



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

بررسی گیاه پالائی خاک های آلوده به سیانید با استفاده از گیاه و تیوریا زیزانیوایدس (*Vetiveria zizanioides*)

علیرضا منصوریان^{۱*}، آتوسا وزیری^۱، محمدرضا زمانی^۲، فاطمه حیدریان نائینی^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۳- گروه زیست شناسی، موسسه غیرانتفاعی نوردانش، میمه، ایران

اطلاعات مقاله: چکیده

زمینه و هدف: در حوزه خطرات و آلاینده‌های زیست محیطی، سیانید یکی از مهمترین آلاینده‌های آب، خاک و هوا است که از لحاظ اکولوژیکی تاثیر بسیار مهمی بر اکوسیستم و محیط زیست منطقه آلوده ایجاد می‌نماید از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی گیاه پالائی سیانید با گیاه و تیوریا انجام گردیده است.

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۲۹
تاریخ ویرایش: ۹۶/۰۸/۰۳
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۸
تاریخ انتشار: ۹۶/۰۹/۲۱

روش بررسی: این پژوهش از نوع مطالعه تجربی بر روی پساب‌های معدن طلا انجام گردید. پساب خشک شده را با خاک معمولی با غلظت‌های مختلف ترکیب شد و ۷ تیمار با غلظت‌های مختلف سیانید به دست آمد (میانگین میزان سیانید در خاک G، ۱۴/۳۷ mg/kg، خاک F، ۱۰/۱۳ mg/kg، خاک E، ۸/۰۹ mg/kg، خاک D، ۷/۵۳ mg/kg، خاک C، ۳/۳۲ mg/kg، خاک B، ۲/۵۲ mg/kg و خاک A بدون سیانید (به عنوان شاهد)) و پس از دو ماه میزان سیانید در خاک، ریشه و برگ‌های گیاه و همچنین میزان پروتئین کل و پرولین و تعداد و طول برگ‌های گیاه و تیور مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و با نرم افزار SPSS15 و آزمون‌های توکی Tukey و تی (Paired Samples T Test) مورد ارزیابی قرار گرفت.

واژگان کلیدی: سیانید، گیاه پالائی، و تیوریا زیزانیوایدس، خاک آلوده

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش میزان سیانید تاثیر معنی‌داری بر روی میزان پرولین (افزایش میزان پرولین در گیاه)، پروتئین کل (افزایش میزان پروتئین کل گیاه)، تعداد برگ‌ها (کاهش تعداد) و طول (کاهش طول) برگ‌های و تیور داشت و همچنین میزان سیانید در برگ‌ها و ریشه‌های گیاه و تیور افزایش یافته و میزان سیانید در خاک تیمارهای مختلف از لحاظ میزان سیانید کاهش معنی‌داری داشت. میزان سیانید در خاک G ۵۰/۹۳ درصد، خاک F ۳۸/۲۰ درصد، خاک E ۲۷/۱۹ درصد، خاک D ۳۸/۳۷ درصد، خاک C ۱۷/۷۷ درصد، خاک B ۱۶/۶۶ درصد کاهش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر آن است که افزایش میزان سیانید در خاک منجر به تغییرات در خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه و تیور می‌گردد ولی گیاه و تیور مقاومت بسیار بالائی نسبت به سیانید خاک نشان داده و کاشت گیاه و تیور در خاک‌های بسیار آلوده منجر به کاهش سیانید تا ۵۰ درصد می‌گردد و نشانگر آن است که این گیاه نسبت به گیاهان دیگر مقاومت بیشتری نسبت به سیانید داشته و گیاه پالائی بهتری را نیز نشان داده است.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

mansoorian271@yahoo.com

مقدمه

صنایع از سیانید آزاد و کمپلکس های پیچیده سیانید در فرایندهای متنوعی استفاده می کنند که می توان به برخی از آنها اشاره نمود: استخراج فلزات، آبکاری، ساخت و تولید تجهیزات الکترونیکی، صنایع شیمیائی و استخراج طلا و نقره (۱). یکی از مهمترین موارد استفاده از سیانید در استخراج طلا است که آلاینده گی پالائی نیز برای محیط زیست (به صورت پساب صنعتی) در بر خواهد داشت. با آزادسازی پساب از معدن طلا و نقره سیانید فراوانی در خاک آزاد می گردد. با توجه به آبشویی آسان سیانید از خاک امکان آلودگی آب های زیرزمینی در محیط های معدن طلا و نقره بسیار زیاد است (۱). انحلال سیانید در آب منجر به تولید هیدروسیانید می شود که سریعاً به هیدروژن و یون سیانید تبدیل شده و pH محلول را کاهش می دهد (۲). سالیانه مقادیر زیادی فاضلاب از منابع خانگی، کشاورزی و صنعتی وارد محیط زیست می شود که حاوی غلظت بالایی از مواد شیمیایی آلی و غیر آلی نظیر حلال های هیدروکربن، سیانید، فلزات سنگین، حشره کش ها و رنگ ها است (۳). سیانید با پیوند با یون های ضروری کوفاکتورهای متالوآنزیم ها، به عنوان مثال پیوند با یون های مانند منیزیم، منگنز، روی و به ویژه آهن و تشکیل فروسیانید، از فعالیت آنزیم ها (کاتالاز، پراکسیداز و ...) جلوگیری می کند. سیانور مهارکننده سیتوکروم C اکسیداز زنجیره انتقال الکترون میتوکندریائی است و با از کار انداختن سیتوکروم C اکسیداز زنجیره انتقال الکترون قطع شده و منجر به تشکیل رادیکال های آزاد و در نهایت تخریب فسفولیپیدهای غشا و عدم تکمیل زنجیره انتقال الکترون می گردد (۴). سیانید به صورت کمپلکس با عناصر قلبیائی (مانند $KAg(CN)_4$)، و عناصر دیگر مانند کادمیم، آهن، مس و پتاسیم که در آب و به ویژه در خاک مشاهده می شود و در هوا به صورت کربنیک سیانید (CNC) یا برماید سیانید (CNBr) قابل اندازه گیری است (۵). با توجه به این که منطقه معدن طلا غنی از معادن آهن است و آزمایشات خاک نیز نشان می دهد که سیانید در خاک معدن طلا به صورت کمپلکس با آهن $(Fe(CN)_6)$ مشاهده می شود (۶).

گیاه پالایی، یک تکنیک با صرفه اقتصادی، زیست محیطی و علمی است که برای کشورهای در حال توسعه مناسب است و تجارت با ارزشی محسوب می شود (۷). گیاه پالایی با استفاده از گیاهان به حذف مواد آلاینده از آب و خاک یا کاهش خطرات آلاینده های محیط زیست نظیر فلزات سنگین، عناصر کمیاب، ترکیبات آلی و مواد رادیواکتیو می پردازد (۲، ۸).

علف وتیور (*Vetiveria zizanioides*) می تواند موادی مانند سرب، کادمیم و جیوه را از آب های فاضلاب جذب نماید و مقاومت بالائی به سلنیم، آلومینیم، نیکل، کادمیم، کروم، سرب، جیوه، آرسنیک و روی در خاک نشان می دهد (۹). علف وتیور (*Vetiveria zizanioides*) یکی از گونه های گیاهی است که در آسیای جنوبی و جنوب شرقی به طور گسترده مشاهده شده و کاربرد گیاه پالائی دارد و به شرایط نامساعد محیطی مقاوم است (۱۰). این گیاه برای گیاه پالائی خاک های حاوی $2, 4$ و 6 تری نیتروتولون، نفت خام، بنزوپیرن و ضایعات هسته ای استفاده شده است. در یک مطالعه گلخانه ای ظرفیت وتیور برای مقاومت و تجمع سیانید (سیانید پتاسیم) خاک مورد آزمایش قرار گرفت و سمیت سیانید پتاسیم برای گیاه وتیور علفی آزمایش شد. در این مطالعه غلظت های مختلف سیانید پتاسیم به خاک اضافه گردید و در نهایت مشخص گردید گیاه وتیور مقاومت بالایی نسبت به سیانید نشان می دهد (۱۱، ۱۲). گیاه وتیور یکی از گیاهانی است که برای گیاه پالائی بسیار مناسب بوده و تحمل آن نسبت به سیانید نیز بسیار بالا است این گیاه از خانواده *Poaceae* است. دارای ریزوم های کوچک و حجم ریشه بسیار بزرگ و نسبت به آفت ها، بیماری ها و آتش مقاوم است. در یک آزمایش 4 اکوتیپ گیاه وتیور با تیمارهای مختلف سیانید برای دو ماه در یک محیط هیدروپونیک رشد داده شدند و گیاهان رشد یافته، تحمل در برابر سیانید و کارایی برطرف کردن آن را نشان دادند (۳، ۱۳).

پساب های صنعتی و معادن حاوی میزان بالایی سیانید هستند که در اکثر موارد در این صنایع سیانید با روش های شیمیائی بازیافت شده که هزینه بالایی به همراه داشته و بهره وری مناسبی نیز به همراه ندارند. و منجر به آلودگی ها و آسیب های زیست

با آب مقطر به حجم ۱۰۰ mL رسانده شد. جذب محلول به دست آمده در طول موج ۵۲۰ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrophotometer ۷۲۲-۲۰۰۰) اندازه‌گیری گردید. با استفاده از منحنی واسنجی غلظت یون سیانید در نمونه مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. پروتئین با روش برادفورد و منحنی استاندارد با سرم آلبومین گاوی در طول موج ۵۹۵ nm با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (۱۵). اندازه‌گیری پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و با معرف نین هیدرین و منحنی استاندارد با پرولین در طول موج ۵۲۰ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۶).

تهیه تیمارهای مختلف و کاشت گیاه و تیور در گلدان‌های حاوی مقادیر مختلف سیانید

با توجه به بررسی منابع مختلف و با توجه به آب و هوای معدن طلا که زمستان سرد و تابستان گرمی دارد گیاهی باید انتخاب شود که مقاومت بالایی به شرایط محیطی داشته و همچنین به سیانید نیز مقاوم باشد به همین خاطر گیاه و تیور (*Vetiveria zizanioides*) انتخاب شد که هم مقاومت بالایی به شرایط محیطی دارد و همچنین میزان مقاومت آن به سیانید نیز بسیار بالا است. پساب با نسبت‌های ۰، ۳/۴، ۱/۲، ۱/۳، ۱/۴ و ۱/۵ با خاک فاقد سیانید مخلوط گردید. هر گلدان حاوی ۱ kg خاک است برای انجام آنالیزهای آماری از حروف انگلیسی برای عنوان تیمارها استفاده گردید. بنابراین تیمارهای آزمایش عبارتند از:

تیمارهای A, B, C, D, E, F, G به ترتیب حاوی ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰، ۳۳۴، ۲۵۰، ۲۰۰ g تیمار A به عنوان شاهد فاقد پساب. میانگین میزان سیانید در خاک A, B, C, D, E, F, G به ترتیب ۱۴/۳۷، ۱۰/۱۳، ۸/۰۹، ۷/۵۳، ۳/۳۲، ۲/۵۲ mg/kg و خاک A بدون سیانید است.

از هر تیمار (A, B, C, D, E, F, G) سه گلدان تهیه گردید و در هر گلدان یک گیاهچه و تیور کاشته شد و در مجموع ۲۱ گلدان تهیه گردید. مرحله آبدهی به گلدان‌ها در حجم بسیار کم انجام شده و تنها سطح خاک مرطوب گردید تا سیانید از گلدان‌ها خارج نگردد و همچنین با یک پیمان‌ه مشخص

محیطی فراوانی می‌گردد (۱۴) از این رو ارائه یک روش مطمئن که ضمن رفع آلودگی، کم هزینه و سازگار با محیط زیست باشد بسیار ضروری است. هدف اصلی این پژوهش با توجه به سمیت بالای سیانید و خطرات زیست محیطی آن، بررسی کاربرد و کاشت گیاه و تیور در پساب‌های صنایع و معادن و کاهش میزان سیانید و در نتیجه کاهش تاثیرات آلاینده‌های صنعتی بر محیط زیست و انسان‌ها است.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرایی تحقیق به شرح زیر است:

فراهم نمودن خاک و نمونه گیاهی و تیور (*Vetiveria zizanioides*)

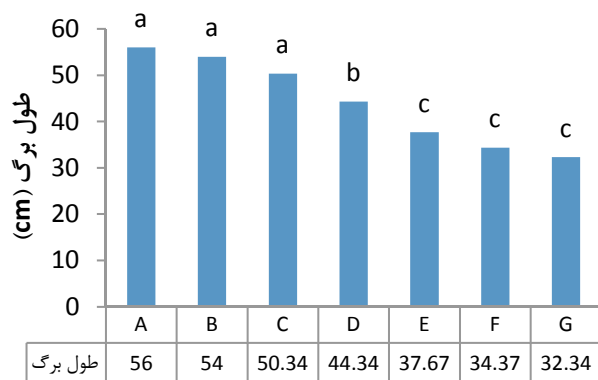
با توجه به اینکه نتایج این تحقیق در نظر است به صورت عملیاتی مورد استفاده قرار گیرد لذا خاک آلوده به سیانید از معدن طلا فراهم گردید (خاک آلوده در پلاستیک‌های ضخیم مشکی به محل آزمایش منتقل شد). روش نمونه‌برداری به صورت تصادفی از سد باطله پساب‌های معدن از چند منطقه انجام گرفت. گیاهچه‌های گیاه (*Vetiveria zizanioides*) از مرکز پرورش و تیور در رامهرمز تهیه شد با توجه به اینکه تولید مثل و تیور به صورت رویشی انجام می‌شود گیاهچه‌های ۳ ماهه با اندازه‌های یکسان فراهم شد.

اندازه‌گیری میزان سیانید در خاک‌های معدن طلا و گیاه

با روش استاندارد ایزو ۲۰۰۲: ۱۴۴۰۳ میزان سیانید در خاک‌های آلوده و گیاه با روش تقطیر اندازه‌گیری گردید با توجه به اینکه دستگاه تقطیر اختصاصی برای این فرایند وجود ندارد مطابق با استاندارد مربوطه سیستم تقطیر طراحی گردید. حجم مشخصی از خاک انتخاب و با افزایش هیدروکسید سدیم pH آن به ۱۲ افزایش یابد پس از جداسازی سیانید از کمپلکس‌های مختلف و با استفاده از روش تقطیر حجم معینی (۱۰ mL) از محلول جاذب برداشته و وارد بالن ژوژه ۱۰۰ mL گردید. ۰/۵ g کربنات سدیم و ۵ mL محلول اسید پیکریک ۱ درصد اضافه شد. محلول‌های تهیه شده مدت ۱۰ min در حمام بخار ۵۰ تا ۶۰°C قرار گرفت و سپس

است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ آزمون طول برگها با آزمون توکی بیانگر آن است که گروههای E، G و F در یک گروه قرار می گیرند و میانگین طول برگهای آنها در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری با هم ندارند ولی با بقیه گروهها تفاوت معنی داری دارند، گروه D در یک گروه مجزا و A، B و C در یک گروه قرار می گیرند و به طور کلی نتایج و مقایسه با گروه تیمار شاهد بیانگر آن است که با افزایش غلظت سیانید در خاک طول برگهای گیاه و تیور نیز به طور معنی داری کاهش پیدا می نماید. این موضوع ناشی از تاثیرات میزان سیانید بر روی رشد گیاه و در نهایت کاهش طول برگهاست (نمودار ۱).

بررسی آماری تعداد برگها نیز بیانگر آن است که سیانید بر تعداد برگها نیز تاثیرگذار است با توجه به جدول خروجی آزمون ANOVA و $p=0/002$ که کوچکتر از ۰/۰۵ است بیانگر عدم برابری تعداد برگها است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ آزمون تعداد برگها با آزمون توکی بیانگر آن است که ۳ گروه از لحاظ تعداد برگ تشکیل شده است. در غلظت های پایین سیانید یعنی تیمارهای A، B، C، D و E تفاوت معنی داری از لحاظ تعداد برگ مشاهده نمی گردد (نمودار ۲).



نمودار ۱- مقایسه میانگین طول برگها (cm)
(حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین ها است)

میزان آبیاری برای تمام گلدانها به طور یکسان انجام شد تا شرایط برای همه تیمارها یکسان باشد لازم به توضیح است به منظور بررسی تاثیر میزان آبیاری بر روی میزان سیانید یک گلدان با خاک حاوی سیانید و بدون گیاه مورد سنجش قرار گرفت. کاشت گیاهان برای یک دوره ۶۰ روزه در نظر گرفته شد. در ابتدای دوره آزمایش میزان سیانید در هر هفت تیمار اندازه گیری شد و در انتهای دوره ۶۰ روز مجدد سیانید خاک تمام گلدانها اندازه گیری گردید.

آنالیز آماری دادهها

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۵ و میانگینها توسط آزمون چند دامنه ای توکی (Tukey) در سطح معنی داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند و نمودارها توسط نرم افزار Excel ترسیم شدند. در این تحقیق میزان سیانید خاک به عنوان متغیر مستقل و میزان پروتئین کل، پرولین، طول برگ و تعداد برگ به عنوان متغیر وابسته انتخاب شدند.

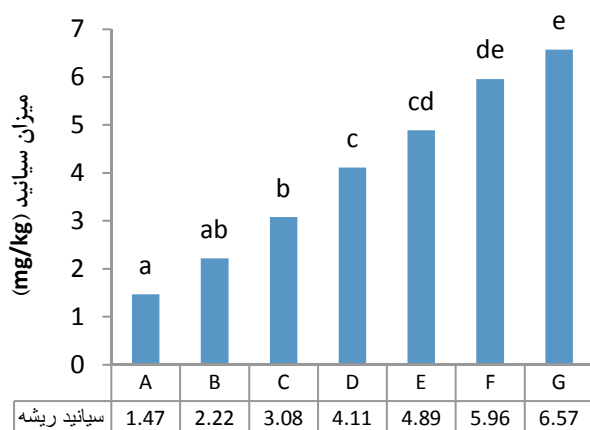
برای بررسی نرمال بودن دادهها از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) استفاده گردید و مشخص گردید تمام دادهها نرمال هستند. آزمون تحلیل واریانس برای بررسی دادهها انجام شد با توجه به p که بزرگتر از ۰/۰۵ است نشانگر همگن بودن و برابری واریانس نمونهها است (برای هر خصوصیت جداگانه مورد مطالعه با آزمون لون (Levene) انجام گردید).

یافتهها

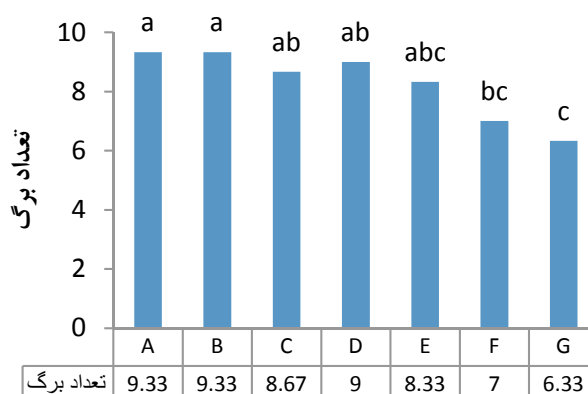
نتایج تحقیق در سه گروه بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، بررسی میزان سیانید خاک و گیاه و بررسی برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه ارائه می شود.

بررسی خصوصیات مورفولوژیکی

برای بررسی تاثیر میزان سیانید بر روی گیاه و تیور ابتدا طول برگها در انتهای دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به جدول خروجی آزمون ANOVA و $p \leq 0/001$ که کوچکتر از ۰/۰۵ است بیانگر عدم برابری طول برگها



نمودار ۳- مقایسه میانگین سیانید در ریشه‌ها (mg/kg)
(حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین‌ها است)



نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد برگ‌ها
(حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین‌ها است)

بررسی میزان سیانید

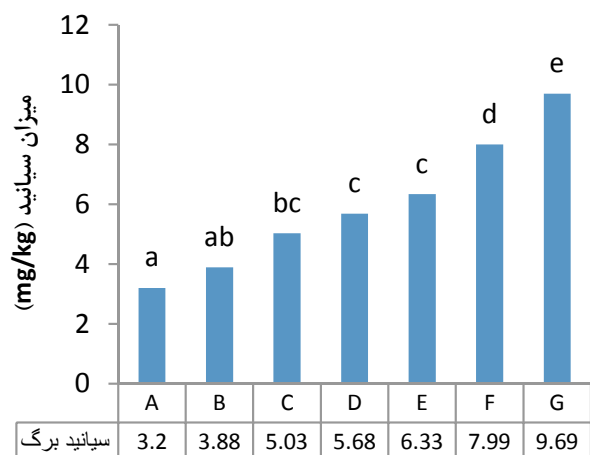
میزان سیانید در ریشه‌ها و برگ‌های گیاهان تحت تیمار مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت میزان سیانید در خاک گلدان‌ها در ابتدا و انتهای دوره آزمایش مورد آزمون آماری قرار گرفت.

بررسی میزان سیانید در ریشه در انتهای دوره آزمایش

با توجه به جدول خروجی آزمون ANOVA و $p \leq 0.001$ که کوچکتر از 0.05 است بیانگر عدم برابری میزان سیانید در ریشه‌ها است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ آزمون میزان سیانید ریشه‌ها با آزمون توکی بیانگر آن است که 5 گروه از لحاظ میزان سیانید تشکیل شده است بیشترین میزان سیانید در گروه G و کمترین میزان در گروه A است (نمودار ۳).

بررسی میزان سیانید در برگ‌های گیاهان در انتهای دوره آزمایش

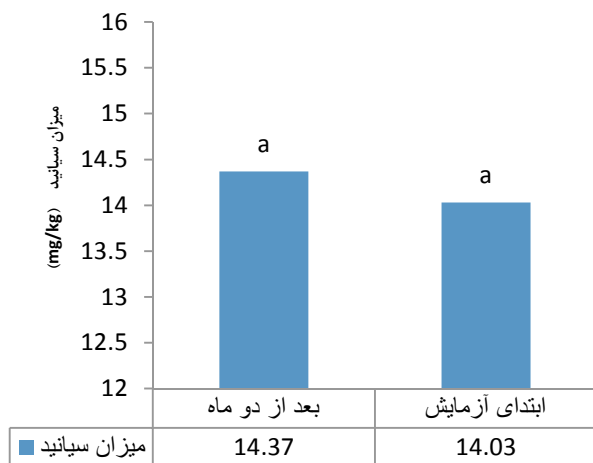
با توجه به جدول خروجی آزمون ANOVA و $p \leq 0.001$ که کوچکتر از 0.05 است بیانگر عدم برابری میزان سیانید در برگ‌ها است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ آزمون میزان سیانید برگ‌ها با آزمون توکی بیانگر آن است که 5 گروه از لحاظ میزان سیانید تشکیل شده است کمترین میزان در گروه A برابر $3/20 \text{ mg/kg}$ در گروه G برابر با $9/69 \text{ mg/kg}$ است (نمودار ۴).



نمودار ۴- مقایسه میانگین سیانید در برگ‌ها
(حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین‌ها است)

مقایسه میزان سیانید در خاک‌ها با تیمارهای مختلف قبل از کاشت گیاهان و بعد از کاشت گیاهان

برای بررسی میزان سیانید در خاک‌ها با تیمارهای مختلف قبل از کاشت گیاهان و بعد از کاشت گیاهان از آزمون t زوجی یا وابسته (Paired-Samples T Test) استفاده می‌شود. در تیمارهای B, D, E, F و G چون p کوچکتر از 0.05 است



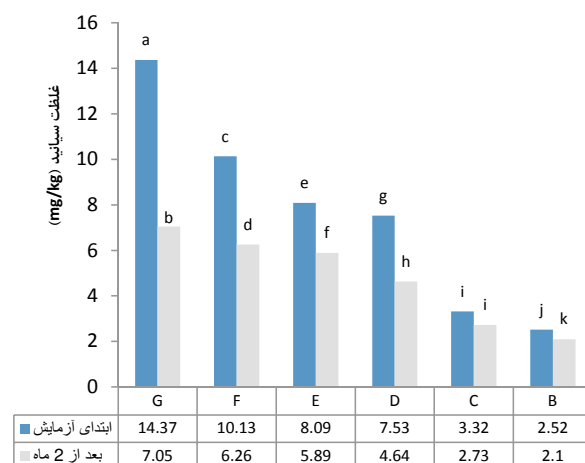
نمودار ۶- مقایسه میزان سیانید در گلدان‌های حاوی ۱۰۰ درصد خاک معدن فاقد گیاه (برای بررسی تاثیر آبیاری در میزان سیانید خاک، ۳ گلدان حاوی خاک آلوده به سیانید و فاقد گیاه انتخاب گردید و همزمان با آبیاری گیاهان به این گلدان‌ها نیز همان مقدار آب اضافه گردید تا مشخص گردد در انتهای دوره آزمایش آیا آبیاری منجر به کاهش سیانید گردیده است که نتایج نشان‌دهنده آن است که آبیاری تاثیری بر میزان سیانید ندارد (حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین‌ها است)

ANOVA و $p \leq 0.001$ که کوچکتر از ۰/۰۵ است بیانگر عدم برابری میزان پروتئین در برگ‌ها است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ آزمون میزان پروتئین برگ‌ها با آزمون توکی بیانگر آن است که ۵ گروه از لحاظ میزان پروتئین تشکیل شده است بیشترین میزان پروتئین در گروه G برابر با ۱۵/۰۶ mg/kg و کمترین میزان در گروه A برابر با ۷/۹۹ mg/kg است. با افزایش میزان سیانید خاک میزان پروتئین‌های گیاهی نیز افزایش یافته است (نمودار ۷).

مقایسه میزان پرولین در برگ‌های گیاه

با توجه به جدول خروجی ANOVA و $p \leq 0.001$ که کوچکتر از ۰/۰۵ است بیانگر عدم برابری میزان پرولین در برگ‌ها است. مقایسه تیمارهای مختلف از لحاظ میزان پرولین برگ‌ها با آزمون توکی بیانگر آن است که ۶ گروه از لحاظ میزان پرولین تشکیل شده است و با افزایش میزان سیانید افزایش معنی‌داری در میزان پرولین مشاهده می‌شود (نمودار ۸ و جدول ۱).

(به ترتیب ۰/۰۴۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۳۳، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۵) اختلاف معنی‌داری در میزان سیانید در ابتدای آزمایش و انتهای آزمایش مشاهده می‌شود و بیانگر کاهش میزان سیانید در خاک است ولی در تیمار C با توجه به $p=0.175$ که بزرگتر از ۰/۰۵ است اختلاف معنی‌داری در قبل و بعد از آزمایش مشاهده نمی‌شود (نمودار ۵ و جدول ۱).



نمودار ۵- میزان سیانید در خاک‌ها با تیمارهای مختلف قبل از کاشت گیاهان و بعد از کاشت گیاهان (حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت میانگین‌ها در هر تیمار است)

مقایسه میزان سیانید در گلدان‌های حاوی ۱۰۰ درصد خاک معدن فاقد گیاه

در ابتدای آزمایش سه گلدان حاوی ۱۰۰ درصد خاک معدن طلا انتخاب شد و در طی آزمایش تنها به این گلدان‌ها آب اضافه گردید تا تاثیر آبیاری در میزان سیانید بررسی گردد برای این کار از آزمون t زوجی یا وابسته استفاده شد و عدد $p=0.081$ بزرگتر از ۰/۰۵ است بنابراین اختلاف معنی‌داری بین گلدان‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش مشاهده نمی‌شود (نمودار ۶).

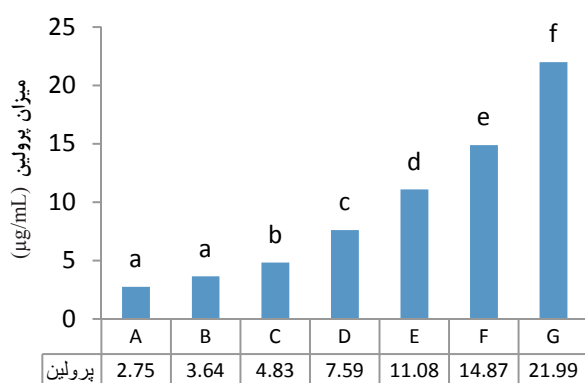
بررسی خصوصیات بیوشیمیائی

مقایسه میزان پروتئین در برگ‌های گیاه

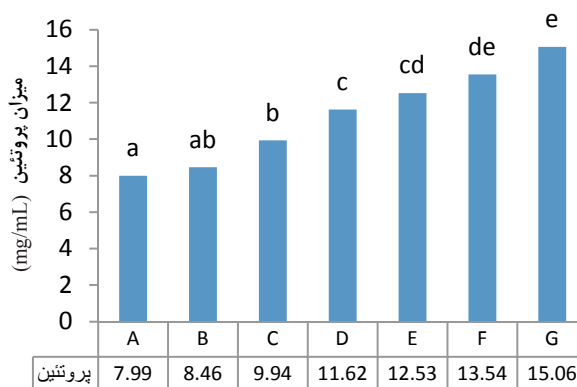
برای این کار میزان پروتئین در برگ‌های گیاهان تحت تیمار مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به جدول خروجی آزمون

جدول ۱- اطلاعات مربوط به طول و تعداد برگ، میزان سیانید در ریشه گیاه و خاک، میزان پروتئین و پرولین (میانگین \pm انحراف معیار)

p	مقایسه سیانید (mg/kg)		سیانید برگ (mg/kg)	سیانید ریشه (mg/kg)	پرولین ($\mu\text{g/mL}$)	پروتئین (mg/mL)	تعداد برگ	طول برگ (cm)	تیما
	انتها	ابتدا							
۰	۰	۰	۳/۲۱ \pm ۰/۲۷	۱/۴۷ \pm ۰/۱۸	۲/۷۵ \pm ۰/۱۲	۷/۹۹ \pm ۰/۱۶	۹/۳۳ \pm ۰/۵۷	۵۶ \pm ۳/۶۰	A (شاهد)
۰/۰۴۱	۲/۱۰	۲/۵۲	۳/۸۸ \pm ۰/۳۵	۲/۲۲ \pm ۰/۳۹	۳/۶۴ \pm ۰/۱۵	۸/۶۴ \pm ۰/۳۱	۹/۳۳ \pm ۰/۵۷	۵۴ \pm ۲	B
۰/۱۷۵	۲/۸۳	۳/۳۲	۵/۰۳ \pm ۰/۲۱	۳/۰۸ \pm ۰/۳۹	۴/۸۳ \pm ۰/۲	۹/۹۴ \pm ۰/۳۲	۸/۶۷ \pm ۰/۵۷	۵۰/۳۳ \pm ۱/۵۳	C
۰/۰۰۵	۴/۶۴	۷/۵۳	۵/۶۸ \pm ۰/۱۴	۴/۱۱ \pm ۰/۱۹	۷/۵۹ \pm ۰/۲۱	۱۱/۶۲ \pm ۰/۲۱	۹ \pm ۰/۱	۴۴/۳۳ \pm ۲/۰۸	D
۰/۰۳۳	۵/۸۹	۸/۰۹	۶/۳۳ \pm ۰/۳۰	۴/۸۹ \pm ۰/۵۷	۱۱/۰۸ \pm ۰/۱۶	۱۲/۵۳ \pm ۰/۲۸	۸/۳۳ \pm ۰/۵۷	۳۷/۶۷ \pm ۱/۵۳	E
۰/۰۰۴	۶/۲۶	۱۰/۱۳	۷/۹۹ \pm ۰/۸۹	۵/۹۶ \pm ۰/۳۴	۱۴/۸۷ \pm ۰/۱۸	۱۳/۵۴ \pm ۰/۰۴	۷ \pm ۱	۳۴/۳۷ \pm ۱/۵۳	F
۰/۰۰۵	۷/۰۵	۱۴/۳۷	۹/۶۹ \pm ۰/۹۷	۶/۵۷ \pm ۰/۲۳	۲۱/۹۹ \pm ۰/۲۳	۱۵/۰۶ \pm ۰/۶۵	۶/۳۳ \pm ۱/۱۵	۳۲/۳۴ \pm ۱/۵۳	G



نمودار ۸- مقایسه میزان پرولین در گیاهان تحت تیمار



نمودار ۷- مقایسه میزان پروتئین گیاهان تحت تیمار

با این تنش است. البته طول برگ‌ها در اثر افزایش سیانید در خاک کاهش پیدا می‌کند ولی بین تیمارهای A، B و C تفاوت معنی‌داری نیست و بین تیمارهای E و F، G نیز تفاوت معنی‌داری نیست ولی در کل افزایش سیانید کاهش میزان طول برگ‌ها را به همراه داشته است. مقایسه تعداد برگ‌ها نیز بیانگر آن است که بین گروه‌های A، B، C، D و E تفاوت معنی‌داری از لحاظ تعداد برگ‌ها مشاهده نمی‌شود و افزایش میزان سیانید در تعداد برگ‌ها تاثیر آنچنانی ندارد.

مطالعات انجام گرفته در خصوص گیاه پالانی سیانید از خاک‌های آلوده علاوه بر ویتور بیشتر بر روی دو گیاه بید

بحث

نتایج به دست آمده از تحقیق بیانگر آن است که گیاه ویتور توانایی رشد در خاک‌های آلوده به سیانید را دارد و می‌تواند به طور اثربخشی میزان سیانید را کاهش دهد به طوری که میزان سیانید در خاک G ۵۰/۹۳ درصد، خاک F ۳۸/۲۰ درصد، خاک C ۳۸/۳۷ درصد، خاک D ۲۷/۱۹ درصد، خاک E ۱۷/۷۷ درصد، خاک B ۱۶/۶۶ درصد کاهش پیدا کرد. البته بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی گیاه ویتور نیز کاهش طول و تعداد برگ و افزایش میزان پروتئین و پرولین را نشان می‌دهد که بیانگر راهکارهای مقاومتی گیاه برای مقابله

در حداقل ۸۰۰ گونه گیاهان عالی از ۷۰-۸۰ خانواده ترکیبات سیانوزنی تولید می کنند که می توان به کاساوا (Casava)، کتان (Flax)، سورگوم (*Sorghum bicolor*)، یونجه (Alfalfa)، هلو (Peaches)، بادام (Almonds) و لوبیا (Beans) اشاره نمود. آزمایشات با مواد رادیواکتیو بیانگر آن است که اتم کربن آلفا و گروه نیتروژن آمینی در تشکیل گلیوزیدهای سیانوزنی نقش دارند (۱۹). یکی از فعالیت هایی که در ادامه این تحقیق باید انجام گردد بررسی تبدیل میزان سیانید جذب شده توسط تیور به اسیدهای آمینه در گیاه است که این کار با استفاده از سیانید رادیواکتیو قابل انجام است ولی با توجه به محدودیت این تحقیق که خاک آلوده از معدن فراهم گردید امکان این کار وجود نداشت.

با توجه به تولید سیانید در حین فرایند تولید اتیلن در گیاهان، وجود سیانید امری محتمل است که در گیاهان سیانوزنیک این موضوع بیشتر مشاهده می شود. حضور سیانید در خاک به عنوان یک تنش و استرس برای گیاه محسوب شده و با ایجاد تنش در گیاهان هورمون اتیلن تولید شده و در فرایند تولید اتیلن، سیانید نیز ایجاد می گردد در نتیجه میزان سیانید در گیاهان افزایش می یابد. این موضوع با آزمایشات انجام گرفته نیز تایید می شود. مقایسه میزان سیانید در ریشه های گیاهان تحت تیمار نشان می دهد که با افزایش سیانید در خاک تفاوت معنی داری در میزان سیانید در ریشه های گیاهان مشاهده می شود (۱۱). این موضوع برای برگ ها نیز بیشتر قابل ملاحظه است و سیانید اندازه گیری شده در برگ ها حتی نسبت به ریشه نیز بیشتر است. با توجه به اندازه گیری های سیانید در ریشه و برگ های گیاه و تیور و مقایسه با گیاهان شاهد (تیمار A) نتایج این پژوهش این موضوع را تایید می کند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می توان استنباط نمود که گیاه پالائی روشی بسیار مناسب برای سیانید در خاک است البته گیاه و تیور مقاومت بالایی را نشان می دهد (مقاومت در برابر 15 mg/kg سیانید) و می توان برای پالایش سیانید در پساب معادن طلا و

و سورگوم تمرکز دارد. در مطالعه Taebi و همکاران تحمل گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*) به سیانید تا حداکثر 8 mg/kg مورد بررسی قرار گرفته است (۳، ۱۷). نتایج این تحقیق بیانگر اثربخشی بیشتر گیاه و تیور در گیاه پالائی سیانید است و با توجه به ماندگاری گیاه و تیور در غلظت 15 mg/kg خاک آلوده، نشان دهنده توانائی قابل ملاحظه این گیاه نسبت به سورگوم است.

در آزمایش دیگری که توسط Wachira و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفته بررسی میزان کاهش سیانید محیط های آبی با گیاه پالائی و تیور انجام گرفته است که در این پژوهش سیانید با غلظت های مختلف به محیط کشت هیدروپونیک به صورت مصنوعی اضافه گردیده و در نهایت کاهش میزان سیانید در آب مورد آزمون قرار گرفته است. نتایج به دست آمده از تحقیق این پژوهش بیانگر آن است که استفاده از گیاه و تیور در محیط آبی در دوره ۴۵ روز ۵۰ درصد کاهش میزان سیانید را در محیط هیدروپونیک به همراه داشته است (۳). با توجه به دوره کوتاه تر این تحقیق نسبت به تحقیق حاضر توانمندی بیشتر گیاه و تیور در حذف سیانید در محیط های هیدروپونیک را نشان می دهد ولی باید به این نکته نیز توجه نمود که میزان سیانید در پساب های معادن طلا و نقره به صورت کمپلکس با عناصر دیگر نیز مشاهده می شود (با توجه به محدودیت های تحقیق امکان بررسی کمپلکس های سیانید در خاک وجود نداشت) و می تواند این کمپلکس ها اثرات مخرب بیشتری را بر گیاه نشان دهد.

در پژوهشی که توسط Dimitrova و همکاران (۲۰۱۵) برای بررسی گیاه پالائی فنل و سیانید توسط سنبل آبی در محیط های هیدروپونیک انجام گردید بیانگر آن است که سنبل آبی نیز توانایی کاهش میزان سیانید از محیط های آبی را دارد (۱۸). ولی از آنجایی که سیانید به صورت سیانید هیدروژن به محیط اضافه گردید و میزان سیانید نیز کمتر از میزان سیانید موجود در پساب های صنعتی است، نتایج این پژوهش با کاهش ۵۰ درصدی میزان سیانید، توانایی و تیور در محیط های خاک های آلوده را نشان می دهد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با کمک‌های مادی و معنوی موسسه غیر انتفاعی نوردانش برخوردار بوده لذا شایسته است نهایت قدردانی و تشکر از ریاست محترم این مجموعه به عمل آید. لازم به ذکر است این مقاله بخشی از پایان نامه با عنوان "گیاه پالائی خاک آلوده به سیانید با استفاده از گیاه وتیور" در مقطع دکتری دانشگاه پیام نور است.

منابع

- O'leary B, Preston GM, Sweetlove LJ. Increased β -cyanoalanine nitrilase activity improves cyanide tolerance and assimilation in Arabidopsis. *Molecular Plant*. 2014;7(1):231-43.
- Hong L, Banks M, Schwab A. Removal of cyanide contaminants from rhizosphere soil. *Bioremediation Journal*. 2008;12(4):210-15.
- Wachirawongsakorn P, Jamnongkan T, Latif MT. Removal of cyanide-contaminated water by vetiver grasses. *Modern Applied Science*. 2015;9(13):252-62.
- Ebbs S. Biological degradation of cyanide compounds. *Current Opinion in Biotechnology*. 2004;15(3):231-36.
- Naddafi K, Nabizadeh R, Nasser S, Yaghmaeian K, Koolivand A. Efficiency of in-vessel composting process in removal of petroleum hydrocarbons from bottom sludge of crude oil storage tanks. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2015;8(3):263-74 (in Persian).
- Ebbs SD, Kosma DK, Nielson EH, Machingura M, Baker AJ, Woodrow IE. Nitrogen supply and cyanide concentration influence the enrichment of nitrogen from cyanide in wheat (*Triticum aestivum* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Plant, Cell & Environment*. 2010;33(7):1152-60.
- Torbati S. Feasibility Study on Phytoremediation of Malachite Green Dye from Contaminated Aqueous Solutions Using Watercress (*Nasturtium officinale*). *Iranian Journal of Health and Environment*. 2017;9(4):503-16 (in Persian).
- Rehman HM, Shah ZH, Nawaz MA, Ahmad MQ, Yang SH, Kho KH, et al. Retracted Article: Beta-cyanoalanine synthase pathway as a homeostatic mechanism for cyanide detoxification as well as growth and development in higher plants. *Planta*. 2017;245(1):235-35.
- Yu X-Z, Gu J-D, Liu S. Biotransformation and metabolic response of cyanide in weeping willows. *Journal of Hazardous Materials*. 2007;147(3):838-44.

نقره و فاضلاب‌های صنعتی از آن استفاده نمود. نتیجه پژوهش کاهش میزان سیانید در خاک‌های حاوی سیانید بعد از یک دوره دو ماه را نشان می‌دهد و با توجه به ادامه حیات تمام گیاهان تحت تیمارهای مختلف می‌توان این گونه نتیجه گرفت که این گیاه برای گیاه پالائی پساب‌های معادن طلا بسیار مناسب بوده و با ترکیب این پساب‌ها با خاک‌های فاقد سیانید میزان اثربخشی گیاه پالائی این گیاهان نیز افزایش می‌یابد.

- Yu X-Z, Zhou P-H, Yang Y-M. The potential for phytoremediation of iron cyanide complex by willows. *Ecotoxicology*. 2006;15(5):461-67.
- Saeb K, Khadami R, Khoramnejadian S, Abdollahi E. Use of vetiver (*Vetiveria zizanioides*) in remediation of cyanide soil contamination. *Journal of Biology and Today's World*. 2015;4(7):150-55.
- Hashmi MZ, Kumar V, Varma A. Xenobiotics in the Soil Environment. Switzerland: Springer International Publishing; 2017.
- Kumar R, Saha S, Dhaka S, Kurade MB, Kang CU, Baek SH, et al. Remediation of cyanide-contaminated environments through microbes and plants: a review of current knowledge and future perspectives. *Geosystem Engineering*. 2017;20(1):28-40.
- Alavi Bakhtiarvand S, Ahmadimoghadam M, Parseh I, Jafarzadeh N, Chehrizi M, Chorom M. Assessment of Phytoremediation Efficiency on reducing oilhydrocarbons from clay-silt soil using *Aeluropus litalalis*. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2014;7(1):73-84 (in Persian).
- Ghasemi R, Mokhtari R. Resistance to cyanide by salicylate pretreatment in *Salix babylonica* L. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*. 2013;25(4):275-82.
- Bates L, Waldren R, Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 1973;39(1):205-207.
- Taebi A, Jeirani K, Mirlohi A, Zadeh Bafghi A. Phytoremediation of cyanide-polluted soils by non-woody plants. *Journal of Water and Soil Science*. 2008;11(42):515-23 (in Persian).
- Dimetrova T, Repmann F, Raab T, Freese D. Uptake of ferrocyanide in willow and poplar trees in a long term greenhouse experiment. *Ecotoxicology*. 2015;24(3):497-510.
- Machingura M, Salomon E, Jez JM, Ebbs SD. The β -cyanoalanine synthase pathway: beyond cyanide detoxification. *Plant, Cell & Environment*. 2016;39(10):2329-41.



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



Phytoremediation of the soils contaminated with cyanide by *Vetiveria zizanioides*

AR Mansoorian^{1,*}, A Vaziri¹, MR Zamani², F Heidaryan Naeini³

1- Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Department of Plant Molecular Biotechnology, National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

3- Department of Biology, Nour Danesh Institute of Higher Education, Mimeh, Iran

ARTICLE INFORMATION:

Received: 20 August 2017

Revised: 25 October 2017

Accepted: 30 October 2017

Published: 12 December 2017

ABSTRACT

Background and Objective: In the field of environmental risk assessment, Cyanide is one of the most important pollutants of water, soil and air that has an important impact on the ecosystem and environment of the contaminated area. Therefore, the present study aimed to prove the biological effectiveness of *Vetiveria zizanioides* in phytoremediation of soils contaminated with cyanide.

Materials and Methods: This research study was conducted on a gold mine wastewater. The dried effluent samples amended with soil with various cyanide concentrations. Seven treatments with different concentrations of cyanide were obtained (mean cyanide content in G soil, 14.77 mg/kg, F soil, 10.13 mg/kg, E soil, mg/kg 8.09, D soil, mg/kg 7.53, C soil, 3.32 mg/kg, B soil, 2.52 mg/kg and A soil without cyanide (as control). After two months, the amount of cyanide in the soil, roots and leaves of the plant, as well as the total protein and proline content, and the number and length of the leaves of the plant were measured and then statistically evaluated by SPSS15 Tukey and t Paired Samples T Tests.

Results: The results of this study showed that the increase of cyanide had a significant effect on the amount of proline (proline in the plant increased), total protein (in the plant increased), number of leaves (decrease in number) and the length (length reduction) of the leaves of the vetiver. The amount of cyanide in the leaves and roots of the plant was increased. Cyanide content was decreased in the different treatments. Cyanide content was decreased in G 50.93%, F 38.20%, E 27.19%, D 38.37%, C 17.77% and B 16.66%.

Conclusion: The results indicated that increase of the amount of cyanide in soil resulted in observational changes in the morphological and biochemical characteristics of the plant. However, *Vetiveria zizanioides* exhibited very high resistance to soil cyanide and the planting of vetiver in highly contaminated soils can lead to a reduction of cyanide up to 50 percent. *Vetiveria zizanioides* had higher resistance to cyanide and showed better phytoremediation than the other plants.

Key words: Cyanide, Phytoremediation, *Vetiveria zizanioides*, Polluted soil

***Corresponding Author:**
mansoorian271@yahoo.com