریشه و توسعه آسیب‌دیدگی ریشه‌ها در داخل خاک به دلیل اثر سمی کروم شود (شانکر و همکاران، ۲۰۰۵). در بررسی صورت گرفته مشخص شد که دلیل تجمع زیستی کروم در

تیمار وتیور ✕ کنترل وتیور † تیمار اختر † کنترل اختر ✖



تیمار وتیور ◊ کنترل وتیور † تیمار اختر † کنترل اختر ✖



شکل ۳- میزان تجمع فلز روی و کروم در نمونه‌های مختلف خاک (mg/kg) کنترل و تحت تیمار پساب شهری

جذب و تجمع فلزات در غلظت‌های بالا منجر به تغییرات ساختاری در ریشه گیاهان مختلف شده است. مطابق با بررسی صورت گرفته، تنش کادمیم و مس، سبب کاهش ضخامت پارانشیم پوست، بافت پارانشیم مغز و سیستم آوندی ریشه در گونه *Sorghum bicolor* شد (کاسم، ۲۰۰۶). در مطالعه دیگری روی گونه *Origanum vulgare* تحت تنش مس مشخص شد که سمیت مس، کاهش قطر ریشه و افزایش قطر آوند چوبی را در پی داشت، اما بر قطر آوند آبکش تأثیری نداشت (بوساوالیدیس و فیلوتو، ۲۰۰۴). در مطالعه فرازد و همکاران (۲۰۱۹)، درباره اثر

تأثیر آبیاری با پساب شهری بر آناتومی ریشه گیاه

وتیور

نتایج بررسی تأثیر ۶ ماه آبیاری با پساب شهری بر آناتومی ریشه گیاه گل اختر و وتیور در جدول ۳ آمده است. با توجه به جدول ۳، نتایج بررسی‌های آناتومیکی گیاهان تحت تیمار و شاهد با استفاده از نرم‌افزار *Imaga* نشان داد که قطر ریشه و قطر استوانه مرکزی در گیاهان تیمار نسبت به گیاهان شاهد و همچنین تعداد دستجات آوندی در گیاهان تیمار نسبت به شاهد کاهش یافت. فلزات سنگین تأثیرات متفاوتی بر آناتومی ریشه گیاهان دارند و

کاهش داشت. مقایسه ساختار تشریحی ریشه در گیاهان وتیور شاهد با گیاهان تحت تیمار نشان داد که تراکم بافت آبکش و چوب گیاهان تحت تیمار با پساب شهری کاهش یافت و تعداد عناصر متازایلمی و قطر آن‌ها کمتر شد.

غلظت‌های مختلف روی بر ساختار تشریحی فلفل دلمه‌ای، مشاهده شد که در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول روی، پیوستگی بافت چوب و مقدار آن کاهش یافت، ولی تعداد و قطر متازایلم‌ها افزایش داشت. در پژوهش حاضر، وسعت محدوده مغز ریشه گیاه وتیور و تراکم بافت آبکش و چوب

جدول ۳- بررسی برخی صفات آناتومیکی ریشه گیاه وتیور (قطر بر حسب μm) و گل اختر (قطر بر حسب μm)

ردیف	نوع صفت	وتیور		گل اختر	
		کنترل	تیمار	کنترل	تیمار
۱	قطر ریشه	۲۸۸۸/۷±۳۰	۱۶۸۰/۷±۴۳/۷*	۳۰۹۲/۲±۶۰/۴	۲۴۰۱/۷±۴۳/۷*
۲	قطر استوانه مرکزی	۷۷۳/۶±۴۱/۹	۶۵۹/۲±۳۳/۳*	۵۳۸/۲±۴۴/۵	۴۳۵/۷±۳۷/۷*
۳	قطر متازایلم	۷۰/۳±۳	۵۶/۷±۵/۶*	۵۷/۳±۱/۴	۴۵/۹±۱/۵*
۴	قطر پروتوزایلم	۱۱/۴±۰/۸۶	۸/۲±۱*	۱۷/۶±۱/۲	۱۱/۷±۱/۱*
۵	تعداد دستجات آوندی	۱۴-۱۶	۸-۱۰*	۹-۱۱	۸-۶

* به منزله معنی دار بودن داده‌هاست.

آلدئید در گیاه وتیور تحت تیمار، به‌طور قابل توجهی افزایش نشان داد. افزایش محتوای MDA نشانگر آن است که این فلزات موجب تنش‌های اکسیداتیو شدید با تحریک تولید ROS می‌شوند که با نتایج پژوهش آیبی‌بو و همکاران (۲۰۱۰) در خصوص بررسی تجمع کادمیم در وتیور و اثرات فیزیولوژیک آن همخوانی دارد. در تحقیق دیگری که تأثیر تنش کادمیم بر صفات فیزیولوژیک گیاه *Melissa officinalis* بررسی شده بود، غلظت مالون دی آلدئید برگ در گیاهان تحت تیمار به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت (رضایی و همکاران، ۲۰۱۹). به‌علاوه، گیاهانی که تحت تیمار با پساب شهری بودند، میزان پرولین در برگ آن‌ها نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود (شکل ۴). پرولین یکی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌های سیستم دفاعی گیاهان تحت تنش محسوب می‌شود و به مقدار زیادی در گیاهان آلی دیده می‌شود و به دلیل آن که بیشترین حساسیت را نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌ها به تنش‌های محیطی دارد، به مقدار بسیار بیشتری از سایر آنتی‌اکسیدان‌ها، در شرایط تنش تجمع پیدا می‌کند. پرولین یک اسید آمینه قابل‌حل در آب و یکی از محافظت‌کننده‌های غشاهای سلولی است. یکی از شایع‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش فلزات سنگین، تجمع پرولین آزاد است (کشتگر و همکاران، ۲۰۱۴). گیاه با تجمع پرولین، پلی آمین، ترهالوز، افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش

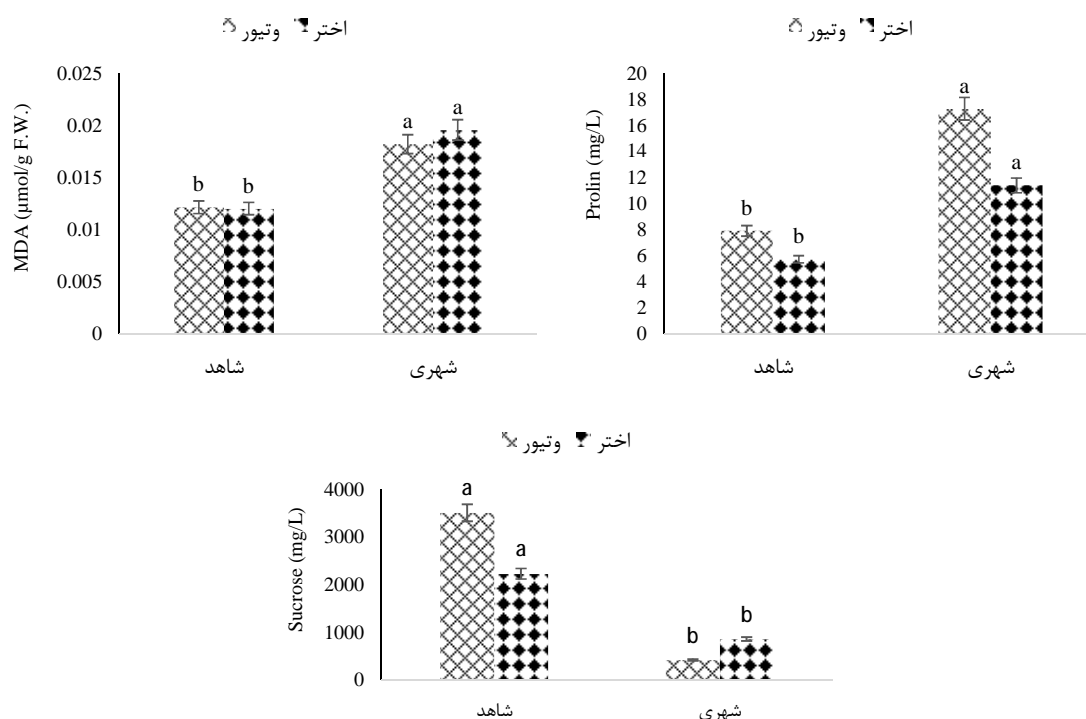
مسمومیت گیاهان با فلز روی، مهار رشد و کاهش زی‌توده را در پی دارد. براساس گزارش‌های وان‌آسه و کلاسترز (۱۹۸۶) مقادیر بالای فلز روی از طریق تخریب ساختار میتوکندریایی در سلول‌ها، سبب مهار بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی در گیاه می‌شود.

تأثیر آبیاری با پساب شهری بر میزان مالون دی آلدئید، پرولین و قندهای محلول برگ

تأثیر ۶ ماه آبیاری با پساب شهری بر میزان مالون دی آلدئید، پرولین و قند محلول برگ وتیور و گل اختر در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۴، گیاهانی که تحت تیمار با پساب شهری بودند، میزان مالون دی آلدئید در برگ آن‌ها نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. در این مطالعه، غلظت‌های بالای روی و کادمیم منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه وتیور شد. یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی MDA است که به‌عنوان شاخص آسیب‌های اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (مونی و همکاران، ۲۰۰۰). پراکسیداسیون لیپیدی با استرس‌های اکسیداتیو مرتبط است و شامل شکسته‌شدن تمامیت غشاهای بیولوژیکی، عملکردی و ساختاری است که باعث افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی می‌شود و نشت یون K^+ و سایر محلول‌ها مثل قندهای محلول را در پی داشته و نهایتاً منجر به مرگ سلولی می‌شود. در مطالعه حاضر، محتوای مالون دی

در گیاهان تحت تیمار که با پساب آلوده به فلزات سنگین روی و کادمیم آبیاری شده بودند، تجمع پرولین افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت تخریبی پروتئین سینتاز و کاهش تبدیل پرولین به پروتئین (در پروتئین‌های حاوی پرولین) اتفاق افتاده بود؛ زیرا در شرایط تنش، بعضی از پروتئین‌های گیاه صرف تولید پرولین می‌شود. تحریک تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش مقدار آن در گیاه در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین توسط دیگر پژوهشگران نیز گزارش شده است (آندراد و همکاران، ۲۰۰۹).

ایجاد شده مقاومت کند. به نظر می‌رسد افزایش میزان پرولین به مقدار زیادی بر کاهش اثرات تنش نقش دارد. پرولین تحمل گیاهان به تنش را از طریق مکانیسم‌هایی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می‌دهد (کشتگر و همکاران، ۲۰۱۴). هرچه گیاه مقاوم‌تر باشد، پرولین بیشتری را در خود ذخیره می‌کند. سنتز تعدادی از متابولیت‌های محافظ اسمزی مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیاکننده در گیاهانی که توان مقاومتی بالایی نسبت به تنش دارند، افزایش می‌یابد. در این تحقیق،



شکل ۴- غلظت مالون دی آلدئید، پرولین و قندهای محلول برگ گیاهان شاهد و تحت تیمار پساب شهری گل اختر و وتیور

برخی مطالعات گزارش شده است. در این تحقیق، مقدار فلز روی در خاک و تجمع آن در اندام‌های گیاه وتیور نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری داشت. این فلز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان نیز شرکت دارد، اما مقدار زیاد آن، ضمن تخریب ساختار کلروپلاست و ناپایداری کمپلکس‌های رنگدانه-پروتئین، سبب تجزیه کلروفیل‌ها توسط آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) و در نتیجه موجب کاهش میزان کلروفیل و میزان قند می‌شود (برتراند و شوفر، ۱۹۹۹). اگرچه گیاه تحت تنش تا حدی در کوتاه‌مدت مقاومت می‌کند، اما احتمالاً آبیاری

میزان قندهای محلول در برگ گیاهانی که تحت تیمار با پساب شهری بودند، نسبت به گیاهان شاهد کمتر بود (شکل ۴). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش، تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگارکننده) تجمع می‌یابند که تداخلی با فرایندهای شیمیایی ندارند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول و ترکیباتی از قبیل: اسید آمینه، پرولین، گلیسین و بتائین اشاره کرد (گود و زاپلاچینیسکی، ۱۹۹۴). افزایش قندهای محلول در شرایط تنش ناشی از شوری، خشکی، سرما و فلزات سنگین در

3. Bates L. S. Waldren R. P. and Teare I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 39(1): 205-207.
4. Bercu R. and Jianu L. D. 2003. *Practicum de Morfologia și anatomia plantelor*. Ovidius University Press.
5. Bertrand M. and Schoefs B. 1999. Photosynthetic pigment metabolism in plants during stress, In: *Handbook of plant and crop stress* (ed. Pessaraki, M.), Marcel Dekker, New York. 527-543.
6. Bosabalidis A. M. and Filotheou H. P. 2004. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*). *Plant Science*. 166: 1497-1504.
7. De Mora S. Fowler S. W. Wyse E. and Azemard S. 2004. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Gulf and Gulf of Oman. *Marine Pollution Bulletin*. 49: 410-424.
8. Dong Y. He K. Yin L. and Zhang A. 2007. A facile route to controlled synthesis of Co3O4 nanoparticles and their environmental catalytic properties. *Nanotechnology*. 18(43): 435602.
9. Farahzadi H. Arbabian P. Majd A. and Tajdad G. 2019. The effect of different concentrations of zinc nitrate on the anatomical structure of bell pepper. *Scientific Research Quarterly*. 2: 22-9.
10. Good A. and Zaplachinski S. 1994. The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiology Planta*. 90: 9-14.
11. Hasan S. N. M. S. Kusin F. M. Lee A. L. S. Ukang T. A. Yusuff F. M. and Ibrahim Z. Z. 2017. Performance of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for phytoremediation of contaminated water. In *MATEC web of conferences*. 103: 06003.
12. Heath R. L. and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*. 125(1): 189-198.
13. Hossein nezhad M. 2006. Study Carbon monoxide contamination in the tunnel axis Haraz. *Journal Environmental Studies*. 38: 11-18.
14. Irigoyen J. J. Einerich D. W. Sánchez-Díaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*. 84(1): 55-60.
15. Jayanthi P. Senthilkumar P. and Sivasankar S. 2015. Interactive effects of copper and

طولانی مدت و مقادیر بیش از حد استاندارد عناصر روی و کادمیم سبب تأثیرات مخربی بر گیاهان تحت تیمار می‌شود.

نتیجه‌گیری

گیاه‌پالایی فرایندی سازگار با محیط‌زیست است که در آن گیاه از توانایی‌های طبیعی خود برای بازیابی محیط استفاده می‌کند. در طول شش ماه آبیاری گیاه وتیور با پساب سراوان حاوی عناصر سنگین روی و کروم، تجمع بالای روی در گیاه وتیور مشاهده شد که نشان می‌دهد گیاه وتیور جاذب خوبی برای روی است. در گیاه گل اختر آبیاری شده با پساب سراوان آلوده به عناصر سنگین روی و کروم نیز تجمع بالای روی مشاهده شد که نشان می‌دهد گیاه گل اختر جاذب خوبی برای عنصر روی است؛ اما از آنجایی که مقدار زیاد این عناصر غیرضروری برای این گیاهان تنش‌زا است، شواهد ناشی از تنش‌های فیزیولوژیکی و آناتومیکی در گیاه وتیور مشاهده شد. بیشترین میزان آلودگی پساب شهری استفاده‌شده در این تحقیق، به عنصر روی اختصاص داشت. با توجه به فاکتور تجمع زیستی و نتایج حاصل از این تحقیق، گیاه گل اختر و گیاه وتیور جاذب خوبی نسبت به عناصر روی و کروم هستند، به نحوی که هر دو عنصر روی و کروم در ریشه گل اختر بیشترین تجمع را داشتند؛ اما بررسی فاکتور انتقال نشان داد که عناصر روی و کروم، انتقال بیشتری را به بخش‌های هوایی گیاه گل اختر داشتند و گیاه گل اختر توانایی جذب این دو فلز را از طریق استخراج گیاهی داشت. همچنین اگرچه گیاه وتیور انتقال قابل توجهی را در بخش‌های هوایی گیاه نشان نداد، اما توانایی جذب این دو فلز را از طریق تثبیت گیاهی نشان داد.

منابع

1. Aibibu D. Houis S. Harwoko M. S. and Gries T. 2010. Textile Scaffolds for Tissue Engineering—Near Future or Just Vision? In *Medical and Healthcare Textiles*, pp. 353-356. Woodhead Publishing.
2. Andrade S. A. Gratao P. L. Schiavinato M. A. Silveira A. P. Azevedo R. A. and Mazzafera P. 2009. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. *Chemosphere*. 75: 1363-1370.

- accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. Chemosphere. 41: 1075-1082.
28. Van Assche F. and Clijsters H. 1986. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Journal of plant physiology. 125(3-4): 355-360.
 29. Zue Abaga N. O. Dousset S. Mbengue S. and Munier-Lamy C. 2014. Is Vetiver Grass of Interest For The Remediation of Cu And Cd To Protect Marketing Gardens In Burkina Faso? Chemosphere. 113: 42-47.
 - zinc accumulation in *Portulaca olearcestem* cuttings, through hydroponics. Advances in Applied Science Research. 6: 54-61.
 16. Kasim W. A. 2006. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. International Journal of Agriculture and Biology. 8(1): 123-128.
 17. Koshtegar M. Safipour Afshar A. and Saeed Nematpour F. 2014. Effect of heavy metals copper and lead on some growth traits, proline content and lipid peroxidation in two mung bean cultivars, Journal of Crop Ecophysiology. 3(31): 374-363.
 18. Monni S. Salemaa M. and Millar N. 2000. The tolerance of *Empetrum nigrum* to copper and nickel. Environmental Pollution. 109: 221-229.
 19. Pehlivan E. O. zkan A. M. Dinc S and Parlayici S. 2009. Adsorption of Cu²⁺ and Pb²⁺ ion on dolomite powder. Journal of Hazardous Materials. 167(1-3): 1044-1049.
 20. Reeves R. D. Baker A. J. M and Romero R. 2007. The ultramafic flora of the Santa Elena peninsula, Costa Rica: a biogeochemical reconnaissance. Journal of Geochemical Exploration. 93(3): 153-159.
 21. Rezaei S. R. N. Shabani L. Rostami M. and Abdoli M. 2019. The Effect of Different Concentrations of Cadmium Chloride on Oxidative Stress in Shoot Cultures of Lemon Balm, Plant Productions. 42(4): 509-522.
 22. Shanker A. K. Cervanters C. Loza-Tavera H. and Avudainayagam S. 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International. 31: 739-753.
 23. Sharma D. C. Sharma C. P. and Tripathi R. D. 2003. Phytotoxic lesions of chromium in maize. Chemosphere. 51(1): 63-68.
 24. Subhashini V. and Swamy A. V. V. S. 2014. Phytoremediation of Metal (PB, NI, ZN, CD and CR) Contaminated Soils Using *Canna Indica*. Current World Environment. 9(3): 780-784.
 25. Sutapa B. Anshul J. Vivek R. and Ramanathana A. L. 2008. Chemical Fractionation and Translocation of Heavy Metals in *Canna Indica* L. Grown on Industrial Waste Amended Soil. Journal of Hazardous Materials. 160: 187-193.
 26. Tabatabaei S. H. Nourmahnad N. Kermani S. G. Tabatabaei S.A. Najafi P. and Heidarpour M. 2020. Urban wastewater reuse in agriculture for irrigation in arid and semi-arid regions-A review. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. 9(2): 193-220.
 27. Vajpayee P. Tripathi R. D. Rai U. N. Ali M. B. and Singh S.N. 2000. Chromium (VI)

