بررسی تنوع زیستی باکتریایی در خاک معادن آلومینا و زغال سنگ

اکرم دبیر*، هادی قربانی، پرویز حیدری، امین ابراهیمی
دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود
Email: Akram.dabir72@gmail.com

چکیده

افزایش غلظت فلزات سنگین در اکوسیستم، یک مشکل زیست محیطی بسیار مهم می‌باشد. شناسایی و استفاده از میکروارگانیسم‌ها جهت تصفیه اکوسیستم یک راهکار مناسب برای کاهش اثرات مضر این عناصر است. در این پژوهش خاک معادن آلومینا و زغال سنگ در میزان کادمیوم موجود و تنوع باکتریایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نشان داد که در بافت، اسیدیته و میزان کادمیوم خاک در معادن زغال سنگ و آلومینا تفاوت وجود دارد. میزان کادمیوم در معدن زغال سنگ بیشتر از معدن الومینا مشاهده شد. تنوع سویه های باکتریایی در معدن آلومینا و در عمق سطحی (۰-۳۰ سانتی متر) بیشتر از سایر نمونه‌ها مشاهده گردید. جداسازی و شناسایی باکترها تحت شرایط سخت، امکان استفاده از این میکروارگانیسم‌ها را در فرایندهای زیست پالایی فراهم می‌کند. نتایج بررسی فوق نشان داد که بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و تنوع باکتریایی رابطه مستقیم وجود دارد.

کلمات کلیدی:کادمیوم، باکتری، زیست پالایی، فلزات سنگین

مقدمه

در دهه گذشته ورود آلاینده‌ها با منشاء انسانی مانند فلزات سنگین به درون اکوسیستم، به مقدار زیادی افزایش یافته است که این به عنوان یک خطر جدی برای حیات اکوسیستم زمین به شمار می‌آید (Benavides et al, 2005). میزان ورود این فلزات سنگین به داخل محیط زیست، بسیار فراتر از میزانی است که به وسیله فرایندهای طبیعی برداشت می‌شوند. تجمع فلزات سنگین درآب، هوا و خاک، یک مشکل زیست محیطی بسیار مهم می‌باشد. ایراد اصلی فلزات سنگین این است که در بدن متابولیزه نمی‌گردند. در واقع فلزات سنگین پس از ورود به بدن دیگر از بدن دفع نشده و در بافت‌های بدن انباشته می‌گردند (Jiang et al,2004). کادمیوم به عنوان یکی از فلزات سنگین به دلیل تحرک و پویایی زیاد در خاک و جذب توسط گیاه، سمیت قابل توجه دارد و باعث عوارضی در انسان می‌شود (Kiyono et al, 2010). این عنصر یکی از سمی‌ترین آلاینده‌های موجود در خاک‌های پیرامون مناطق صنعتی و معادن که افزون بر فعالیت‌های صنعتی(مانند ریخته‌گری، تصفیه و ذوب فلزات، استخراج معادن، صنایع رنگ و پلاستیک)، با کاربرد غیر اصولی کودهای شیمیایی کشاورزی به ویژه کودهای فسفره و استفاده از لجن فاضلاب نیز، به محیط زیست و متعاقبا زنجیره غذایی راه می‌یابد (Sanita di Toppi and Gabbriell, 1999; Das et al, 1997). کادمیوم به دلیل حلالیت بالایی که در آب دارد ممکن است سمیت شدیدی برای گیاهان و حیوانات و یا انسان‌ها ایجاد کند(رشید شمالی و همکاران، ۱۳۹۱).

روش‌های مختلفی جهت پاکسازی فلزات سنگین همچون کادمیوم استفاده می‌شود که روش‌های زیست پالا نسبت به سایر روش‌ها دارای مزیت و برتری است. روش‌های زیست‌پالا شامل استفاده از موجودات زنده (گیاهان، باکتری، قارچ و ...) جهت پالایش و اصلاح محیط‌های آلوده در محل و بدون نیاز به جابجایی مواد می‌باشد. چون روش‌های زیست پالا بر مبنای استفاده از موجودات زنده می‌باشد، لذا این روش با محیط زیست تطبیق‌پذیر بوده و اثرات ثانویه کمتری دارد. از دیگر مزایای روش‌های زیست‌پالا می‌توان به کاهش هزینه‌ها اشاره‌کرد. علی رغم مزایا این روش در پاکسازی محیط‌های آلوده، متاسفانه در کشور ما این

روش چندان مورد توجه قرار نگرفته است. لذا در این پژوهش جهت شناسایی باکتری‌های با پتانسیل زیست پالایی، خاک معادن آلومینا و زغال سنگ در میزان کادمیوم موجود و تنوع باکتریایی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه خاک‌های مورد آزمایش از قسمت‌های داخلی و بیرونی معادن آلومینا (واقع در جاجرم) و زغال‌سنگ (واقع در دهملا) شهرستان شاهرود جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین خاک معدن آلومینا از دو عمق ۳۰-۰ و ۴۰-۳۰ سانتی متری نمونه برداری شد.

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

تعیین بافت خاک به روش هیدرومتری، اسیدیته خاک توسط pH متر(عصاره ۱:۱ خاک و آب مقطر)، هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت سنج (عصاره ۱:۱ خاک و آب مقطر) با سه تکرار اندازه گیری گردید. همچنین مقدار قابل جذب عنصر کادمیوم به روش DTPA (احیائی و بهبهانی‌زاده، ۱۳۷۲) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی اسپکترومتری(Gbc) تعیین گردید. در پایان داده‌ها جمع‌آوری و مورد آنالیز قرار گرفت.

جداسازی و شناسایی باکتری‌ها در پروفایل خاک

از همه‌ی نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده جهت جداسازی باکتری‌های موجود، سوسپانسیون‌هایی باغلظت‌های ۰,۱، ۰,۰۱، ۰,۰۰۱، ۰,۰۰۰۱ و ۰,۰۰۰۰۱ از عصاره‌ی خاک تهیه گردید و سپس جهت کشت و شناسایی باکتری‌ها از محیط کشت Lb-Agar (MERCK) استفاده شد. محیط‌های کشت حاوی عصاره‌ی خاک در دستگاه ژرمیناتور (LABCON) در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و پس از گذشت ۴ روز تک کلونی‌های رشد یافته با توجه به رنگ و شکل کلونی جداسازی و در محیط جدید واکشت داده شدند. همچنین جهت شناسایی باکتری‌های هوازی و غیرهوازی به ترتیب از محیط مایع بدون پارافین و با پارافین استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

نتایج بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (جدول ۱) و مثلث بافت خاک نشان داد که خاک معدن آلومینا جاجرم دارای کلاس بافتی Sandy Loam است. یکی از دلایل وجود رس در داخل معدن وجود بوکسیت است که غنی از آلومینیوم است که عمدتا ازهیدروکسیدهای آلومینیوم و مقدار ناچیزی کانی‌های رس و کوارتز تشکیل شده است. همچنین خاک معدن زغال‌سنگ دهملا دارای کلاس بافتیSand بود که این تفاوت کلاس بافتی در این دو معدن بیشتر ناشی از تفاوت زیاد آنها در میزان رس می‌باشد. خاک معدن آلومینا غیرشور و با واکنش قلیایی ضعیف بود، که قلیاییت خاک معدن آلومینا ناشی از وجود اندکی آهک در این معدن می‌باشد. همچنین خاک معدن زغال‌سنگ غیرشور و با واکنش اسیدی ضعیف تا کمی قلیایی بود که دامنه تغییرات آن نسبت به معدن آلومینا بیشتر می‌باشد. نتایج تعیین غلظت کادمیوم در خاک‌های مورد آزمایش نشان داد که مقدارکادمیوم خاک معدن آلومینا کمتر از میزانی بود که سبب ایجاد آلودگی در خاک شود که این میزان کادمیوم در عمق ۴۰-۳۰ سانتی متری بیشتر از میزان آن در عمق ۳۰-۰ سانتی متری داخل معدن بود (جدول ۱). همچنین خاک اطراف معدن آلومینا دارای مقادیر بسیار کم کادمیوم بود که قابل اندازه گیری نبود (کمتر از ppm)، این در حالی است که خاک معدن زغال‌سنگ در مقایسه با معدن آلومینا دارای میزان بیشتری (تقریبا دو تا سه برابر) کادمیوم می‌باشد اما در کل میزان کادمیوم

در هیچ یک از معادن طوری نبود که باعث ایجاد آلودگی در خاک شود. کادمیوم در غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار باعث کاهش رشد و افزایش تنش اکسیداتیو می‌شود (Wang et al, 2011).

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک های مورد مطالعه

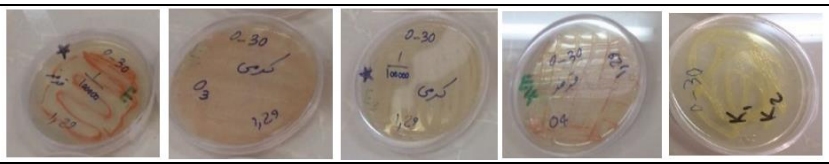
نمونه خاک	Clay%	Silt%	Sand%	EC dsm $^{-1}$	Ph	Cd (µg/mg)
معدن آلومینا عمق 0-30cm	19.5	12	68.5	2.57±0.06	7.97±0.15	0.014
معدن آلومینا عمق 30-40cm	20	1.5	۷۸,۵	2.17±0.06	8.07±0.15	0.021
خاک اطراف معدن آلومینا	2	14	84	1±0.1	9.8±0.1	*
خاک داخل معدن زغال سنگ	2	2	96	3.27±0.4	5.83±0.21	0.032
لایه زغال‌سنگ خارج معدن	0	3.5	96.5	0.17±0.06	6.47±0.3	0.047
خاک اطراف معدن زغال سنگ	7.5	21	71.5	2.27±0.15	7.87±0.15	0.016

pH: اسیدیته خاک، EC: هدایت الکتریکی

*: با استفاده از دستگاه جذب اتمی قابل اندازه‌گیری نبود (کمتراز ppm).

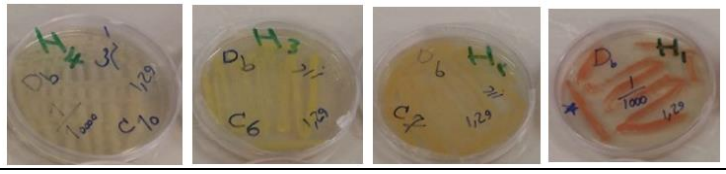
تنوع زیستی باکتریایی در خاک

نتایج جداسازی و شناسایی باکتری‌ها در پروفایل خاک‌های مورد مطالعه حاکی از آن بود که خاک معدن آلومینا در عمق ۳۰-۰ سانتی متری حاوی تنوع باکتریایی بیشتری نسبت به سایر پروفایل‌های خاک بود، همچنین پروفایل خاک عمق ۴۰-۳۰ سانتی متری معدن آلومینا دارای حداقل تنوع باکتریایی بود بطوریکه تنها یک سویه باکتری در این خاک شناسایی شد. که شاید علت کاهش تنوع باکتری در عمق ۴۰-۳۰ سانتی متری نسبت به عمق ۳۰-۰ سانتی متری، کاهش اکسیژن و شرایط غذایی باشد. در خاک اطراف معدن آلومینا سه سویه باکتری شناسایی شد (شکل ۱). اکثر باکتری‌های شناسایی شده در پروفایل خاک‌های معدن آلومینا دارای رنگ کلونی قرمز و زرد بودند و شکل کلونی در آن‌ها کروی و بیضوی شکل بود. پروفایل خاک معدن زغال‌سنگ دو سویه باکتری شناسایی شد این در حالی است که همین لایه ی خاک در خارج از معدن زغال‌سنگ دارای تنوع باکتریایی بیشتری بود (۴ سویه باکتری). همچنین در هر دو پروفایل‌های خارج از معدن زغال‌سنگ چهار سویه باکتری شناسایی شد هرچند که دارای تعداد برابر می باشند اما بر حسب رنگ کلونی تفاوت وجود داشت. در کل تنوع باکتری‌ها در پروفایل خاک‌های معدن آلومینا بیشتر از معدن زغال‌سنگ بود.

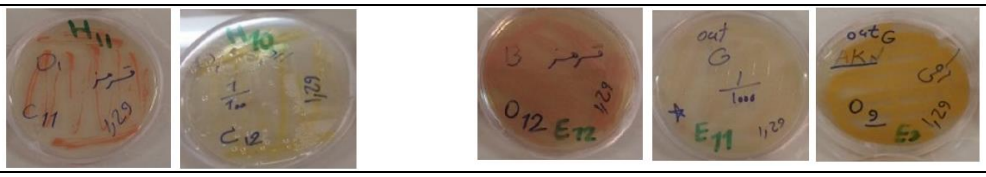


معدن آلومینای عمق ۳۰-۰ سانتی متری

خارج از معدن زغال‌سنگ (لایه زغال‌سنگ) معدن آلومینای عمق ۴۰-۳۰ سانتی متری



اطراف معدن زغال‌سنگ



اطراف معدن آلومینای داخل معدن زغال‌سنگ

شکل ۱- تنوع باکتریایی بر حسب رنگ و شکل کلونی از نمونه خاک‌های مورد آزمایش

از انجایی که میزان اسیدیته خاک و همچنین شوری بر میزان وفعالیت باکتری ها تاثیرگذار می باشد هرگونه تغییری در pH خاک ،باعث تغییر غلظت یون هیدروژن، در نتیجه بر روند زندگی میکروارگانیسم‌ها بویژه باکتریها موثر است (Chang et al, 2016)، این تفاوت خصوصیات خاک ها باعث ایجاد تنوع باکتری ها در انها می‌شود. با تغییر خصوصیات خاک تنها باکتری های سازگار توانایی رشد و تکثیر را دارند. جداسازی و شناسایی باکترها تحت شرایط سخت، امکان استفاده از این میکروارگانیسم-ها را در فرایندهای زیست پالایی و خاک پالایی فراهم می‌کند (Malekzadeh et al, 2012). نتایج بررسی فوق نشان داد که بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و تنوع باکتریایی رابطه مستقیم وجود دارد و باکتری‌های جداسازی شده می‌تواند پتانسیل لازم جهت تجزیه عناصر مضر را داشته باشند.

منابع

رشید شمالی، آ. خداوردی‌لو، ح. و صمدی، ع. ۱۳۹۱. اندوزش و تحمل آلودگی کادمیومی خاک توسط ارزن وحشی *(Pennisetum glaucum)*، سلمه تره *(Chenopodium album)*، خرفه *(Portulaca oleracea)* و خاکشیر *(Descurainia Sophia)*. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار، جلد دوم، شماره اول، صفحه های ۴۶-۴۸.

احیائی، م. بهبهانی‌زاده،ع. ا. ۱۳۷۲. شرح روشهای تجزیه شیمیائی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه فنی شماره ۸۹۳.

Wang Y., Qian Y., Hu H., Xu Y. and Zhang H. 2011. Comparative proteomic analysis of Cd-responsive proteins in wheat roots. Acta Physiol Plant, 33:349–357.

Benavides M. P., Gallego S. M. and Tomaro M. L. 2005. Cadmium toxicity in Plants. Braz. J. Plant Physiol, 17:21-34.

Jiang X. J., Luo Y. M., Liu Q., Liu S. L. and Zhao Q. G. 2004. Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard. Environ. Geochem. Health. 26: 319-324.

Das P., Samantaray S. and Routm G.R. 1997.Studies on cadmium toxicity in plants: areview. Environ. Pollut.98:29-36.

Malekzadeh E., Alikhani H. A., Savaghebi Firoozabadi G. R. and Zarei M. 2012. Bioremediation of Cadmium- Contaminated Soil through Cultivation of Maize Inoculated with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. 16(4):204-211

Karami A. and Shamsuddin Z. Hj. 2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. Afr. J. Biotechnol, 9:3689-3698.

Kiyono M., Miyahara K., Sone Y., Pan-Hou H., Uraguchi S., Nakamura R. and Sakabe K. 2010. Engineering expression of the heavy metal transporter MerC in Saccharomyces cerevisiae for increased cadmium accumulation. Appl Microbiol Biotechnol, 86:753-759.

Sanita di Toppi L. and Gabbriell R.1999. Response to Cadmium in higher plants: A review. Environ. Exp. Bot, 4: 105-130.

Study of bacterial diversity in soil of coal and alumina mines

A. Dabir, H. Ghorbani, P. Heidari, A. Ebrahimi
Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology

Abstract

An increase in heavy metal concentration in ecosystem, is a serious problem for the environment. Identify and use the microorganisms for remediation of ecosystem, are good strategy for reducing harmful effects of these elements. In this study, the soil samples of alumina and coal mines were evaluated for cadmium concentration and bacterial diversity. Investigation of physical and chemical in soil samples showed that between coal and alumina are different in soil texture, acidity and cadmium concentration. Cadmium concentration in coal mine was more observed than alumina mine. A variety of bacterial strains in surface (0-30 cm) of alumina mine was more than the other samples. Isolation and identification of bacteria under extreme conditions provide, utilization of these microorganisms in bioremediation processes. The results showed that between physical and chemical properties and soil bacterial diversity are a direct relationship.

Keywords: Cadmium, bacteria, bioremediation, heavy metals