

اثر بی‌فنیل‌های چندکلره بر جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های رشد گیاه‌چه ذرت

مریم سلیمی زاده^۱، مهران شیروانی^۲، حسین شریعتمداری^۲، سیده لیلی محبی نوذر^۳
 ۱-دانشجوی دکترا شیمی و حاصلخیزی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲-عضو هیات علمی گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی
 اصفهان، ۳-عضو هیات علمی وزارت جهاد کشاورزی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

چکیده

بی‌فنیل‌های چندکلره (PCBs) جزء سمی‌ترین آلاینده‌های انسان ساخت و پایدار در خاک می‌باشند. یکی از روش‌های مناسب در حذف این ترکیبات گیاه‌پالایی است و اولین قدم در گیاه‌پالایی موفقیت آمیز، جوانه زنی بذر و اسقراط گیاه در خاک آلوده است. در این مطالعه بذر ذرت در مقیاس آزمایشگاهی در معرض غلظت‌های مختلف PCBs حاصل از روغن ترانسفورماتور قرار گرفت تا موفقیت آن در جوانه زنی در چینی شرایطی مشخص گردد. تجزیه گازکروماتوگرافی جرمی (GC-MS) و توزیع بی‌فنیل‌ها بر اساس نوع و تعداد کل در روغن ترانسفورماتور مورد استفاده نشان داد ترکیبات آن به طور زیادی به ترکیب محصولات تجاری آروکلار ۱۲۶۰ و ۱۲۵۴ و شباهت دارد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که اعمال غلظت‌های مختلف PCBs باعث کاهش مولفه‌های رشد گیاه‌چه ذرت می‌شود. رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه ذرت در غلظت‌های مختلف PCBs اختلاف معنی دار با شاهد داشته و مقاومت جوانه‌زنی در غلظت‌های PCBs بیشتر از ۲۵ میلی گرم در لیتر حدود ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. بنابراین رشد و استقرار ذرت در خاک‌های آلوده به مقادیر زیاد PCBs ممکن است به دشواری انجام شود.

واژه‌های کلیدی: PCBs، گیاه‌پالایی، ذرت، جوانه زنی

مقدمه

بی‌فنیل‌های چندکلره (PCBs) ترکیبات آلی کلره پایدار هستند که از ترکیب کلر با بی‌فنیل بوجود می‌آیند. این ترکیبات دارای رنگ زرد کم رنگ و حالت چسبنده بوده، بوی ملایم آرومانتیکی دارند و از سال ۱۹۲۹ در مواد مختلف از جمله روغن ترانسفورماتورها و مایع دی‌الکتریک خازن‌ها مورد استفاده وسیع قرار گرفته‌اند. امروزه مقادیر زیادی از روغن‌های ترانسفورماتور آلوده به PCBs مورد استفاده قرار گرفته و در انبارها ذخیره شده‌اند (W.H.O. ۱۹۹۳). با این وجود، معاهده شیمیایی POPs، بی‌فنیلهای چندکلره را در فهرست مواد شیمیایی اولویت دار برای حذف تدریجی تا پایان سال ۲۰۲۵ قرار داده است. بیشتر آلدوجیهای محیط به PCBs شامل مخلوطی از ترکیبات با میزان کلرینه شدن بالا مثل آروکلر ۱۲۵۴، ۱۲۴۴ و ۱۲۶۰ می‌باشد. به علت حلایت و فراریت کم این ترکیبات و زیاد بودن ضریب اکتانول به آب آنها، PCBs به طور معمول در خاک‌ها و رسوبات بر روی مواد آلی و همچنین مواد معدنی تجمع می‌یابند (Strand, ۲۰۰۴). علی‌رغم مصرف زیاد روغن‌های اسکارل در نیروگاه‌های برق و صنایع ذوب فلزات در ایران و همچنین اطلاع از خطرات زیست محیطی انها متسا芬انه تحقیقات و امار منسجمی از غلظت آنها در آبهای زیرزمینی و خاک وجود ندارد. شهبازی و همکاران (۲۰۱۲) عنوان داشتن آلدوجیهای خاک به PCBs در کشور مستند نشده‌اند. همچنین این محققین خاک‌های با کاربری‌های کشاورزی و جنگلی استان گیلان و مازندران را از نظر میزان این ترکیبات مورد بررسی قرار دادند که نتایج آنها حاکی از زیاد بودن غلظت کانجنرهای PCB۱۸۰، PCB۱۸۸ و PCB۲۸۸ در این خاک‌ها نسبت به بقیه کانجنرهای در کاربری‌های کشاورزی و جنگلی بود. با توجه به مصرف زیاد PCBs در نیروگاه‌های برق و پایداری زیاد آنها در محیط استفاده از روش‌های مقررین به صرفه و دوستدار محیط زیست بهمنظور کاهش و حذف آنها ضروری می‌باشد. گیاه پالایی روشی مناسب برای حذف این آلاینده‌هاست که در آن از گیاهان برای اصلاح خاک‌ها، رسوبات و آبهای زیرزمینی آلوده از طریق خروج آلاینده‌ها، تجزیه و یا مهار آلاینده‌ها استفاده می‌شود (EPA, ۱۹۹۹). گیاهان از یک مسیر سه مرحله‌ای برای سمتیت زدایی آلاینده‌های آلی استفاده می‌کنند. در فاز اول یک گروه واکنش دهنده مثل هیدروکسیل، آمین و یا گروه سولفیدریل به آلاینده متصل شده، در مرحله دوم ترکیب دیگری مثل قند به گروه واکنشگر متصل می‌شود و در نهایت در مرحله سوم آلاینده به درون واکوئل آزاد می‌گردد و یا با ترکیبات دیواره سلولی ادغام می‌شود. بنابراین ترکیبات با سمتیت کمتر به سلول وارد می‌شوند (Parkash et al., ۲۰۱۱). تا کنون گزارشی از تاثیر آلدوجی PCBs بر جوانه زنی و رشد گیاه‌چه ذرت انجام نشده است. از آنجا که جوانه زنی و رشد گیاه‌چه به عنوان کلید استقرار گیاه تحت شرایط محدود کننده محسوب می‌شود، انجام تحقیقات در خصوص تأثیر PCBs بر جوانه زنی بذر جهت انتخاب گیاه مناسب برای بهسازی خاک‌های آلووده به PCBs ضروری به نظر می‌رسد. لذا این تحقیق به منظور بررسی مقاومت جوانه زنی ذرت به غلظت‌های مختلف بی‌فنیل‌های چندکلره جهت ارزیابی مناسبت این گیاه برای گیاه‌پالایی اراضی آلوده صورت گرفت. مطالعه بر روی اثرات آلدوجی PCBs بر جوانه زنی می‌تواند بستر مناسبی برای پژوهش‌های بعدی در زمینه گیاه‌پالایی PCBs در خاک‌های آلوده توسط ذرت باشد.

مواد و روشها

برای تهیه بی فنیل های چند کله، نمونه روغن ترانسفورماتور از نیروگاه برق بند عباس تهیه شده و میزان و نوع ترکیبات آن توسط دستگاه کروماتوگرافی جرمی (Agilent 5972 N) با شناساگر انتخابی جرمی (Agilent 5972) در آزمایشگاه تجزیه دستگاهی پژوهشکده اکولوزی خلیج فارس و دریای عمان تعیین گردید. جهت آماده سازی روغن ترانسفورماتور، ترکیبات مراحم از طریق مراحل مختلف تمیز کردن با سیلیکاژل و فلوراسیل حذف گردیدند. بیشترین موادی که در روغن های زائداتی وجود دارند هیدروکربن ها مثل آلکان نرمال، ایزوآلکان، نفتالین و پارافین می باشند. این ترکیبات در سنجش PCBs ایجاد مراحت می کند. جهت حذف این مواد، روغن از ستون سیلیکاژل فعال شده در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد با قطر ذرات ۴۰۰ تا ۴۰۰ مش و فلوراسیل فعال شده در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد با قطر ذرات ۱۰۰ مش و با استفاده از حلal هگزان نرمال عبور داده شد (EPA 600). در مرحله تجزیه دستگاهی، گاز حامل هلیوم با جریان ثابت 18 ml min^{-1} درجه سانتی گراد به کار گرفته شد. برنامه دمایی از ۷۵ به ۱۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت 15 min^{-1} و از 15°C درجه سانتی گراد با سرعت 0°C در زمان نگهداری یک دقیقه انجام گرفت. ستون موینه استفاده شده (Agilent ۱۲۲-۵۵۳۶ ms-DB) با قطر $25\text{ }\mu\text{m}$ $25\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ بود. به منظور اعمال تیمارهای بی فنیل های چند کله سطوح مختلف غلظت PCBs شامل $375\text{, }750\text{, }1500\text{, }3000\text{, }6000\text{, }7500\text{ میلی گرم در لیتر با استفاده از حلal استون تهیه شد.$ بذرهای ذرت رقم سینگل گراس $704\text{ از مرکز تحقیقات کشاورزی استان هرمزگان تهیه شد.$ ابتدا بذرهای سالم جدا و استریل شد. کلیه ظروف مورد استفاده در آزمایش از جمله پتری دیش ها و کاغذ صافی ها نیز استریل گردیدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه نکار انجام شد. در هر پتری دیش ۹ سانتی متری یک عدد کاغذ صافی تعبیه و ده عدد بذر ذرت روی آن قرار داده شد. سپس، یک میلی لیتر از محلول PCBs به طور جداگانه به پتری دیش ها اضافه شده و $14\text{ میلی لیتر آب مقطر نیز به هر پتری دیش افزوده و به آرامی بهم زده شد$ بطوریکه غلظتهاي نهایی $25\text{, }50\text{, }100\text{, }200\text{, }300\text{, }400\text{ میلی گرم در لیتر PCBs$ حاصل شد. جهت تیمار کنترل پانزده میلی لیتر آب مقطر در هر پتری دیش استفاده شد. پتری دیش ها در دمای اتفاق $25\text{ درجه سانتی گراد نگهداری و بعد از گذشت ۵ روز طول ریشه چه و ساقه چه بذرهای جوانه زده اندازه گیری شد و پس از خشک کردن آنها در اون در دمای 65°C درجه سانتی گراد وزن ریشه چه و ساقه چه به طور جداگانه تعیین گردید. شاخص مقاومت جوانه زنی بر اساس معادله زیر محاسبه شد (Eghbal and Rahmati, ۱۹۹۲):$

$100 \times (\text{میانگین طول ریشه شاهد / میانگین طول ریشه در تیمار مورد نظر}) = \text{شاخص مقاومت جوانه زنی}$
برای برآورد درصد جوانه زنی از معادله زیر استفاده گردید (Nicol and Heydecker, ۱۹۶۸) و میانگین درصد جوانه زنی در طی پنج روز محاسبه شد.

$100 \times (\text{کل تعداد بذور / تعداد بذور جوانه زده}) = \text{درصد جوانه زنی}$

تأثیرات PCBs بر شاخص مقاومت جوانه زنی و میزان رشد ریشه چه و گیاهچه در تیمارهای مختلف بر اساس آزمون تجزیه واریانس با استفاده از نرم افوار SPSS ۱۶ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نوع و میزان ترکیبات بی فنیل های چند کله اندازه گیری شده با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی جرمی در روغن ترانسفورماتور در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- نوع و میزان ترکیبات بی فنیل های چند کله در روغن ترانسفورماتور

ترکیب	نام آیوپاک	غلظت در روغن ترانسفورماتور (میلی گرم در لیتر)
CB1	Chlorobiphenyl-2	۴۹۱
CB5	Dichlorobiphenyl-2,3	۵۳۷۱
CB18	Trichlorobiphenyl-5,2,2	۶۱۱۲
CB31	Trichlorobiphenyl-5,2,4	۱۳۷۰۳
CB44	Tetrachlorobiphenyl-3,5,2,2	۹۰۴۳
CB52	Tetrachlorobiphenyl-5,5,2,2	۳۲۰۶
CB66	Tetrachlorobiphenyl-4,4,2,2	۱۵۸۲۹
CB87	Pentachlorobiphenyl-3,4,5,2,2	۴۸۲۲
CB101	Pentachlorobiphenyl-4,5,5,2,2	۹۴۱۳
CB110	Pentachlorobiphenyl-6,4,2,3,3	۲۷۰۳۰
CB138	Hexachlorobiphenyl-5,3,4,4,2,2	۲۱۶۵۴
CB141	Hexachlorobiphenyl-3,4,5,5,2,2	۹۰۱۴۶
CB151	Hexachlorobiphenyl-6,3,5,5,2,2	۱۸۴۲

مکانیسم عمل آن شناخته شده نیست (Cho and Sohn, ۲۰۰۲). با این وجود یکی از مواردی که در مواجه با استرس های محیطی اتفاق می افتد تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) مثل رادیکال سوپر اکسید (O_2^-), هیدروژن پراکسید، اکسیژن منفرد و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) است (Cho and Park ۲۰۰۰). گونه های فعال اکسیژن باعث اکسیداسیون لیپید و تخریب غشاء می گردند. در آزمایشی که چاوو و سون (۲۰۰۲) به منظور بررسی اثر برگپاشی PCB۲۹ بر تنش اکسیداتیو و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت گیاهچه گوجه فرنگی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که بعد از گذشت پنج روز از محلول پاشی PCB۲۹، در گیاهان تحت تیمار نسبت به تیمار شاهد میزان MDA H_2O_2 به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین میزان کاهش O_2^- و فعالیت آکونیتاز که میان افزایش H_2O_2 است مشاهده شد. این محققین عنوان داشتند که کاهش زیست توده ناشی از کاهش کلروفیل برگها بوده و میزان آنزیم های آنتی اکسیدانت GP، SOD و APX در گیاه افزایش معنی داری داشته است. افزایش فعالیت APX که به عنوان آنزیم کلیدی چرخه گلوتاتیون-اسکوربات در حذف پراکسیداز از طریق تبدیل اسید اسکوربیک به دی هیدروآسکوربات مؤثر است احتمالاً به علت افزایش H_2O_2 بوده است (Asada, ۱۹۹۹).

تحمل گیاه به آلودگی PCBs در مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه به عنوان کلید استقرار گیاه تحت این شرایط محدود کننده است. پاسخ به تنش های محیطی در گیاهان عالی پدیده ای پیچیده و غیر قابل انکار است. نتایج کلی بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که غلظت های اعمال شده PCBs اثرات منفی بر رشد ذرت داشته به طوری که در غلظت زیاد میزان کاهش مقاومت به ۸۹ درصد می رسد و در مواردی که میزان PCBs در محیط رشد بیش از ۲۵ میلی گرم در لیتر باشد میزان مقاومت جوانه زنی گیاه حدود ۵۰ درصد کاهش خواهد یافت. به منظور تکمیل تحقیقات در زمینه اثر این نوع آلاینده بر جوانه زنی ذرت کشت ذرت در خاک های آلوده به رogen ترانسفورماتور به عنوان اصلی ترین منبع PCBs و بررسی اثر جوانه زنی به عنوان فاکتور مهم در اثرگذاری گیاهپالایی در حال انجام است.

منابع

- Asada, K. ۱۹۹۲. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.* ۸۵: ۲۲۵-۲۴۱.
- Cho, U. H. and J. O. Park. ۲۰۰۰. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Sci.* ۱۵۶: ۱-۹.
- Cho, U.H. and J.Y.Sohn. ۲۰۰۲. Effect of ۲,۴,۵-Trichlorobiphenyl (PCB-۲۹) on Oxidative Stress and Activities of Antioxidant Enzymes in Tomato Seedlings. *Korean J. Ecol. Sci.*, ۱(۳): ۱۴۷-۱۵۳.
- EPA. ۱۹۹۹. Ambient Water Quality Criteria for Chlorinated Benzenes. Office of Water Regulations and Standards Criteria and Standards Division Washington DC ۲۰۴۶۰.
- EPA-۶۰۰/۴-۸۱-۰۴۵, ۱۹۸۲. The Determination of Polychlorinated Biphenyls in Transformer Fluid and Waste Oils, United States Environmental Protection Agency.
- Gan R, Berthouex P. ۱۹۹۴ Disappearance and crop uptake of PCBs from sludge-amended farming. *Water Environ Res.*: ۵۴-۶۹.
- Iqbal, M. Z. and K. Rahmati. ۱۹۹۲. Tolerance of *Albizia lebbeck* to Cu and Fe application. *Ekologia (CSFR)* ۱۱: ۴۲۷-۴۳۰.
- Nicols, M.A. W. Heydecker. ۱۹۶۸. Two approaches to the study of germination date, proc. Int. Seed Test. Asso. ۳۳: ۵۳۱-۵۴۰.
- Parkash, O. D., A. H. Elizabeth, R. Pilon-Smits, , B. Meagher and D. Sharon. ۲۰۱۱. Biotechnological approaches for phytoremediation. *Plant Biotechnology and agriculture*. Oxford: Academic Press. ۱۸: ۳۰۹-۳۲۸.
- Shahbazia, A., N., Bahramifarab and E. Smoldersc. ۲۰۱۲. Elevated Concentrations of Pesticides and PCBs in Soils at the Southern Caspian Sea (Iran) are Related to Land Use. *Soil and Sediment Contamination*. ۲۱: ۱۶۰-۱۷۵.
- Strand, S. E. ۲۰۰۴. Aerobic Biodegradation of Polychlorinated Biphenyls. CEWA, ESC, MICRO . ۵۱۸: ۱-۱۰.
- U.S. EPA , ۲۰۱۳. Region ۴ Technical Services Section Issue Paper for Polychlorinated Biphenyl Characterization at Region ۴ Superfund and RCRA Sites.
- W.H.O. ۱۹۹۳. Polychlorinated biphenyls and triphenyls, Environmental Health Criteria (EHC), USA.
- Yadav, J. S. J. F. Quensen, J. M. Tiedje, and C. A. Reddy. ۱۹۹۵. Degradation of polychlorinated biphenyl mixture s (Aroclors ۱۲۴۲, ۱۲۵۴, and ۱۲۶۰) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* as evidenced by congener-specific analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* ۶۱(V): ۲۵۶۰-۲۵۶۵.
- Zahed M, Nabi Bidhendi G, Pardakhti A. ۲۰۰۹. Determination of polychlorinated biphenyl congeners in water and sediment in North West Persian Gulf, Iran. *Bull Environ Contam Toxicol.* ۸۳: ۸۹۹-۹۰۲.



چهاردهمین کنگره علوم خاک ایران - شیمی حاصلخیزی و تغذیه گیاه

Abstract

Poly chlorinated biphenyls (PCBs) are of the most toxic anthropogenic and persistence contaminants in soils. Phytoremediation has been known as an appropriate technique to remove these compounds from the polluted soils. In this study maize seeds were exposed to different concentrations of PCBs from transformer oil at laboratory scale. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis showed that ۱۹ different PCB congeners presented in the oil. Results of ANOVA analysis demonstrated significant decrease of root and shoot growth of maize seedlings under PCBs treatments. Germination resistance also decreased about ۵۰ percent at PCB concentrations greater than ۲۵ mg L^{-۱}. Based on the results of this study different concentrations of PCBs may adversely affect the growth parameters of maize seedling in polluted soils.