# تاثیر مستقل و تلفیقی باکتری *Pseudomonas putida* و قرص جوشان حاوی پنج گونه از باکتری جنس باسیلوس در رفع بحران حضور آلاینده‌های هیدروکربنی خاک

**سالومه سیدعلیخانی[۱]، مهدی شرفا[۱]، احمد اصغرزاده [۳]، ابوالقاسم توسلی[۴]، سیده سهیلا ابراهیمی[۵]**

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد خاک‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، [۲] استادیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه تهران، [۳] استادیار بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب تهران، [۴] استادیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، [۵] دانشجوی دکتری رشته خاکشناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران

## مقدمه

در قرن بیستو یکم نگرانی جامعه بشری از به‌هم خوردن چرخه طبیعی حیات کره زمین و تخریب و از دست رفتن منابع بیش از پیش افزایش یافته است. حدود یک قرن کم‌توجّهی به پیامدهای مخرب زیست‌محیطی ناشی از استحصال و پالایش نفت در ایران، باعث آلودگی بخشی عظیم از منابع خاکو آب کشور به هیدروکربن‌های نفتی شده‌است. در این پژوهش کار برد باکتری‌های*Pseudomonas putida* و قرص جوشان ترکیبی از تعدادی باکتری (برای اولین بار در ایران در خاک مورد مطالعه استفاده شد) به مدت ۴ ماه در یک مطالعه گلخانه‌ای در خاک آلوده (با بافتSandy clay loam) به طور مستقل و در تلفیق با کشت گیاه جو(*Hordeum vulgare*) مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از اطراف پالایشگاه نفت شهر ری تهران برداشت و از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شد. به منظور هرچه یکنواخت‌تر بودن آلودگی هیدروکربنی نقاط مختلف، توده خاک مورد نظر تا حد ممکن هم زده شد به طوریکه میزان مجموع هیدروکربن‌های نفتی**(TPHs)**[۱] اندازه‌گیری شده در چند نقطه از توده خاک حداکثر اختلاف ۵٪ را نشان دادند. تعیین میزان **TPHs** با روش استاندارد آژانس حفاظت محیط زیست امریکا(۴۱۳/۱ **EPA**)[۲]صورت پذیرفت[۱].به منظور ایجاد شرایط بهینه برای زیست باکتری‌ها با اضافه کردن ماسه بافت خاک را از **Loam** به **Sandy clay loam** تغییر داده شد. آزمایشات تجزیه خاک طبق دستورالعمل‌های استاندارد انجام شد و شرایط تغذیه‌ای مناسب رشد گیاه جو فراهم گردید. لیکن با توجه به مقاوم بودن هر دو تیمار باکتریایی مورد استفاده به شرایط سخت، دیگر عملیات خاصی جهت تامین نیاز باکتری‌ها صورت نگرفت. باکتری ***Pseudomonas putida*** به تعداد $۲\times۱۰^{۸}$ و آمیزه‌ای از ۵ گونه جنس باسیلوس (شامل ***B.licheniformis B.megaterium , B.laterosporus B.pumilus*** و ***Bacillus subtilis*** ) به تعداد $۲/۲\times۱۰^{۶}$ سلول در هر کیلوگرم خاک به طور مستقل و تلفیق با کشت گیاه مورد استفاده قرار گرفت. از سویی گیاه جو بعلت مقاومت در پالایش هیدروکربن‌های نفتی، انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت[۲]. برای تیمارهای شامل گیاه در هر گلدان که حاوی ۵ کیلوگرم از خاک مذکور بود تعداد ۳۰ عدد بذر گیاه جو کشت گردید. هم چنین تیمار شاهد(**Blank**) و تیمار کشت گیاه مستقل از باکتری در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، آزمایش فاکتوریل، در سه تکرار در نظر گرفته شد. میزان **TPHs** در مراحل مختلف رشد گیاه اندازه‌گیری گردید.

[1] Total Petroleum Hydrocarbons (TPHs)

[2]The U.S Environmental Protection Agency 413.1(EPA 413.1)

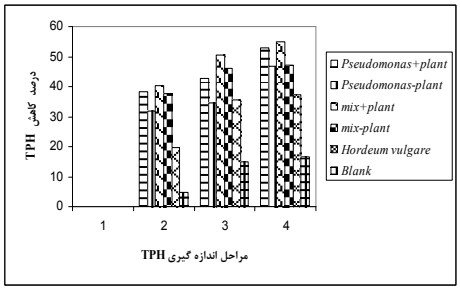
**نتایج و بحث**

نتایج حاصل از اندازه‌گیری **TPHs** در خاک‌های تحت تیمار در جدول ۱ آمده است. در این جدول **TPH**های۱،۲، ۳ و ۴ به ترتیب بیانگر نرخ آلودگی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در قبل از کشت، پس از مرحله جوانه‌زنی، پس از مرحله رشد رویشی و پس از مرحله رشد زایشی است.

جدول۱- نرخ **TPH** در مراحل مختلف اندازه‌گیری( میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)

| تیمار | TPH 1 | TPH 2 | TPH 3 | TPH 4 |
|---|---|---|---|---|
| ***Pseudomonas*+plant** | **22167** | **13666** | **12666** | **10410** |
| ***Pseudomonas*-plant** | **22167** | **15083** | **14500** | **11830** |
| **Mix+plant** | **22167** | **13250** | **11000** | **10000** |
| **Mix-plant** | **22167** | **13833** | **11916** | **11750** |
| ***Hordeum vulgare*** | **22167** | **17830** | **14250** | **13900** |
| **Balank** | **22167** | **21083** | **18830** | **18500** |

شکل۱: مقایسه درصد کاهش آلودگی در تیمارهای مختلف




با توجه به شکل ۱ بیشترین درصد کاهش TPHs مربوط به تیماری است که در آن گیاه و تیمار قرص جوشان آمیزهٔ باکتری باسیلوس وجود دارند که میزان آلودگی را تا حد ۵۴/۸۹٪ کاهش داده است، پس از آن به ترتیب تیمارهای ***Pseudomonas+plant*** ، ***Mix-plant*** و ***Pseudomonas-plant*** به ترتیب میزان آلودگی را تا ۵۳/۰۳٪ ، ۴۶/۹۹٪ و ۴۶/۶۳ ٪ کاهش دادند. همانطور که از نتایج پیداست استفاده از قرص جوشان با تعداد کمتر سلول در هر کیلوگرم خاک نتیجه‌ی مطلوب تری نسبت به تیمار ***Pseudomonas*** داشته است. سایر مطالعات نیز توانایی تجزیه ترکیبات نفتی توسط باکتری‌های ***Pseudomonas*** و ***Bacillus*** و گیاه جو را تایید می‌کنند[ ۲ و ۴]. Schwabو Banks طی گزارشات خود در سال ۱۹۹۸ به جذب سطحی آلاینده‌های آلی توسط ریشه و تجزیه آن‌ها اشاره کردند[۳]. نتیجه پژوهش حاضر نیز با نتایج ایشان هماهنگی نشان داد، چرا که با توجه به جدول۱ و شکل ۱ نرخ TPHs در ریزوسفر به تدریج و با گذشت زمان کاهش نشان میدهد و با توجه به جدول ۱ این کاهش نسبت به خاک شاهد(Blank) بیشتر است که حاکی از تاثیر ریشه در تجزیه‌ی هیدروکربن‌های نفتی است.

## منابع

[1]. Hutchinson.. S. L., Schwab . A. P. and M. K. Banks. 2001. Phytoremediation of Aged Petroleum Sludge: Effect of Irrigation Techniques and Scheduling. *Journal of Environmental Quality* 30:1516-1522 (2001)

[2]. Frick, C.M., Farrell. R.E. and Germida, J.J. 1999. Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil- Contaminated Sites. Department of Soil Science University of Saskatchewan, Saskatoon, SK Canada, 1-10.

[3]. Schwab. A. P., Al-Assi. A. A. and Banks, M. K. 1998. Adsorption of naphthalene onto plant roots. *Journal of Environmental Quality*. 27: 220-224.

[۴]**.محمدی، ح(۱۳۸۶)**، جدا سازی باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (**PAH**) از دریاچه مهارلو و بررسی اثر غلظت نمک در تجزیه آن ها، مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دوره **۵** , صفحات : ۷۷- ۶۷