

**'n Studie om die potensiaal waarom
Chrysopogon zizanioides beskik om
gekontamineerde oppervlaktwater te
remedieer, te bepaal**

L Keay



orcid.org/0000-0002-2850-4732

Verhandeling aanvaar ter nakoming vir die *Magister Scientiae
in Omgewingswetenskap* aan die Noordwes-Universiteit

Studieleier: Prof CT Wolmarans

Mede studieleier: Prof V Wepener

VOORWOORD

Eerstens wil ek net sê Dankie Jesus! Dankie vir die geleentheid om hierdie verhandeling te kon aanpak, dankie dat ek meer van U skepping in die kort tydperk kon ontdek en myself gedurende die avontuur kon geniet en ontdek het en baie hartsense ontmoet het.

Dankie aan my ouers Chalmaine en Pieter Keay wat my die geleentheid gegun het om die avontuur te kon aanpak, wat trane afgegee het as dit nodig was en elke oomblik daar was. Dankie aan my liefste sussie Witney en swaer John vir al julle ondersteuning en dat julle van die kantlyn af my aangemoedig het. Dankie Ouma Rina, Ouma was seker my grootste ondersteuner, dankie vir elke geselsie en talle gebede gedurende hierdie tyd.

'n Groot dank aan Prof Corrie Wolmarans my Studie leier en Mentor wat in die laaste 4 jaar 'n groot rol in my lewe gespeel het. Dankie dat Prof my geleer het om wetenskap in my moedertaal te kan skryf, en om trots te wees daarop. Dankie vir die talle lewenslesse deur die laaste paar jaar, al was dit hoe om 'n "Handy woman" te wees met die bou van elke eksperimentele opstel. Dankie dat Prof my geleer het om die wêreld as 'n skatkis te sien, met 'n skat om elke hoek en draai wat wag om ontdek te word. Ek gaan al die stories en breinbrekersessie mis. Dankie tannie Hanneke Wolmarans wat altyd reg was met 'n koekie en koffietjie toe daar plan gemaak moes word om die bal aan die rol te hou gedurende die pandemie. Dankie vir elke boodskap en al tannie se bemoediging toe tye bietjie rof geraak het.

Dankie aan my hartsmaatjies wat ek gedurende hierdie tyd beter kon leer ken het. Hilde Pienaar vir die ongelooflike vriendin wat die afgelope paar jare vir my geword het, al die bystand, moed inpraat en koffiesessies. Louisa de Wet vir die laat aande saamskryfsessie, die gou inloer of als nog reg is en die bemoediging. Strauss van Graan dankie dat jy 'n rots gedurende die laaste paar jare was, dankie dat jy my uitgedaag het om vroe te vroe en om 'n meestersgraad vanuit 'n ander oogpunt uit, te ervaar. Dankie dat ek Jesus deur julle die afgelope paar jare kon vind in tye wat molshope berge geword het.

De Wet Wolmarans, dankie dat jy bereid was om my 'n ding of twee van statistiek te wys en vir die taalversorging van hierdie verhandeling. Dankie Prof Victor Wepener vir al die administratiewe werk rakende my verhandeling en die geleentheid om by die Universität Duisburg-Essen laboratoriumondervinding te kon opdoen.

Laastens 'n dank aan die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns vir die finansiële bydra en aanmoediging om my Meesters in Afrikaans uit te voer.

OPSOMMING

Hierdie uittreksel verteenwoordig die hoofmomente van al drie hoofstukke wat in artikelformaat aangebied word.

Hierdie studie is gemotiveer deur die toename in besoedeling waarvan metale 'n prominente bydra lewer tot die verlaging in die kwaliteit van oppervlakwaters. Die fitoremediëringspotensiaal van *Chrysopogon zizanioides* is geëvalueer ten opsigte van sy vermoë om sink-gekontamineerde oppervlakwater te rehabiliteer. Analises wat gedurende hierdie studie aangewend is sluit in atoom-absorpsie spektrofotometrie (AAS) om die sinkinhoud te bepaal en ligmikroskopie om strukturele skade aan *C. zizanioides* te ondersoek.

In Artikel 1 is die opname van verskeie sinkkonsentrasies, onder andere 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L, uit die water en die translokasie daarvan in *C. zizanioides* bestudeer. Hieruit is vasgestel dat die sink (Zn) wel deur die plante uit die water opgeneem word en hoofsaaklik in die wortels akkumuleer. Uit die translokasiefaktor is afgelei dat 'n beperkte hoeveelheid van die opgeneemde Zn in die blare gestoor word. 'n Versadigingsvlak van Zn in die wortels het tussen die blootstellingsdosisse van 15 en 30 mg/L 'n plato begin bereik.

Artikel 2 het dit ten doel gehad om die graad van strukturele skade wat Zn (1.5 en 30 mg/L) na 14 dae van blootstelling aan *C. zizanioides* veroorsaak het, met behulp van ligmikroskopie te bepaal. Hieruit het dit aan die lig gekom dat beperkte skade na blootstelling aan 1.5 mg/L in wortels voorgekom het, soos gereflekteer deur die teenwoordigheid van vakuolering. In teenstelling hiermee, was daar uitgebreide skade waarneembaar in die blare sowel as wortels na blootstelling aan 30 mg/L Zn. Dit het die vervorming van kransstrukture en selnekrose in die blare sowel as 'n toename in sigbare vakuolering in die wortels asook vervorming van parenchiemselle en talle lugruimtes in die korteks, ingesluit. Dit moet in ag geneem word dat die geringe skade wat by 1.5 mg/L Zn, wat in vergelyking met die konsentrasie teenwoordig in oppervlakwater, uitermate hoog was, 'n breë idee verskaf van die toleransie wat hierdie plant vir hoë Zn konsentrasies het.

Die doel van Artikel 3 was om te bepaal of geakkumuleerde Zn weer deur *C. zizanioides* in water tydens ontbinding vrygestel word. Vir hierdie eksperiment was wortels aan verskillende sinkkonsentrasies, naamlik 1.5, 15 en 30 mg/L blootgestel was, toegelaat was om oor 'n periode van vier maande in 'n akwatiese omgewing te ontbind. Gedurende hierdie periode was die Zn op vasgestelde tye in die water bepaal terwyl dit na die ontbindingsperiode in die wortels bepaal is. Die resultate het aangetoon dat 'n groot hoeveelheid Zn na slegs een week in die ontbindingsmedium teenwoordig was wat 'n aanduiding is dat die geakkumuleerde Zn weer uit die wortels geloog het. Gedurende die vier maande tydperk het die Zn in die ontbindingsmedium

drasties afgeneem, wat waarskynlik toegeskryf kan word aan die alge wat in die ontbindingsmedium begin groei het. Dit is bevestig deur die analyses dat alge die vermoë het om groot hoeveelheid Zn te kan adsorbeer. Alhoewel Zn gedurende ontbinding uit die wortels loog het, is gevind dat die Zn moontlik aan ander reaktiewe oppervlakke adsorbeer of as 'n sout uitsak. Die huidige studie het tot die slotsom gekom dat *C. zizanioides* 'n goeie kandidaatplant is om as fitoremediëringsplant te gebruik om Zn gekontamineerde oppervlakwater te rehabiliteer.

Sleuteltermes: Fitoremediëring, sinkkonsentrasie, *Chrysopogon zizanioides*, adsorpsie, Zn, strukturele skade, ontbinding, uitloging.

ABSTRACT

This summary represents the main findings of all three chapters that is presented in article format.

This study was motivated since metals are contributing to a decline in the quality of surface water. During this study, the phytoremediation potential of *Chrysopogon zizanioides* has been evaluated for its ability to rehabilitate Zn-contaminated surface water. The analyses that were done throughout the study was by means of an atomic absorption spectrophotometry (AAS) to measure the Zn concentration in the water and plant material, while light microscopy was used to determine structural damage caused by the exposure medium.

In Article 1, the uptake and translocation of different Zn concentrations, including 0.1, 1.5, and 30 mg/L were determined in *C. zizanioides* within an aquatic system. It was established that *C. zizanioides* have the potential to absorb the Zn from the water and it mainly accumulated within the roots. From the translocation factor it was confirmed that a small amount of the absorbed Zn was translocated and stored within the leaves. A saturation level of Zn in the roots reached a constant value between exposure concentrations of 15 and 30 mg/L Zn.

Article 2 aimed to determine the degree of structural damage caused within 14 days by Zn at the 1.5 and 30 mg/L concentrations by making use of light microscopy. From the results, it was evident that limited damage occurred in the roots as reflected by the presence of vasculature, after the exposure period at a Zn concentration of 1.5 mg/L. No visible damage was observed in the leaves. In contrast to this, extensive damage was observed in the roots, as well as leaves after the 14 days' exposure to 30 mg/L Zn. This included the deformation of coronary structures and cell necrosis within the leaves, as well as, an increase in visible vacuolation, deformation of parenchyma cells and numerous air spaces in the cortex of the roots. A high tolerance towards elevated Zn concentrations is evident in *C. zizanioides*, as limited damage occurred at the 1.5 mg/L exposure media, which is extremely high compared to natural Zn concentrations found in surface waters.

The purpose of Article 3 was to determine whether accumulated Zn is released into the aquatic environment during the decomposition of Zn exposed *C. zizanioides*. For this experiment, roots exposed to 1.5, 15 and 30 mg/L Zn concentrations were allowed to decompose over a period of four months in an aquatic environment. During this period, the Zn concentrations were determined in the water at fixed times and before and after the decomposing period in the roots. The results indicated that a large amount of Zn was present in the decomposition medium after only one week, a finding that indicates that the accumulated Zn leached from the roots. During the four-month period, the Zn in the decomposition medium decreased significantly after the spike in the first week and could probably be attributed to the algae that started growing in the decomposition

medium. This was confirmed by the Zn analyses done in the algae that displayed a large concentration of Zn. Although Zn leaches from the roots during decomposition, it has been found that the Zn maybe adsorbed to other reactive surfaces or precipitated as a salt.

It has been concluded that *C. zizanioides* is a good candidate plant to employ as a phytoremediation plant to rehabilitate Zn contaminated surface water

Key terms: Phytoremediation, Zn concentration, *Chrysopogon zizanioides*, adsorption, Zn, structural damages, decaying, leaching.

KONFERENSIES EN PUBLIKASIES

Konferensies

Die proef eksperiment na aanleiding van die verhandeling se resultate was by die Nasionale Wetland Indaba in 2019 voorgedra.

“The exposure of *Chrysopogon zizanioides* to Zn contaminated water under stagnant conditions”
Keay L., Jordaan A & Wolmarans C.T.

Publikasie

Die resultate gegenereer uit hierdie verhandeling waarby die primêre outeur betrokke was, was as volg gepubliseer:

Keay, L., Wepener, V. and Wolmarans, C.T., 2021. 'n Ondersoek na die opname van sink deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerde oppervlakwater. *Suid-Afrikaans Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie/South African Journal of Science and Technology*, 40(1), 85-93.

STRUKTUUR VAN HIERDIE VERHANDELING

Hierdie verhandeling voldoen aan die vereistes van die Noordwes-Universiteit (NWU; Potchefstroomkampus), Suid-Afrika, vir die voltooiing van die Magister Scientiae graad in Omgewingswetenskappe by wyse van artikelformaat. Huidig is net een artikel (Hoofstuk 3) gepubliseer. Die struktuur van hierdie verhandeling is soos volg.

Hoofstuk 1 bied 'n algemene inleiding wat die relevante agtergrondinligting bevat asook die probleemstelling, navorsingsvraag, doelstellings en doelwitte. Hierdie hoofstuk sluit ook die Mede-outeurs en hulle bydra tot die verhandeling in.

Hoofstuk 2 beskryf die metode van hoe die plante voorberei was vir die eksperimente wat volg.

Hoofstuk 3 is die eerste artikel wat in die Suid-Afrikaans Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie/South African Journal of Science and Technology volgens die Joernaal se riglyne gepubliseer is (<https://doi.org/10.36303/SATNT.2021.40.1.848>).

Hoofstuk 4 is die tweede artikel van die verhandeling met die titel: Die evaluering van plantskade aan *Chrysopogon zizanioides* na 14 - dae se sinkblootstelling.

Hoofstuk 5 bevat die laaste artikel van hierdie verhandeling met die titel: Die vrystelling van geakkumuleerde Zn vanuit verrottende *Chrysopogon zizanioides* wortels oor 'n periode van vier maande.

Hoofstuk 6 is die algemene bespreking wat 'n samevatting van die drie artikels is, asook die toekomsvooruitsigte.

Bylaag A is die deklarasievorm geteken deur die mede-outeurs van die artikels.

Bylaag B is die gepubliseerde weergawe van Hoofstuk 3

- Keay, L., Wepener, V. and Wolmarans, C.T., 2021. 'n Ondersoek na die opname van sink deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerde oppervlaktwater. Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie/South African Journal of Science and Technology, 40(1), 85-9.

Bylaag C is 'n samevatting van die metodes toegepas in die studie soos in foto's uitgebeeld.

INHOUDSOPGAWE

VOORWOORD.....	I
OPSOMMING.....	II
ABSTRACT.....	IV
HOOFTUK 1 ALGEMENE INLEIDING, DOELSTELLING EN DOELWITTE ASOOK DIE MEDE- OUTEURS EN HUL BYDRAE	1
1 INLEIDING	1
1.1 DOELSTELLING EN DOELWITTE	5
1.1.1 Doelstelling	5
1.1.2 Doelwitte.....	6
1.2 BIBLIOGRAFIE.....	6
1.3 MEDE-OUTEURS EN HUL BYDRAE.....	14
HOOFTUK 2 ALGEMENE MATERIAAL EN METODES	15
2 MATERIAAL EN METODES	15
2.1 VERSORGING VAN CHRYSOPOGON ZIZANIOIDES.....	15
2.2 AKKLIMATISEERING VAN CHRYSOPOGON ZIZANIOIDES	15
HOOFTUK 3 'N ONDERSOEK NA DIE OPNAME VAN ZN DEUR <i>CHRYSOPOGON ZIZANIOIDES</i> UIT GEKONTAMINEERDER OPPERVLAKWATER	17
3.1 ABSTRAK	17
3.2 ABSTRACT	17
3.3 INLEIDING	18
3.4 MATERIAAL EN METODES.....	20
3.4.1 Die bepaling van sinkkonsentrasies	21
3.5 RESULTATE EN BESPREKING	23
3.5.1 Blootstellingsmedium	23
3.5.2 Wortels	26
3.5.3 Blare.....	28
3.6 GEVOLGTREKKING.....	32
3.7 ERKENNING	33
3.8 OUTEURSBYDRAE	33
3.9 ORCID	33
3.10 BIBLIOGRAFIE.....	33

HOOFSTUK 4 DIE EVALUERING VAN PLANTSKADE AAN *CHRYSOPOGON ZIZANIOIDES* NA

14 - DAE SE SINKBLOOTSTELLING	40
4.1 ABSTRAK	40
4.2 INLEIDING	40
4.3 MATERIAAL EN METODES.....	42
4.4 RESULTATE EN BESPREKING	43
4.4.1 Blare.....	43
4.4.2 Wortels	44
4.5 GEVOLGTREKKING	46
4.6 BIBLIOGRAFIE.....	47

HOOFSTUK 5 DIE VRYSTELLING VAN GEAKKUMULEERDE SINK VANUIT ONTBINDE

<i>CHRYSOPOGON ZIZANIOIDES</i> WORTELS OOR 'n PERIODE VAN VIER MAANDE	54
5.1 ABSTRAK	54
5.2 INLEIDING	54
5.3 MATERIAAL EN METODES.....	55
5.4 SINKANALISES	56
5.4.1 Wortels	56
5.4.2 Wortelmonsters	57
5.4.3 Algmonsters.....	57
5.4.4 Atoomabsorpiesspektrofotometer	57
5.4.5 Dataverwerking	57
5.5 RESULTATE EN BESPREKING	57
5.6 GEVOLGTREKKING	61
5.7 BIBLIOGRAFIE.....	61

HOOFSTUK 6 ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING.....66

BYLAE	65
BYLAAG A - DEKLARASIE VORM.....	71
BYLAAG B - GEPUBLISEERDE ARTIKEL.....	72
BYLAAG C - EKSPERIMENTELE OPSTELLING.....	82

LYS VAN TABELLE

Tabel 1-1: Mede-Outeurs	14
Tabel 3-1: Die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole sowel as die 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L blootstellingsmediums oor 'n periode van 28 dae	24
Tabel 3-2: Die statistiese verskille ($P < 0.05$) soos gevind by die verskillende konsentrasies en blootstellingsperiodes	25
Tabel 3-3: Die gemiddelde en standaardafwyking van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole wortels sowel as die wat aan 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L Zn blootgestel was oor n periode van 28 dae.....	27
Tabel 3-4: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die wortels	28
Tabel 3-5: Die gemiddelde en standaardafwyking (STDV) van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole blare sowel as die wat aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30mg/L Zn blootgestel was oor 'n periode van 28 dae	29
Tabel 3-6: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die blare	30
Tabel 3-7: Die Translokasie faktor (TF) en biokonsentrasie faktor (BFK) vir <i>C. zizanioides</i> in verskillende blootstellingsmediums en oor 'n tydperk van 28 dae.	31

LYS VAN FIGURE

Figuur 3-1: 'n Grafiese voorstelling om die afname van Zn in die kontrole (●) en blootstellingskonsentrasie van 0.1 (■), 1.5 (▲), 15 (▼) en 30 (◆) mg/L oor 'n blootstellingsperiode van 28 dae aan te dui..... **1**

Figuur 4-1: A, Dwarsdeur van blare. A, kontrole. B, blaar wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was na 14 dae. C, D en E verteenwoordig blare wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was na 14 dae. C en D is sneë van 'n jonger blaar wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was. FI = floëem; xy = xileem; pxy = proto-xyleem lakuna; vb = vaatbondels; nu = nukleus; cl = chloroplast, sn = selnekrose; me. Mesofil en ls= intrasellulêr spasie, Sito = sitoplasma **44**

Figuur 4-2: Dwarsdeursneë van jong wortels van die kontrole plant. G, jong wortelweefsel wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was vir 14 dae. H en I, albei jong wortelweefsel van C. zizanioides wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was vir 'n periode van 14 dae. Kor = Korteks; vkl = vakuolering en sn = selnekrose..... **46**

Figuur 5-1: Die gemiddelde en standaard afwyking van sinkkonsentrasie in wortels (mg/Kg) na die vyf maande blootstellingsperiode en die gemiddelde sinkkonsentrasie na die vier maande ontbindingsperiode **59**

Figuur 5-2: Die gemiddelde ($\pm$ standdard afwyking) sinkkonsentrasies in die water (mg/L) gemeet oor die vier maande blootstellings tydperk tydens ontbinding **60**

HOOFSTUK 1

Algemene inleiding, Doelstelling en Doelwitte asook die Mede-Outeurs en hul bydrae

1 Inleiding

Die populering van die aarde word sedert die oorsprong van menslike bestaan deur die beskikbaarheid van water bepaal. Geen lewe op aarde kan sonder water bestaan nie en dit wat wel in waterskaars-areas gevind word, vertoon 'n verstommende variasie van aanpassings om te kan oorleef. Verskeie voorbeelde hiervan is by diere, plante en selfs mense aangetoon (Kobayashi *et al.*, 1979, Grime, 1977 en Little, 1989). Alhoewel agt lande in Afrika reeds vanaf 1990 'n waternood ervaar (Sharma, 1996) en 'n sesde van die wêreld se bevolking tans nie varswater tot hul beskikking het nie (Elimelech, 2006), kan talle lande tussen 1990 en 2025 van waterryke na waterskaars-omgewings verander. Ook sal nagenoeg 700 miljoen mense in Afrika teen 2030 in gebiede woon waar waternood sal heers (UNDESA, 2014). Die redes hiervoor word algemeen toegeskryf aan die individuele, sowel as gesamentlike invloed van klimaatsverandering, besoedeling en geografiese ligging.

Bogenoemde omstandighede lei toenemend daartoe dat mense hierdie gebiede verlaat en na reeds oorbevolkte stede migreer waar informele behuisingsareas geskep word en plakkerskampe as die enigste bron van huisvesting dien. Dié toename in stedelike populasies lei nie net tot oorskryding van die kapasiteit van funksionerende essensiële dienste soos watersuiwering en rioolverwerking nie (Henderson, 1980), maar ook tot veranderinge in landgebruik wat weer 'n negatiewe invloed op die streeksekologie het, 'n verskynsel wat hom ook in Suid-Afrika voordoen (Thujo *et al.*, 2013). In hierdie areas word waterbronne dikwels gekenmerk deur ernstige organiese verryking, beperkte biodiversiteit en huishoudelike afval wat in die water gestort word. Die roekelose storting en vrylating van huishoudelike chemikalieë soos verf, sintetiese skoonmaakmiddels, olies, geneesmiddels, en swembadchemikalieë, kan verder tot die besoedeling van water bydra (Anwar, 2003 en Kass *et al.*, 2005).

In teenstelling hiermee, gaan industriële aktiwiteite onder andere gepaard met die storting van chemikalieë soos oplosmiddels, verf, kleurstowwe, olies, insektisiede, onkruidodders, disinfektante (Krishnan *et al.*, 2013 en Ghosh *et al.*, 2014), asook swaarmetale soos kadmium (Cd), sink (Zn), lood (Pb), mangaan (Mn), yster (Fe) chroom (Cr), nikkel (Ni) en koper (Cu) wat almal in 'n mindere tot meerdere mate toksies vir mens en dier kan wees. Dit moet egter gemeld word dat hierdie metale oorwegend in nie-toksiese soutvorm voorkom en slegs in ioonvorm beskikbaar gestel word wanneer die soutvorm by 'n lae pH opgelos word (Pelicano & Balela, 2015). Hierdie verskynsel kom hoofsaaklik rondom industriële areas voor, veral verbandhoudend

met afloopwater wat deur myne in die omgewing vrygestel word. Die feit dat natuurlike water 'n $\text{pH} > 5$ het (U.S.EPA, 2021) en die metale dus oorwegend in soutvorm voorkom, maak dit in die meeste gevalle onwaarskynlik dat bo genoemde swaarmetale onder normale omstandighede toksiese vlakke sal bereik.

Ongeag die oorsprong van bogenoemde besoedeling is die hergebruik van metaalioonbesoedelde-water net moontlik nadat dit intensief behandel is deur van prosesse soos presipitasie en koagulasie (Matlock *et al.*, 2002 en Eikebrokk *et al.*, 2006), adsorpsie (Fu *et al.*, 2006), ionenuitruiling (Royer *et al.*, 2006) en membraantegnologie (Charcosset, 2006) gebruik te maak. Alhoewel fisies-chemiese metodes effektief is, is die kostes van infrastruktuur, chemikalieë, filters, die verwydering van afvalprodukte en die opwekking van energie in die meeste gevalle van so buitensporige aard dat dit oor die algemeen nie in ontwikkelende lande soos Suid-Afrika byval vind nie. Hierdie omstandighede het noodwendig daartoe aanleiding gegee dat ontwikkelende lande genoop word om van goedkoper, omgewingsvriendelike alternatiewe metodes gebruik te maak (Chaney *et al.*, 1997 en Prasad, 2014).

Een sodanige metode staan bekend as fitoremediëring wat gedefinieer word as 'n bio-remediëringsproses waartydens daar van verskillende plante gebruik gemaak word om kontaminante teenwoordig in grond en grond- of oppervlakwater, te verwyder, verplaas, stabiliseer of te vernietig. Hierdie proses, ook bekend as agro-, groen-, vegetatiewe of botaniese remediëring (Rahman *et al.*, 2011 en Kushwaha *et al.*, 2018) word allerweë beskou as doeltreffend, esteties aanvaarbaar (Ali *et al.*, 2020), koste-effektief, omgewingsvriendelik en maklik implementeerbaar. Alhoewel hierdie plante tans ook gebruik word om kontaminante soos insekdoders, gechlorineerde oplosmiddels en koolwaterstowwe uit die omgewing te verwyder (Leguizamo *et al.*, 2017 en Hussain *et al.*, 2018), het die gedagte in 1983 ontstaan om dit ook vir swaarmetaalverwydering aan te wend (Chaney, 1983)

Plantverwante eliminasië van kontaminante en metale vind oorwegend plaas wanneer dit in die plantwortels akkumuleer (Ali *et al.*, 2020) en daarna in sommige gevalle na bopgrondse dele soos blare of stingels vervoer word (Sharma *et al.*, 2015 en Ashraf *et al.*, 2018). Hierdie metode word oor die algemeen *in-situ* gebruik. Die redes hiervoor is hoofsaaklik dat dit die behoefte aan 'n addisionele stortingsruimte negeer (Leguizamo *et al.*, 2017 en Hussain *et al.*, 2018) en die moontlikheid vir verdere kontaminasië van aangrensende omgewings (Ensley, 2000) uitskakel. Die feit dat hierdie plante ook bydra tot 'n afname in erosie, het tot gevolg dat die ruimtelike uitlekking van kontaminante en verdere verspreiding daarvan (Sova *et al.*, 2009), beperk word. Ander voordele van fitoremediëring sluit in lae instandhoudings- en opruimingskoste, geen noodigheid vir hoogs-opgeleide personeel of gevorderde toerusting nie, asook die moontlikheid

om groot oppervlaktes waar konvensionele metodes of te duur of oneffektief sou wees, te remedieer. Plante wat vir fitoremediëring gebruik word sluit in inheemse plante of plante wat vegetatief voortplant en nie verder van die plek van aanplanting kan versprei nie, plante wat vinnig 'n groot bio-massa bereik en plante wat verskeie swaarmetale in groot konsentrasies kan akkumuleer en dit na bgrondse plantdele kan vervoer. Hierdie plante maak verder ook gebruik van verskeie meganismes om relatief hoë swaarmetaalkonsentrasie te akkumuleer (Cunningham en Ow 1996, Ali *et al.*, 2013, Arslan *et al.*, 2017 en Burges *et al.*, 2018)

Vervolgens tot die feit dat meeste swaarmetale in die wortels van plante akkumuleer soos bo vermeld, vind danige akkumulاسie van swaarmetale in plante normaalweg via fito-ekstraksie, fitostabilisasie, fitovertugting en risofiltrاسie plaas. Fito-ekstraksie, ook bekend as fito-akkumulاسie, behels die opname van swaarmetale deur die wortels en die vervoer daarvan na bgrondse plantdele soos stingelomvattende blare. Hierdie wyse van akkumulاسie is oorwegend geskik vir die verwydering van swaarmetale uit afvalwater, sediment en grond (Ali *et al.*, 2013 en Kocoń *et al.*, 2017).

Fitostabilisasie, ook bekend as *in-situ* deaktivering verwys daarna dat die plant optree as 'n versperring om die mobiliteit van grond, slyk of sediment te beperk en daardeur tot die perkolering van water in grond bydra. Fitostabilisasie beïnvloed nie met die natuurlike omgewing op nadelige wyse nie, is hoogs effektief in 'n groot gebied wat deur kontaminante geaffekteer word en is aansienlik veiliger as die alternatiewe metodes (Cundy *et al.*, 2013 en Najeeb *et al.*, 2017). Alhoewel dit potensieel gevaarlike kontaminante kan immobiliseer, bied dit nie 'n permanente oplossing nie; intendeel, dit beperk net die beweging van die metale in grond en dra nie by tot die verwydering daarvan nie.

Met fitovertugting manipuleer die plant die vlugtigheid van 'n bepaalde kontaminant waarna die produk via die huidmondjies vrygestel word (Gosh *et al.*, 2005, Karami *et al.*, 2010 en Luguizamo *et al.*, 2017). Plantspesies soos Canola en Indiese mosterd word veral gebruik vir die vertugting van selenium en kwik. Bakterieë teenwoordig in die risofeer dra verder by tot die proses deur die vertugtingsstemperatuur te verhoog. Een van die grootste voordele van fitovertugting is dat die plante tot en met oestyd geen verdere insette nodig het sodra 'n plantasie gevestig is nie (Cristaldi *et al.*, 2017).

Risofiltrering verteenwoordig 'n proses waartydens die kontaminante deur die plante gead- of geabsorbeer word en hulle beweging in ondergrondse water so beperk word (Abhilash *et al.*, 2009 en Benavides *et al.*, 2018). Wortels speel 'n belangrike rol in risofiltrering. Faktore soos 'n verandering in die pH van die risofeer en worteleksudate lei tot presipitering van die metaal op die oppervlak van die wortels. Plante wat hiervoor gebruik word moet verkieslik uitgebreide

wortelstelsels hê om groot hoeveelhede metale te ad- of absorbeer, maklik hanteerbaar wees en min onderhoud verg (Raskin, 2000 en Kushwaha *et al.*, 2018). Beide akwatiese en terrestriële plante kan hiervoor gebruik word (Raskin, 2000). Risofiltrasie word gebruik om landbou en industriële afvloeit te beheer maar kan ook radioaktiewe kontaminante en swaarmetale soos Cd, Pb, Cr en Cu beperk (Galal *et al.*, 2018).

Die sukses van fitoremediëring is in sekere gevalle afhanklik van chemiese stowwe soos EDTA (etileendiamientetra-asetaat) wat die fito-ekstraksie en bioakkumulasie van Cd, Zn en Pb verhoog (Farid *et al.*, 2013 en Hadi *et al.*, 2014). In ander gevalle beïnvloed plantgeassosieerde mikro-organismes die beskikbaarheid en akkumulasie van swaarmetale in grond en plante (Fang *et al.*, 2016, Arslan *et al.*, 2017 en Ashraf *et al.*, 2018), terwyl die verhoogde metabolisme van transgeniese plante die opname en akkumulasie van spesifieke kontaminante verhoog (Doty, 2008 en Koźmińska *et al.*, 2018).

Die eliminasië van swaarmetale en ander kontaminante, deur van akwatiese plante gebruik te maak, word tans as die mees gevorderde en koste effektiewe metode beskou (Guittonny-Philippe *et al.*, 2015 en Ali *et al.*, 2017). Geboude vleilande met hidrofitiese en akwatiese plante is wêreldwyd bekend vir hul vermoë om gekontaminateerde areas op te ruim (Gopal, 2003 en Gorito *et al.*, 2017). Hierdie plante ontwikkel uitgebreide wortelstelsels wat grootliks verantwoordelik is vir die akkumulasie van kontaminante (Mays & Edwards, 2001 en Stoltz & Greger, 2002). Verder word die relatiewe lang periodes wat dit neem om hierdie plante te kweek en te groei, oorskadu deur die voordele wat dit vir die omgewing inhou.

Dit moet egter in ag geneem word dat die vermoë van plante, om swaarmetale onderander Zn en ander kontaminante te akkumuleer, detoksifiseer en tolereer tot 'n groot mate aan verskeie aanpassings wat op die fisiologiese, molekulêre, genetiese en ekologiese vlak tot uiting kom (Sharma, 2011). Wat die toksisiteit van swaarmetale oor die algemeen betref is dit bekend dat Zn onderander, in groot konsentrasies met vaatbondelchlorose en nekrotiese blare gepaard gaan (Tarr 1972, Gomes *et al.*, 2011) deurdat dit tot veranderinge in fisiologiese en metabolisme prosesse aanleiding gee (Monni *et al.*, 2001 en Hossain *et al.*, 2009), fotosintese en respirasie inhibeer en die aktiwiteite van verskeie ensieme verander (Villiers *et al.*, 2011 en Volland *et al.*, 2014). Strategieë wat plante gebruik om hoë eksterne metaalkonsentrasies te weerstaan sluit in chelering, beperking in die opname en vervoer daarvan, asook interne toleransiemeganismes wat die akkumulasie en translokasie van toksiese metale kontroleer (Clemens 2006 en Anjun *et al.*, 2015). Indien metaalkonsentrasies egter subletale vlakke bereik gee oksidatiewe spanning aanleiding tot die vorming van persisterende aktiewe suurstofspesies (Verma & Dubey 2003). Op chlorofilvlak word veranderinge in pigmentinhoud en lipiedperoksidasie waargeneem (Kozminof,

2013), terwyl oksidatiewe skade deur verskeie reaktiewe suurstofspesies insluitende superoksiedradikale, waterstofperoksied en hidoksieradikaal veroorsaak word (Monni *et al.*, 2001 en Hossain *et al.*, 2009). Skade aan sellulêre komponente word voorkom deur die gekombineerde reaksie van ensimatiese en nie-ensimatiese detoksifiseringsagente voordat daar sigbare tekens van toksisiteit te voorskyn kom (Luna *et al.*, 1994). Oormatige teenwoordigheid van reaktiewe suurstofspesies kan egter lei tot die inhibering van fotosintese, wat tot sellulêre skade en chlorose van die blare aanleiding kan gee (Van Breusegem *et al.*, 2001).

Verdegingsmeganismes teen subletale metaalkonsentrasies sluit onder andere anti-oksidatiewe en intrasellulêre ensieme soos amilase, superoksied dismutase (Esfandiari *et al.*, 2007), peroksidase katalase, glutatioon – S-transferase (Mokgalaka-Matlala *et al.*, 2008), lae molekulêre tiolêre en metaal bindende proteïene asook die produksie van sekondêre metaboliete in (Pivato *et al.*, 2014).

Alhoewel metale skadelik vir die plante kan wees is daar ook swaarmetale naamlik Cu, Fe, Mn, Ni en Zn wat as essensiële mikronutriënte in plante dien wat belangrik is vir optimale groei (Hänsch & Mendel, 2009, Alloway, 2013). Zn speel 'n kritiese rol in die ensiem-werke wat verantwoordelik is vir koolhidraat- en proteïensintese, die regulering van gene en die beskerming van selle teen vrye radikale. Dit is ook bekend dat die sink-bevattende koostofanhidrase-ensiem essensieel vir fotosintese is (Pauna *et al.*, 2018).

Ter samevatting het ons hier hoofsaaklik gefokus op algemene aspekte van fitoremediëring en die relevante prosesse wat daarby betrokke is. Die omstandigheid dat Suid Afrika ryk aan sinkdraende minerale is en dit plaaslik gemyn word, het daartoe aanleiding gegee dat hierdie studie, weens die beperkte inligting wat beskikbaar is aangaande die interaksie tussen Zn en *Chrysopogon zizanioides*, uitgevoer is. *C. zizanioides* is gekies as gevolg van sy fitoremediëerings- en verdraagsaamheidsvermoë om in strawwe omstandighede te kan oorleef (Truong, 2002 en Danh *et al.*, 2009). Klem is veral gelê op die opname en vrystelling van relatief groot konsentrasies Zn asook die moontlike plantskade wat hierdie konsentrasies kon veroorsaak.

1.1 Doelstelling en doelwitte

1.1.1 Doelstelling

Die doel van hierdie studie was om die fitoremediëringspotensiaal van *C. zizanioides* in 'n Zn-gekontamineerde akwatiese omgewing te evalueer.

1.1.2 Doelwitte

Met inagneming van die bogenoemde doel, is die doelwitte van hierdie studies om:

- Die opname en akkumulasie van Zn in *C. zizanioides*, blootgestel aan 1.5, 15 en 30 mg/L Zn, vas te stel (Artikel 1).
- Die moontlike plantskade in die wortel- en blaarweefsel van *C. zizaoides* te evalueer wat vir 14 dae aan 1.5 en 30 mg/L Zn blootgestel was (Artikel 2).
- *Chrysopogon zizanioides* wat vir vyf maande aan hoë sinkkonsentrasies blootgestel was, vir 4-maande in 'n sinkvrye akwatiese omgewing te laat om te ontbind om vas te stel of die geakkumuleerde Zn onomkeerbaar aan plantweefsels bind en of dit weer in die omgewing vrygelaat word (Artikel 3).

1.2 Bibliografie

Abhilash, P. C., Jamil, S., & Singh, N. 2009. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnology Advances*, 27(4), 474-488.

Alloway, B.J., 2013. Heavy metals and metalloids as micronutrients for plants and animals. In *Heavy metals in soils* (pp. 195-209). Springer, Dordrecht.

Ali, S., Abbas, Z., Rizwan, M., Zaheer, I.E., Yavaş, İ., Ünay, A., Abdel-DAIM, M.M., Bin-Jumah, M., Hasanuzzaman, M. And Kalderis, D. 2020. Application of Floating Aquatic Plants in Phytoremediation of Heavy Metals Polluted Water: A Review. *Sustainability*, 12(5), 1927.

Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.

Al Yaqout, A. F. (2003). Assessment and analysis of industrial liquid waste and sludge disposal at unlined landfill sites in arid climate. *Waste Management*, 23(9), 817-824.

Anwar, W.A. 2003. Environmental health in Egypt. *International journal of hygiene and environmental health*, 206(4-5), 339-350.

Arslan, M., Imran, A., Khan, Q. M., & Afzal, M. 2017. Plant–bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(5), 4322-4336.

- Ashraf, S., Afzal, M., Naveed, M., Shahid, M., & Ahmad Zahir, Z. 2018. Endophytic bacteria enhance remediation of tannery effluent in constructed wetlands vegetated with *Leptochloa fusca*. *International journal of phytoremediation*, 20(2), 121-128.
- Ashraf, S., Afzal, M., Naveed, M., Shahid, M., & Ahmad Zahir, Z. 2018. Endophytic bacteria enhance remediation of tannery effluent in constructed wetlands vegetated with *Leptochloa fusca*. *International Journal of Phytoremediation*, 20(2), 121-128.
- Benavides, L. C. L., Pinilla, L. A. C., Serrezuela, R. R., & Serrezuela, W. F. R. 2018. Extraction in Laboratory of Heavy Metals Through Rhizofiltration using the Plant *Zea Mays* (maize). *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 13(1), 9-26.
- Burges, A., Alkorta, I., Epelde, L., & Garbisu, C. 2018. From phytoremediation of soil contaminants to phytomanagement of ecosystem services in metal contaminated sites. *International Journal of Phytoremediation*, 20(4), 384-397.
- Chaney, R.L., 1983. Plant uptake of inorganic waste constituents. In *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Edited by Parr JF, Marsh PD, McKla JM. Park Ridge, NJ: Noyes Data Corporation; 1983, 50-76.
- Charcosset, C. 2006. Membrane processes in biotechnology: an overview. *Biotechnology advances*, 24(5), 482-492.
- Cristaldi, A., Conti, G. O., Jho, E. H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., & Ferrante, M. 2017. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. *Environmental Technology & Innovation*, 8, 309-326.
- Cundy, A. B., Bardos, R. P., Church, A., Puschenreiter, M., Friesl-Hanl, W., Müller, I., ... & Vangronsveld, J. 2013. Developing principles of sustainability and stakeholder engagement for “gentle” remediation approaches: The European context. *Journal of Environmental Management*, 129, 283-291.
- Cunningham, S. D., & Ow, D. W. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant physiology*, 110(3), 715
- Doty, S. L. 2008. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist*, 179(2), 318-333.

- Danh, L.T., Truong, P., Mammucari, R., Tran, T. And Foster, N., 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. *International Journal of Phytoremediation*, 11(8), 664-691.
- Eikebrokk, B., Juhna, T., & Østerhus, SW. 2006. Water treatment by enhanced coagulation – Operational status and optimization issues. *Techneau*, 5(3), 1.
- Elimelech, M. 2006. The global challenge for adequate and safe water. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*, 55(1), 3–10.
- Ensley, B.D. 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*; John Wiley & Sons, Incorporated: Hoboken, NJ, USA
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. And Esfandiari, M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35(1), 48.
- Farid, M., Ali, S., Shakoar, M. B., Bharwana, S. A., Rizvi, H., Ehsan, S., Tauqeer, H. M., Iftikhar, U & Hannan, F. 2013. EDTA assisted phytoremediation of cadmium, lead and zinc. *International Journal of Agronomy and Plants Production*, 4(11), 2833-2846.
- Fang, T., Bao, S., Sima, X., Jiang, H., Zhu, W., & Tang, W. 2016. Study on the application of integrated eco-engineering in purifying eutrophic river waters. *Ecological Engineering*, 94, 320-328.
- Fu, F., Chen, R., & Xiong, Y. 2006. Application of a novel strategy – coordination polymerization precipitation to the treatment of Cu²⁺ -containing wastewaters. *Separation and Purification Technology*, 52, 388–393.
- Galal, T. M., Eid, E. M., Dakhil, M. A., & Hassan, L. M. 2018. Bioaccumulation and rhizofiltration potential of *Pistia stratiotes* L. For mitigating water pollution in the Egyptian wetlands. *International Journal of Phytoremediation*, 20(5), 440-447.
- Ghosh, A.R., Qureshi, M.S., Kim, J.I and Zalduendo, J. 2014 Surges. *Journal of International Economics*, 92(2), 961-975.
- Ghosh, M., & Singh, S. P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Asian Journal of Energy and Environment*, 6(4), 18.

Gomes, M.P., Marques, T.C.L.L.D.S., Nogueira, M.D.O.G., Castro, E.M.D. and Soares, Â.M. 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola*, 68, 566-573.

Grime, J. P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist*, 111(982); 1169-1194.

Guitttonny-Philippe, A., Petit, M. E., Masotti, V., Monnier, Y., Malleret, L., Coulomb, B., Crombroux, I., Baumberger, T., Viglione, J & Laffont-Schwob, I. 2015. Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminant mixtures. *Journal of Environmental Management*, 147, 108-123.

Gorito, A. M., Ribeiro, A. R., Almeida, C. M. R., & Silva, A. M. 2017. A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation. *Environmental Pollution*, 227, 428-443.

Gopal, B. 2003. Perspectives on wetland science, application and policy. *Hydrobiologia*, 490 (1-3), 1-10.

Hadi, F., Ali, N., & Ahmad, A. 2014. Enhanced phytoremediation of cadmium-contaminated soil by *Parthenium hysterophorus* plant: effect of gibberellic acid (GA3) and synthetic chelator, alone and in combinations. *Bioremediation Journal*, 18(1), 46-55.

Hänsch, R. And Mendel, R.R., 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259-266.

Henderson, J.V. 1980. Community development: The effects of growth and uncertainty. *The American Economic Review*, 70(5), 894-910.

Harvey, C. F., Swartz, C. H., Badruzzaman, A. B. M., Keon-Blute, N., Yu, W., Ali, M. A., & Oates, P. M. 2005. Groundwater arsenic contamination on the Ganges Delta: biogeochemistry, hydrology, human perturbations, and human suffering on a large scale. *Comptes Rendus Geoscience*, 337(1-2), 285-296.

Hussain, F., Hussain, I., Khan, A. H. A., Muhammad, Y. S., Iqbal, M., Soja, G., & Yousaf, S. 2018. Combined application of biochar, compost, and bacterial consortia with Italian ryegrass enhanced phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Environmental and experimental botany*, 153, 80-88.

- Karami, A., & Shamsuddin, Z. H. 2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. *African Journal of Biotechnology*, 9(25), 3689-3698.
- Kass, A., Gavrieli, I., Yechieli, Y., Vengosh, A., & Starinsky, A. 2005. The impact of freshwater and wastewater irrigation on the chemistry of shallow groundwater: a case study from the Israeli Coastal Aquifer. *Journal of Hydrology*, 300(1-4), 314-331.
- Kobayashi, H., Uemura, H., Wada, M., & Takei, Y. 1979. Ecological adaptation of angiotensin-induced thirst mechanism in tetrapods. *General and comparative endocrinology*, 38(1), 93-104.
- Kocoń, A., & Jurga, B. 2017. The evaluation of growth and phytoextraction potential of *Miscanthus x giganteus* and *Sida hermaphrodita* on soil contaminated simultaneously with Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(5), 4990-5000.
- Koźmińska, A., Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E., & Muszyńska, E. 2018. Recent strategies of increasing metal tolerance and phytoremediation potential using genetic transformation of plants. *Plant Biotechnology Reports*, 12(1), 1-14.
- Krishnan, R.S., Srinivasan, R. And Devanarayanan, S. 2013. *Thermal Expansion of Crystals: International Series in the Science of The Solid State (Vol. 22)*. Elsevier.
- Kushwaha, A., Hans, N., Kumar, S., & Rani, R. 2018. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and environmental safety*, 147, 1035-1045.
- Leguizamo, M. A. O., Gómez, W. D. F., & Sarmiento, M. C. G. 2017. Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands—a review. *Chemosphere*, 168, 1230-1247.
- Little, M. A. (1989). Human biology of African pastoralists. *American Journal of Physical Anthropology*, 32(S10), 215-247.
- Liu, A., Ming, J., & Ankumah, R. O. 2005. Nitrate contamination in private wells in rural Alabama, United States. *Science of the total environment*, 346(1-3), 112-120.
- Luna, C.M., González, C.A. and Trippi, V.S., 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant and Cell Physiology*, 35(1), 11-15.

- Maillard, P. And N.A.P. Santos. 2008. A spatial-statistical approach for modeling the effect of non-point source pollution on different water quality parameters in the Velhas river watershed–Brazil. *Journal of Environmental Management*, 86(1), 158-170.
- Maine, M.A.; Suñé, N.L.; Lager, S.C. 2004. Chromium bioaccumulation: Comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Res.* 38, 1494–1501`
- Matlock, M. M., Henke, K. R., & Atwood, D. A. 2002. Effectiveness of commercial reagents for heavy metal removal from water with new insights for future chelate designs. *Journal of Hazardous Materials*, 92(2), 129–142
- Mays, P. A., & Edwards, G. S. 2001. Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage. *Ecological engineering*, 16(4), 487-500.
- Mokgalaka-Matlala, N.S., Flores-Tavizon, E., Castillo-Michel, H., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2008. Toxicity of arsenic (III) and (V) on plant growth, element uptake, and total amylolytic activity of mesquite (*Prosopis juliflora* x *P. Velutina*). *International Journal of Phytoremediation*, 10(1), 47-60.
- Molobela I.P and Sinha, P. 2011. Management of water resources in South Africa: A review. *African Journal of Environmental Sciences and Technology*, 5(12), 993-1002.
- Monni S, Uhlig C, Hansen E, Magel E. 2001. Ecophysiological responses of *empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environ.Pollut.*, 112, 121-129.
- Mulligan, C. N., Yong, R. N., & Gibbs, B. F. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering geology*, 60(1-4), 193-207.
- Najeeb, U., Ahmad, W., Zia, M. H., Zaffar, M., & Zhou, W. 2017. Enhancing the lead phytostabilization in wetland plant *Juncus effusus* L. Through somaclonal manipulation and EDTA enrichment. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3310-S3317.
- Paunov, M., Koleva, L., Vassilev, A., Vangronsveld, J. And Goltsev, V., 2018. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 787.
- Pelicano, C.M. and Balela, M.D. 2015. Effect of solution pH and $ZnCl_2$ on zinc oxide nanostructures grown on Zn foil. *In* MATEC Web of Conferences (Vol. 27, p. 02007). EDP Sciences.

- Pivato, M., Fabrega-Prats, M. And Masi, A. 2014. Low-molecular-weight thiols in plants: Functional and analytical implications. *Archives of biochemistry and biophysics*, 560, 83-99.
- Pratas, J., Paulo, C., Favas, P. J., & Venkatachalam, P. 2014. Potential of aquatic plants for phytofiltration of uranium-contaminated waters in laboratory conditions. *Ecological engineering*, 69, 170-176.
- Priya, E. S., & Selvan, P. S. 2017. Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)—An efficient and economic adsorbent for textile effluent treatment—A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3548-S3558.
- Rashid, H., Manzoor, M. M., & Mukhtar, S. 2018. Urbanization and its effects on water resources: An exploratory analysis. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 15(1), 67-74.
- Rahman, M.A.; Hasegawa, H. 2011. Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, 83, 633–646.
- Raskin, I., & Ensley, B. D. 2000. *Phytoremediation of toxic metals*. John Wiley and Sons.
- Royer, A., Laporte, F., Bouchonnet, S. And Communal, P.Y. 2006. Determination of ethephon residues in water by gas chromatography with cubic mass spectrometry after ion-exchange purification and derivatisation with N-(tert-butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide. *Journal of Chromatography A*, 1108(1), 129-135.
- Rukah, Y. A., & Alsokhny, K. 2004. Geochemical assessment of groundwater contamination with special emphasis on fluoride concentration, North Jordan. *Geochemistry*, 64(2), 171-181.
- Sarwar, N.; Imran, M.; Shaheen, M.R.; Ishaque, W.; Kamran, M.A.; Matloob, A.; Hussain, S. 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 171, 710–721.
- Sharma, N. P. 1996. *Sustainable Development of Africa's Water Resources*. Africa Region Findings & Good Practice Infobriefs; No. 74. World Bank, Washington, DC. © World Bank. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/9954> License: CC BY 3.0 IGO.
- Schleich, J. And Hillenbrand, T. 2009. Determinants of residential water demand in Germany. *Ecological economics*, 68(6), 1756-1769.

Sharma, S., Singh, B., & Manchanda, V. K. 2015. Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 946-962.

Sharma, S. And Bhattacharya, A., 2017. Drinking water contamination and treatment techniques. *Applied Water Science*, 7(3), 1043-1067.

Sova, A. H., Jakabova, S., Simon, L., Pernyeszi, T., & Majdik, C. 2009. Induced phytoextraction of lead from contaminated soil. *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*, 1, 116-22.

Stoltz, E. & Greger, M. 2002. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. *Environmental and Experimental Botany*, 47(3), 271-280.

Tarr, S.A.J. 1972. Principles of plant pathology. Macmillan International Higher Education.

Thuo, A.D.M., 2013. Unsettled Settled Spaces: Searching for a Theoretical 'Home' for Rural-Urban Fringes.

Truong, P.N. 2002. Vetiver grass technology. *Vetiveria the Genus Vetiveria*. New York: Taylor & Francis (pp.114-132).

United Nations Department of Economic and Social Affairs (UNDESA). 2014. International decade for action "Water for Life" 2005-2015. <https://www.un.org/waterforlifedecade/scarcity.shtml> Datum van gebruik: 19 Julie 2020.

U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). Caddis Volume 2: pH. <https://www.epa.gov/caddis-vol2/caddis-volume-2-sources-stressors-responses-ph#tab-6> (Datum van gebruik 27 November 2021).

Van Breusegem, F., Vranová, E., Dat, J.F. and Inzé, D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant science*, 161(3), 405-414.

Wang, G., Huang, Y., Li, R., Chang, J. And Fu, J., 2020. Influence of Vetiver Root System on Mechanical Performance of Expansive Soil: Experimental Studies. *Advances in Civil Engineering*, 2020, 125-141.

1.3 Mede-Outeurs en hul bydrae

Die primêre outeur vir hierdie verhandeling is Lesley Keay. Al die mede-outeurs en medewerkers asook hul bydraes hiertoe word in die Tabel 1 hieronder weergegee.

Tabel 1: Mede-Outeurs

Mede Outeur/ medewerkers	Bydrae
Mej. L. Keay	Verantwoordelik gewees vir die ontwerp van die studie, eksperimentele uitvoere, data analyses, die beplanning, uitvoering en skryf van die verhandeling asook die publikasies.
Prof. C.T. Wolmarans	Opgetree as hoofstudieleier, toesig gehou oor alle aspekte van hierdie studie, insluitend die projekontwerpe, beplanning, uitvoering en die skryf van hierdie publikasies, asook ander dokumentasie gebaseer op hierdie studie.
Prof. V. Wepener	Opgetree as mede – studieleier, betrokke by projekontwerpe, en die skryf van hierdie publikasies.
Dr. A. Jordaan	Gehelp met die maak van die mikroskoop preparate en interpretasie van die resultate by Hoofstuk 4 “ <i>Die evaluering van plantskade aan Chrysopogon zizanioides na 14 – dae se sinkblootstelling</i> ”.

HOOFSTUK 2

Algemene Materiaal En Metodes

2 Materiaal en metodes

2.1 Versorging van *Chrysopogon zizanioides*

Chrysopogon zizanioides wat in die natuur in terrestriële omgewings groei, maar dikwels in akwatiese omgewings gebruik word, is laat in die lente seisoen op die Noord-Wes Universiteit se gronde versamel waar dit voorheen gekweek was. Die graspolle wat versamel is, was groot gevestigde plante met 'n deursnee van 50 tot 60 cm, blaarhoogte van 100 tot 150 cm en wortel lengte wat gewissel het van 30 tot 50 cm. Die blare is korter gesny om hantering te vergemaklik en daarna met 'n tuinvurk in kleiner polle met 'n deursnee van 20 tot 30 cm verdeel. Die kleiner dele is daarna na die Noordwes Universiteit se Botaniese tuin vervoer, waarna dit in diep omgespitte grond in direkte sonlig gevestig is en gereeld natgemaak was.

2.2 Akklimatiseering van *Chrysopogon zizanioides*

Die akklimatisering van *C. zizanioides* in water is as 'n nodige proses beskou omdat al die eksperimente hierna in water uitgevoer sou word. Twee maande voordat die verskeie eksperimente begin het, is die polle uitgespit en voorberei. Dit is versigtig verwyder om minimale skade aan die wortelstelsel te verrig, hierna is die wortels met boorgatwater skoongewas om van al die oortollige grond en debris ontslae te raak. Die polle is daarna vêrder in kleiner dele verdeel en weer met boorgatwater afgespoel. Na die reiniging prosesse is die plante in drywende mandjies onder andere in 'n sementdam asook in 'n polikarbonaat houer (1 x 1 x 3 m), albei gevul met boorgatwater met 'n pH 7.6, gelaat om te akklimatiseer. Vir die akklimatiseeringstydperk is drie mandjies van verskillende vorms en materiale gebruik om vas te stel watter een die minste wortelskade verrig as die plante verwyder moes word vir eksperimentele doeleindes. Al drie die mandjies is gemaak sodat al die wortels onder die water is, om uitdroging te vermy, en dat die blare nie onder die water in verdwyn het nie.

Die eerste mandjie wat gebruik is, het bestaan uit 'n reghoekige raam (40 x 40 cm) wat van PVC® pyp gemaak is en met 'n net, wat 'n maas grootte van 5 x 7 mm het, oorgetrek met 'n diepte van 40cm. Hierdie mandjies was in die polikarbonaat houer op die proef gestel. Alhoewel die plante goed daarin gegroei het, was te veel wortel hare in die verwyderings proses beskadig en is die akklimatisering tegniek geskraap. Die tweede mandjie het dieselfde raam as die eerste mandjie gehad, maar die een was oorgetrek met 'n oranje poliëtileen net met 'n maas grootte van 6 x 4 cm en het 'n diepte van 30 cm gehad. Hierdie mandjie was in die sementdam getoets en het nie

die toets geslaag nie, alhoewel die plante dig in die mandjie gepak was, het die plante eenkant toe gekantel en die blare was meestal onder water. Swart waterdeurlatende polikarbonaatkratte was die derde opsie, hierdie kratte het bodem-openinge van 4 x 4 cm gehad. Die kratte was op die proef gestel in die polikarbonaat houer omdat dit nie drywende kratte was nie en moes 'n sekere diepte gehandhaaf het. Kabelbinders was aan die 4 kante van die kratte vasgemaak en om besemstokke verbind/gehang om dit te anker, sodat net die wortels onder die water was. Die plante was dig in die kratte gepak en die wortels het suksesvol gegroei tydens die proeftydperk. Min wortels was beskadig gedurende die verwyderingsproses en die metode was gekies vir die aklimatiseerings proses van al die plante wat vir die eksperiment gebruik sou word.

HOOFSTUK 3

'n Onderzoek na die opname van Zn deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerder oppervlakwater

3 Hierdie Artikel is klaar gepubliseer in die *Suid-Afrikaans Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie*

Keay, L., Wepener, V. And Wolmarans, C.T., 2021. 'n Onderzoek na die opname van sink deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerde oppervlakwater. *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie/South African Journal of Science and Technology*, 40(1), 85 – 93. (<https://doi.org/10.36303/>, SATNT.2021.40.1.848)

3.1 Abstrak

Die verwydering van metale uit die omgewing kan deur verskeie prosesse, waarvan fitoremediëring die mees natuurlike is, gedoen word. *Chrysopogon zizanioides* is in hierdie studie gebruik om die opname en akkumulasie van Zn deur hierdie plant vanuit 'n akwatiese omgewing te bestudeer. Voorbereide eksemplare van *C. zizanioides* is oor 'n tydperk van 28 dae aan verskeie sinkkonsentrasies blootgestel. Water-, wortel- en blaarmeristeemonsters is op 1 uur, 7, 14 en 28 dae na sinkblootstelling versamel en verwerk, waarna die sinkinhoud met behulp van atoomabsorpsiespektrofotometrie (AAS) bepaal is. Uit die resultate is dit duidelik dat die persentasie afname van Zn in die water oor die totale blootstellingsperiode die laagste was by die hoogste sinkkonsentrasie (15 en 30 mg/L). Terwyl dit by 0.1 mg/L en 1.5 mg/L met onderskeidelik 38% en 47% teen dag 28 afgeneem het. Verder het die biokonsentrasie faktor aangedui dat die persentasie Zn opgeneem deur die wortels per massa eenheid by al die blootstellingskonsentrasies en periodes hoër as in die blare was. Wat die translokasie faktor soos bereken vir die onderskeie wortel- en blaarmonsters betref, het dit nooit 1 oorskry nie. Dit dui daarop dat die blare nie 'n prominente rol in die akkumulasie van Zn gespeel het nie. Hierdie studie het aangetoon dat *C. zizanioides* by sinkkonsentrasies van 0.1 mg/L en 1.5 mg/L effektief mag wees as fitoremediëringsplante. Langer termyn studies sou moontlik kon aandui of Zn enigsins deur die blare getranspoteer en gestoor word.

Sleutelwoorde: *Chrysopogon zizanioides*, fitoremediëring, sinkkonsentrasies, opname

3.2 Abstract

An investigation into the uptake of Zn by *Chrysopogon zizanioides* from contaminated surface water: The elimination of metals from aquatic habitats can be achieved via various processes. Phytoremediation is generally regarded as one the most natural processes to implement. In this

work, *Chrysopogon zizanioides* was evaluated for its potential to accumulate Zn from an aquatic environment. Prepared specimens of *C. zizanioides* were exposed to various Zn concentrations over a period of 28 days. Water, root and leaf meristem samples were collected and processed 1 hour, 7, 14 and 28 days after Zn exposure and the Zn content determined by means of an atomic absorption spectrometry (AAS). The results indicate that the lowest amount of Zn was eliminated from the exposure medium prepared with the highest concentrations of Zn (15 mg/L and 30 mg/L). However, at concentrations of 0.1 and 1.5 mg/L Zn, a reduction of 38% and 47% in the initial Zn concentration was reported over the exposure period, respectively. As indicated by the bio-concentration factor, the percentage of Zn per mass unit was significantly higher in the roots than in the leaves. The translocation factor, calculated from the respective root and leaf Zn concentrations never exceeded 1, meaning that the leaves did not play a significant role in the accumulation of Zn. From this study it was evident that *C. zizanioides* can be used as an effective plant for phytoremediation. Longer term exposure will possibly reveal whether Zn can also be transported to and stored in the leaves.

Keywords: *Chrysopogon zizanioides*, phytoremediation, Zn concentrations, accumulation

3.3 Inleiding

Die kontaminasie van water en die beperkte beskikbaarheid daarvan hou ernstige bedreigings vir beide mense en die omgewing in. Klimaatsverandering, vinnige verstedeliking, industrialisering, 'n verhoogde aanvraag na voedsel en die ongekontroleerde gebruik van natuurlike waterbronne word oor die algemeen beskou as van die hoof redes waarom meer as 40% van die wêreld se bevolking 'n skaarste aan water ervaar (WWD, 2018).

Industriële en huishoudelike afvalwater bevat onder andere pestisiede, olies, kleurstowwe, fenole, sianiede, toksiese organiese verbindings, fosfate, gesuspendeerde soliede materiaal en swaarmetale (Pakdel & Peighambardoust 2018). Kommersiële aktiwiteite insluitend mynweese, geotermiese aanlegte, die motorbedryf, gifstofvervaardiging, leerlooierij, asook kleur en plateringsaktiwiteite word wêreldwyd verantwoordelik gehou vir swaarmetale wat die omgewing kontamineer en wat eventueel in oppervlakwater akkumuleer (An *et al.*, 2015 en Peligro *et al.*, 2016). Die eliminerings van swaarmetale uit afvalwater is egter problematies, omdat dit in verskillende chemiese vorme voorkom, dit nie biodegradeerbaar is nie en maklik deur verskillende trofiese vlakke beweeg om uiteindelik in die biota te akkumuleer.

Die verwydering van afvalstowwe uit die omgewing is dus van kardinale belang om die bedreiging wat dit vir die gesondheid en oorlewing van mens en dier inhou, te minimaliseer. Prosesse wat normaalweg hiervoor gebruik word sluit onder andere omgekeerde osmose (Jiang & Ladewig

2017), ionenuitruiling (Levchuk *et al.*, 2018), chemiese presipitering (Iyyanki *et al.*, 2017 en Hung *et al.*, 2017), adsorpsie en oplosmiddel ekstraksie (Burakov *et al.*, 2018) in, wat telkens met groot operasionele en onderhoudskostes gepaard gaan. Hierdie prosesse gaan nie net met hoë kapitaalinvestering gepaard nie, maar word geassosieer met logistiese struikelblokke om van die gekontamineerde slyk wat gegenereer word, ontslae te raak (Ahmad *et al.*, 2016). Dit is dus duidelik waarom 'n proses soos fitoremediëring wat van plante gebruik maak en wat weens die omgewingsvriendelikheid en potensiële koste-effektiewe toepassing daarvan, 'n waardevolle alternatief mag bied (Sharma *et al.*, 2015).

Akwatiese plante is van besondere belang omdat dit, in vergelyking met terrestriële plante, oor die vermoë beskik om toksiese metale en nutriënte in groot hoeveelhede te bio-akkumuleer (Patra *et al.*, 2004 en Wani *et al.*, 2017). Gegewe die groot verskeidenheid in spesies, hul biochemiese samestelling, habitat, en verspreiding is makrofiete tot verskillende mates effektief om kontaminante te absorber (Wani *et al.*, 2017). Plante wat reeds vir fitoremediëring aangewend word sluit onder andere *Eichornia crassipes* (Sricoth *et al.*, 2018 en Upadhyay & Tripathi 2007), *Typha latifolia* (Upadhyay & Tripathi 2007), *Hydrilla verticellata* (Rahman & Hasegawa 2011; Venkateswarlu *et al.*, 2019), *Lemna minor* (Ansari *et al.*, 2020), *Phragmites australis* (Bello *et al.*, 2018) en *Chrysopogon zizanioides* (Danh *et al.*, 2009 en Truong *et al.*, 2010), in.

Chrysopogon zizanioides wat in hierdie studie gebruik is, is inheems tot die subtropiese en tropiese dele van Suid-Asië (Adam & Daffon en 1998; Grimshaw & Helfer, 1995), maar kom ook in soortgelyke streke van Noord- en Suid- Amerika, Australië, die Mediterreense streke van Europa, asook Afrika voor waar dit vir verskeie ekonomiese redes gebruik word (Maffei, 2002; Truong & Hart, 2002 en Danh *et al.*, 2009). Volgens Grimshaw (1997), is *C. zizanioides* in 1860 in Suid-Afrika aan die kus van KwaZulu-Natal gevestig waar dit in suikerrietlande gebruik is vir grondstabilisering. Hierdie praktyk word steeds in die suikerrietbedryf aangewend.

Chrysopogon zizanioides is 'n vinniggroeiende gras met 'n wortelstelsel wat 3 tot 4 m diep kan reik in die eerste jaar nadat dit geplant is (Singh & Kumar, 2017) en wat derhalwe uitdroging in die droë maande en oorstromings in die reënseisoen kan weerstaan (Truong, 2002 en Danh *et al.*, 2009). Dit kan temperature van -15°C tot 55°C (Xia *et al.*, 1999 en Danh *et al.*, 2009), 'n pH van 3.3 tot 9.5 (Truong, 2008 en Danh *et al.*, 2009) en 'n elektriese geleidingsvermoë van 47.5 dS m⁻¹ oorleef (Bevan *et al.*, 2000).

Verskeie outeurs, waaronder Truong & Creighton (1994), Truong (2002), Truong *et al.*, (2010) en Vargas *et al.*, (2016) het aangetoon dat *C. zizanioides* relatiewe hoë konsentrasies van swaarmetale soos chroom (Cr), koper (Cu), lood (Pb), kwik (Hg), nikkel (Ni), mangaan (Mn), sink (Zn) en yster (Fe), asook elemente soos arseen (As) in die blare en wortels kan akkumuleer.

Roongtanakiat *et al.*, (2007), Chen *et al.*, (2011) en Hasan *et al.*, (2017) het *C. zizanioides* aan oppervlakwater wat met verskillende konsentrasies metale gekontamineer was, blootgestel om vas te stel watter metale die plant effektief kan opneem. Hieruit was dit duidelik dat die oorgrote meerderheid van die metale in die wortels akkumuleer en dat veral Pb, Fe, Mn and Zn in relatiewe hoë konsentrasies in die wortels teenwoordig was (Antiochia *et al.*, 2007, Roongtanakiat *et al.*, 2007 en Hasan *et al.*, 2017).

Alhoewel die literatuur verslag lewer oor die fitoremediëringseienskappe van *C. zizanioides*, veral in grond maar ook in oppervlakwater, (Cheng *et al.*, 2004, Danh *et al.*, 2007, Gautam & Agrawal, 2017 en Suelee *et al.*, 2017) is navorsing wat tot dusver in Suid-Afrika, 'n mineraalryke land waarvan die landskap deur uitgebreide mynbou-aktiwiteit gekenmerk word (Sandham *et al.*, 2008), met fitoremediëring verband hou, uiters beperk. Dus is bevindinge wat reeds gemaak is, moeilik met mekaar vergelykbaar, terwyl ekstrapolasies van laboratoriumbevindinge na die natuurlike omgewing onmoontlik is. Van die verskeie minerale wat in Suid-Afrika gemyn word, is Zn meestal beskou as 'n byproduk weens die feit dat dit 'n spoor element in byna alle gesteentes is (Ayres *et al.*, 2003). Alhoewel Zn beskou word as 'n essensiële metaal vir biologiese lewe en die maksimum blootstellingskonsentrasie waaraan mense en akwatiese organismes volgens die "EPA, 2009" (7400 µg/L en 120 µg/L, onderskeidelik), hoog is, kan dit as gevolg van mynbou- en industriële aktiwiteite, asook geologiese verwerking in toksiese konsentrasies voorkom (Ramos *et al.*, 2002; Roongtanakiat *et al.*, 2007 en Huang *et al.*, 2017).

Vervolgens het die huidige studie dit ten doel gehad om die opname en akkumulasie van Zn in *C. zizanioides*, blootgestel aan relatiewe hoë konsentrasies van die metaal, vas te stel.

3.4 Materiaal en Metodes

Eksemplare van *C. zizanioides* wat in die botaniese tuin van die Noordwes Universiteit gekweek was, is vir hierdie eksperiment gebruik. Alle studies is van Februarie 2020 – Maart 2020 met 'n gemiddelde dagtemperatuur van 29°C en sonligperiode van ±8 ure, uitgevoer. Alle *C. zizanioides* eksemplare was ten minste 30 cm hoog toe die studie aanvang geneem het. Die plante is versigtig uit die grond verwyder waarna dit in kleiner polle (om en by 13 cm in deursnee) verdeel is. Die blare is 30 cm bokant die wortelbasis afgesny om die hantering van die polle te vergemaklik. Die polle is met boorgatwater afgespoel om grond en ander debris wat tussen die wortels teenwoordig was, te verwyder. Dit is gedoen om te voorkom dat die blootstellingsmedium (boorgatwater waarin Zn opgelos was) aan die grond adsorbeer en die resultate van die blootstellingseksperiment negatief beïnvloed. Die plante is vervolgens vir drie weke in boorgatwater by 'n pH ± 5.0 in direkte sonlig gelaat om te akklimatiseer.

Sinkblootstelling het plaasgevind in 15 L poliëtileenhouders wat vooraf met 'n seep-oplossing gevolg deur 1% chemiesuiwer salpetersuur (HNO_3) en dubbelgedistilleerde water gewas was. 'n Moeder-oplossing van 1000 mg/L Zn (as sinkchloried) is voorberei deur 2.08 g ZnCl_2 in dubbelgedistilleerde water by 'n pH van ± 5.0 op te los (Kamel *et al.*, 2004). Die pH van die blootstellingmedium was met soutsuur (HCl_2) aangepas na 4.5 tot 5 om te verseker dat die plantevoortdurend aan Zn-ione blootgestel word (Li *et al.*, 2019). Blootstellingskonsentrasies van 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L is in vier verskillende poliëtileenhouders aangemaak tot 10 L met boorgatwater (pH ± 5.0). Homogene oplossings is verkry deur saamgeperste lug vir 1 uur deur elk van die houders te borrel. Hierna is 'n 10 mL watermonster uit elk van die houders versamel om die aanvanklike blootstellingskonsentrasies te bepaal. Vier ander houders gevul met skoon boorgatwater het as die onderskeie kontroles gedien.

Die voorafbereide *C. zizanioides* eksemplare is vervolgens elk verder in 20 kleiner eksemplare verdeel, waarvan die wortelmassas van 95 tot 100-gram gewissel het. 'n Geringe hoeveelheid wortel- en blaarmonsters is voor blootstelling van elke kleiner eksemplaar versamel wat as kontrolemonsters gedien het. Hierna is die plante oorgedra na die onderskeie blootstellingsmediums in 'n kweekhuis wat aan alle natuurlike elemente blootgestel was, maar algemene beskutting gebied het teen reënwater. Die deksels van die blootstellingshouders het bestaan uit ligdeurlatende poliëtileen kweekhuisplastiek met 'n opening waardeur die blare van die *C. zizanioides* gestee het. Dit het verlies van die blootstellingsmedium deur verdamping bekamp terwyl die kante van die blootstellingshouders daarna met 'n ondeurskynende film bedek is om alggroei te beperk. Tien milliliter watermonsters en 'n klein hoeveelheid wortel- en blaarmonsterweefsel (± 0.2 g) is na 1 uur, 7, 14 en 28 dae uit elk van die blootstellingshouders versamel. Hierna is die monsters ondersoek vir sinkkonsentrasie.

3.4.1 Die bepaling van sinkkonsentrasies

3.4.1.1 Watermonsters

Watermonsters is vanaf elk van die blootstellinghouders na 15 mL hoë digtheids-poliëtileenbuise oorgedra en by 4°C gestoor tot verdere ontleding. Hierdie watermonsters was voor die sinkanalises, filtreer en vervolgens met behulp van die vlamfasiliteit van 'n gekalibreerde Perkin Elmer (PinAAcle 900F) atoomabsorpsiespektrofotometer (AAS) geanaliseer en die data is gedokumenteer. Plantmonsters is van elk van die blootstellingshouders met behulp van 'n vlekvrystaal disseksieskêr afgesny en met 'n vlekvrystaal tangetjie na hoë digtheidspoliëtileenhouders oorgedra. Dit is vervolgens vlugtig in dubbelgedistilleerde water afgespoel om oortollige blootstellingsmedium van die plantoppervlakke te verwyder. Die weefselmonsters is hierna na porseleinkroesies oorgedra en vir 72 uur by 65°C gedroog. Massas van 0.05 g wortel- en

blaarmonsters is met behulp van 'n digitale skaal afgeweg en na 'n teflonverteringshouer van 150 mm x 150 mm x 40 mm, voorsien van 86 verteringsputte en digsluitende teflonproppies, oorgedra. Elke verteringsput was gevul met 1 mL 65% chemiessuiwer HNO₃ en vir 24 uur oopgelaat om die oormatige gas wat as gevolg van die reaksie tussen die plantweefsel en die HNO₃ ontwikkel het, toe te laat om te ontsnap. Die putte is hierna met die teflonproppies geseël en die monsters verder in 'n oond by 65°C vir 24 uur verteer. Die verteerde inhoud van elke put is hierna met behulp van 'n pipet na 15 mL hoëdigtheidspoliëtileen sentrifuge-buise oorgedra waarna 9 mL dubbelgedistilleerde water by elke buis gevoeg is. Die inhoud van die buise is hierna vir drie minute by 4000 rpm gesentrifugeer en die supernatant na soortgelyke buise gedekanteer en afgesluit met 'n gepaste prop tot verdere analyses uitgevoer is. Hierdie plantmonsters is soos bo verduidelik vir die teenwoordigheid van Zn ondersoek.

3.4.1.2 Dataverwerking

Die translokasie faktor (TF) verteenwoordig die verhouding van swaarmetale in die wortel- en blaarkomponente van die plantweefsel (Meeinkuirt *et al.*, 2016).

Die TF is met behulp van die volgende vergelyking bepaal:

$$TF = \frac{\text{Metaal konsentrasie (blaarweefsel)}}{\text{Metaal konsentrasie (wortelweefsel)}}$$

Die biokonsentrasie faktor (BKF) is aanduidend van waar die metale wat deur die plant opgeneem word, hoofsaaklik akkumuleer (Zou *et al.*, 2012) en word as volg bereken:

$$BKF = \frac{\text{Metaal konsentrasie (plantweesel)}}{\text{Metaal konsentrasie (blootstellingsmedium)}}$$

3.4.1.3 Statistiese analises

Die data is geanaliseer deur gebruik te maak van 'n twee rigting ANOVA en veelvuldige vergelykings om te bepaal of die konsentrasie Zn in die water betekenisvol ($P < 0.05$ waarde) van die konsentrasies van die wortels en blare teenoor tyd verskil. GraphPad Prism 8.0.2 was vir die statistiese analise gebruik.

3.5 Resultate en Bespreking

3.5.1 Blootstellingsmedium

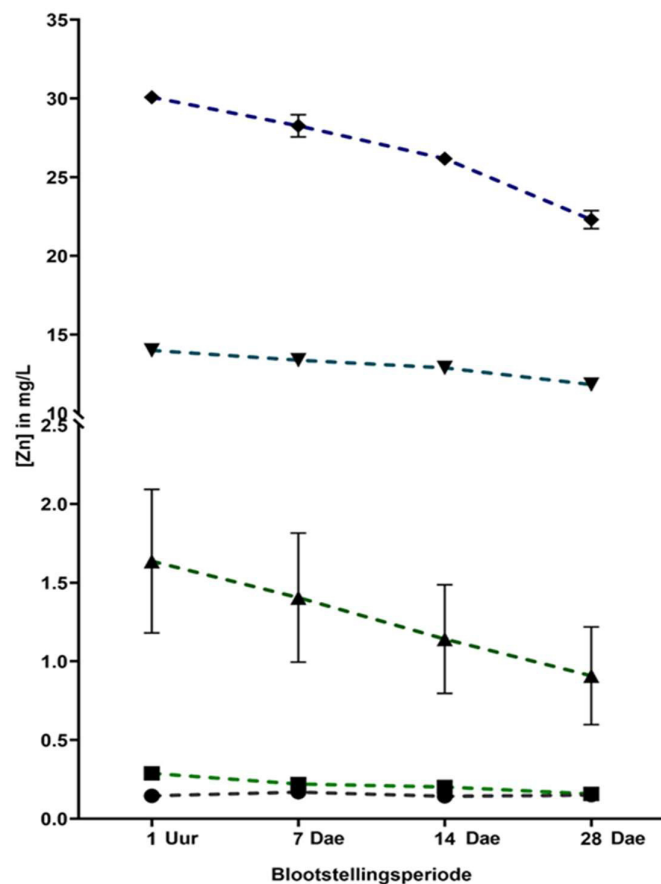
Tabel 3-1 en **Tabel 3-2** verteenwoordig die gemiddelde sinkkonsentrasies en die standaardafwykings van die kontrole asook dié van die 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L blootstellingsmediums per blootstellingperiode. Die gemiddelde persentasie Zn wat by elke blootstellingskonsentrasie uit die blootstellingsmediums opgeneem is, word ook in hierdie tabel, sowel as **Fig 3-1**, aangedui. Die gemiddelde wortelmassa wat aan al die konsentrasies blootgestel was, het gewissel van 95 g tot 100 g nat materiaal.

Uit **Tabel 3-1** is dit duidelik dat die gemiddelde Zn agtergrondkonsentrasie uit 16 monsters boorgatwater wat oor 'n periode van 28 dae geneem is, 0.151 ± 0.035 was. Wat die afname van Zn by al die konsentrasies betref, is dit duidelik dat daar 1 uur na blootstelling geen Zn uit enige van die blootstellingsmediums opgeneem was nie. Inteenstelling hiermee, het die sinkkonsentrasies in die blootstellingsmediums na 7 dae by 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L onderskeidelik verminder na 0.219 ± 0.027 , 1.401 ± 0.070 , 13.435 ± 0.297 en 27.653 ± 0.916 mg/L. Na 14 dae was hierdie waardes vir die ooreenstemmende blootstellingskonsentrasies 0.194 ± 0.046 , 1.138 ± 0.171 , 12.901 ± 0.541 en 26.059 ± 0.556 mg/L onderskeidelik en na 28 dae 0.154 ± 0.031 , 0.883 ± 0.212 , 11.693 ± 0.338 en 21.937 ± 1.160 mg/L. Dit is verder duidelik dat wat die totale persentasie afname van Zn oor 28 dae betref, dit vir 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L onderskeidelik 38.35 %, 46.45 %, 22.81 % en 27.24 % was.

Alhoewel die sinkkonsentrasies in die water by al die blootstellingsmediums oor tyd afgeneem het, is betekenisvolle afnames tussen die konsentrasies soos gemeet na 1 uur en 7 dae, na 1 uur en 14 dae en na 1 uur en 28 dae blootstelling aan 0.1 mg/L ($P < 0.05$) waargeneem. Inteenstelling hiermee, het die konsentrasies wat na 1 uur en 7 dae blootstelling en na 7 en 28 dae blootstelling by beide 1.5 mg/L en 15 mg/L blootstellingsdosisse gemeet is, betekenisvol verskil. Dit is egter opvallend dat die konsentrasie gemeet na 1 uur en 14 dae, na 1 uur en 28 dae en na 14 en 28 dae ook by die 30 mg/L blootstellingsdosis betekenisvol verskil het. Dit dui daarop dat die opname van Zn uit die blootstellingsmediums oor tyd gevarieer het.

Tabel 3-1: Die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole sowel as die 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L blootstellingsmediums oor 'n periode van 28 dae

Sink-konsentrasie in mg/L	Tydsduur	Sinkkonsentrasie gemeet in mg/L				Gemiddelde en STDV	Die % afname in Zn
		Replikate					
		A	B	C	D		
Kontrole	1 uur	0.161	0.135	0.136	0.123	0.139±0.0016	0
	7 dae	0.182	0.139	0.142	0.181	0.161±0.024	0
	14 dae	0.151	0.132	0.128	0.23	0.145±0.019	0
	28 dae	0.18	0.181	0.111	0.131	0.151±0.035	0
0.1	1 uur	0.282	0.279	0.292	0.288	0.285±0.006	-14.558
	7 dae	0.237	0.215	0.182	0.24	0.219±0.027	12.249
	14 dae	0.203	0.193	0.135	0.246	0.194±0.046	21.988
	28 dae	0.109	0.183	0.163	0.159	0.154±0.031	38.353
1.5	1 uur	1.642	1.693	1.509	1.693	1.634±0.087	0.902
	7 dae	1.35	1.434	1.337	1.485	1.401±0.070	15.017
	14 dae	0.934	1.175	1.099	1.345	1.138±0.171	30.981
	28 dae	0.574	1.054	0.967	0.937	0.883±0.212	46.452
15	1 uur	14.324	14.928	14.01	14.339	14.4±0.383	4.943
	7 dae	13.253	13.635	13.117	13.735	13.435±0.297	11.314
	14 dae	12.315	13.322	12.567	13.398	12.901±0.541	14.843
	28 dae	11.685	12.167	11.534	11.387	11.693±0.338	22.812
30	1 uur	29.137	30.681	30.483	29.703	30.001±0.714	0.491
	7 dae	27.653	27.225	28.984	26.751	27.653±0.961	8.278
	14 dae	26.261	26.613	26.062	25.298	26.059±0.556	13.568
	28 dae	20.342	22.529	23.003	21.872	21.937±1.160	27.24



Figuur 3-1: 'n Grafiese voorstelling om die afname van Zn in die kontrole (●) en blootstellingskonsentrasie van 0.1 (■), 1.5 (▲), 15 (▼) en 30 (◆) mg/L oor 'n blootstellingsperiode van 28 dae aan te dui.

Tabel 3-2: Die statistiese verskille ($P < 0.05$) soos gevind by die verskillende konsentrasies en blootstellingsperiodes

Tydsduur	Betekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie uit die water oor tyd				
	Kontrole	0,1 mg/L	1,5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1 uur en 7 dae		*	*		
1 uur en 14 dae		*			*
1 uur en 28 dae		*			*
7 dae en 14 dae					
7 dae en 28 dae				*	*
14 dae en 28 dae					*

*($P < 0.05$)

3.5.2 Wortels

In **Tabel 3-3**, word die gemiddelde sinkkonsentrasie en die standaardafwyking van die kontrolewortels sowel as wortels wat vir 1 uur, 7, 14 en 28 dae aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L Zn blootgestel was, weergegee. Die gemiddelde agtergrond sinkkonsentrasie is in agt replikate van gedroogde wortelhaarmonsters met 'n gemiddelde massa van $0.05 \text{ mg} \pm 0.0011 \text{ mg}$ bepaal. Alhoewel die kontrole plante aan geen Zn blootgestel was nie, het daar wel 'n toename van Zn in die wortels oor die periode van 28 dae voorgekom. Die oorsprong van hierdie Zn is waarskynlik afkomstig van dit wat normaalweg in boorgatwater teenwoordig is.

Dit is verder duidelik dat alhoewel daar na 1 uur geen merkbare verlies aan Zn uit die blootstellingsmedium waarneembaar was nie, het Zn reeds na hierdie periode in die plantwortels begin akkumuleer. Die waardes wat onderskeidelik na 1 uur by 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L in die wortels gemeet was, was in dié geval 12.71 ± 9.30 , 33.55 ± 14.55 , 68.36 ± 12.07 en $125.72 \pm 38.27 \text{ mg/L}$. Bogenoemde konsentrasies het teen dag 7 by die onderskeie blootstellingsmediums na onderskeidelik 34.32 ± 9.11 , 62.06 ± 26.67 , 160.12 ± 114.45 en $204.03 \pm 118.38 \text{ mg/L}$ toegeneem. Na 14 dae was dit 33.24 ± 24.94 , 154.51 ± 32.88 , 251.71 ± 60.32 en $228.25 \pm 48.14 \text{ mg/L}$, en na 28 dae 58.85 ± 9.81 , 251.17 ± 68.07 , 284.29 ± 82.11 en $336.45 \pm 138.11 \text{ mg/L}$. Dit is uit hierdie resultate duidelik dat die toename van Zn in die wortels gepaard gegaan het met 'n afname in die water wat daarop dui dat *C. zizanioides* as 'n hiperakkumuleerder beskou kan word (Yang *et al.*, 2003 en Antiochia *et al.*, 2007). Hierdie verskynsel is ook by akwatiese plante soos *Eichhornia crassipes* (Newete *et al.*, 2016), *Thypha latifolia* (Duman *et al.*, 2015) en *Hydrilla verticillata* (Xue *et al.*, 2010) waargeneem (Bai *et al.*, 2018).

Uit **Tabel 3-4** is dit duidelik dat die konsentrasie Zn slegs na 1 uur en 28 dae blootstelling by die 0.1 mg/L dosis betekenisvol van mekaar verskil het. Inteenstelling hiermee, het betekenisvolle verskille ook na 1 uur en 14 dae, 1 uur en 28 dae asook na 7 en 14 dae by 1.5 mg/L Zn voorgekom. 'n Betekenisvolle verskil is ook waargeneem by die 15 mg/L en 30 mg/L blootstellingskonsentrasies wanneer die 1 uur en 14 dae blootstellingsperiodes met mekaar vergelyk word.

Tabel 3-3: Die gemiddelde en standaardafwyking van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole wortels sowel as die wat aan 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L Zn blootgestel was oor 'n periode van 28 dae

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Tydsduur	Sinkkonsentrasie gemeet in mg/L				Gemiddelde en STDV
		Replikate				
		A	B	C	D	
Kontrole	1 uur	0.04	0	0	0.08	0.03±0.04
	7 dae	1.78	2.08	1.49	0.17	1.38±0.84
	14 dae	0.66	2.1	2.44	0.23	1.36±1.08
	28 dae	0.16	1.58	2.33	3.2	1.82±1.29
0.1	1 uur	0.08	21.66	16.54	10.18	12.71±9.30
	7 dae	26.5	13.37	30.51	34.32	34.32±9.11
	14 dae	63.14	44.23	10.12	15.45	33.24±24.94
	28 dae	54.5	73.55	53.59	53.74	58.84±9.81
1.5	1 uur	33.03	51.88	33.02	16.27	33.55±14.55
	7 dae	70.4	68.97	85.25	23.6	62.06±26.67
	14 dae	133.9	153.62	201.22	129.31	154.51±32.87
	28 dae	192.01	334.32	199.18	279.18	251.17±68.07
15	1 uur	67.75	76.85	51.5	77.33	68.36±12.07
	7 dae	60.91	317.74	92.8	169.04	160.12±114.45
	14 dae	310.92	261.95	266.44	167.51	251.70±60.33
	28 dae	327.32	272.58	362.83	174.43	284.29±82.11
30	1 uur	135.27	175.79	98.94	92.87	125.72±38.27
	7 dae	129.3	129.36	378.03	179.44	204.03±118.38
	14 dae	251.16	285.1	191.15	185.6	228.25±48.14
	28 dae	368.22	454.38	386.31	136.9	336.45±138.11

Tabel 3-4: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die wortels

Tydsduur	Beteekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie in die wortels oor tyd			
	0.1 mg/L	1.5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1uur en 7dae				
1uur en 14dae		*	*	*
1uur en 28dae	*	*		
7dae en 14dae		*		
7dae en 28dae				
14dae en 28dae				

*($P < 0.05$)

3.5.3 Blare

Soos in die materiaal en metodes gemeld, is die meristematiese weefsel aan die basis van die blare vir hierdie analises geselekteer.

Vergelykings tussen die verskillende gemete konsentrasies (**Tabel 3-6**) het aangetoon dat daar slegs tussen 1 uur en 14 dae blootstelling 'n betekenisvolle toename ($P < 0.05$) by 'n blootstellingskonsentrasie van 15 mg/L was. By 30 mg/L was daar tussen 1 uur en 14 dae asook 1 uur en 28 dae betekenisvolle toenames in die blare gemeet gevind.

Tabel 3-5 verteenwoordig die gemiddeldes en standaardafwykings van die sinkkonsentrasies wat in die kontrole-, asook die blaarweefsel wat aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L sinkkonsentrasies blootgestel was, gevind is. Die agtergrond sinkkonsentrasie was in agtblaarmonsterreplikate bepaal. Die gemiddelde sinkkonsentrasies na 1 uur blootstelling aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L was onderskeidelik 0.71 ± 1.41 , 0.9 ± 1.8 , 3.14 ± 2.82 en 4.82 ± 5.99 mg/L. Na sewe dae was hierdie waardes onderskeidelik 4.815 ± 4.56 , 7.57 ± 5.57 , 11.12 ± 9.74 en 60.53 ± 29.15 mg/L, terwyl dit vir dieselfde konsentrasiereeks na 14 dae, 4.251 ± 5.99 , 16.59 ± 15.07 , 43.61 ± 12.28 en 72.36 ± 17.92 mg/L was. Na 28 dae was dit 3.77 ± 3.27 , 26.22 ± 15.59 , 61.7 ± 25.54 en 102.51 ± 18.38 mg/L. Hierdie konsentrasies was, indien dit met die wortels wat vir dieselfde tyd en aan dieselfde konsentrasies blootgestel was vergelyk word, aansienlik laer. Dit is in ooreenstemming met die literatuur wat deurgaans gevind het dat Zn wat in *C. zizanioides* blare akkumuleer laer is as die in wortels (Rai, 2008).

Vergelykings tussen die verskillende gemete konsentrasies (**Tabel 3-6**) het aangetoon dat daar slegs tussen 1 uur en 14 dae blootstelling 'n betekenisvolle toename ($P < 0.05$) by 'n blootstellingskonsentrasie van 15 mg/L was. By 30 mg/L was daar tussen 1 uur en 14 dae asook 1 uur en 28 dae betekenisvolle toenames in die blare gemeet gevind.

Tabel 3-5: Die gemiddelde en standaardafwyking (STDV) van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole blare sowel as die wat aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L Zn blootgestel was oor 'n periode van 28 dae.

Bloottellings-konsentrasie in mg/L	Tydsduur	Sinkkonsentrasies gemeet in mg/L				Gemiddelde en STDV
		A	B	C	D	
Kontrole	1 uur	0	0	0	0	0.000±0.00
	7 dae	0	2.99	3.6	0	1.648±1.92
	14 dae	1.03	2.96	0	1.58	1.393±1.23
	28 dae	0.35	2.35	2.02	0	1.182±1.18
0.1	1 uur	0	0	0	2.82	0.71±1.41
	7 dae	7.66	9.67	0	1.93	4.82±4.59
	14 dae	0	0	4.16	12.7	4.22±5.99
	28 dae	2.14	5.95	6.99	0	3.77±3.27
1.5	1 uur	3.6	0	0	0	0.90±1.80
	7 dae	1.89	6.97	6.21	15.22	7.57±5.57
	14 dae	12.88	17.07	36.4	0	16.59±15.07
	28 dae	21.66	49.18	19.37	14.65	26.21±15.59
15	1 uur	4.05	1.37	0.44	6.7	3.14±2.83
	7 dae	2.79	24.06	13.14	4.49	11.12±9.75
	14 dae	54.5	28.96	37.99	52.98	43.61±12.28
	28 dae	44.92	35.62	76.97	89.29	61.70±25.53
30	1 uur	13.58	2.97	2.73	0	4.82±5.99
	7 dae	92.76	38.09	77.53	33.75	60.53±29.15
	14 dae	88.82	46.86	77.5	76.27	72.36±17.92
	28 dae	79.7	99.67	106.49	124.17	102.51±18.38

Tabel 3-6: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die blare

Tydsduur	Betekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie in die blare oor tyd				
	Kontrole	0,1 mg/L	1,5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1uur en 7dae					
1uur en 14dae				*	*
1uur en 28dae					*
7dae en 14dae					
7dae en 28dae					
14dae en 28dae					

*($P < 0.05$)

Uit bogenoemde resultate is die biokonsentrasie- (BKF) asook translokasiefaktore (TF) bereken (**Tabel 3-7**). Die BKF verteenwoordig die vergelyking tussen die hoeveelheid metaal deur die plant opgeneem met die metaalkonsentrasie in die blootstellingsmedium, terwyl die TF die metaalkonsentrasies in die wortels teenoor die hoeveelheid metale in die blare opgeneem, voorstel. Indien hierdie waardes >1 is, dui dit daarop dat *C. zizanioides* as fitoremediëringsplant aangewend kan word (Mishra & Pandey, 2019). Net sewe uit 'n totaal van 40 waardes was <1 . Die <1 waarde na 1 uur by die kontrole wortels en blare is waarskynlik daaraan toe te skryf dat hierdie plante slegs aan die Zn wat natuurlik in boorgatwater voorkom, blootgestel was. Die geringe variasie in blaar-waardes (wat by die blaarweefsels nooit bo 1.69 was nie), is moontlik toe te skryf aan monsters wat in ouderdom gevarieer het en nie dieselfde hoeveelheid meristematiese weefsel, wat hoofsaaklik by metaalopname betrokke is, besit het nie (Seregin *et al.*, 2011). Dit is verder uit hierdie tabel opvallend dat alle waardes wat in die wortels gevind is, >1 was en gevarieer het van 8.5 mg/L (kontrole-wortels na 7 dae) tot 383.4 mg/L by 0.1 mg/L na 28 dae. Die hoë waardes wat in die wortels gevind is, dui waarskynlik op 'n akkumulasie van Zn in die wortels (Antiochia *et al.*, 2007). Die laer BKF waardes by 15 en 30 mg/L kan moontlik, onder andere, toegeskryf word aan die diffusietempo (Krzeslowska, 2011), versteuring van membraantransporters (Hall, 2002, Patra *et al.*, 2004), sekretrasie van metale in die wortel-vakuole (Shanker *et al.*, 2005), asook weerstand wat die plante toon teen verdere toksiese effekte a.g.v. die relatiewe hoë blootstellingskonsentrasies.

Wat die TF waardes betref is dit opvallend dat geen van hierdie waardes >1 by enige van die blootstellingskonsentrasie gevind was nie. Dit is moontlik toe te skryf aan die moontlikheid dat 28 dae onvoldoende is om Zn in beduidende konsentrasies na die blare te vervoer.

Tabel 3-7: Die Translokasie faktor (TF) en biokonsentrasie faktor (BKF) vir *C. zizanioides* in verskillende blootstellingsmediums en oor 'n tydperk van 28 dae.

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Tydsduur	TF (mg/L)	BKF Wortels (mg/L)	BKF Blare (mg/L)
Kontrole	1 uur	0	0.22	0
	7 dae	1.14	8.56	0.92
	14 dae	0.67	9.36	1.06
	28 dae	0.86	12.05	1
0.1mg/L	1 uur	0.04	44.56	0.67
	7 dae	0.26	157.08	1.02
	14 dae	0.13	171.1	0.83
	28 dae	0.06	383.35	1.07
1.5mg/L	1 uur	0.02	20.53	0.67
	7 dae	0.11	44.28	1.15
	14 dae	0.18	135.76	1.05
	28 dae	0.13	284.46	1.25
15mg/L	1 uur	0.04	4.75	1.05
	7 dae	0.07	11.92	1.07
	14 dae	0.21	19.51	1.56
	28 dae	0.27	24.31	1.42
30mg/L	1 uur	0.03	4.19	0.89
	7 dae	0.28	7.38	1.35
	14 dae	0.44	8.76	1.6
	28 dae	0.25	15.337	1.7

In hierdie verband is dit bekend dat Zn in die ioonvorm as Zn deur *C. zizanioides* opgeneem word (Gupta *et al.*, 2016), maar in sommige gevalle kan organiese ligand-sinkkomplekse ook deur

plante opgeneem word. Die konsentrasie van swaarmetaalblootstelling en die totale droë massa van die plantmonster (wat aanduidend is van die oorspronklike blootgestelde plantmassa), is twee belangrike faktore wat die omvang van metaalopname bepaal (Roongtanakiat *et al.*, 2007). Dit gesê, die kwaliteit afvalwater en die swaarmetaalkonsentrasie het egter andersyd weer 'n effek op die groei van *C. zizanioides* en kan tot 'n afname in die elemineringseffektieweïteit lei (Roongtanakiat *et al.*, 2007). Die akkumulasie van Zn in *C. zizanioides* wortels is nouliks verwant aan die graad van toleransie waaroor *C. zizanioides* beskik. *Chrysopogon zizanioides* is een van die plante wat oor die potensiaal beskik om metale vanaf die wortels via xileem na verskeie plantdele te translokeer (Sricoth *et al.*, 2018). Metale word oor die algemeen in blaarvakuole gesekwestreer om toksiese effekte te verminder of te vermy (Yang *et al.*, 2005). Volgens die bestaande literatuur word Zn hoofsaaklik in die wortels van *C. zizanioides* gestoor en in klein hoeveelhede na die blare getranslokeer (Yang *et al.*, 2003, Roongtanakiat *et al.*, 2007 en Singh *et al.*, 2007). Betekenisvolle immobilisering van metale kan bereik word deur middel van wortel-metaalbindings wat as 'n toleransie-meganisme beskou kan word, terwyl vakuolêre kompartementalisering in bgrondse plantselle kan voorkom. Die opname van Zn deur *C. zizanioides* is relatief hoog en word toegeskryf aan die feit dat dit 'n essensiële metaal is wat nodig is vir groei en metabolisme en wat vir fotosintese en katalitiese aktiwiteite benodig word (Tkalec *et al.*, 2014 en Sricoth *et al.*, 2018).

3.6 Gevolgtrekking

Dit het uit hierdie studie aan die lig gekom dat, alhoewel beide die wortels en blare van *C. zizanioides* Zn tydens die blootstellingsperiode opgeneem het, hierdie verskynsel meer opsigtelik in die wortels is en dat dit by konsentrasies hoër as 0.1 mg/L voorkom. Wat die BKF tussen die blootstellingsmedium aan die eenkant en wortels en blare aan die anderkant betref, is dit duidelik dat die wortels van *C. zizanioides* Zn tot 'n groot mate akkumuleer. Die relatief lae TF waardes wat tussen wortels en blare bereken is, dui daarop dat die blare tydens die blootstellingsperiode van 28 dae nie 'n prominente rol in die akkumulasie van Zn gespeel het nie. Die bevindinge van hierdie studie ondersteun en bevestig vorige afleidings in die literatuur dat *C. zizanioides* as 'n fitoremediëringsplant in 'n akwatiese omgewing aangewend kan word. Dit moet egter in ag geneem word dat die sukses van fitoremediëring tot 'n groot mate bepaal sal word deur die massa plante wat per volume water gebruik word, die vloeisnelheid van die water, die tyd van blootstelling, of die Zn versadigingsvlakke in die plante sal bereik asook of die plante, lewend of dood, weer geakkumuleerde Zn in die water sal vrygestel. Om antwoorde op hierdie

vrae te verkry, is die outeurs van mening dat studies oor 'n langer termyn en onder meer natuurlike omstandighede uitgevoer, waarskynlik nodig sal wees.

3.7 Erkenning

Hiermee bedank ons die Skool vir Biologiese Wetenskappe aan die Noordwes-Universiteit, Potchefstroom, vir die verskaffing van infrastruktuur, Hannes Erasmus, vir hulp met metaal analyses en De Wet Wolmarans vir statistiese analyses en taalversorging. Hierdie publikasie is bydrae nommer 558 van die Waternavorsingsgroep van die Noordwes-Universiteit.

3.8 Outeursbydrae

L.K (Noordwes-Universiteit) en C.T.W (Noordwes-Universiteit) was betrokke by die beplanning van die projek, versameling van plante en eksperimentele opstelling, die verwerking van die resultate asook die skryf van die manuskrip. V.W. (Noordwes-Universiteit) was betrokke by die beplanning en skryf van die manuskrip. Mededingende belange Die outeurs verklaar dat hulle geen finansiële of persoonlike verhoudings het wat hulle op 'n voordeleige of nadelige wyse by die skryf van die artikel beïnvloed het nie.

3.9 ORCID

Lesley Keay: <https://orcid.org/0000-0002-2850-4732>

Victor Wepener: <https://orcid.org/0000-0002-9374-7191>

Cornelius T Wolmarans: <https://orcid.org/0000-0001-7585-1158>

3.10 Bibliografie

Ahmad, T., Ahmad, K. and Alam, M. 2016. Characterization of water treatment plant's sludge and its safe disposal options. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 950-955.

An, B., Lee, C.G., Song, M.K., Ryu, J.C., Lee, S., Park, S.J., Zhao, D., Kim, S.B., Park, C., Lee, S.H. and Hong, S.W. 2015. Applicability and toxicity evaluation of an adsorbent based on jujube for the removal of toxic heavy metals. *Reactive and Functional Polymers*, 93, 138-147.

Antiochia, R., Campanella, L., Ghezzi, P. and Movassaghi, K. 2007. The use of vetiver for remediation of heavy metal soil contamination. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388(4), 947-956.

Ayres, R.U., Ayres, L.W. and Råde, I. 2003. Lead, Zinc and Other Byproduct Metals. In The Life Cycle of Copper, Its Co-Products and Byproducts (pp. 101-147). Springer, Dordrecht

Ansari, A.A., Naeem, M., Gill, S.S. and AlZuaibr, F.M., 2020. Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 46(4), 371-376.

Bai, L., Liu, X.L., Hu, J., Li, J., Wang, Z.L., Han, G., Li, S.L. and Liu, C.Q. 2018. Heavy metal accumulation in common aquatic plants in rivers and lakes in the Taihu Basin. International Journal of Environmental Research and Public Health, 15(12), 2857.

Bello, A.O., Tawabini, B.S., Khalil, A.B., Boland, C.R. and Saleh, T.A. 2018. Phytoremediation of cadmium-, lead-and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems. Ecological Engineering, 120, 126-133.

Bevan, O., Truong, P.N. and Wilson, M. 2000. The Use of Vetiver Grass for Erosion and Sediment Control at the Australian Bentonite Mine in Miles, Queensland. Proc. Fourth Innovative Conf., Australian Minerals and Energy Environment Foundation: on the threshold: Research into Practice. August 2000, Brisbane, Australia, pp. 124-128.

Burakov, A.E., Galunin, E.V., Burakova, I.V., Kucheroва, A.E., Agarwal, S., Tkachev, A.G. and Gupta, V.K. 2018. Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 148, 702-712.

Chen, Y., Shen, Z. and Li, X. 2004. The use of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. Applied Geochemistry, 19(10), 1553-1565.

Danh, L.T., Truong, P.N., Mammucari, R., Tran, T. and Foster, N. 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. International Journal of Phytoremediation, 11(8), 664-691.

Duman, F., Urey, E. and Koca, F.D. 2015. Temporal variation of heavy metal accumulation and translocation characteristics of narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia* L.). Environmental Science and Pollution Research, 22(22), 17886-17896.

Gautam, M. and Agrawal, M. 2017. Phytoremediation of metals using vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) grown under different levels of red mud in sludge amended soil. Journal of Geochemical Exploration, 182, 218-227.

Grimshaw, R. and Helfer, L. 1995. Vetiver grass for soil and water conservation, land rehabilitation, and embankment stabilization: A collection of papers and newsletters. 23rd ed. Washington, DC: World bank.

Gupta, N., Ram, H. and Kumar, B. 2016. Mechanism of zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(1), 89-109.

Hall, J.Á. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1-11.

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, 6003.

Huang, S. H., Li, Q., Yang, Y., Yuan, C. Y., Ouyang, K. and You, P. 2017. Risk assessment of heavy metals in soils of a lead-zinc mining area in Hunan Province (China). *Chemistry in Industry*, 66(3-4), 173-178.

Krzeslowska, M. 2011. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodelling and its role in defense strategy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 35-51.

Levchuk, I., Márquez, J.J.R. and Sillanpää, M. 2018. Removal of natural organic matter (NOM) from water by ion exchange—A review. *Chemosphere*, 192, 90-104.

Maffei, M. 2002. Introduction to the Genus *Vetiveria*. In: *Vetiveria. The Genus Vetiveria*, London and New York: Taylor and Francis Publishers. pp. 1–18.

Meeinkuirt, W., Kruatrachue, M., Pichtel, J., Phusantisampan, T. and Saengwilai, P. 2016. Influence of organic amendments on phytostabilization of Cd-contaminated soil by *Eucalyptus camaldulensis*. *Science Asia*, 42(2), 83-91.

Mishra, T. and Pandey, V.C. 2019. Phytoremediation of red mud deposits through natural succession. In *Phytomanagement of polluted sites* (pp. 409-424).

Newete, S.W., Erasmus, B.F., Weiersbye, I.M. and Byrne, M.J. 2016. Sequestration of precious and pollutant metals in biomass of cultured water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20805-20818.

Pakdel, P.M. and Peighambardoust, S.J. 2018. A review on acrylic based hydrogels and their applications in wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 217, 123-143.

Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52(3), 199-223.

Peligro, F.R., Pavlovic, I., Rojas, R. and Barriga, C. 2016. Removal of heavy metals from simulated wastewater by in situ formation of layered double hydroxides. *Chemical Engineering Journal*, 306, 1035-1040.

Rahman, M.A. and Hasegawa, H. 2011. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, 83(5), 633-646.

Rai, P.K. 2008. Heavy metal pollution in aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an Eco sustainable approach. *International Journal of Phytoremediation*, 10(2), 133-160.

Ramos, R. L., Jacome, L. B., Barron, J. M., Rubio, L. F. and Coronado, R. G. 2002. Adsorption of zinc (II) from an aqueous solution onto activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 90(1), 27-38.

Roongtanakiat, N., Tangruangkiat, S. and Meesat, R. 2007. Utilization of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for removal of heavy metals from industrial wastewaters. *Science Asia*, 33(4), 397-403.

Sandham, L. A., Hoffmann, A. R. and Retief, F. P. 2008. Reflections on the quality of mining EIA reports in South Africa. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 108(11), 701-706.

Seregin, I.V., Kozhevnikova, A.D., Gracheva, V.V., Bystrova, E.I. and Ivanov, V.B. 2011. Tissue zinc distribution in maize seedling roots and its action on growth. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 109-117.

Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. 2005. Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31(5), 739-753.

Sharma, S., Singh, B. and Manchanda, V.K. 2015. Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 946-962.

Singh, S.K., Juwarkar, A.A., Kumar, S., Meshram, J. and Fan, M. 2007. Effect of amendment on phytoextraction of arsenic by *Vetiveria zizanioides* from soil. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 4(3), 339-344.

Singh, S., Sounderajan, S., Kumar, K. and Fulzele, D.P. 2017. Investigation of arsenic accumulation and biochemical response of in vitro developed *Vetiveria zizanioides* plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 50-56.

Sricoth, T., Meeinkuirt, W., Saengwilai, P., Pichtel, J. and Taeprayoon, P. 2018. Aquatic plants for phytostabilization of cadmium and zinc in hydroponic experiments. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14964-14976.

Suelee, A. L., Hasan, S. N. M. S., Kusin, F. M., Yusuff, F. M. and Ibrahim, Z. Z. 2017. Phytoremediation potential of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for treatment of metal-contaminated water. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(4), 158.

Tkalec, M., Štefanić, P.P., Cvjetko, P., Šikić, S., Pavlica, M. and Balen, B. 2014. The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. *Plos one*, 9(1), 87582.

Truong, P.N. and Creighton, C. 1994. Report on the potential weed problem of Vetiver grass and its effectiveness in soil erosion control in Fiji. Division of Land Management, Brisbane, Australia, Queensland Department of Primary Industry.

Truong, P. 1999. Vetiver grass technology for mine rehabilitation. Bangkok: Office of the Royal Development Projects Board.

Truong, P.N. and Hart, B. 2001. "Vetiver system for wastewater treatment" Technical Bulletin No.2001/2, Pacific Rim Vetiver Network, Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok, Thailand

Truong, P.N. 2002. Vetiver grass technology. *Vetiveria the Genus Vetiveria*. (pp.114-132). New York: Taylor & Francis

Truong, P., Hedrick, J. and Searle, G. 2006. Vetiver Grass for Environmental Protection and Landscaping in Australia and around the World. In *The Fourth International Conference on Vetiver (ICV-4), Vetiver and People*, Caracas, Venezuela.

Truong, P.N. 2008. Research and development of the Vetiver system for treatment of polluted water and contaminated land. In *TVN India 1st Workshop Proceedings* (pp. 60-71).

- Truong, P.N. Foong, Y. K., Guthrie, M. and Hung, Y.T. 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. *Environmental Engineering*, 11, 223-275.
- Truong, P.N., Foong, Y.K., Guthrie, M. and Hung, Y.T. 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. In *Environmental Bioengineering* (pp. 233-275). Humana Press, Totowa, NJ.
- Upadhyay, A.R. and Tripathi, B.D. 2007. Principle and process of biofiltration of Cd, Cr, Co, Ni & Pb from tropical opencast coalmine effluent. *Water, Air, and Soil Pollution*, 180(1-4), 213-223.
- Vargas, C., Perez-Esteban, J., Escolastico, C., Masaguer, A. and Moliner, A. 2016. Phytoremediation of Cu and Zn by Vetiver Grass in mine soils amended with humic acids. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 23, 13521-13530.
- Venkateswarlu, V., Venkatrayulu, C.H. and Bai, T.J.L. 2019. Phytoremediation of heavy metal Copper (II) from aqueous environment by using aquatic macrophytes *Hydrilla verticillata* and *Pistia stratiotes*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(4), 390-393.
- Wani, R.A., Ganai, B.A., Shah, M.A. and Uqab, B. 2017. Heavy metal uptake potential of aquatic plants through phytoremediation technique—a review. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 8(404), 2.
- Water and Waste Digest (WWD). 2018. World Bank and U.N claim 40% of the world population affected by water scarcity. <https://www.wwdmag.com/trends-forecasts/world-bank-and-un-claim-40-world-population-affected-waterscarcity#:~:text=Claim%2040%25%20of%20World%20Population%20Affected%20by%20Water%20Scarcity,According%20to%20the&text=The%20World%20Bank%20and%20the,over%20a%20two%2Dyear%20period>. Datum van Gebruik: 1 Des 2020.
- Xia, H.P. 2004. Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere*, 54(3), 345-353.
- Xue, P.Y., Li, G.X., Liu, W.J. and Yan, C.Z. 2010. Copper uptake and translocation in a submerged aquatic plant *Hydrilla verticillata* Royle. *Chemosphere*, 81(9), 1098-1103.
- Yang, B., Shu, W.S., Ye, Z.H., Lan, C.Y. and Wong, M.H. 2003. Growth and metal accumulation in vetiver and two *Sesbania* species on lead/zinc mine tailings. *Chemosphere*, 52(9), 1593-1600.

Yang, X., Feng, Y., He, Z. and Stoffella, P.J. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 339-353.

Zou, T., Li, T., Zhang, X., Yu, H. and Huang, H. 2012. Lead accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing in a lead–zinc mine tailing. *Environmental Earth Sciences*, 65(3), 621-630.

HOOFSTUK 4

Die evaluering van plantskade aan *Chrysopogon zizanioides* na 14 - dae se sinkblootstelling

Lesley Keay^{1*}, Anine Jordaan², Victor Wepener¹, Cornelius T Wolmarans¹

¹Skool vir Biologiese Wetenskappe, Noordwes Universiteit, Potchefstroom Kampus Suid Afrika.

²Fakulteit van Natuur- en Landbouwetenskappe, Laboratorium vir Elektronmikroskopie, Noordwes Universiteit, Potchefstroom Kampus Suid Afrika.

*Korrespondensie adres: lesleykeay@gmail.com

4 Hierdie artikel is reg om gepubliseer te word

4.1 Abstrak

Sink is 'n essensiële spoorelement wat nodig is vir lewe, maar kan in hoë konsentrasies toksies wees. *Chrysopogon zizanioides* word oor die algemeen as 'n fitoremediëringsplant beskou wat die vermoë het om danige toksiese sinkgekontamineerde omgewings te oorleef. Vir hierdie studie was *C. zizanioides* vir 14 dae aan 1.5 en 30 mg/L Zn blootgestel om die strukturele effekte wat dit op die wortels en blare tot gevolg mag hê te bestudeer. Dit is gevind dat na blootstelling aan 1.5 mg/L Zn, geringe skade aan die struktuur van die blaar of wortelhare sigbaar was. By blootstelling aan 30 mg/L Zn, was daar merkbare skades in die kransstrukture terwyl sigbare vakuolering en selnekrose ook voorgekom het. Die meerderheid skade in die wortelhare het in die korteks onder die epidermis voorgekom en het 'n negatiewe invloed op die vorming van die parenchiemselle gehad. Die geringe skade wat by 1.5 mg/L voorgekom het, kan moontlik toegeskryf word aan die inherente weerstand van *C. zizanioides*.

4.2 Inleiding

Sink is 'n essensiële spoorelement vir lewe wat natuurlik in elke varswaterbron in die wêreld voorkom (WHO, 2011). Weens die natuurlike uitloging van minerale as gevolg van mynbouaktiwiteite (Oyourou *et al.*, 2019;), die storting van industriële afval (Jackson *et al.*, 2009), gegalvaniseerde bourommel (Iloms *et al.*, 2020) en talle sinkbevattende rommelsoorte op stortingsterreine in derdewêreld-lande is die hoeveelheid biobeskikbare sinkione besig om in die natuurlike omgewing toe te neem (WHO, 2011).

In 'n ontwikkelende land soos Suid-Afrika (SA) is daar talle informele nedersettings wat van gegalvaniseerde sinkplate gebruik maak om huise te bou. Die omstandigheid dat 'n groot

persentasie van al hierdie nedersettings langs varswaterbronne geleë is en gepaard gaan met aktiwiteite soos onder andere motorherstelwerk en die slordige aanwending van sinkryke olies en smeermiddels, gee tot 'n verhoogde vrystelling van Zn in die nabye omgewing aanleiding (Madanhire & Mbohwa, 2016). Dat die Zn verder gedurende reënseisoene vanuit die omgewing in oppervlaktwaters konsentreer, veroorsaak dat die toksisiteit daarvan vir alle lewe in akwatiese omgewings drasties verhoog (Hampel *et al.*, 2015 en Bhat *et al.*, 2017). Dit is onder andere gevind dat uitermate hoë konsentrasies van swaarmetale tot negatiewe effekte, insluitende vir die algemene grondmorfologie, asook die fisiologie en biochemiese prosesse van lewende organismes kan aanleiding gee indien die detoksifiseringsvermoë van plante oorskry word (Zhang *et al.*, 2007 en Luna *et al.*, 1994).

Sodanige negatiewe effekte sluit onder andere uiterlike verskynsels soos die vervorming van jong blare asook chlorose en nekrose in (Sanità di Troppi & Gabbrielli, 1999; Reichman 2002 en Melato *et al.*, 2016), terwyl die normale groei van plant wortels ook geïnhibeer word (Sanità di Troppi en Gabbrielli, 1999 en Singh, *et al.*, 2016). Dit is ook bekend dat swaarmetale die algemene struktuur en deurlaatendheidseienskappe van organelle sodanig beperk, dat dit tot nutriëntwanbalans, asook verlaagde- fotosintetiese en transpirasietempo's tot gevolg lei (Chugh & Sawhney, 1999 en Skorzynska-Polit *et al.*, 2003).

Todeschini *et al.*, (2011) het gevind dat metale, onder andere Zn, ook vir versteurings van die chloroplast-struktuur, ensiemaktiwiteit verbandhoudend met die Calvin-siklus (Cagno *et al.*, 1999), en huidmondjieaktiwiteit (Baryla *et al.*, 2001 en Chardonnens *et al.*, 1998) verantwoordelik kan wees. Die voorkoms van oksidatiewe spanning en skade, soos gereflekteer deur 'n toename in die konsentrasie van hidroksieradikale, soos superoksiedanione, stikstofoksied en waterstofperoksied (Hao *et al.*, 2012 en Yan *et al.*, 2010) wat vervolgens weer tot 'n afname in groeikrag kan lei, word ook met mineraaltoksisiteit geassosieer (Wu *et al.*, 2019 en Zhao *et al.*, 2019).

Alhoewel daar verskeie prosesse bestaan om toksiese stowwe uit die omgewing te verwyder, word fitoremediëring, weens die feit dat dit ekologies vriendelik is, toenemend as die metode van keuse voorgehou om waterhabitate te remedieer; inderwaarheid word dit reeds in meer as 120 lande wêreldwyd hiervoor aangewend (Truong & Loch, 2004). Dit is egter belangrik dat plante wat hiervoor aangewend word 'n wye toleransie vir omgewings- sowel as fisies-chemiese impakte moet hê. *Chrysopogon zizanioides*, ook bekend as vetiver, word oor die algemeen as 'n geskikte plant vir hierdie doel beskou. Dit kan temperature van -20 °C tot 55 °C weerstaan, floreer by 'n reënval van 300 - 6000 mm per jaar, kan in 'n grond-pH van 3.0 tot 10.5 oorleef (Truong & Baker 2002) en het verder 'n hoë toleransie vir die voorkoms van swaarmetale soos As, Cd, Cu, Cr, Pb,

Hg, Ni, en Zn (Truong 2002, Chomchalow 2003, Dahn *et al.*, 2009, Truong *et al.*, 2010 en Vargas *et al.*, 2016). Die morfologiese eienskappe van *C. zizanioides* sluit 'n massiewe netwerk van bywortels wat 'n lente van 3 - 4 m in een jaar kan bereik, in. Die digte veselagtige wortelstelsel beslaan gewoonlik 'n enorme volume wat habitat vir talle simbiotiese bakterieë en fungusse verskaf, en wat op hul beurt weer tot kontaminant opname kan bydra. Dit kan verder groot hoeveelhede besoedelingstowwe soos swaarmetale absorbeer sonder dat die groei van die plant benadeel word. Hierdie eienskappe dra by tot die effektiewe remediëring en rehabilitasie van gekontamineerde en eutrofiese areas (Tang *et al.*, 2019, Hasan *et al.*, 2016 en Giwa *et al.*, 2019).

Alhoewel daar reeds heelwat inligting betreffende *C. zizanioides* se toleransie vir verskeie abiotiese faktore en die vermoë daarvan om swaarmetale te akkumuleer, ontgin is, is inligting aangaande die weefselkade wat hierdie plante tydens blootstelling aan relatief hoë sinkkonsentrasies opdoen, steeds oor die algemeen onbekend. Dus was die doel van hierdie ondersoek om wortel- en blaarweefsel van *C. zizanioides* wat vir 14 dae lank afsonderlik aan 1.5 en 30 mg/L Zn by 'n pH van ≤ 5 blootgestel was, vir moontlike plantskade te ondersoek. Blaarstudies is gedoen met weefsel vanuit die meristematiese streek terwyl wortelhaarpunte gebruik is vir wortelondersoeke.

4.3 Materiaal en Metodes

Grashalms en wortels van *C. zizanioides* is voor die blootstellingseksperiment en weer na 14 dae van sinkblootstelling versamel en vir moontlike plantskade ondersoek. Die plantmateriaal was met 'n skerp lemmetjie in 1 mm² deeltjies gesny om sover moontlik disseksie-verwante skade aan plantselle te voorkom. Hierna is die weefsel in Todd se fikseermiddel (Todd, 1966) gefikseer ten einde outolise, afbraak, droging en vernietiging van plantweefsel te voorkom (Murtey & Ramasamy, 2015). Die plantmateriaal is daarna voorberei vir ligmikroskopie.

Die materiaal is vervolgens 3 keer vir 15 min elk met 0.05 M kakodilaatbuffer gespoel om van oortollige fikseermiddel ontslae te raak. Daarna is die plantmateriaal vir 1 uur in 1% osmiumtetroksied (opgemaak in kakodilaatbuffer) geplaas waarna dit drie keer met gedistilleerde water gespoel is. Die materiaal is vervolgens en sekvensieel in 'n etanolreeks van 50, 70, 90 en 100% onderskeidelik, dehidreer, twee keer vir 15 min elk in skoon hars (L.R. White™) gespoel en vervolgens vir 24 uur in skoon hars gelaat. Hierna is die materiaal in voorafgemarkte gelatien kapsules wat met 100% hars gevul is, geplaas en oornag by 65 °C gelaat is om te polimeriseer.

Semi-dun snitte (1.5 - 2.0 µm) is daarna vir ligmikroskopie-analises met behulp van 'n Leica Ultracut® R roterende mikrotroom gemaak. Die semi-dun snitte is toe na 'n mikroskoopplaatjie oorgedra en gelaat totdat al die oorblywende water verdamp het en vashegting van die snitte op

die plaatjies teweeggebring is. Daarna is die snitte eers met 0.5% waterige toluïdienblou en daarna met 0.05% waterige neufuchsien gekleur. Die snitte is hierna met behulp van 'n Nikon Eclipse 80i ligmikroskoop by die x10 en x40 vergrotings ondersoek en foto's is geneem.

4.4 Resultate en Bespreking

4.4.1 Blare

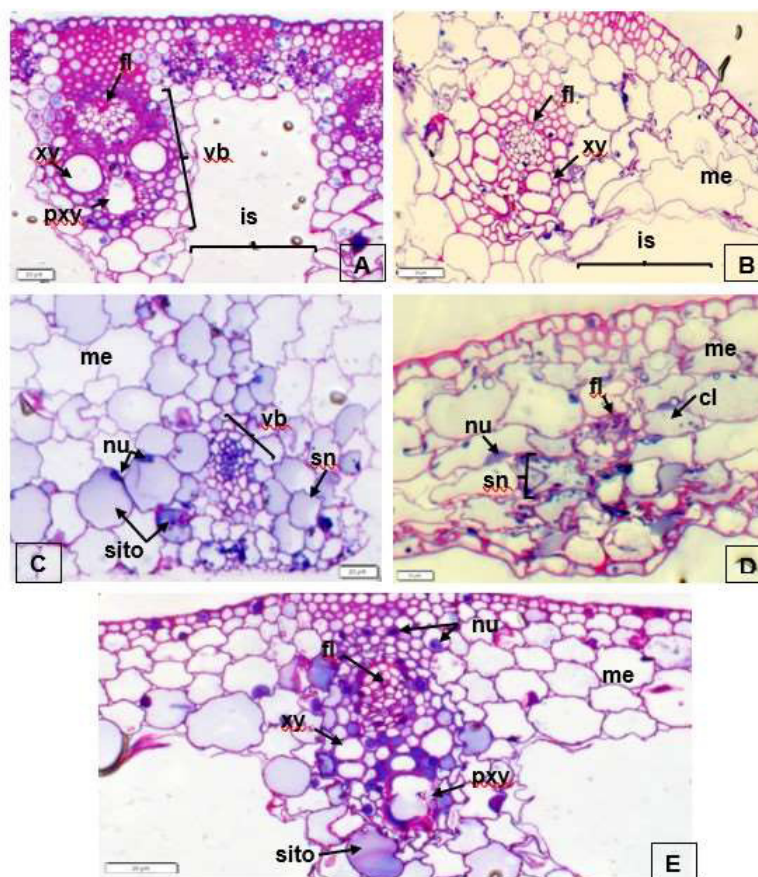
Die dwarsdeursnee van die meristematiese streek aan die basis van die blaar sowel as die jong wortels wat vir 14 dae aan 1.5 en 30 mg/L Zn blootgestel was, word in Figure 1 en 2 aangedui.

Die kontroleblaar wat slegs aan boorgatwater met 'pH van ≤ 5 blootgestel was, word deur **Fig 4-1A** verteenwoordig. Wat die kontroleblare betref, is dit duidelik dat daar geen afwykings in die voorkoms van die anatomie sigbaar was nie, wat aandui dat dit pH van die water nie 'n impak op die strukturele samestelling van die selle gehad het nie. Die epidermis bestaan uit 'n enkele laag selle met dik buitenste periklinale selwande en vaatbondels wat normaal gevorm is met drie metaxileemvate. Die floëem is duidelik sigbaar aan die bokant hiervan. Daar is drie lae parenchiemselle wat die bondelskede omring, twee lae waar chloroplaste voorkom en 'n buitenste laag waar chloroplaste ontbreek. Hierdie anatomiese argitektuur staan bekend as die kransstruktuur (Gomes *et al.*, 2011).

Grashalms wat vir 14 dae aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was, word deur **Fig 4-1B** verteenwoordig. Hierin is dit duidelik dat die bondelskede nog besig is om te vorm en blyk dit dat hierdie sinkkonsentrasie nog nie merkbare patologie op die weefsel tot gevolg gehad het nie. Die xileem- en floëemvate vertoon normaal en verteenwoordig 'n gesonde struktuur.

In teenstelling hiermee, verteenwoordig **Fig 4-1C, D en E** grashalms wat vir 14 dae aan 30 mg/L Zn blootgestel was. Dit is hieruit duidelik dat daar 'n variasie van anatomiese afwykings sigbaar was. In **Fig 4-1C** is uitermatige vakuolering sigbaar, in **Fig 4-1D** ontbreek die kransstruktuur wat by die kontrole plant waargeneem is, terwyl tekens van selnekrose, abnormale vervorming van die floëem en 'n buitengewone groot nukleus sigbaar is. Wat **Fig 4-1E** betref, is die teenwoordigheid van 'n onreëlmatige kransstruktuur duidelik. Verder is verskeie abnormale nukleusse teenwoordig en inkeping van die proto-xileemlakuna kan gesien word. Die parenchiemselle rondom die floëem en xileem is meer intens blou verkleur wat moontlik op die inloping van koolhidrate of proteïene in hierdie selle kan dui (Mitra *et al.*, 2014). Alternatiewelik kan hierdie resultaat verband hou met die effekte van reaktiewe suurstofradikale wat inherent is tot die normale beskermingsmeganismes van plante en wat beduidend tot uiting kon kom in reaksie op blootstelling aan die hoë sinkkonsentrasies. Spesifiek, kan genoemde beskermingsreaksie die gevolg wees van die sisteïenryke metaalbindende proteïene wat tussen

die plantselle voorkom en wat ook 'n belangrike rol in die sitoplasmiese toleransie vir metaaltokisiteit speel (Tomsett & Thurman, 1988). In geheel is hierdie afwykings heel waarskynlik toe te skryf aan die hoë blootstellingskonsentrasies. Die gebrek aan merkbare skade by die 1.5 mg/L sinkkonsentrasie kan moontlik toegeskryf word aan die inherente weerstand van *C. zizanioides* (Hao *et al.*, 2006 en Yan *et al.*, 2010).



Figuur 4-1: A, Dwarsdeursnee van blare. A, kontrole. B, blaar wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was na 14 dae. C, D en E verteenwoordig blare wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was na 14 dae. C en D is sneë van 'n jonger blaar wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was. fl = floëem; xy = xileem; pxy = proto-xyleem lakuna; vb = vaatbondels; nu = nukleus; cl = chloroplast, sn = selnekrose; me. mesofil en is= intrasellulêr spasie, Sito = sitoplasma

4.4.2 Wortels

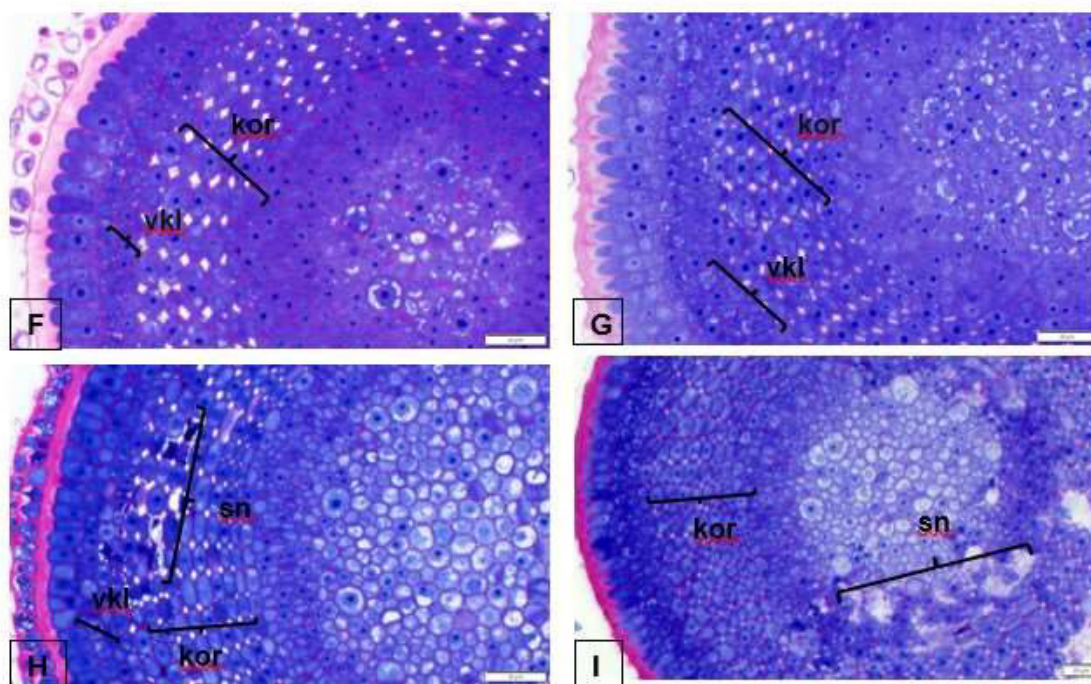
Die ontwikkelende wortel se endo- en epidermis, ook bekend as die risodermis, is gespesialiseerde strukturele lae wat 'n belangrike rol in die basiese funksionering van plante en beskerming bied teen abiotiese stresfaktore (Enstone *et al.*, 2002). In **Fig 4-2** verteenwoordig **F** die dwarsdeursnee van die kontrole-haarwortel, **G** die haarwortel wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was en **H** en **I** haarwortels wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was. Betreffende die struktuur van die

kontrole wortel (**Fig 4-2F**) kom die selle normaal en intakt voor en is dit duidelik dat normale seldifferensiasie besig was om plaas te vind (Morrow, 2021). Die skynbare tekens van vakuolering wat by die wortelhaar wat aan 1.5 mg/L Zn vir 14 dae blootgestel was, mag 'n normale verskynsel wees en nie noodwendig verband hou met blootstelling aan Zn, soos voorheen getoon is in die geval van *Secale cereale* cv en *Festuca rubra* cv wat aan dieselfde familie as *C. zizanioides* behoort (Davies *et al.*, 1991). Dit kan moontlik ook toegeskryf word aan verskeie fisiologiese prosesse en meganismes wat die opname van opgeloste stowwe deur die wortel beïnvloed en reguleer; hierdie afleiding ly prematuur tot verdere ondersoek gedoen is (Hose *et al.*, 2001 en Raven *et al.*, 2005).

In teenstelling met die kontrole- en 1.5 mg/l Zn blootgestelde monsters, is daar merkbare tekens van vakuolering in die buitenste rante van die korteks wat by 30 mg/L sink-blootgestelde monsters waargeneem is (**Fig 4-2H en I**). Vakuolering is die vervorming en buitengewone verdeling van vakuole wanneer die plante aan abiotiese stresfaktore, insluitend hoë sinkkonsentrasies, blootgestel word (Sharma *et al.*, 2006). Hierdie vervorming vind vinnig plaas en outeurs soos Tuszynska *et al.*, (2006) het 'n toename in vakuolêre volume in *Oryza sativa* en *Triticum aestivum* na vier dae se Zn-blootstelling waargeneem. Die vakuolering, wat hier teenwoordig is, stel moontlik 'n kompartementaliseringsmeganisme, wat as 'n verdedigingsmeganisme teen toksisiteit dien, voor (Davies *et al.*, 1992).

Alhoewel die eksodermis die plant teen 'n relatiewe hoë sinkkonsentrasie kan beskerm, kan dit volgens Probst *et al.*, (2009) 'n invloed hê op die dikte van die selwande. In **Fig 4-2H** is dit duidelik dat die selwande relatief dikker vertoon as in **Fig 4-2G** en die kontrole. Dit gesê, die waarneming in die 30 mg/L-blootgestelde monsters is duidelik afwykend vergeleke met beide die kontrole- en 1.5 mg/L-blootgestelde plantmateriaal. Owerigesetsynde die moontlike verklaring hiervoor soos bo vermeld, mag 'n verdere verklaring hiervoor verband hou met die bande van Kasparie. Hierdie strukture kom in die endodermis van die plant voor en bestaan uit lignien en suberien wat 'n belangrike rol in die vervoer van water en minerale vanaf die oppervlak na die korteks en vandaar na die res van die plant, speel (Clarkson, 1993, Hose *et al.*, 2001 en Raven *et al.*, 2005). Sedert 1910 (de Rufz de Lavison, 1910), het al hoe meer navorsing bewys dat die bande van Kasparie die terugvloei van verskeie ione, onder andere swaarmetale, vanuit die apoplast na die res van die plant blokkeer (Nagahashi *et al.*, 1974, Peterson *et al.*, 1981 en Bücking *et al.*, 2002). Dit is verder bekend dat die apoplast, wat intersellulêre lugruimtes in die wortels verteenwoordig asook die bande van Kasparie betrokke is by die akkumulering van metale (Enstone *et al.*, 2003). Alhoewel daar 'n primitiewe eksodermis teenwoordig is, is duidelike uitgebreide selnekrose in die korteks van beide die wortelmonsters wat aan 30 mg/L blootgestel was (**Fig 4-2H en I**) sigbaar, soos vergeleke met die kortikale parenchiemselle van die kontrolemonsters vergelyk word

(Broadley *et al.*, 2007, Gomes *et al.*, 2011 en Azzarello *et al.*, 2012). Omdat die endodermis nog in die fase besig is om te ontwikkel, is dit moontlik dat die Zn in die buitenste dele van die kortikale lae direk onder die risodermis kan akkumuleer, omdat aktiewe vervoer na die sentrale silinders nog nie plaasvind nie. Dit sou dan voorkom of die ophoping van Zn in die kortikale lae 'n negatiewe invloed op die ontwikkeling en rangskikking van die kortikale parenchiemselle het. Verder moet dit in ag geneem word dat *C. zizanioides* aan onnatuurlike hoë Zn konsentrasies blootgestel was, veral in ag geneem dat die natuurlike blootstellingskonsentrasie in die omgewing van 60 tot 80 µg/L in oppervlakwater is.



Figuur 4-2: Dwarsdeursneë van jong wortels van die kontrole plant. G, jong wortelweefsel wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was vir 14 dae. H en I, albei jong wortelweefsel van *C. zizanioides* wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was vir 'n periode van 14 dae. kor = Korteks; vkl = vakuolering en sn = selnekrose.

4.5 Gevolgtrekking

Uit hierdie studie is dit duidelik dat *C. zizanioides* oor die vermoë beskik om 'n sinkkonsentrasie van 1.5 mg/L en 30 mg/L Zn te oorleef, alhoewel daar sigbare patologiese skade na 14 dae se blootstelling by die 30 mg/L sinkkonsentrasie voorgekom het. Verder was daar geen danige skade in die grashalms sigbaar nie. In teenstelling hiermee, het jong wortels wat in direkte kontak met die blootstellingsmedium was, geringe skade opgedoen na blootstelling aan 'n sinkkonsentrasie van 1.5 mg/L. Grashalm- en wortelmonsters wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was, het egter veel meer merkbare skade getoon. Hierdie veranderinge en die skade wat by *C. zizanioides*

waargeneem is, is 'n duidelike indikasie dat hoë sinkkonsentrasies 'n impak op die patologie van die jong ontwikkelende plant het, maar dat dit wel buitensporige hoë sinkkonsentrasies in 'n akwatiese omgewing kan oorleef. Dit moet in ag geneem word dat daar vir hierdie studie slegs op ligmikroskopie staatgemaak is om plantskade te bestudeer. Om die strukturele skade in meer diepte te bestudeer, sal daar op transmissie-elektronmikroskopiese werk gefokus moet word. Hierdie roete word oorweeg vir toekomstige studies.

4.6 Bibliografie

Azzarello E, Pandolfini C, Giordano C, Rossi M, Mungai S, Mancuso S. 2012. Ultramorphological and physiological modifications induced by high zinc levels. *Environmental and Experimental Botany*, 81, 11–17

Baryl, A.; Carrier, P.; Franck, F.; Coulomb, C.; Sahut, C.; Havaux, M. 2001. Leaf chloroses in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*, 212, 696-709.

Bashir, I., Lone, F.A., Bhat, R.A., Mir, S.A., Dar, Z.A. and Dar, S.A. 2020. Concerns and Threats of Contamination on Aquatic Ecosystems. In *Bioremediation and Biotechnology* (pp. 1-26). Springer, Cham.

Bhat, R.A., Shafiq-ur-Rehman, M.M., Dervash, M.A., Mushtaq, N., Bhat, J.I.A. and Dar, G.H. 2017. Current status of nutrient load in Dal Lake of Kashmir Himalaya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6), 165-169.

Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*. 173, 677–702.

Bücking, H., Kuhn, A.J., Schroëder, W.H. and Heyser, W. 2002. The fungal sheath of ectomycorrhizal pine roots: an apoplastic barrier for the entry of calcium, magnesium, and potassium into the root cortex? *Journal of Experimental Botany*, 53(374), 1659-1669.

Cagno, R.; Guidi, L.; De Gara, L.; Soldatini, G.F. 2001. Combined cadmium and ozone treatments affect photosynthesis and ascorbate defences in sunflower. *New Phytologist*, 151: 627-636.

Caldelas, C., Bort, J. and Febrero, A. 2012. Ultrastructure and subcellular distribution of Cr in *Iris pseudacorus* L. using TEM and X-ray microanalysis. *Cell Biology and Toxicology*, 28(1), 57-68.

Castro, A., Colares, I., Franco, T., Cutrim, M. & LuvizottoSantos, R. 2015. Using a toxicity test with *Ruppia maritima* (Linnaeus) to assess the effects of Roundup. *Marine Pollution Bulletin*, 91(2), 506- 510.

Chardonnens, A.N., Ten Bookum, W.M., Kuijper, D.J., Verkleij, J.A.C., and Ernst, W.H.O. 1998. Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris*. *Physiology Plantarum*, 104, 75-80.

Chatterjee, J. and Chatterjee, C. 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution*, 109(1), 69-74.

Chibuike, G.U. and Obiora, S.C. 2014. Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014.

Chomchalow, N. 2003. The role of vetiver in controlling water quantity and treating water quality: An overview with special reference to Thailand. *AU J Technology*, 6(3), 145-116.

Chugh, L.K.; Sawhney, S.K. 1999. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37, 297-303.

Clarkson, D.T. 1993. Roots and the delivery of solutes to the xylem. *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B*, 341, 5-7.

Clemens, S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88(11), 1707-1719.

Cui, H., 2015. Cortex proliferation in the root is a protective mechanism against abiotic stress. *Plant Signaling & Behavior*, 10(5), 1011949.

Danh, L.T., Truong, P.N., Mammucari, R., Tran, T. and Foster, N. 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. *International Journal of Phytoremediation*, 11(8), 664-691.

Davies K.L., Davies M.S. & Francis D. 1992. zinc-induced vacuolation in root meristematic cells of cereals. *Annals of Botany* 69, 21–24.

De Rufz de Lavison, J. 1910. Du mode de pénétration de quelques sels dans la plante vivante. role de l'endoderme. *Revue Généralé De Botanique*, 22,225-240.

Enstone, D.E., Peterson, C.A. and Ma, F. 2002. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21(4), 335-351.

Giwa, A., Dindi, A. and Kujawa, J. 2019. Membrane bioreactors and electrochemical processes for treatment of wastewaters containing heavy metal ions, organics, micropollutants and dyes: Recent developments. *Journal of Hazardous Materials*, 370, 172-195.

Gomes, M.P., Marques, T.C.L.L.D.S., Nogueira, M.D.O.G., Castro, E.M.D. and Soares, Â.M. 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola*, 68, 566-573.

Gupta, N., Ram, H. and Kumar, B. 2016. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(1), 89-109.

Hampel, M., Blasco, J. and Segner, H. 2015. Molecular and cellular effects of contamination in aquatic ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(22), 17261-17266.

Hao, L. and Chen, L. 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 103-110.

Hasan, S.W., Ahmed, I., Housani, A.A. and Giwa, A. 2016. Molecular and ionic-scale chemical mechanisms behind the role of nitrocyyl group in the electrochemical removal of heavy metals from sludge. *Scientific Reports*, 6(1), 1-14.

Hatfield, J.L. and Preueger, J.H. 2015. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes* 10(A), 4-10.

Hose E., Clarkson D.T., Steudle E., Schreiber L., & Hartung W. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany* 52(356), 2245-2264.

Iloms, E., Ololade, O.O., Ogola, H.J. and Selvarajan, R. 2020. Investigating industrial effluent impact on municipal wastewater treatment plant in Vaal, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 1096.

Jackson, V.A., Paulse, A.N., Odendaal, J.P. and Khan, W. 2009. Investigation into the metal contamination of the Plankenburg and Diep Rivers, Western Cape, South Africa. *Water SA*, 35(3), 289-300

Jones R.G.W., Sutcliffe M., Marshall C., Physiological and biochemical basis for heavy metal tolerance in clones of *Agrostis tenuis*, in: Samish R.M. (Ed.), *Recent Advances in Plant Nutrition*, Vol. 2, New York: Gordon & Breach, 1971, 275–281.

- Luna, C.M., González, C.A. and Trippi, V.S. 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant and Cell Physiology*, 35(1),11-15.
- Madanhire, I. and Mbohwa, C. 2016. Mitigating environmental impact of petroleum lubricants (pp. 17-34). Springer: Berlin, Germany
- Malar, S., Favas, P., Sahi, S.V. Perumal V. Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes levels in water hyacinths (*Eichornia crassipes* (Mart) Botanical Studies July 2014.
- Martinka, M., Vaculík, M. and Lux, A. 2014. Plant cell responses to cadmium and zinc. *In Applied plant cell biology* (pp. 209-246). Springer: Berlin, Heidelberg.
- Melato, F.A., Mokgalaka, N.S. and McCrindle, R.I. 2016. Adaptation and detoxification mechanisms of Vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*) growing on gold mine tailings. *International Journal of Phytoremediation*, 18(5), 509-520.
- Mitra, P.P. and Loqué, D. 2014. Histochemical staining of *Arabidopsis thaliana* secondary cell wall elements. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (87).Morrow, M. 2021. Root Structure and Anatomy. Available at: <https://bio.libretexts.org/@go/page/29548> [Datum van gebruik 31 October 2021].
- Murtey, M.D. and Ramasamy, P. 2016. Sample preparations for scanning electron microscopy–life sciences. *Modern Electron Microscopy in Physical and Life Sciences*, 161-185.
- Nagahashi, G., Thomson, W.W. and Leonard, R.T. 1974. The Casparian strip as a barrier to the movement of lanthanum in corn roots. *Science*, 183, 670-671.
- Oyourou, J.N., McCrindle, R., Combrinck, S. and Fourie, C.J.S. 2019. Investigation of zinc and lead contamination of soil at the abandoned Edendale mine, Mamelodi (Pretoria, South Africa) using a field-portable spectrometer. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 119(1), 55-62.
- Peterson, C.A., Emanuel, M.E. and Humphreys, G.B. 1981. Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root formation in corn (*Zea mays*) and broad bean (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Botany*, 59(5), 618-625.
- Pakdel, P.M. and Peighambardoust, S.J. 2018. A review on acrylic based hydrogels and their applications in wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 217, 123-143.

Probst, A., Liu, H., Fanjul, M., Liao, B. and Hollande, E. 2009. Response of *Vicia faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: geochemical and morphological changes in leaf and root. *Environmental and Experimental Botany*, 66(2), 297-308.

Raven P.H., Evert R.F., & Eichhorn S.E. 2005. *Biology of Plants*. 7th Edition. (pp. 686), W.H. Freeman and Company Publishers.

Reichman, S.M. 2002. The Responses of Plants to Metal Toxicity: A Review Forusing on Copper, Manganese & Zinc (pp. 22-26). Australian Minerals & Energy Environment Foundation: Melbourne:

Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17(1), 208-212.

Sanità di Troppi, L. And Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environomental of Experimental Botany*, 41, 105-130.

Sharma, S.S., Dietz, K.J. and Mimura, T. 2016. Vacuolar compartmentalization as indispensable component of heavy metal detoxification in plants. *Plant, Cell & Environment*, 39(5), 1112-1126.

Shrivastava, P. And Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123-131.

Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V.P. and Prasad, S.M. 2016. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1143.

Skorzynska-Polit, E.; Drazkiewicz, M.; Krupa, Z. 2003. The activity of the antioxidative system in cadmium treated *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 47, 71-78

Tang, J., Zhang, C., Shi, X., Sun, J. And Cunningham, J.A. 2019. Municipal wastewater treatment plants coupled with electrochemical, biological and bio-electrochemical technologies: Opportunities and challenge toward energy self-sufficiency. *Journal of Environmental Management*, 234, 396-403.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D.J. 2012. Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 133-164.

- Todd, W.J. 1986. Effects of specimen preparation on the apparent ultrastructure of microorganisms. In *Ultrastructure Techniques for Microorganisms* (pp. 87-100). Springer: Boston, MA.
- Todeschini, V., Lingua, G., D'agostino, G., Carniato, F., Roccotiello, E. And Berta, G. 2011. Effects of high zinc concentration on poplar leaves: a morphological and biochemical study. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 50-56.
- Tomsett, A. B. And Thurman, D. A. 1988. Molecular biology of metal tolerances in plants. *Plant, Cell and Environment*, 11, 383-394.
- Truong, P.N. 2002. *Vetiver grass technology*. (pp.114-132). Taylor & Francis, *Vetiveria the Genus Vetiveria*: New York:
- Truong, P. and Loch, R. 2004, July. Vetiver system for erosion and sediment control. *In* *Proceeding of 13th international Soil Conservation Organization Conference* (pp. 1-6).
- Truong, P.N., Foong, Y. K., Guthrie, M. and Hung, Y.T. 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. *Environmental Engineering*, 11, 223-275.
- Tuszynska S., Davies D., Turnau K. & Ashford A.E. 2006. Changes in vacuolar and mitochondrial motility and tubularity in response to zinc in a *Paxillus involutus* isolate from a zinc-rich soil. *Fungal Genetics and Biology*, 43, 155–163.
- Vargas, C., Perez-Esteban, J., Escolastico, C., Masaguer, A. and Moliner, A. 2016. Phytoremediation of Cu and Zn by Vetiver Grass in mine soils amended with humic acids. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 23, 13521-13530.
- WHO (World Health Organization). 2011. *Guidelines for Drinking-Water Quality*. Beschikbaar aanlyn: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf (Besoek 24 November 2021).
- Wu, S., Zhang, X., Huang, L. and Chen, B. 2019. Arbuscular mycorrhiza and plant chromium tolerance. *Soil Ecology Letters*, 1(3), 94-104.
- Zhang FQ., Wang YS., Lou Z P., Dong., J.D. 2007. The effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorrhiza*). *Chemosphere*, 67, 44-50.

Zhao, H., Wei, Y., Wang, J. and Chai, T. 2019. Isolation and expression analysis of cadmium-induced genes from Cd/Mn hyperaccumulator *Phytolacca americana* in response to high Cd exposure. *Plant Biology*, 21(1), 15-24.

Zhou, Q., Yang, N., Li, Y., Ren, B., Ding, X., Bian, H. and Yao, X. 2020. Total concentrations and sources of heavy metal pollution in global river and lake water bodies from 1972 to 2017. *Global Ecology and Conservation*, 22(2020), e00925.

HOOFSTUK 5

Die vrystelling van geakkumuleerde sink vanuit ontbinde

Chrysopogon zizanioides wortels oor 'n periode van vier maande

Lesley Keay^{1*}, Victor Wepener¹, Cornelius T Wolmarans¹

¹Skool vir Biologiese Wetenskappe, Noordwes Universiteit, Potchefstroom Kampus Suid Afrika.

*Korrespondensie adres: lesleykeay@gmail.com

5 Hierdie artikel is reg om gepubliseer te word.

5.1 Abstrak

Chrysopogon zizanioides is daarvoor bekend dat dit 'n verskeidenheid van kontaminante waaronder swaarmetale uit grond, grondwater asook oppervlakwater kan opneem. Die doel van hierdie studie was om vas te stel of die geakkumuleerde Zn in die wortels onomkeerbaar aan wortelweefsels bind en of dit weer in die omgewing vrygelaat word indien die wortels toegelaat word om te ontbind. Dit is in hierdie ondersoek gevind dat na die vier maande ontbindingsperiode 74%, 84% en 83% van die Zn uitgeloog het. Wat die sinkkonsentrasie in die water waar ontbinding plaas gevind het betref, is gevind dat dit na een week van ontbinding drasties in die water verhoog het maar daarna afgeneem het. Analise van die algspesies wat ook in die houters waarin die wortels ontbind het teenwoordig was, het egter aangetoon dat 'n betekenisvolle hoeveelheid Zn wat deur *C. zizanioides* vrygestel was, deur die alge geabsorbeer of geadsorbeer was.

5.2 Inleiding

Dit is algemeen bekend dat verskeie akwatiese plant- en algspesies, waaronder *Chrysopogon*, *Eichornia*, *Phragmites*, *Pistia*, *Chlorella* en *Spirulina* (Odjegba *et al.*, 2004, Truong *et al.*, 2010, Li *et al.*, 2016, Victor *et al.*, 2016, Bello *et al.*, 2018, Martínez *et al.*, 2018 en Sayadi *et al.*, 2019), in 'n mindere tot meerdere mate effektief is om 'n verskeidenheid van kontaminante soos swaarmetale, asook chemiese- en bemestingstowwe uit oppervlakwater op te neem. Hierdie proses, bekend as fitoremediëring, is 'n ekologies vriendelike en koste-effektiewe metode wat toenemend in lande soos China, Indië en Australië gebruik word. Die dele van plante wat oor die algemeen by opname betrokke is, sluit in die blare (Upadhyay *et al.*, 2014 en Thomas *et al.*, 2016) en wortels (Rane *et al.*, 2015 en Mathew *et al.*, 2016;), wat in direkte kontak met die gekontaminateerde omgewing kom. Dit staan bekend as die kontakoppervlakarea en is die vlak van interaksie tussen die plant en sy eksterne omgewing waar die proses van fitoremediëring hoofsaaklik begin (Dhir, 2013). Hierdie area speel 'n belangrike rol omdat ab- en adsorpsie van

stowwe hier plaasvind en 'n nis vir mikroörganismes wat ook by die opname van kontaminante betrokke is, geskep word (Kodituwakku & Yatawara 2020). Dit is bekend dat plante wat totaal met water bedek is, oor 'n groter effektiewe kontakoppervlakarea beskik wat as 'n effektiewe reservoir vir kontaminante kan optree (Cardwell *et al.*, 2002 en Weis & Weis, 2004).

Na absorpsie kan kontaminante in die ekstra- of intrasellulêre ruimtes wat in 'n verskeidenheid van weefsels teenwoordig is, akkumuleer. Alhoewel metale in moontlik alle organelle kan voorkom, word die vakuole as die belangrikste stoorplek beskou (Brooks *et al.*, 1980, Ernest *et al.*, 1992 en Brune *et al.*, 1995). Dit is algemeen bekend dat alge ook oor die vermoë beskik om groot hoeveelhede metale te akkumuleer. In alge word kontaminante getransformeer deur 'n verskeidenheid van ensimatieuse en oksidatiewe prosesse (Kvesitadze *et al.*, 2015). Alternatiewelik kan dit na translokasie, in die blare of wortels van die plant gestoor word (Negri & Hinchman 1996). Dit moet egter ook in ag geneem word dat die stowwe, ongeag of die plant lewend of in 'n ontbindende stadium is (Zhou *et al.*, 2018), weer deur uitlogging (Ciba *et al.*, 2003) in die omgewing vrygestel word.

Sovêr dit uitlogging van metale uit plante aangaan, vind dit meestal uit die stingels en wortels plaas (Zaalishvili *et al.*, 2000 en Korte *et al.*, 2000). Hierdie verskynsel kom voor by *Eichhornia crassipes* wat metale tydens verwelking vrystel, terwyl *Spartina alterniflora* dit as deel van soutkristalle deur porieë op die blaarrande afgee (Weis & Weis, 2004). Volgens Schaller *et al.*, (2011); Deng *et al.*, (2015) en Solten & Rashed (2003) kan die ontbindingsproses van plante na afsterwing ook as 'n bron van sekondêre metaalbesoedeling dien wanneer die geakkumuleerde metaalione vrygelaat en gemineraliseer word.

Alhoewel die voordele van *C. zizanioides* om as 'n fitoremediëringsplant aangewend te word welbekend is, maak die literatuur selde melding van die moontlikheid dat hierdie plant die geabsorbeerde metale weer in die omgewing kan vrylaat. Indien dit gebeur sou die fitoremediëringseffek van hierdie plante benadeel word.

Die doel van hierdie studie was dus om *C. zizanioides* wat vir vyf maande aan hoë sinkkonsentrasies blootgestel was, vir 'n periode van vier maande in sinkvrye akwatiese omgewing te laat om te ontbind en gedurende hierdie periode vas te stel of die geakkumuleerde Zn onomkeerbaar aan plantweefsels bind en of dit weer in die omgewing vrygelaat word.

5.3 Materiaal en Metodes

Eksemplare van *C. zizanioides* is voorberei soos bespreek in Keay *et al.*, (2021). Die voorbereide eksemplare is in 20 graspolle met 'n wortelmassa van ± 100 g elk verdeel waarvan vyf graspolle as kontrole gedien het. Die oorblywende 15 graspolle is hierna in drie groepe verdeel waarvan

vyf polle elk apart aan 1.5, 15 en 30 mg/L Zn, opgemaak in boorgatwater, teen 'n pH van ≤ 5 vir vyf maande blootgestel was.

Die houers was tydens hierdie periode met ligdeurlatende plastiek bedek sodat die blare nog aan sonlig blootgestel was, maar verdamping van blootstellingsmedium en die binnedringing van atmosferiese kontaminasie, verhoed is. Reënwater was gebruik om die houers op te vul waar nodig om 'n konstante volume van 10 L te handhaaf.

Na die blootstellingsperiode is ongeveer 60 g wortels vanaf elk van die blootgestelde polle versamel en deeglik in dubbelgedistilleerde water afgespoel en droog geskud om sover moontlik van die oortollige blootstellingsmedium ontslae te raak.

'n Geringe hoeveelheid van hierdie wortels (± 5 g) is hierna by elk van die 60 g bondels versamel, oornag by 65 °C vir 24 uur gedroog en vervolgens in 'n geseelde poliëtileen-houer gestoor vir latere analyses. Die oorblywende bondels van 55 g is apart na 350 mL glashouers oorgeplaas waarna dit met 300 mL verouderde boorgatwater gevul is. Vervolgens is die houers met 'n deksel, voorsien van 'n poliëtileenpypie, bedek en met saamgeperste lug geborrel om 'n aërobiese omgewing te skep en sodoende die ontbinding van plantmateriaal sover moontlik op 'n natuurlike wyse teweeg te bring (Reddy en Patrick Jr, 1975). Die water wat tydens hierdie periode van vier maande uit die houers verdamp het, was met reënwater opgevol om die volume water konstant te hou. Watermonsters met 'n volume van 15 mL was na een week en daarna eenkeer per maand vir vier maande geneem en na poliëtileenbuisse oorgedra en in die yskas by 4°C gestoor. Na die ontbindingsperiode is die wortels verwyder en soos bo vermeld, gedroog en gestoor vir verdere analyses.

5.4 Sinkanalises

5.4.1 Wortels

Massas van nagenoeg 0.05 g is van al die gestoorde worteleksemplare geneem en daarna na 'n teflonverteringshouer, voorsien van 86 verteringsputte van 3 cm³ elk, oorgedra. 1 mL, 65% chemiessuiwer HNO₃ is vervolgens in elk van die putte gevoeg en vir 24 uur gelaat sodat die gas wat tydens hierdie periode gegenereer word kon verdamp. Hierna was elke put dig verseël met 'n geannoteerde teflonproppie en in 'n oond by 65 °C vir 24 uur gelaat om te verteer. Die verteerde inhoud is na 15 mL hoëdigtheids-poliëtileensentrifugebuisse oorgedra en in 'n verhouding van 1:10 mL met dubbelgedistilleerde water verdun waarna dit vir drie minute by 4000 rpm gesentrifugeer was om van ongewenste materiaal ontslae te raak. Die supernatant is vervolgens na inerte poliëtileenbuisse oorgedra voordat die sinkinhoud met behulp van die atoomabsorpsiesspektrofotometer ("AAS") bepaal is.

5.4.2 Wortelmonsters

Elk van die watermonsters waarin die wortels gelaat was om te ontbind, is ontvries en vir 3 minute by 4000 rpm gesentrifugeer en daarna deur 0.2 µm filtreerpapier gefiltreer om van ongewenste materiaal ontslae te raak. Die sinkinhoud is hierna soos bo in 5.4.1 bespreek, bepaal.

5.4.3 Algmonsters

Gedurende die ontbindingstydperk het alg groei in die glashouers ontstaan waarvan soveel moontlik aan die einde van die eksperiment, versamel is. Die algmonsters is na porseleinkroesies oorgedra en vir 24 uur by 65 °C gedroog. Dit is vervolgens met 'n vlekvrystaalspatel uit die kroesie verwyder, geweeg en na 'n teflonblok oorgedra waarna dit ook in 1 mL 65% chemiessuiwer salpetersuur vir 24 uur by 65 °C verteer is. Die verteerde inhoud is hierna na 15 mL sentrifugebuis oorgedra en met dubbel gedistilleerde water tot 'n 1:10 verhouding verdun, voordat die Zn-inhoud met behulp van die AAS bepaal is.

5.4.4 Atoomabsorpsiesspektrofotometer

'n Self-gekonstrueerde kalibrasie kurwe is met 0, 0.5, 1, 2 en 5 mg/L sinkoplossings opgestel en vir analyses gebruik waar die Zn-lamp se energie 45 was. Die monsters is daarna gelees en die data gedokumenteer. Die data is daarna verwerk in Graphpad Prism® 8.0.2 en Microsoft® Excel 2010.

5.4.5 Dataverwerking

Die data is verwerk deur gebruik te maak van Microsoft® Excel 2010 om die gemiddeld en die standaardafwyking van die sinkkonsentrasies in die plantmateriaal, water en alge bepaal. Die persentasie afname van Zn in die plante asook die persentasie toename in water en alge was in Graphpad Prism® 8.0.2, deur middel van 'n twee-faktor herhaalde-meting analise van variasie (2F-HM-ANOVA) bepaal.

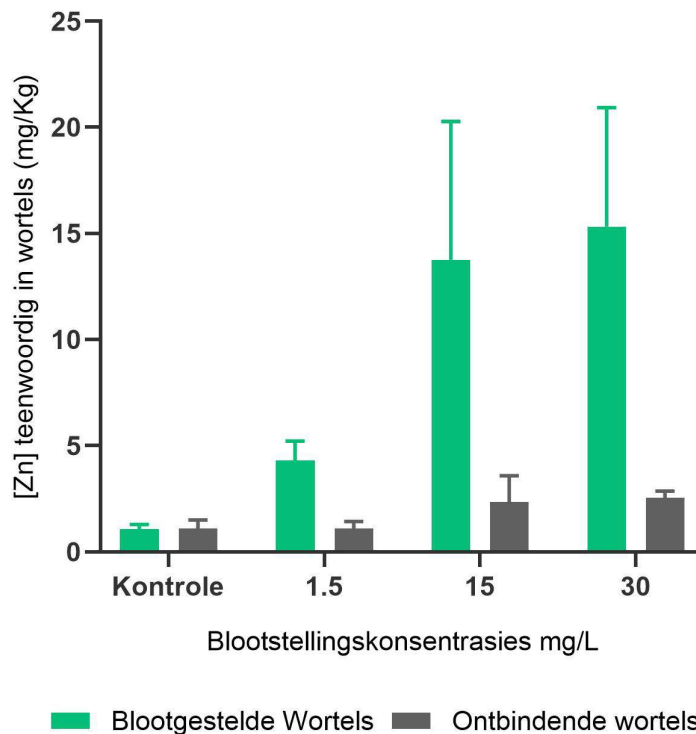
5.5 Resultate en Bespreking

Wat die sinkkonsentrasies in die wortels van plante wat vir vyf maande aan Zn blootgestel was betref, is 'n beduidende konsentrasie-tyd-interaksie getoon [F (DFn, DFd) = 92.28, P = 0.0007]. Statisties-beduidende groepsverskille in die sinkkonsentrasie van wortels is vervolgens aangedui tussen die kontrole (1.08 ± 0.22), 15 (14.68 ± 7.14 , P = 0.0001) en die 30 mg/L (15.32 ± 5.61 , P = <0.001) groepe, maar daar was nie 'n statistiese-beduidende groepsverskille in die sinkkonsentrasies van die kontrole en die 1.5 mg/L nie (4.30 ± 0.93 , P = 0.36). Synde dat die verskil in wortel-sinkkonsentrasie tussen die 15 mg/L en die 30 mg/L blootstellingsmediums nie

groot of beduidend was nie, kan waarskynlik verklaar word na gelang van die feit dat die massa en dus ook die kontakoppervlakarea, van wortels wat aan die verskillende konsentrasies blootgestel was, dieselfde was. Hieruit wil dit dus voorkom asof Zn gedurende die blootstellingsperiode van vyf maande 'n versadigingsvlak in die wortels bereik het. Soos in die materiaal en metodes bespreek, is bogenoemde wortels in sinkvrye water gelaat om te ontbind en die moontlike vrylating daarvan uit die wortels oor 'n verdere periode van vier maande bestudeer.

Wat die sinkkonsentrasies in die ontbinde wortels van plante wat vir vyf maande eers aan Zn blootgestel was en daarna gelaat is om te ontbind, is 'n beduidende konsentrasie-tyd-interaksie getoon [F (DFn, Dfd) = 11.09, P = 0.0009]. Die groepsverskille in die sinkkonsentrasies van die ontbindende wortels was nie statisties-beduidend en is vervolgens aangedui tussen die kontrole (1.08 ± 0.22), die 1.5 (4.30 ± 0.93 , P = >0.99), 15 (14.68 ± 7.14 , P = 0.92) en 30 mg/L (15.32 ± 5.61 , P = 0.87) groepe.

Na die ontbindingsperiode het 74% van die geakkumuleerde Zn van die plante wat aan 1.5 mg/L Zn blootgestel was, uitgeloog. Wat blootstelling aan 15 en 30 mg/L Zn betref, het onderskeidelik 84% en 83% van die geakkumuleerde Zn uit die wortels geloog. Hierdie uitlogingsverskynsel is in ooreenstemming met die wat Deng *et al.*, (2016) gevind het.

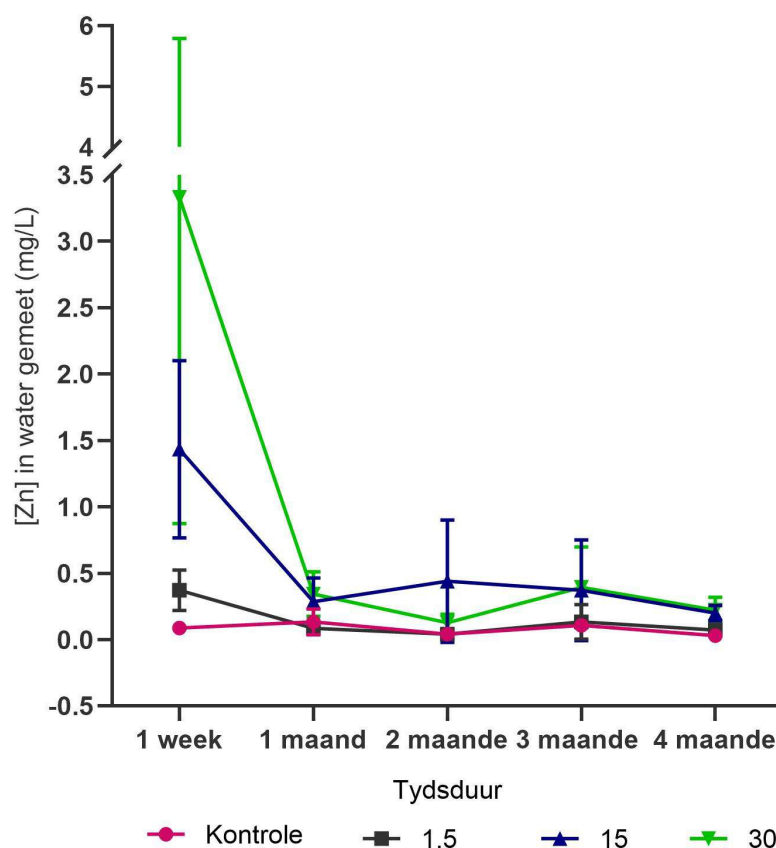


Figuur 5-1: Die gemiddelde en standaard afwyking van sinkkonsentrasie in wortels (mg/Kg) na die vyf maande blootstellingsperiode en die gemiddelde sinkkonsentrasie na die vier maande ontbindingsperiode.

Wat die sinkkonsentrasie in die water waarin wortelontbinding plaasgevind het betref, is 'n statisties-beduidende konsentrasie-tyd-interaksie getoon [F (DFn, DFd) = 5.81, $P = <0.0001$]. Statisties-beduidende groepsverskille in die sinkkonsentrasies van die watermediums waarin die wortels, wat self aan verskillende Zn konsentrasies blootgestel was, gelaat was om te ontbind, is vervolgens aangedui tussen die kontrole (0.09 ± 0.04) en die ander groepe na een week [**1.5**: 0.37 ± 0.15 , $P = 0.0001$; **15**: 1.43 ± 0.67 , $P = 0.0001$; en **30** mg/L: 2.33 ± 0.69 , $P = 0.0001$] en ook na vier maande [kontrole: 0.03 ± 0.01 ; **1.5**: 0.07 ± 0.04 , $P = 0.0011$; **15**: 0.20 ± 0.057 , $P = 0.0001$; en **30** mg/L: 0.22 ± 0.097 , $P = 0.0001$].

Daar is gevind dat die grootste uitloging van Zn uit die ontbinde wortels by al die blootstellingskonsentrasies gedurende die eerste week van ontbinding voorgekom het (**Figuur 5-2**). Dit is verder opvallend dat die wortels wat aan 30 mg/L Zn blootgestel was, ook die grootste hoeveelheid Zn gedurende die eerste week vrygestel het, gevolg deur die wortels wat aan 1.5 mg/L en 15 mg/L Zn blootgestel was. Dit is in ooreenstemming met die bevindinge van Gessner *et al.*, (1999) wat gevind het dat plante oor die verloop van drie fases ontbind en die eerste fase met uitloging gepaard gaan. Na die eerste week het die hoeveelheid Zn in die ontbindingsmedium al hoe minder begin word en na vier maande was die sinkkonsentrasie

onderskeidelik 81%, 86% en 90% by die drie sinkblootstellingskonsentrasies, nie meer in die water teenwoordig nie.



Figuur 5-2: Die gemiddelde ($\pm$ standaard afwyking) sinkkonsentrasies in die water (mg/L) gemeet oor die vier maande tydens ontbinding.

Dit is wel bekend dat swaarmetale aan 'n verskeidenheid van reaktiewe oppervlakke, insluitende alge (Gümüş *et al.*, 2021), bakteriums (Klaus-Joerger *et al.*, 2001), organiese materiaal (Jain *et al.*, 2004) en fisiese oppervlakke soos glashouers (Struempier, 1973), kan adsorbeer. Hierdie verskynsel is waarskynlik verantwoordelik vir die skielike afname van die Zn in die watermedium waarin die wortels ontbind het. Laskowski & Berg (1993) en Van Nevel *et al.*, (2014) het gevind dat humiese substrate gedurende ontbindingstydperk afgeskei en sodanig ook as 'n medium beskou kan word waaraan metale kan bind (Bahemmar *et al.*, 2016). Dit is verder ook 'n moontlikheid dat die ontbinde materiaal self ook as kontakoppervlak vir die Zn wat reeds gedurende die tydperk vrygestel kon word, kan dien (Zawislanski *et al.*, 2001 en Weis & Weis, 2004).

Gedurende die vier maande periode, het alkolonies ook in die ontbindingshouers begin vestig. Hierdie alge is versamel en die sinkinhoud daarvan bepaal. Uit die persentasie afname Zn in die

wortels en die toename daarvan in die water na 1 week van ontbinding, is dit duidelik dat die alge wat gedurende die vier maande periode in die ontbindingshouers gevestig het 'n rol in die akkumulasie van die uitgeloopte Zn gespeel. Die totale Zn wat oor die vier maande in die alge geabsorbeer het, was onderskeidelik 8.77 ± 6.6 , 24.91 ± 10.25 , 70.12 ± 44.48 en 131.37 ± 96.65 mg/kg vir die kontrole, 1.5, 15, en 30 mg/L houer. Dit is bekend dat Zn 'n essensiële metaal vir die groei en ontwikkeling van alge is (Jais *et al.*, 2017), wyl alge ook 'n hoë toleransie vir Zn het en in die teenwoordigheid van hoë konsentrasies daarvan, kan oorleef (Kotrba, 2011). Matagi *et al.*, (1998) verduidelik verder dat dit moontlik toe te skryf is aan die alge se onaktiewe en hoë absorberingspotensiaal, dat die Zn direk deur middel van die metabolisme en bio-absorpsiefunksies van alge, direk vanuit besoedelde water daarin en/of daarop kan akkumuleer. Dit beteken nie noodwendig dat die vrygelate Zn in die omgewing biologies beskikbaar is en tot 'n toksiese omgewing hoef te lei nie. Indien hierdie Zn in 'n verbinding vrykom, kan dit by 'n pH > 5 presipiteer, terwyl dit by 'n laer pH weer as 'n ioonvorm kan vrykom wat op 'n verskeidenheid van materiale soos organiese materiaal kan adsorbeer en verder deur alge opgeneem kan word; hierdeur kan die toksiese effek daarvan op ander biota, verminder (Pelicano *et al.*, 2015 en Cheng *et al.*, 2019).

5.6 Gevolgtrekking

Gedurende die ontbindingstydperk van *C. zizanioides* wat aan hoë sinkkonsentrasies blootgestel was, is gevind dat die Zn wel uit die wortels loog en weer in die oppervlaktwater beland. Gedurende die tydperk is gevind dat die Zn wat vanuit die wortels geloopt het, ook deur die algkolonies opgeneem is en nie meer vrylik in die water gevind is nie. Alhoewel *C. zizanioides* 'n goeie akkumuleerder van Zn is, kan sekondêre besoedeling deur uitloging van metale nadat plante ontbind het, weer plaasvind. Dit moet egter in ag geneem word dat daar tydens hierdie ondersoek van uiters hoë sinkkonsentrasies gebruik gemaak is om bepaalde verskynsels te demonstreer wat waarskynlik nooit in die natuur gedupliseer sal word nie. Verskeie ander faktore waaronder pH, alge, organiese verryking en die molekulêre struktuur van die metaal, mag die moontlikheid vir metaaltoksisiteit beïnvloed.

5.7 Bibliografie

Bahemmat, M., Farahbakhsh, M. and Kianirad, M., 2016. Humic substances-enhanced electroremediation of heavy metals contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 312, 307-318.

Bello, A.O., Tawabini, B.S., Khalil, A.B., Boland, C.R. & Saleh, T.A., 2018. Phytoremediation of cadmium-, lead-and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems. *Ecological engineering*, 120, 126-133.

Brooks, R.R.; Reeves, R.D.; Morrison, R.S. & Malaisse, F. (1980). Hyperaccumulation of Copper and Cobalt - a Review. *Bulletin de la Societe Royale de Botanique Belgique*, 113, 166-172.

Brune, A., Urbach, W. & Dietz, K.J. (1995). Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmic compartmentation - a comparison of Cd stress, Mo-stress, Ni-stress and Zn-stress. *New Phytol*, 129: 403-409, ISSN 0028-646.

Cardwell, A.J., Hawker, D.W., Greenway, M., 2002. Metal accumulation in aquatic macrophytes from southeast Queensland, Australia. *Chemosphere* 48, 653–663.

Ciba, J., Zołotajkin, M., Kluczka, J., Loska, K. and Cebula, J., 2003. Comparison of methods for leaching heavy metals from composts. *Waste Management*, 23(10), 897-905.

Cheng, S.Y., Show, P.L., Lau, B.F., Chang, J.S. and Ling, T.C., 2019. New prospects for modified algae in heavy metal adsorption. *Trends in Biotechnology*, 37(11), 1255-1268.

Danh, L.T., Truong, P., Mammucari, R., Tran, T. and Foster, N., 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. *International Journal of Phytoremediation*, 11(8), 664-691.

Demirezen, D., Aksoy, A. and Uruç, K., 2007. Effect of population density on growth, biomass and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (Lemnaceae). *Chemosphere*, 66(3): 553-557.

Deng, H., Zhang, J., Chen, S., Yang, L., Wang, D. and Yu, S., 2016. Metal release/accumulation during the decomposition of *Potamogeton crispus* in a shallow macrophytic lake. *Journal of Environmental Sciences*, 42, 71-78.

Dhir, B., 2013. Phytoremediation: role of aquatic plants in environmental clean-up (Vol. 14). New Delhi: Springer.

Ernst, W.H.O.; Verkleij, J.A.C. & Schat, H. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 41, 229-248, ISSN 0044-5983.

- Gümüş, N.E., AŞIKKUTLU, B., Kesinkaya, H.B. and Akköz, C., 2021. Comparison of heavy metal absorption of some algae isolated from Altınapa Dam Lake (Konya). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1), 50-56.
- Jais NM, Mohamed R, Al-Gheethi A, Hashim MA (2017) The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production. *Clean Technology and Environmental Policy* 19, 37–52.
- Jain, C.K., Singhal, D.C. and Sharma, M.K., 2004. Adsorption of zinc on bed sediment of River Hindon: adsorption models and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, 114(1-3), 231-239.
- Klaus-Joerger, T., Joerger, R., Olsson, E. and Granqvist, C.G., 2001. Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science. *TRENDS in Biotechnology*, 19(1), 15-20.
- Kodituwakku K,A,R,K., Yatawara, M. 2020. Phytoremediation of Industrial Sewage Sludge with *Eichhornia crassipes*, *Salvinia molesta* and *Pistia stratiotes* in Batch Fed Free Water Flow Constructed Wetlands. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 627-633.
- Korte, F., Kvesitadze, G., Ugrekhelidze, D., Gordeziani, M., Khatisashvili, G., Buadze, O., Zaalishvili, G. and Coulston, F., 2000. Organic toxicants and plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47(1),1-26.
- Kotrba P (2011) Microbial biosorption of metals—general introduction. In: Kotrba P, Mackova M, Macek T (eds) *Microbial biosorption of metals*. pp 1–6, Springer: Dordrecht.
- Li, F., Shen, K., Long, X., Wen, J., Xie, X., Zeng, X., Liang, Y., Wei, Y., Lin, Z., Huang, W. and Zhong, R., 2016. Preparation and characterization of biochars from *Eichhornia crassipes* for cadmium removal in aqueous solutions. *PloS One*, 11(2), e0148132.
- Matagi, S., Swaiand, D. and Mugabe, R. (1998). A. review of heavy metal removal mechanisms in wetlands. *African Journal of Tropical Hydrobiology and Fisheries*, 8, 23-35.
- Mathew, M., Sebastian, M. and Cherian, S.M., 2016. Effectiveness of vetiver system for the treatment of wastewater from an institutional kitchen. *Procedia Technology*, 24, 203-209.
- Odjegba, V.J. and Fasidi, I.O., 2004. Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: implications for phytoremediation. *Ecotoxicology*, 13(7), 637-646.

Pelicano, C.M. and Balela, M.D., 2015. Effect of solution pH and ZnCl₂ on zinc oxide nanostructures grown on Zn foil. *In* MATEC Web of Conferences (Vol. 27, p. 02007). EDP Sciences.

Rane, N.R., Chandanshive, V.V., Watharkar, A.D., Khandare, R.V., Patil, T.S., Pawar, P.K. and Govindwar, S.P., 2015. Phytoremediation of sulfonated Remazol Red dye and textile effluents by *Alternanthera philoxeroides*: an anatomical, enzymatic and pilot scale study. *Water Research*, 83, 271-281.

Ralinda R and Miller PG (1996) Phytoremediation. GroundWater Remediation Technologies Analysis Center, 3.

Roongtanakiat, N. and Chairaj, P., 2001. Uptake potential of some heavy metals by vetiver grass. *Agriculture and Natural Resources*, 35(1), 46-50.

Salama, E.S., Roh, H.S., Dev, S., Khan, M.A., Abou-Shanab, R.A., Chang, S.W. and Jeon, B.H., 2019. Algae as a green technology for heavy metals removal from various wastewater. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 1-19.

Sakakibara, M., 2016, June. Phytoremediation of toxic elements-polluted water and soils by aquatic macrophyte *Eleocharis acicularis*. *In* AIP Conference Proceedings (Vol. 1744, No. 1, 020038). AIP Publishing LLC.

Sekabira, K., Origa, H.O., Basamba, T.A., Mutumba, G. and Kakudidi, E., 2011. Application of algae in biomonitoring and phytoextraction of heavy metals contamination in urban stream water. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 8(1), 115-128.

Sawidis, T., Brown, M.T., Zachariadis, G. and Sratis, I., 2001. Trace metal concentrations in marine macroalgae from different biotopes in the Aegean Sea. *Environment International*, 27(1), 43-47.

Schaller, J., Brackhage, C., Mkandawire, M., Dudel, E.G., 2011. Metal/metalloid accumulation/remobilization during aquatic litter decomposition in freshwater: a review. *Science of the Total Environment*. 409, 489-4898.

Soltan, M.E. and Rashed, M.N., 2003. Laboratory study on the survival of water hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. *Advances in Environmental Research*, 7(2), 321-334.

Struempfer, A.W., 1973. Adsorption characteristics of silver, lead, cadmium, zinc, and nickel on borosilicate glass, polyethylene, and polypropylene container surfaces. *Analytical Chemistry*, 45(13), 2251-2254.

Thomas, G., Andresen, E., Mattusch, J., Hubáček, T. and Küpper, H., 2016. Deficiency and toxicity of nanomolar copper in low irradiance—a physiological and metalloproteomic study in the aquatic plant *Ceratophyllum demersum*. *Aquatic Toxicology*, 177, 226-236.

Truong, P.N., Foong, Y.K., Guthrie, M. and Hung, Y.T., 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. *In* *Environmental Bioengineering* (pp. 233-275). Humana Press: Totowa, NJ.

Upadhyay, A.K., Singh, N.K. and Rai, U.N., 2014. Comparative metal accumulation potential of *Potamogeton pectinatus* L. and *Potamogeton crispus* L.: Role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in tolerance and detoxification of metals. *Aquatic botany*, 117, 27-32.

Verma, R. and Dwivedi, P., 2013. Heavy metal water pollution-A case study. *Recent Research in Science and Technology*, 5(5), 98-99.

Victor, K.K., Séka, Y., Norbert, K.K., Sanogo, T.A. and Celestin, A.B., 2016. Phytoremediation of wastewater toxicity using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes*). *International Journal of Phytoremediation*, 18(10), 949-955.

Weis, J.S., Weis, P., 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environmental International* 30(5), 685–700.

Zhou, X., He, Z., Ding, F., Li, L. and Stoffella, P.J., 2018. Biomass decaying and elemental release of aquatic macrophyte detritus in waterways of the Indian River Lagoon basin, South Florida, USA. *Science of the Total Environment*, 635, 878-891.

HOOFSTUK 6

Algemene Bespreking en Gevolgtrekking

Fitoremediëring word gedefinieer as 'n bio-remediëringsproses waartydens daar van verskillende plante gebruik gemaak word om kontaminante soos onder andere metale, nutriënte en chemiese oplosmiddels teenwoordig in grond, grondwater of oppervlakwater, te verwyder, te verplaas of te stabiliseer. Plante wat hiervoor as geskik beskou word, moet oor 'n verskeidenheid van eienskappe beskik. Dit sluit in die vermoë om kontaminante op te neem, toleransie teen 'n verskeidenheid van omgewingsfaktore soos pH, geleidingsvermoë, temperatuur en reënval, en dat dit in gedurende verskillende seisoene effektief moet kan funksioneer en lank kan oorleef. Hierdie metode van omgewingsrehabilitasie is, alhoewel dit reeds vir 'n geruime tyd in menige lande geïmplementeer word, oor die algemeen 'n onbekende proses in Suid Afrika; dit niteenstaande die feit dat die land se oppervlakwater in 'n relatiewe swak toestand is. Alhoewel 'n verskeidenheid van plante oor eienskappe beskik wat hul geskik maak vir fitoremediëring, is *C. zizanioides* geëvalueer om te bepaal of dit hoë konsentrasies Zn uit water kan op te neem wyl strukturele skade beperk word en tot watter mate ontbinde plantmateriaal instaat is om steeds as stoorplek vir Zn op te tree (Gravand *et al.*, 2021; Truong *et al.*, 2010; Dahn *et al.*, 2009; Roongtanakiat *et al.*, 2007 en Cheng *et al.*, 2004).

Gedurende hierdie studie is daar gevind dat *C. zizanioides* hoë sinkkonsentrasies oor 'n periode van 28 dae uit gekontamineerde oppervlakwater kan verwyder. Die resultate het getoon dat die hoeveelheid Zn in die blootstellingsmedium na die 28 dae by al die blootstellingskonsentrasies afgeneem het. Hierdie tendens is in ooreenstemming met wat Suelee *et al.*, (2017) gevind het.

Tydens hierdie studie is ook gevind dat die sinkkonsentrasie in die wortels, vergeleke met die blare, aansienlik hoër was, 'n waarneming wat in ooreenstemming is met die van Roongtanakiat *et al.*, (2007) en Suelee *et al.*, (2017). Die meerderheid Zn wat in die wortels geakkumuleer het, dui daarop dat die plant 'n goeie risofiltreerder asook fitostabiliseerder is (Banerjee *et al.*, 2016). Hierdie bevinding word ondersteun deur die translokasiefaktor wat die verhouding van Zn in die wortels teenoor die blare verteenwoordig. Dit kan toegeskryf word aan *C. zizanioides* se uitgebreide wortelstelsel wat oor 'n groot aktiewe oppervlak beskik om Zn en ander swaarmetale te kan absorbeer (Raskin *et al.*, 1997).

Synde dat die sinkkonsentrasie in die wortels reeds na sewe dae relatief hoog was, is besluit om plantmonsters, wat aan 1.5 en 30 mg/L Zn blootgestel was, na 14 dae vir strukturele skade te ondersoek. Dit is gevind dat daar slegs geringe strukturele skade in die plantweefsel was wat aan 1.5 mg/L blootgestel was, ongeag dat die konsentrasie in die blootgestelde weefsel reeds hoog

was. Alhoewel daar tekens van vakuolering by hierdie konsentrasie sigbaar was, het Davies *et al.*, (1991) aangetoon dat dit 'n normale verskynsel is, soos aangetoon by *Secale cereale cv* en *Festuca rubra cv*, wat beide aan dieselfde familie as *C. zizanioides* behoort. Hier het vakuolering plaasgevind in die afwesigheid van Zn.

In teenstelling hiermee, is uitgebreide strukturele skade in die wortels en blare van *C. zizanioides* wat aan 30 mg/L blootgestel was, getoon. Dit sluit skade aan die korteks van die haarwortels, sowel as vervorming van die kransstrukture in die blare in. Die skade wat by hierdie konsentrasie aangetoon was, stem ooreen met dit wat Sridhar *et al.*, (2007) in *Hordeum vulgare* na 16 dae van Zn blootstelling tydens 'n grond eksperiment gevind het. Todeschini *et al.*, (2011) het ook gedurende blootstellingseksperimente aan Zn noemenswaardige afwykings in die blaar-struktuur van *Populus alba*, sowel as kalsiumokislaatkristalle in die plant waargeneem wat nie in hierdie eksperiment in *C. zizanioides* getoon is nie.

Verskeie studies het getoon dat alhoewel *C. zizanioides* aan hoë sinkkonsentrasies blootgestel was en die plant wel merkbare fisiologiese en anatomiese veranderinge ondergaan het, kon dit blootstelling aan hierdie konsentrasies tot so mate hanteer, dat dit oorleef het. Dit kan moontlik toegeskryf word aan die vermoë van *C. zizanioides*, wat weens die teenwoordigheid van oksidatiewe stres, wat gepaard gegaan het met 'n toename van hidroksi-radikale soos superoksied anione, stikstofoksied en waterstof peroksied (Hao *et al.*, 2006 en Yan *et al.*, 2010). Dit is verder ook moontlik dat *C. zizanioides* hoë sinkkonsentrasies kan hanteer as gevolg van die teenwoordigheid van 'n vinnig groeiende wortelstelsel (Suelee *et al.*, 2017, Mudhiriza *et al.*, 2015, Danh *et al.*, 2009 en Roongtanakiat *et al.*, 2007).

In 'n derde eksperiment was *C. zizanioides* vir vyf maande aan 1.5, 15 en 30 mg/L Zn blootgestel, waarna die wortels vir vier maande gelaat is om te ontbind. Dit is gedoen om vas te stel of die wortel-geakkumuleerde Zn tydens ontbinding vrygestel word. In hierdie eksperiment is gevind dat daar na slegs een week van ontbinding reeds 'n groot hoeveelheid van die geakkumuleerde Zn uit die wortels begin loog het; dit is in ooreenstemming met bevindinge van Deng *et al.*, (2016). Gessner *et al.*, (1999) het verder verduidelik dat dit te verwagte kon wees, omdat die uitloging van plantinhoud tydens die eerste fase van ontbinding plaasvind. Dit moet egter genoem word dat algroei in die houer waarin die uitloging plaasgevind het, ontstaan het. Verskeie studies het bevestig dat alge ook 'n goeie akkumuleerder van Zn is wat ooreenstem met die bevindinge in hierdie studie (Kotrba, 2011, Gümüş *et al.*, 2021 en Matagi *et al.*, 1998). Dit is wel belangrik om te noem dat Zn-opname deur alge nie in hierdie studie ondersoek is nie en dat verdere studie in hierdie verband dus genoodsaak is.

Die afleiding dat die sinkinhoud in die water na een week begin afneem het, kan moontlik toegeskryf word aan 'n variasie van reaktiewe komponente in die water, insluitende alge (Gümüş *et al.*, 2021), bakteriums (Klaus-Joerger *et al.*, 2001), organiese materiaal (Jain *et al.*, 2004) en die fisiese oppervlakke van die houers (Struempler, 1973).

Ter samevatting is in hierdie studie gevind dat *C. zizanioides* 'n geskikte kandidaatplant is om as fitoremediëringsplant gebruik te word om sinkgekontamineerde oppervlakwater te rehabiliteer. *Chrysopogon zizanioides* het die vermoë om Zn vanuit oppervlakwater te akkumuleer en die meerderheid daarvan in die wortels te stoor. Die plant kan oorleef in die teenwoordigheid van onnatuurlike hoë sinkkonsentrasies. Sodra die plant egter afsterf is dit gevind dat Zn uit die plant loog, maar dit dan weer op ander maniere, soos deur alg absorpsie en ander wat nie in hierdie studie ondersoek is nie, verminder.

Dit moet in ag geneem word dat daar slegs 'n beperke hoeveelheid plant massa gedurende die blootstelling studie gebruik was en dat daar net na 'n periode van 28 dae se opname en daarna na vyf maande bestudeer was. Die sukses van fitoremediëring word tot 'n groot mate deur die plantmassa wat per volume water gebruik word, bepaal en in vloeiende water sal die vloeisnelheid ook in ag geneem moet word. In hierdie studie was daar nie na die vloeisnelheid gekyk nie en kan ook in die toekoms ondersoek word. Dit sal ook aanbeveel word dat die skade in die plantweefsel oor 'n langer tyd en blootstelling aan meer konsentrasies met behulp van transmissie elektronmikroskopie bestudeer word.

Bibliografie

Banerjee, R., Goswami, P., Pathak, K., & Mukherjee, A. 2016 .Vetiver grass: an environment clean-up tool for heavy metalcontaminated iron ore mine-soil. Ecological Engineering, 90, 25–34.

Chen, Y., Shen, Z. and Li, X., 2004. The use of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. Applied Geochemistry, 19(10), 1553-1565.

Danh, L.T., Truong, P., Mammucari, R., Tran, T. and Foster, N., 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. International Journal of Phytoremediation, 11(8), 664-691.

Davies K.L., Davies M.S. & Francis D. 1992. zinc-induced vacuolation in root meristematic cells of cereals. Annals of Botany 69, 21–24.

Gessner, M.O., Chauvet, E. and Dobson, M., 1999. A perspective on leaf litter breakdown in streams. Oikos, 85(2), 377-384.

- Gravand, F., Rahnavard, A. and Pour, G.M., 2021. Investigation of Vetiver Grass Capability in Phytoremediation of Contaminated Soils with Heavy Metals (Pb, Cd, Mn, and Ni). *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 30(2), 163-186.
- Gümüş, N.E., AŞIKKUTLU, B., Kesinkaya, H.B. and Akköz, C., 2021. Comparison of heavy metal absorption of some algae isolated from Altınapa Dam Lake (Konya). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1), 50-56.
- Jain, C.K., Singhal, D.C. and Sharma, M.K., 2004. Adsorption of zinc on bed sediment of River Hindon: adsorption models and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, 114(1-3), 231-239.
- Klaus-Joerger, T., Joerger, R., Olsson, E. and Granqvist, C.G., 2001. Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends in Biotechnology*, 19(1), 15-20.
- Kotrba P (2011) Microbial biosorption of metals—general introduction. In: Kotrba P, Mackova M, Macek T (eds) *Microbial biosorption of metals*. pp 1–6, Springer: Dordrecht.
- Matagi, S., Swaiand, D. and Mugabe, R. (1998). A review of heavy metal removal mechanisms in wetlands. *African Journal of Tropical Hydrobiology and Fisheries*, 8, 23-35.
- Mudhiriza, T., Mapanda, F., Mvumi, B.M. and Wuta, M., 2015. Removal of nutrient and heavy metal loads from sewage effluent using vetiver grass, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. *Water SA*, 41(4): 457-493.
- Nugroho, A.P., Butar, E.S.B., Priantoro, E.A., Sriwuryandari, L., Pratiwi, Z.B. and Sembiring, T., 2021. Phytoremediation of electroplating wastewater by vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides* L.). *Scientific Reports*, 11(1), 1-8.
- Raskin, I., & Ensley, B. D. 2000. *Phytoremediation of toxic metals*. John Wiley and Sons.
- Roongtanakiat, N., Tangruangkiat, S. and Meesat, R., 2007. Utilization of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for removal of heavy metals from industrial wastewaters. *Science Asia*, 33(4), 397-403.
- Roongtanakiat, N. and Chairaj, P., 2001. Uptake potential of some heavy metals by vetiver grass. *Agriculture and Natural Resources*, 35(1), 46-50.
- Sridhar, B.B.M., Han, F.X., Diehl, S.V., Monts, D.L. and Su, Y., 2007. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiological characteristics of barley plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(1), 15-22.
- Struempfer, A.W., 1973. Adsorption characteristics of silver, lead, cadmium, zinc, and nickel on borosilicate glass, polyethylene, and polypropylene container surfaces. *Analytical Chemistry*, 45(13), 2251-2254.
- Suelee, A.L., Hasan, S.N.M.S., Kusin, F.M., Yusuff, F.M. and Ibrahim, Z.Z., 2017. Phytoremediation potential of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for treatment of metal-contaminated water. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(4), 158.

Todeschini, V., Lingua, G., D'agostino, G., Carniato, F., Roccotiello, E. and Berta, G., 2011. Effects of high zinc concentration on poplar leaves: a morphological and biochemical study. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 50-56.

Truong, P.N., Foong, Y.K., Guthrie, M. and Hung, Y.T., 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. In *Environmental Bioengineering* (pp. 233-275). Humana Press, Totowa, NJ.

BYLAAG A – DEKLARASIE VORM



Privaat sak X1290, Potchefstroom
Suid-Afrika 2520

Tel: 018 299-1111/2222
Faks: 018 299-4910
Web: <http://www.nwu.ac.za>

25 November 2021

Magister Scientiae in Omgewingswetenskappe– Lesley Keay

Die primêre outeur vir hierdie verhandeling is Lesley Keay. Al die mede-outeurs en medewerkers asook hul bydraes hiertoe word in die Tabel 1 hieronder weergegee.

Ek verklaar dat my rol in hierdie studie, soos aangedui in Tabel 1, 'n voorstelling is van my werklike bydrae, en ek gee hiermee my toestemming dat hierdie werk gepubliseer mag word as deel van die M.Sc. verhandeling van Lesley Keay.

Tabel 1: Mede-Outeurs

Mede-Outeur/ medewerkers	Bydrae
Mej. L. Keay	Verantwoordelik gewees vir die ontwerp van die studie, eksperimentele uitvoere, data analyses, die beplanning uitvoering en skryf van die verhandeling asook die publikasies.
Prof. C.T. Wolmarans	Opgetree as hoofstudieleier, toesig gehou oor alle aspekte van hierdie studie, insluitend die projekontwerpe, beplanning, uitvoering en die skryf van hierdie publikasies, asook ander dokumentasie gebaseer op hierdie studie.
Prof. V Wepener	Opgetree as mede - studieleier, betrokke by projekontwerpe, en die hersiening van hierdie publikasies.
Dr. A Jordaan	Gehelp met die maak van die mikroskoop preparate en interpretasie van die resultate by Hoofstuk 4 “ <i>Die evaluering van plantskade aan Chrysopogon zizanioides na 14 - dae se sinkblootstelling</i> ”.

Prof. C.T. Wolmarans

Prof. V. Wepener

Mej. L. Keay

Dr. A. Jordaan

BYLAAG B – GEPUBLISEERDE ARTIKEL

'n Onderzoek na die opname van sink deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerde oppervlaktwater

Outeurs:
Lesley Keay
Victor Wepener
Cornelius T Wolmarans

Affiliaties:
Skool vir Biologiese
Wetenskappe, Noordwes-
Universiteit, Potchefstroom
Kampus, Suid-Afrika

Korresponderende outeur:
Lesley Keay

Datums:
Ontvang: 18/03/21
Aanvaar: 26/08/21
Gepubliseer:

Hoe om hierdie artikel aan te haal:
Lesley Keay, Victor Wepener, Cornelius T Wolmarans, 'n Onderzoek na die opname van sink deur *Chrysopogon zizanioides* uit gekontamineerde oppervlaktwater, Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie 40(1) (2021). <https://doi.org/10.36303/SATNT.2021.40.1.848>

Kopiereg:
© 2021. Authors.
Licensee: Die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns. Hierdie werk is onder die Creative Commons Attribution License gelisensieer.

Die verwydering van metale uit die omgewing kan deur verskeie prosesse, waarvan fitoremediëring die mees natuurlike is, gedoen word. *Chrysopogon zizanioides* is in hierdie studie gebruik om die opname en akkumulasie van sink (Zn) deur hierdie plant vanuit 'n akwatiese omgewing te bestudeer. Voorbereide eksemplare van *C. zizanioides* is oor 'n tydperk van 28 dae aan verskeie sinkkonsentrasies blootgestel. Water-, wortel- en blaarmeristemonsters is op 1 uur, 7, 14 en 28 dae na sinkblootstelling versamel en verwerk, waarna die sinkinhoud met behulp van atoomabsorpsiespektrofotometrie (AAS) bepaal is. Uit die resultate is dit duidelik dat die persentasie afname van Zn in die water oor die totale blootstellingsperiode die laagste was by die hoogste sinkkonsentrasie (15 en 30 mg/L). Terwyl dit by 0.1 mg/L en 1.5 mg/L met onderskeidelik 38% en 47% teen dag 28 afgeneem het. Verder het die biokonsentrasie faktor aangedui dat die persentasie Zn opgeneem deur die wortels per massa eenheid by al die blootstellingskonsentrasies en periodes hoër as in die blare was. Wat die translokasie faktor soos bereken vir die onderskeie wortel- en blaarmonsters betref, het dit nooit 1 oorskry nie. Dit dui daarop dat die blare nie 'n prominente rol in die akkumulasie van Zn gespeel het nie. Hierdie studie het aangetoon dat *C. zizanioides* by sinkkonsentrasies van 0.1 mg/L en 1.5 mg/L effektief mag wees as fitoremediëringsplante. Langertermyn studies sou moontlik kon aandui of Zn enigins deur die blare getransporeer en gestoor word.

Sleutelwoorde: *Chrysopogon zizanioides*, fitoremediëring, sinkkonsentrasies, opname

An investigation into the uptake of zinc by *Chrysopogon zizanioides* from contaminated surface water: The elimination of metals from aquatic habitats can be achieved via various processes. Phytoremediation is generally regarded as one of the most natural processes to implement. In this work, *Chrysopogon zizanioides* was evaluated for its potential to accumulate Zn from an aquatic environment. Prepared specimens of *C. zizanioides* were exposed to various Zn concentrations over a period of 28 days. Water, root and leaf meristem samples were collected and processed 1 hour, 7, 14 and 28 days after Zn exposure and the Zn content determined by means of an atomic absorption spectrometry (AAS). The results indicate that the lowest amount of Zn was eliminated from the exposure medium prepared with the highest concentrations of Zn (15 mg/L and 30 mg/L). However, at concentrations of 0.1 and 1.5 mg/L Zn, a reduction of 38% and 47% in the initial Zn concentration was reported over the exposure period, respectively. As indicated by the bio-concentration factor, the percentage of Zn per mass unit was significantly higher in the roots than in the leaves. The translocation factor, calculated from the respective root and leaf Zn concentrations never exceeded 1, meaning that the leaves did not play a significant role in the accumulation of Zn. From this study it was evident that *C. zizanioides* can be used as an effective plant for phytoremediation. Longer term exposure will possibly reveal whether Zn can also be transported to and stored in the leaves.

Keywords: *Chrysopogon zizanioides*, phytoremediation, zinc concentrations, accumulation

Inleiding

Die kontaminasie van water en die beperkte beskikbaarheid daarvan hou ernstige bedreigings vir beide mense en die omgewing in. Klimaatverandering, vinnige verstedeliking, industrialisering, 'n verhoogde aanvraag na voedsel en die ongekontroleerde gebruik van natuurlike waterbronne word oor die algemeen beskou as van die hoofredes waarom meer as 40% van die wêreld se bevolking 'n skaarste aan water ervaar (WWD, 2018).

Industriële en huishoudelike afvalwater bevat onder andere pestisiede, olies, kleurstowwe, fenole, sianiede, toksiese organiese verbindings, fosfate, gesuspendeerde partikels en swaarmetale (Pakdel & Peighambari 2018). Kommersiële aktiwiteite, insluitend mynweë, geotermiese aanlegte, die motorbedryf, gifstofvervaardiging, leerlooierij, asook kleur en plateringsaktiwiteite, word wêreldwyd verantwoordelik gehou vir swaarmetale wat die omgewing kontamineer en wat eventueel in oppervlakwater akkumuleer (An *et al.*, 2015; Peligro *et al.*, 2016). Die eliminerings van swaarmetale uit afvalwater is egter problematies omdat dit in verskillende chemiese vorme voorkom, dit nie biodegradeerbaar is nie en maklik deur verskillende trofiese vlakke beweeg om uiteindelik in die biota te akkumuleer.

Die verwydering van afvalstowwe uit die omgewing is dus van kardinale belang om die bedreiging wat dit vir die gesondheid en oorlewing van mens en dier inhou, te minimaliseer. Prosesse wat normaalweg hiervoor gebruik word sluit onder andere omgekeerde osmose (Jiang & Ladewig 2017), ionenuitruiling (Levchuk *et al.*, 2018), chemiese presipitering (Iyyanki *et al.*, 2017; Hung *et al.*, 2017), adsorpsie en oplosmiddel ekstraksie (Burakov *et al.*, 2018) in, wat telkens met groot operasionele en onderhoudskoste gepaard gaan. Hierdie prosesse gaan nie net met hoë kapitaalinvestering gepaard nie, maar word geassosieer met logistiese struikelblokke om van die gekontamineerde slyk wat gegenereer word, ontslae te raak (Ahmad *et al.*, 2016). Dit is dus duidelik waarom 'n proses soos fitoremediëring wat van plante gebruik maak en wat weens die omgewingsvriendelikheid en potensiele koste-effektiewe toepassing daarvan, 'n waardevolle alternatief mag bied (Sharma *et al.*, 2015).

Akwatiese plante is van besondere belang omdat dit, in vergelyking met terrestriële plante, oor die vermoë beskik om toksiese metale en nutriënte in groot hoeveelhede te bio-akkumuleer (Patras *et al.*, 2012; Wani *et al.*, 2017). Gegewe die groot verskeidenheid in spesies, hul biochemiese samestelling, habitat, en verspreiding is makrofiete tot verskillende mates effektief om kontaminante te absorbeer (Wani *et al.*, 2017). Plante wat reeds vir fitoremediëring aangewend word sluit onder andere *Eichornia crassipes* (Sricoth *et al.*, 2018; Upadhyay & Tripathi 2007), *Typha latifolia* (Upadhyay & Tripathi 2007), *Hydrilla verticillata* (Rahman & Hasegawa 2011; Venkateswarlu *et al.*, 2019),

Lemna minor (Ansari *et al.*, 2020), *Phragmites australis* (Bello *et al.*, 2018) en *Chrysopogon zizanioides* (Danh *et al.*, 2009; Truong *et al.*, 2010), in.

Chrysopogon zizanioides wat in hierdie studie gebruik is, is inheems tot die subtropiese en tropiese dele van Suid-Asië (Adam en Daffon, 1998; Grimshaw & Helfer, 1995), maar kom ook in soortgelyke streke van Noord- en Suid-Amerika, Australië, die Mediterreense streke van Europa, asook Afrika voor waar dit vir verskeie ekonomiese redes gebruik word (Maffei, 2002; Truong & Hart, 2002; Danh *et al.*, 2009). Volgens Grimshaw (1997) is *C. zizanioides* in 1860 in Suid-Afrika aan die kus van KwaZulu-Natal gevestig waar dit in suikerrietlande gebruik is vir grondstabilisering. Hierdie praktyk word steeds in die suikerrietbedryf aangewend.

Chrysopogon zizanioides is 'n vinniggroeiende gras met 'n wortelstelsel wat 3 tot 4 m diep kan reik in die eerste jaar nadat dit geplant is (Singh & Kumar, 2017) en wat derhalwe uitdroging in die droë maande en oorstromings in die reënseisoen kan weerstaan (Truong, 2002; Danh *et al.*, 2009). Dit kan temperature van -15°C tot 55°C (Xia *et al.*, 1999; Danh *et al.*, 2009), 'n pH van 3.3 tot 9.5 (Truong, 2008; Danh *et al.*, 2009) en 'n elektriese geleidingsvermoë van 47.5 dS m⁻¹ oorleef (Bevan *et al.*, 2000).

Verskeie outeurs, waaronder Truong & Creighton (1994), Truong (2002), Truong *et al.*, (2010) en Vargas *et al.*, (2016) het aangetoon dat *C. zizanioides* relatiewe hoë konsentrasies van swaarmetale soos chroom (Cr), koper (Cu), lood (Pb), kwik (Hg), nikkel (Ni), mangaan (Mn), sink (Zn) en yster (Fe), asook elemente soos arseen (As) in die blare en wortels kan akkumuleer. Roongtanakiat *et al.*, (2007), Chen *et al.*, (2011) en Hasan *et al.*, (2017) het *C. zizanioides* aan oppervlakwater wat met verskillende konsentrasies metale gekontamineer was, blootgestel om vas te stel watter metale die plant effektief kan opneem. Hieruit was dit duidelik dat die oorgrote meerderheid van die metale in die wortels akkumuleer en dat veral Pb, Fe, Mn en Zn in relatiewe hoë konsentrasies in die wortels teenwoordig was (Hasan *et al.*, 2017; Antiochia *et al.*, 2007; Roongtanakiat *et al.*, 2007).

Alhoewel die literatuur verslag lewer oor die fitoremediëringseienskappe van *C. zizanioides*, veral in grond maar ook in oppervlakwater, (Cheng *et al.*, 2004; Danh *et al.*, 2007; Gautam & Agrawal, 2017; Suelee *et al.*, 2017) is navorsing wat tot dusver in Suid-Afrika, 'n mineraalryke land waarvan die landskap deur uitgebreide mynbou-aktiwiteit gekenmerk word (Sandham *et al.*, 2008), met fitoremediëring verband hou, uiters beperk. Dus is bevindinge wat reeds gemaak is, moeilik met mekaar vergelykbaar, terwyl ekstrapolasies van laboratoriumbevindinge na die natuurlike omgewing meesal onmoontlik is. Van die verskeie minerale wat in Suid-Afrika gemyn word, is Zn meestal beskou as 'n byproduk weens die feit dat dit 'n spoor element in byna alle gesteentes is (Ayres *et al.*, 2003).

Alhoewel Zn beskou word as 'n essensiële metaal vir biologieseleweende maksimum blootstellingskonsentrasie waaraan mense en akwatiese organismes volgens die "Environmental Protection Agency" (EPA), 2009 (7400 µg/L en 120 µg/L, onderskeidelik), hoog is, kan dit as gevolg van mynbou- en industriële aktiwiteite, asook geologiese verwerking in toksiese konsentrasies voorkom (Huang *et al.*, 2017; Ramos *et al.*, 2002; Roongtanakiat *et al.*, 2007).

Vervolgens het die huidige studie dit ten doel gehad om die opname en akkumulasie van Zn in *C. zizanioides*, blootgestel aan relatiewe hoë konsentrasies van die metaal, vas te stel.

Materiaal en Metodes

Eksemplare van *C. zizanioides* wat in die botaniese tuin van die Noordwes Universiteit gekweek was, is vir hierdie eksperiment gebruik. Alle studies is van Februarie 2020 – Maart 2020 met 'n gemiddelde dagtemperatuur van 29°C en sonligperiode van ±8 ure, uitgevoer. Alle *C. zizanioides* eksemplare was ten minste 30 cm hoog toe die studie aanvang geneem het. Die plante is versigtig uit die grond verwyder waarna dit in kleiner polle (om en by 13 cm in deursnee) verdeel is. Die blare is 30 cm bokant die wortelbasis afgesny om die hantering van die polle te vergemaklik. Die polle is met boorgatwater afgespoel om grond en ander debri wat tussen die wortels teenwoordig was, te verwyder. Dit is gedoen om te voorkom dat die blootstellingsmedium (boorgatwater waarin Zn opgelos was) aan die grond adsorbeer en die resultate van die blootstellingseksperiment negatief beïnvloed. Die plante is vervolgens vir drie weke in boorgatwater by 'n pH ± 5.0 in direkte sonlig gelaat om te akklimatiseer.

Sinkblootstelling het plaasgevind in 15 L poliëtileenhouders wat vooraf met 'n seep-oplossing gevolg deur 1% chemiesuiwer salpetersuur (HNO₃) en dubbelgedistilleerde water gewas was. 'n Moeder-oplossing van 1000 mg/L Zn (as sinkchloried) is voorberei deur 2.08 g ZnCl₂ in dubbelgedistilleerde water by 'n pH van ± 5.0 op te los (Kamel *et al.*, 2004). Die pH van die blootstellingmedium was aangepas na 4.5 tot 5 om te verseker dat die plante voortdurend aan Zn-ione blootgestel word (Li *et al.*, 2019). Blootstellingskonsentrasies van 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L is in vier verskillende poliëtileenhouders aangemaak tot 10 L met boorgatwater (pH ± 5.0). Homogene oplossings is verkry deur saamgeperste lug vir 1 uur deur elk van die houders te borrel. Hierna is 'n 10 ml watermonster uit elk van die houders versamel om die aanvanklike blootstellingskonsentrasies te bepaal. Vier ander houders gevul met skoon boorgatwater het as die onderskeie kontroles gedien.

Die voorafbereide *C. zizanioides* eksemplare is vervolgens elk verder in 20 kleiner eksemplare verdeel, waarvan die wortelmassas van 95 tot 100-gram gewissel het. 'n Geringe

hoeveelheid wortel- en blaarmonsters is voor blootstelling van elke kleiner eksplaar versamel wat as kontrole-monsters gedien het. Hierna is die plante oorgedra na die onderskeie blootstellingsmediums in 'n kweekhuis wat aan alle natuurlike elemente blootgestel was, maar algemene beskutting gebied het teen reënwater. Die deksels van die blootstellingshouders het bestaan uit ligdeurlatende poliëtileen kweekhuisplastiek met 'n opening waardeur die blare van die *C. zizanioides* gestek het. Dit het verlies van die blootstellingsmedium deur verdamping bekamp terwyl die kante van die blootstellingshouders daarna met 'n ondeurskynende film bedek is om algroei te beperk. Tien milliliter watermonsters en 'n klein hoeveelheid wortel- en blaarmonsterweefsel (±0.2 g) is na 1 uur, 7, 14 en 28 dae uit elk van die blootstellingshouders versamel. Hierna is die monsters ondersoek vir sinkkonsentrasie.

Die bepaling van sinkkonsentrasies

Watermonsters

Watermonsters is vanaf elk van die blootstellinghouders na 15 ml hoë digtheids-poliëtileenbuis oorgedra en by 4°C gestoor tot verdere ontleding. Hierdie watermonsters is voor Zn-analises gefiltreer en vervolgens met behulp van die vlamfasiliteit van 'n gekalibreerde Perkin Elmer (PinAAE 900F) atoomabsorpsiespektrofotometer (AAS) geanaliseer en die data is gedokumenteer.

Plantmonsters

Plantmonsters is van elk van die blootstellinghouders met behulp van 'n vlekvrystaal disseksieskêr afgesny en met 'n vlekvrystaal tangetjie na hoë digtheids-poliëtileenhouders oorgedra. Dit is vervolgens vlugtig in dubbelgedistilleerde water afgespoel om oortollige blootstellingsmedium van die plantoppervlakke te verwyder. Die weefselmonsters is hierna na porseleinkroesies oorgedra en vir 72 uur by 65°C gedroog. Massas van 0.05 g wortel- en blaarmonsters is met behulp van 'n digitale skaal afgeweg en na 'n teflon-verteringshouer van 150 mm x 150 mm x 40 mm, voorsien van 86 verteringsputte (3 cm³ elk) en digsluitende teflon-proppies, oorgedra. Elke verteringsput was gevul met 1 ml 65% chemiesuiwer HNO₃ en vir 24 uur oorgelaat om die oormatige gas wat as gevolg van die reaksie tussen die plantweefsel en die HNO₃ ontwikkel het, toe te laat om te ontsnap. Die putte is hierna met die teflonproppies geseël en die monsters verder in 'n oond by 65°C vir 24 uur verter. Die verteerde inhoud van elke put is hierna met behulp van 'n pipet na 15 ml hoëdigtheids-poliëtileen sentrifuge-buis oorgedra waarna 9 ml dubbelgedistilleerde water by elke buis gevoeg is. Die inhoud van die buise is hierna vir 3 minute by 4000 rpm gesentrifugeer en die supernatant na soortgelyke buise gedekanteer en afgesluit met 'n gepaste prop tot verdere analises uitgevoer is. Hierdie plantmonsters is soos bo verduidelik vir die teenwoordigheid van Zn ondersoek.

Dataverwerking

Die translokasie faktor (TF) verteenwoordig die verhouding van swaarmetale in die wortel- en blaarkomponente van die plantweefsel (Meeinkuit *et al.*, 2016).

Die TF is met behulp van die volgende vergelyking bepaal:

$$TF = \frac{\text{Metaal konsentrasie (blaarweefsel)}}{\text{Metaal konsentrasie (wortelweefsel)}}$$

Die biokonsentrasie faktor (BKF) is aanduidend van waar die metale wat deur die plant opgeneem word, hoofsaaklik akkumuleer (Zou *et al.*, 2012) en word as volg bereken:

$$BKF = \frac{\text{Metaal konsentrasie (plantweefsel)}}{\text{Metaal konsentrasie (blootstellingsmedium)}}$$

Statistiese analises

Die data is geanaliseer deur gebruik te maak van 'n tweerigting ANOVA en veelvuldige vergelykings om te bepaal of die konsentrasie Zn in die water betekenisvol ($P < 0.05$ waarde) van die konsentrasies van die wortels en blare teenoor tyd verskil. GraphPad Prism 8.0.2 was vir die statistiese analise gebruik.

Resultate en Bespreking

Blootstellingsmedium

Tabel 1 en Tabel 2 verteenwoordig die gemiddelde sink-konsentrasies en die standaardafwykings van die kontrole asook dié van die 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L blootstellingsmediums per blootstellingperiode. Die gemiddelde persentasie Zn wat by elke blootstellingskonsentrasie uit die blootstellingsmediums opgeneem is, word ook in hierdie tabel, sowel as Figuur 1, aangedui. Die gemiddelde

wortelmasse wat aan al die konsentrasies blootgestel was, het gewissel van 95 g tot 100 g nat materiaal.

Uit Tabel 1 is dit duidelik dat die gemiddelde Zn agtergrondkonsentrasie uit 16 monsters boorgatwater wat oor 'n periode van 28 dae geneem is, 0.151 ± 0.035 was. Wat die afname van Zn by al die konsentrasies betref, is dit duidelik dat daar 1 uur na blootstelling geen Zn uit enige van die blootstellingsmediums opgeneem was nie. Inteenstelling hiermee het die sinkkonsentrasies in die blootstellingsmediums na 7 dae by 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L onderskeidelik verminder na 0.219 ± 0.027 , 1.401 ± 0.070 , 13.435 ± 0.297 en 27.653 ± 0.916 mg/L. Na 14 dae was hierdie waardes vir die ooreenstemmende blootstellingskonsentrasies 0.194 ± 0.046 , 1.138 ± 0.171 , 12.901 ± 0.541 en 26.059 ± 0.556 mg/L onderskeidelik en na 28 dae 0.154 ± 0.031 , 0.883 ± 0.212 , 11.693 ± 0.338 en 21.937 ± 1.160 mg/L. Dit is verder duidelik dat wat die totale persentasie afname van Zn oor 28 dae betref, dit vir 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L onderskeidelik 38.35%, 46.45%, 22.81% en 27.24% was. (Tabel 1).

Alhoewel die sinkkonsentrasies in die water by al die blootstellingsmediums oor tyd afgeneem het, is betekenisvolle afnames tussen die konsentrasies soos gemeet na 1 uur en 7 dae, na 1 uur en 14 dae en na 1 uur en 28 dae blootstelling aan 0.1 mg/L ($P < 0.05$) waargeneem. Inteenstelling hiermee het die konsentrasies wat na 1 uur en 7 dae blootstelling en na 7 en 28 dae blootstelling by beide 1.5 mg/L en 15 mg/L blootstellingsdosisse gemeet is, betekenisvol verskil. Dit is egter opvallend dat die konsentrasie gemeet na 1 uur en 14 dae, na 1 uur en 28 dae en na 14 en 28 dae ook by die 30 mg/L blootstellingsdosis betekenisvol verskil het. Dit dui daarop dat die opname van Zn uit die blootstellingsmediums oor tyd gevarieer het.

TABEL 1: Die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole sowel as die 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L blootstellingsmediums oor 'n periode van 28 dae

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Blootstellings-periode	Sinkkonsentrasie gemeet in mg/L				Gemiddelde en STDV	Die persentasie afname in Zn
		Replikaat					
		A	B	C	D		
Kontrole	1 uur	0.161	0.135	0.136	0.123	0.139±0.0016	0
	7 dae	0.182	0.139	0.142	0.181	0.161±0.024	0
	14 dae	0.151	0.132	0.128	0.23	0.145±0.019	0
	28 dae	0.18	0.181	0.111	0.131	0.151±0.035	0
0.1	1 uur	0.282	0.279	0.292	0.288	0.285±0.006	-14.558
	7 dae	0.237	0.215	0.182	0.24	0.219±0.027	12.249
	14 dae	0.203	0.193	0.135	0.246	0.194±0.046	21.988
	28 dae	0.109	0.183	0.163	0.159	0.154±0.031	38.353
1.5	1 uur	1.642	1.693	1.509	1.693	1.634±0.087	0.902
	7 dae	1.35	1.434	1.337	1.485	1.401±0.070	15.017
	14 dae	0.934	1.175	1.099	1.345	1.138±0.171	30.981
	28 dae	0.574	1.054	0.967	0.937	0.883±0.212	46.452
15	1 uur	14.324	14.928	14.01	14.339	14.4±0.383	4.943
	7 dae	13.253	13.635	13.117	13.735	13.435±0.297	11.314
	14 dae	12.315	13.322	12.567	13.398	12.901±0.541	14.843
	28 dae	11.685	12.167	11.534	11.387	11.693±0.338	22.812
30	1 uur	29.137	30.681	30.483	29.703	30.001±0.714	0.491
	7 dae	27.653	27.225	28.984	26.751	27.653±0.961	8.278
	14 dae	26.261	26.613	26.062	25.298	26.059±0.556	13.568
	28 dae	20.342	22.529	23.003	21.872	21.937±1.160	27.24

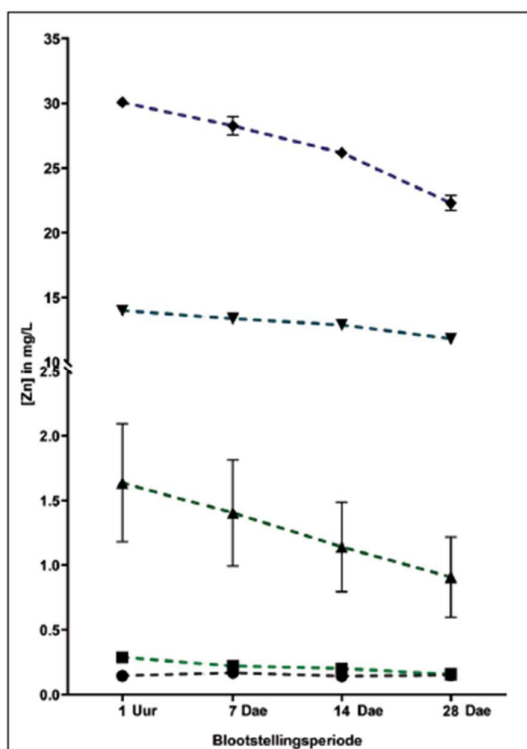


FIGURE 1: 'n Grafiese voorstelling om die afname van Zn in die kontrole (●) en blootstellingskonsentrasie van 0.1 (■), 1.5 (▲), 15 (▼) en 30 (◆) mg/L oor 'n blootstellingsperiode van 28 dae aan te dui

Wortels

In Tabel 3, word die gemiddelde sinkkonsentrasie en die standaardafwyking van die kontrole-wortels sowel as wortels wat vir 1 uur, 7, 14 en 28 dae aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L Zn blootgestel was, weergegee. Die gemiddelde agtergrond sinkkonsentrasie is in agt replikate van gedroogde wortelhaarmonters met 'n gemiddelde massa van $0.05 \text{ mg} \pm 0.0011 \text{ mg}$ bepaal. Alhoewel die kontrole plante aan geen Zn blootgestel was nie, het daar wel 'n toename van Zn in die wortels oor die periode van 28 dae voorgekom. Die oorsprong van hierdie Zn is waarskynlik afkomstig van dit wat normaalweg in boorgatwater teenwoordig is. Dit is verder duidelik dat alhoewel daar na 1 uur geen merkbare verlies aan Zn uit die blootstellingsmedium waarneembaar was nie, het Zn reeds na hierdie periode in die plantwortels begin akkumuleer. Die waardes wat onderskeidelik na 1 uur by 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L in die wortels gemeet was, was in dié geval 12.71 ± 9.30 , 33.55 ± 14.55 , 68.36 ± 12.07 en $125.72 \pm 38.27 \text{ mg/L}$. Bogenoemde konsentrasies het teen dag 7 by die onderskeie blootstellingsmediums na onderskeidelik 34.32 ± 9.11 , 62.06 ± 26.67 , 160.12 ± 114.45 en $204.03 \pm 118.38 \text{ mg/L}$ toegeneem. Na 14 dae was dit 33.24 ± 24.94 , 154.51 ± 32.88 , 251.71 ± 60.32 en $228.25 \pm 48.14 \text{ mg/L}$, en na 28 dae 58.85 ± 9.81 , 251.17 ± 68.07 , 284.29 ± 82.11 en $336.45 \pm 138.11 \text{ mg/L}$. Dit is uit hierdie resultate duidelik dat die toename van Zn in die wortels gepaard gegaan het met 'n afname in die water wat daarop dui dat *C. zizanioides* as 'n hiperakkumuleerder

TABEL 2: Die statistiese verskille ($P < 0.05$) soos gevind by die verskillende konsentrasies en blootstellingsperiodes

Blootstellings-periode	Betekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie uit die water oor tyd				
	Kontrole	0.1 mg/L	1.5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1 uur en 7 dae		*	*		
1 uur en 14 dae		*			*
1 uur en 28 dae		*			*
7 dae en 14 dae					
7 dae en 28 dae				*	*
14 dae en 28 dae					*

*($P < 0.05$)

TABEL 3: Die gemiddelde en standaardafwyking van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole wortels sowel as die wat aan 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L Zn blootgestel was oor 'n periode van 28 dae

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Blootstellings-periode	Sinkkonsentrasie gemeet in wortels (mg/L)				Gemiddelde en STDV
		Replikate				
		A	B	C	D	
Kontrole	1 uur	0.04	0	0	0.08	0.03±0.04
	7 dae	1.78	2.08	1.49	0.17	1.38±0.84
	14 dae	0.66	2.1	2.44	0.23	1.36±1.08
	28 dae	0.16	1.58	2.33	3.2	1.82±1.29
0.1	1 uur	0.08	21.66	16.54	10.18	12.71±9.30
	7 dae	26.5	13.37	30.51	34.32	34.32±9.11
	14 dae	63.14	44.23	10.12	15.45	33.24±24.94
	28 dae	54.5	73.55	53.59	53.74	58.84±9.81
1.5	1 uur	33.03	51.88	33.02	16.27	33.55±14.55
	7 dae	70.4	68.97	85.25	23.6	62.06±26.67
	14 dae	133.9	153.62	201.22	129.31	154.51±32.87
	28 dae	192.01	334.32	199.18	279.18	251.17±68.07

TABEL 3: Die gemiddelde en standaardafwyking van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole wortels sowel as die wat aan 0.1, 1.5, 15 en 30 mg/L Zn blootgestel was oor n periode van 28 dae (vervolg)

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Blootstellings-periode	Sinkkonsentrasie gemeet in wortels mg/L				Gemiddelde en STDV
		Replikate				
		A	B	C	D	
15	1 uur	67.75	76.85	51.5	77.33	68.36±12.07
	7 dae	60.91	317.74	92.8	169.04	160.12±114.45
	14 dae	310.92	261.95	266.44	167.51	251.70±60.33
	28 dae	327.32	272.58	362.83	174.43	284.29±82.11
30	1 uur	135.27	175.79	98.94	92.87	125.72±38.27
	7 dae	129.3	129.36	378.03	179.44	204.03±118.38
	14 dae	251.16	285.1	191.15	185.6	228.25±48.14
	28 dae	368.22	454.38	386.31	136.9	336.45±138.11

beskou kan word (Yang *et al.*, 2003; Antiochia *et al.*, 2007). Hierdie verskynsel is ook by akwatiese plante soos *Eichhornia crassipes* (Newete *et al.*, 2016), *Thypha latifolia* (Duman *et al.*, 2015) en *Hydrilla verticillata* (Xue *et al.*, 2010) waargeneem (Bai *et al.*, 2018).

Uit Tabel 4 is dit duidelik dat die konsentrasie Zn slegs na 1 uur en 28 dae blootstelling by die 0.1 mg/L dosis betekenisvol van mekaar verskil het. Inteenstelling hiermee het betekenisvolle verskille ook na 1 uur en 14 dae, 1 uur en 28 dae asook na 7 en 14 dae by 1.5 mg/L Zn voorgekom. 'n Betekenisvolle verskil is ook waargeneem by die 15 mg/L en 30 mg/L blootstellingskonsentrasies wanneer die 1 uur en 14 dae blootstellingsperiodes met mekaar vergelyk word.

Blare

Soos in die materiaal en metodes gemeld, is die meristematie weefsel aan die basis van die blare vir hierdie analises geselekteer. Tabel 5 verteenwoordig die gemiddeldes en standaardafwykings van die sinkkonsentrasies wat in die kontrole-, asook die blaarweefsel wat aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L sinkkonsentrasies blootgestel was, gevind is. Die agtergrond sinkkonsentrasie was in agt blaarmonsterreplikate bepaal. Die gemiddelde sinkkonsentrasies na 1 uur blootstelling aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L was onderskeidelik 0.71 ± 1.41 , 0.9 ± 1.8 , 3.14 ± 2.82 en 4.82 ± 5.99 mg/L. Na sewe dae was hierdie waardes onderskeidelik 4.815 ± 4.56 , 7.57 ± 5.57 , 11.12 ± 9.74 en 60.53 ± 29.15 mg/L terwyl dit vir dieselfde konsentrasiereeks na 14 dae, 4.251 ± 5.99 , 16.59 ± 15.07 , 43.61 ± 12.28 en 72.36 ± 17.92 mg/L was. Na 28 dae was dit 3.77 ± 3.27 , 26.22 ± 15.59 , 61.7 ± 25.54 en 102.51 ± 18.38 mg/L. Hierdie konsentrasies was, indien dit met die wortels wat vir dieselfde tyd en aan dieselfde konsentrasies blootgestel was vergelyk word, aansienlik laer. Dit is in ooreenstemming met die literatuur wat deurgaans gevind het dat Zn

wat in *C. zizanioides* blare akkumuleer laer is as die in wortels (Rai, 2008).

Vergelykings tussen die verskillende gemete konsentrasies (Tabel 6) het aangetoon dat daar slegs tussen 1 uur en 14 dae blootstelling 'n betekenisvolle toename ($P < 0.05$) by 'n blootstellingskonsentrasie van 15 mg/L was. By 30 mg/L was daar tussen 1 uur en 14 dae asook 1 uur en 28 dae betekenisvolle toenames in die blare gemeet gevind.

Uit bogenoemde resultate is die biokonsentrasie- (BKF) asook translokasiefaktore (TF) bereken (Tabel 7). Die BKF verteenwoordig die vergelyking tussen die hoeveelheid metaal deur die plant opgeneem met die metaalkonsentrasie in die blootstellingsmedium, terwyl die TF die metaalkonsentrasies in die wortels teenoor die hoeveelheid metale in die blare opgeneem, voorstel. Indien hierdie waardes > 1 is, dui dit daarop dat *C. zizanioides* as fitoremediëeringsplant aangewend kan word (Mishra & Pandey, 2019). Net sewe uit 'n totaal van 40 waardes was < 1 . Die < 1 waarde na 1 uur by die kontrole wortels en blare is waarskynlik daaraan toe te skryf dat hierdie plante slegs aan die Zn wat natuurlik in boorgatwater voorkom, blootgestel was. Die geringe variasie in blaarwaardes (wat by die blaarweefsels nooit bo 1.69 was nie), is moontlik toe te skryf aan monsters wat in ouderdom gevarieer het en nie dieselfde hoeveelheid meristematie weefsel, wat hoofsaaklik by metaalopname betrokke is, besit het nie (Seregin *et al.*, 2011). Dit is verder uit hierdie tabel opvallend dat alle waardes wat in die wortels gevind is, > 1 was en gevarieer het van 8.5 mg/L (kontrole-wortels na 7 dae) tot 383.4 mg/L by 0.1 mg/L na 28 dae. Die hoë waardes wat in die wortels gevind is, dui waarskynlik op 'n akkumulering van Zn in die wortels (Antiochia *et al.*, 2007). Die laer BKF waardes by 15 en 30 mg/L kan moontlik, onder andere, toegeskryf word aan die diffusietempo (Krzeslowska, 2011), versteuring van

TABEL 4: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die wortels

Blootstellings-periode	Betekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie in die wortels oortyd			
	0.1 mg/L	1.5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1 uur en 7 dae				
1 uur en 14 dae		*	*	**
1 uur en 28 dae	*	*		
7 dae en 14 dae		*		
7 dae en 28 dae				
14 dae en 28 dae				

* ($P < 0.05$)

membraantransporters (Hall, 2002; Patra *et al.*, 2004), sekwestrasie van metale in die wortel-vakuole (Shanker *et al.*, 2005), asook weerstand wat die plante toon teen verdere toksiese effekte a.g.v. die relatiewe hoë blootstellings-konsentrasies.

Wat die TF waardes betref is dit opvallend dat geen van hierdie waardes >1 by enige van die blootstellings-konsentrasie gevind was nie. Dit is moontlik toe te skryf aan die moontlikheid dat 28 dae onvoldoende is om Zn in beduidende konsentrasies na die blare te vervoer.

TABEL 5: Die gemiddelde en standaardafwyking (STDV) van die sinkkonsentrasie teenwoordig in die kontrole blare sowel as die wat aan 0.1 mg/L, 1.5 mg/L, 15 mg/L en 30 mg/L Zn blootgestel was oor 'n periode van 28 dae

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Blootstellings-periode	Sinkkonsentrasie gemeet in wortels (mg/L)				Gemiddelde en STDV
		Replikate				
		A	B	C	D	
Kontrole	1 uur	0	0	0	0	0.000±0.00
	7 dae	0	2.99	3.6	0	1.648±1.92
	14 dae	1.03	2.96	0	1.58	1.393±1.23
	28 dae	0.35	2.35	2.02	0	1.182±1.18
0.1	1 uur	0	0	0	2.82	0.71±1.41
	7 dae	7.66	9.67	0	1.93	4.82±4.59
	14 dae	0	0	4.16	12.7	4.22±5.99
	28 dae	2.14	5.95	6.99	0	3.77±3.27
1.5	1 uur	3.6	0	0	0	0.90±1.80
	7 dae	1.89	6.97	6.21	15.22	7.57±5.57
	14 dae	12.88	17.07	36.4	0	16.59±15.07
	28 dae	21.66	49.18	19.37	14.65	26.21±15.59
15	1 uur	4.05	1.37	0.44	6.7	3.14±2.83
	7 dae	2.79	24.06	13.14	4.49	11.12±9.75
	14 dae	54.5	28.96	37.99	52.98	43.61±12.28
	28 dae	44.92	35.62	76.97	89.29	61.70±25.53
30	1 uur	13.58	2.97	2.73	0	4.82±5.99
	7 dae	92.76	38.09	77.53	33.75	60.53±29.15
	14 dae	88.82	46.86	77.5	76.27	72.36±17.92
	28 dae	79.7	99.67	106.49	124.17	102.51±18.38

TABEL 6: Die statistiese verskille $P < 0.05$ by die verskillende blootstellingskonsentrasies en periodes in die blare

Blootstellings-periode	Betekenisvolle verskille in sinkkonsentrasie in die blare oor tyd				
	Kontrole	0.1 mg/L	1.5 mg/L	15 mg/L	30 mg/L
1 uur en 7 dae					
1 uur en 14 dae				*	*
1 uur en 28 dae					*
7 dae en 14 dae					
7 dae en 28 dae					
14 dae en 28 dae					

*($P < 0.05$)

TABEL 7: Die Translokasie faktor (TF) en biokonsentrasie faktor (BKF) vir *C. zizanioides* in verskillende blootstellingsmediums en oor 'n tydperk van 28 dae.

Blootstellings-konsentrasie in mg/L	Blootstellings-tydperk	TF (mg/L)	BKF Wortels (mg/L)	BKF Blare (mg/L)
Kontrole	1 uur	0	0.22	0
	7 dae	1.14	8.56	0.92
	14 dae	0.67	9.36	1.06
	28 dae	0.86	12.05	1
0.1 mg/L	1 uur	0.04	44.56	0.67
	7 dae	0.26	157.08	1.02
	14 dae	0.13	171.1	0.83
	28 dae	0.06	383.35	1.07
1.5 mg/L	1 uur	0.02	20.53	0.67
	7 dae	0.11	44.28	1.15
	14 dae	0.18	135.76	1.05
	28 dae	0.13	284.46	1.25
15 mg/L	1 uur	0.04	4.75	1.05
	7 dae	0.07	11.92	1.07
	14 dae	0.21	19.51	1.56
	28 dae	0.27	24.31	1.42
30 mg/L	1 uur	0.03	4.19	0.89
	7 dae	0.28	7.38	1.35
	14 dae	0.44	8.76	1.6
	28 dae	0.25	15.337	1.7

In hierdie verband is dit bekend dat Zn in die ioonvorm as Zn^{2+} deur *C. zizanioides* opgeneem word (Gupta *et al.*, 2016), maar in sommige gevalle kan organiese ligand-Zn komplekse ook deur plante opgeneem word. Die konsentrasie van swaarmetaalblootstelling en die totale droë massa van die plantmonster (wat aanduidend is van die oorspronklike blootgestelde plantmassa), is twee belangrike faktore wat die omvang van metaalopname bepaal (Roongtanakiat *et al.*, 2007). Dit gesê, die kwaliteit afvalwater en die swaarmetaalkonsentrasie het egter andersyds weer 'n effek op die groei van *C. zizanioides* en kan tot 'n afname in die elemineringseffektieweiteit lei (Roongtanakiat *et al.*, 2007). Die akkumulasie van Zn in *C. zizanioides* wortels is nouliks verwant aan die graad van toleransie waarvoor *C. zizanioides* beskik. *Chrysopogon zizanioides* is een van die plante wat oor die potensiaal beskik om metale vanaf die wortels via xileem na verskeie plantdele te translokeer (Sricoth *et al.*, 2018). Metale word oor die algemeen in blaarvakuole gesekwestreer om toksiese effekte te verminder of te vermy (Yang *et al.*, 2005). Volgens die bestaande literatuur word Zn hoofsaaklik in die wortels van *C. zizanioides* gestoor en in klein hoeveelhede na die blare getranslokeer (Yang *et al.*, 2003; Roongtanakiat *et al.*, 2007 en Singh *et al.*, 2007). Betekenisvolle immobilisering van metale kan bereik word deur middel van wortel-metaalbindings wat as 'n toleransie-meganisme beskou kan word, terwyl vakuolêre kompartmentalisering in bognondse plantselle kan voorkom. Die opname van Zn deur *C. zizanioides* is relatief hoog en word toegeskryf aan die feit dat dit 'n essensiële metaal is wat nodig is vir groei en metabolisme en wat vir fotosintese en katalitiese aktiwiteite benodig word (Tkalec *et al.*, 2014; Sricoth *et al.*, 2018).

Gevolgtrekking

Dit het uit hierdie studie aan die lig gekom dat, alhoewel beide die wortels en blare van *C. zizanioides* Zn tydens die blootstellingsperiode opgeneem het, hierdie verskynsel meer opsigtelik in die wortels is en dat dit by konsentrasies hoër as 0.1mg/L voorkom. Wat die BKF tussen die blootstellingsmedium aan die eenkant en wortels en blare aan die ander kant betref, is dit duidelik dat die wortels van *C. zizanioides* Zn tot 'n groot mate akkumuleer. Die relatief lae TF waardes wat tussen wortels en blare bereken is, dui daarop dat die blare tydens die blootstellingsperiode van 28 dae nie 'n prominente rol in die akkumulasie van Zn gespeel het nie. Die bevindinge van hierdie studie ondersteun en bevestig vorige afleidings in die literatuur dat *C. zizanioides* as 'n fitoremediëeringsplant in 'n akwatiese omgewing aangewend kan word. Dit moet egter in ag geneem word dat die sukses van fitoremediëering tot 'n groot mate bepaal sal word deur die massa plante wat per volume water gebruik word, die vloeiensnelheid van die water, die tyd van blootstelling, of die Zn versadigingsvlakke in die plante sal bereik asook of die plante, lewend of dood, weer geakkumuleerde Zn in die water sal vrygestel. Om antwoorde op hierdie vrae te verkry, is die outeurs van mening dat studies oor 'n langer termyn en onder meer natuurlike omstandighede uitgevoer waar-skyndik nodig sal wees.

Erkenning

Hiermee bedank ons die Skool vir Biologiese Wetenskappe aan die Noordwes-Universiteit, Potchefstroom, vir die verskaffing van infrastruktuur, Hannes Erasmus, vir hulp met metaalanalises en De Wet Wolmarans vir statistiese analises en taalversorging. Hierdie publikasie is bydrae nommer 558 van die Waternavorsingsgroep van die Noordwes-Universiteit.

Outeursbydrae

L.K (Noordwes-Universiteit) en C.T.W (Noordwes-Universiteit) was betrokke by die beplanning van die projek, versameling van plante en eksperimentele opstelling, die verwerking van die resultate asook die skryf van die manuskrip. V.W. (Noordwes-Universiteit) was betrokke by die beplanning en skryf van die manuskrip.

Mededingende belange

Die outeurs verklaar dat hulle geen finansiële of persoonlike verhoudings het wat hulle op 'n voordelelike of nadelige wyse by die skryf van die artikel beïnvloed het nie.

ORCID

Lesley Keay: <https://orcid.org/0000-0002-2850-4732>
Victor Wepener: <https://orcid.org/0000-0002-9374-7191>
Cornelius T Wolmarans: <https://orcid.org/0000-0001-7585-1158>

Literatuur

- Ahmad, T., Ahmad, K., Alam, M. 2016. Characterization of wastewater treatment plant's sludge and its safe disposal options. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 950-955. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.088>.
- An, B., Lee, C.G., Song, et al. 2015. Applicability and toxicity evaluation of an adsorbent based on jujube for the removal of toxic heavy metals. *Reactive and Functional Polymers*, 93, 138-147. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2015.06.009>.
- Antiochia, R., Campanella, L., Ghezzi, P., Movassaghi, K. 2007. The use of vetiver for remediation of heavy metal soil contamination. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 388(4), 947-956. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1268-1>.
- Ayres, R.U., Ayres, L.W., Råde, I. 2003. Lead, Zinc and Other Byproduct Metals. In *The Life Cycle of Copper, Its Co-Products and Byproducts* (pp. 101-147). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3379-3_4.
- Ansari, A.A., Naeem, M., Gill, S.S., AlZualbi, F.M. 2020. Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(4), 371-376. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.03.002>.
- Bai, L., Liu, X.L., Hu, J., et al. 2018. Heavy metal accumulation in common aquatic plants in rivers and lakes in the Taihu Basin. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(12), 2857. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122857>.
- Bello, A.O., Tawabini, B.S., Khalil, A.B., Boland, C.R., Saleh, T.A. 2018. Phytoremediation of cadmium, lead and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems. *Ecological Engineering*, 120, 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.035>.
- Bevan, O., Truong, P.N. and Wilson, M. 2000. The use of vetiver grass for erosion and sediment control at the Australian Bentonite Mine in Miles, Queensland. *Proc. Fourth Innovative Conf. Australian Minerals and Energy Environment Foundation: on the threshold: Research into Practice*. August 2000, Brisbane, Australia, pp. 124-128.
- Burakov, A.E., Galunin, E.V., Burakova, I.V., et al. 2018. Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 148, 702-712. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.034>.
- Chen, Y., Shen, Z., Li, X. 2004. The use of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *Applied Geochemistry*, 19(10), 1553-1565. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.02.003>.
- Danh, L.T., Truong, P.N., Mammucari, R., Tran, T., Foster, N. 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: a choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. *International Journal of Phytoremediation*, 11(8), 664-691. <https://doi.org/10.1080/15226510902787302>.

- Duman, F., Urey, E., Koca, F.D. 2015. Temporal variation of heavy metal accumulation and translocation characteristics of narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(22), 17886-17896. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4979-4>.
- EPA, U. 2009. National recommended water quality criteria. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology.
- Gautam, M., Agrawal, M. 2017. Phytoremediation of metals using vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) grown under different levels of red mud in sludge amended soil. *Journal of Geochemical Exploration*, 182, 218-227. <https://doi.org/10.1016/j.jgeoexp.2017.03.003>.
- Grimshaw, R., Helfer, L. 1995. Vetiver grass for soil and water conservation, land rehabilitation, and embankment stabilization: A collection of papers and newsletters. 23rd ed. Washington, DC: World Bank.
- Gupta, N., Ram, H., Kumar, B. 2016. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 15(1), 89-109. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9390-1>.
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1-11. <https://doi.org/10.1093/jxb/etb336.1>.
- Hasan, S. N. M. S., Kusin, F. M., Lee, A. L. S., et al. 2017. Performance of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for phytoremediation of contaminated water. In *MATEC web of conferences*, 103, 6003. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201710306003>.
- Huang, S. H., Li, Q., Yang, Y., et al. 2017. Risk assessment of heavy metals in soils of a lead-zinc mining area in Hunan Province (China). *Chemistry in Industry*, 66(3-4), 173-178. <https://doi.org/10.15255/KUI.2016.049>.
- Jiang, S., Li, Y., Ladewig, B.P. 2017. A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. *Science of the Total Environment*, 595, 567-583. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.235>.
- Krzyszowska, M. 2011. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 35-51. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0581-z>.
- Levchuk, I., Márquez, J.J.R., Sillanpää, M. 2018. Removal of natural organic matter (NOM) from water by ion exchange-A review. *Chemosphere*, 192, 90-104. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.101>.
- Maffei, M. 2002. Introduction to the Genus *Vetiveria*. In: *Vetiveria*. The Genus *Vetiveria*, London and New York: Taylor and Francis Publishers. pp. 1-18. <https://doi.org/10.1201/9780203218730>.
- Meenikurt, W., Knutachue, M., Pichtel, J., Phantisampan, T., Saengwilai, P. 2016. Influence of organic amendments on phytostabilization of Cd-contaminated soil by *Eucalyptus camaldulensis*. *Science Asia*, 42(2), 83-91. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2016.42.083>.
- Mishra, T., Pandey, V.C. 2019. Phytoremediation of red mud deposits through natural succession. In *Phytomanagement of polluted sites* (pp. 409-424). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00016-8>.
- Newett, S.W., Erasmus, B.F., Weisenby, I.M., Byrne, M.J. 2016. Sequestration of precious and pollutant metals in biomass of cultured water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20805-20818. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7292-y>.
- Pakdel, P.M., Peighambari, S.J. 2018. A review on acrylic based hydrogels and their applications in wastewater treatment. *Journal of environmental management*, 217, 123-143. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.076>.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandyopadhyay, B., Sharma, A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52(3), 199-223. <https://doi.org/10.1016/j.enxepbot.2004.02.009>.
- Pelgro, F.R., Pavlovic, I., Rojas, R., Barriga, C. 2016. Removal of heavy metals from simulated wastewater by in situ formation of layered double hydroxides. *Chemical Engineering Journal*, 306, 1035-1040. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.08.054>.
- Rahman, M.A., Hasegawa, H. 2011. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, 83(5), 633-646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.045>.
- Rai, P.K. 2008. Heavy metal pollution in aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an Eco sustainable approach. *International Journal of Phytoremediation*, 10(2), 133-160. <https://doi.org/10.1080/15226510801913918>.
- Ramos, R. L., Jacome, L. B., Barron, J. M., Rubio, L. F., Coronado, R. G. 2002. Adsorption of zinc (II) from an aqueous solution onto activated carbon. *Journal of hazardous materials*, 90(1), 27-38. [https://doi.org/10.1016/S0944-3894\(01\)00333-8](https://doi.org/10.1016/S0944-3894(01)00333-8).
- Roongtanakiat, N., Tangruangkiat, S., Meesat, R. 2007. Utilization of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) for removal of heavy metals from industrial wastewaters. *Science Asia*, 33(4), 397-403.
- Sandham, L. A., Hoffmann, A. R. and Retief, F. P. 2008. Reflections on the quality of mining EIA reports in South Africa. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 108(11), 701-706.
- Seregin, I.V., Kozhevnikova, A.D., Gracheva, V.V., Bystrova, E.I., Ivanov, V.B. 2011. Tissue zinc distribution in maize seedling roots and its action on growth. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 109-117. <https://doi.org/10.1134/S1021443711010171>.
- Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S. 2005. Chromium toxicity in plants. *Environment international*, 31(5), 739-753. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003>.
- Sharma, S., Singh, B., Manchanda, V.K. 2015. Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 946-962. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3635-8>.
- Singh, S.K., Juwarkar, A.A., Kumar, S., Meshram, J., Fan, M. 2007. Effect of amendment on phytoextraction of arsenic by *Vetiveria zizanioides* from soil. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 4(3), 339-344. <https://doi.org/10.1007/BF03326291>.
- Singh, S., Sounderajan, S., Kumar, K., Fulzele, D.P. 2017. Investigation of arsenic accumulation and biochemical response of in vitro developed *Vetiveria zizanioides* plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 145, 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.013>.
- Sricoth, T., Meenikurt, W., Saengwilai, P., Pichtel, J., Taepayoon, P. 2018. Aquatic plants for phytostabilization of cadmium and zinc in hydroponic experiments. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14964-14976. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1714-y>.
- Suelee, A. L., Hasan, S. N. M. S., Kusin, F. M., Yusuff, F. M., Ibrahim, Z. Z. 2017. Phytoremediation potential of vetivergrass (*Vetiveria zizanioides*) for treatment of metal-contaminated water. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(4), 158. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3349-x>.
- Tkalec, M., Štefanić, P.P., Cvjetko, P., et al. 2014. The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. *Plos one*, 9(1), 87582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087582>.
- Truong, P.N., Creighton, C. 1994. Report on the potential weed problem of Vetiver grass and its effectiveness in soil erosion control in Fiji. Division of Land Management, Brisbane, Australia, Queensland Department of Primary Industry.
- Truong, P. 1999. Vetiver grass technology for mine rehabilitation. Bangkok: Office of the Royal Development Projects Board.
- Truong, P.N., Hart, B. 2001. "Vetiver system for wastewater treatment" Technical Bulletin No.2001/2, Pacific Rim Vetiver Network, Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok, Thailand.
- Truong, P.N. 2002. Vetiver grass technology. *Vetiveria the Genus Vetiveria*. New York: Taylor & Francis pp.114-132.
- Truong, P., Hedrick, J., Searle, G. 2006. Vetiver Grass for Environmental Protection and Landscaping in Australia and around the World. In *The Fourth International Conference on Vetiver (ICV-4)*, Vetiver and People, Caracas, Venezuela.
- Truong, P.N. 2008. Research and development of the Vetiver system for treatment of polluted water and contaminated land. In *TVN India 1st Workshop Proceedings* (pp. 60-71).
- Truong, P.N., Foong, Y.K., Guthrie, M., Hung, Y.T. 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. *Environmental Engineering*, 11, 223-275. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-031-1_8.
- Truong, P.N., Foong, Y.K., Guthrie, M., Hung, Y.T. 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass. In *Environmental Bioengineering* (pp. 233-275). Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-031-1_8.
- Upadhyay, A.R., Tripathi, B.D. 2007. Principle and process of biofiltration of Cd, Cr, Co, Ni & Pb from tropical opencast coalmine effluent. *Water, air, and soil pollution*, 180(1-4), 213-223. <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9264-1>.
- Vargas, C., Perez-Esteban, J., Escolastico, C., Masaguer, A., Moliner, A. 2016. Phytoremediation of Cu and Zn by Vetiver Grass in mine soils amended with humic acids. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 13521-13530. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6430-x>.
- Venkateswarlu, V., Venkatayulu, C.H., Bai, T.J.L. 2019. Phytoremediation of heavy metal Copper (II) from aqueous environment by aquatic macrophytes *Hydrilla verticillata* and *Pistia striatiotes*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(4), 390-393.
- Wani, R.A., Ganai, B.A., Shah, M.A., Ugab, B. 2017. Heavy metal uptake potential of aquatic plants through phytoremediation technique-a review. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 8(404), 2. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000404>.
- Water and Waste Digest (WWD). 2018. World Bank and U.N claim 40% of the world population affected by water scarcity. <https://www.wwdmag.com/trends-forecasts/world-bank-and-un-claim-40-world-population-affected-water-scarcity#:~:text=Claim%2040%25%20of%20World%20population%20Affected%20by%20Water%20scarcity,According%20to%20the%20World%20Bank%20and%20the,over%20a%20two%20year%20period>. Datum van Gebruik: 1 Des 2020.
- Xia, H.P. 2004. Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere*, 54(3), 345-353. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00763-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00763-X).
- Xue, P.Y., Li, G.X., Liu, W.J., Yan, C.Z. 2010. Copper uptake and translocation in submerged aquatic plant *Hydrilla verticillata* Royle. *Chemosphere*, 81(9), 1098-1103. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.023>.
- Yang, B., Shu, W.S., Ye, Z.H., Lan, C.Y., Wong, M.H. 2003. Growth and metal accumulation in vetiver and two *Sesbania* species on lead/zinc mine tailings. *Chemosphere*, 52(9), 1593-1600. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00499-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00499-5).
- Yang, X., Feng, Y., He, Z., Stoffella, P.J. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 339-353. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.007>.
- Zou, T., Li, T., Zhang, X., Yu, H., Huang, H. 2012. Lead accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing in a lead-zinc mine tailing. *Environmental Earth Sciences*, 65(3), 621-630. <https://doi.org/10.1007/s12665-011-1109-6>.

BYLAAG C – EKSPERIMENTELE OPSTELLINGS



Figuur C-1: Plant versameling



Figuur C-2: Verdeling van plante



Figuur C-3: Akklimatiseering van plante



Figuur C-4: Voorbereiding van plante



Figuur C-5: Opstelling van sinkblootstellingeksperiment



Figuur C-6: Blootstellings-eksperiment



Figuur C-7: Versameling van plantmateriaal om sinkinhoud te bepaal sowel as vir ligninmikroskopie



Figuur C-8: Droging van plantmateriaal



Figuur C-9: Afmeting van gedroogte plantweefsel



Figuur C-10: Verteering van plantmateriaal



Figuur C-11: Oorplasing van verteerde materiaal in sentrifuge-buise



Figuur C-12: Bepaling van die sinkkonsentrasie



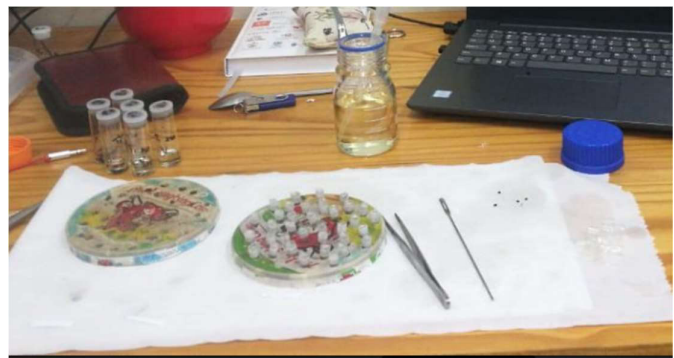
Figuur C-13: Fikseering van plant materiaal in Tod's fikseermiddel



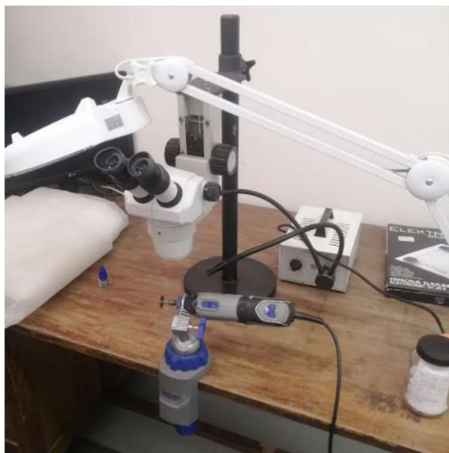
Figuur C-14: Sorteering van gefikseerde materiaal



Figuur C-15: Voorbereiding van plantmateriaal vir ligmikroskopie



Figuur C-16: Fikseering van voorbereide plantmateriaal in hars



Figuur C-17: Voorbereiding van Harsblokkies vir ligmikroskopie



Figuur C-19: Ontbindingseksperimentele opstelling



Figuur C-18: Voorbereiding van glasbotteltjies vir ontbindingseksperiment



Figuur C-20: Versameling van water gedurende die ontbindings proses



Figuur C-21: Bepaling van die sinkinhoud in ontbindingsmedium en ontbinde wortels