بررسی ویژگی‌های فیزیکیوشمیایی و باکتریایی خاک‌های آلوده به سرب در معادن اطراف شهرستان شاهرود

فرزانه کردی[۱]، هادی قربانی[۱]، امین ابراهیمی[۲] و پرویز حیدری[۲]

۱- دانشگاه صنعتی شاهرود- دانشکده کشاورزی،

Kordifarzaneh97@yahoo.com

چکیده

عنصر سرب می‌تواند باعث ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رفتاری گردد. متاسفانه مواجهه با سرب اجتناب ناپذیر است، زیرا این فلز در زندگی روزمره انسان به وفور کاربرد دارد و به شدت در محیط تجمع می‌یابد. در سال‌های اخیر آلودگی به سرب به یک نگرانی عمده تبدیل شده است. زیست پالایی یکی از روش‌های کارا و موثر برای حذف آلودگی‌های ناشی از فلزات سنگین است. در این تحقیق تنوع باکتریایی و اثر متقابل بین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده با باکتری‌های موجود در دو معدن جاجرم و دهملا بررسی شد. در این تحقیق نمونه‌های سطحی دارای تنوع باکتریایی بیشتری نسبت به نمونه‌های عمقی بودند. دلیل این امر احتمالا شرایط مساعد رشدی (اکسیژن، دما و نور) در نمونه‌های سطحی می‌باشد. همچنین نمونه‌هایی با pH بالا و EC پایین تنوع باکتریایی بیشتری داشتند. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که تنوع باکتریایی تحت تاثیر عمق، محیط (داخلی یا بیرونی)، pH و EC قرار می‌گیرد و خصوصیات ساختمانی خاک اثر کمتری بر روی جمعیت و تنوع باکتریایی دارند.

واژه های کلیدی: فلزات سنگین، سرب، میکروارگانیزم های خاک و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

مقدمه

خاک ترکیب خاصی از بیوسفر است و فقط یک مخزن ژئوشیمیایی برای آلاینده‌ها محسوب نمی‌گردد. خاک به عنوان یک بافر طبیعی، انتقال عناصر شیمیائی و مواد مختلف به اتمسفر، هیدروسفر و زندگی گیاهی و جانوری یک ناحیه را کنترل می‌کند. از آنجا که نقش بسیار مهم خاک قابلیت تولید آن است، حفظ عوامل کشاورزی و اکولوژیکی خاک بر عهده بشر می‌باشد (Pendias and Kabata, 2001). بر اساس تعریف اداره حفاظت خاک ایالات متحده آمریکا "خاک مجموعه‌ایی از مواد طبیعی در سطح خشکی-هاست که دارای موجودات زنده بوده و گیاهان در آن رشد کرده و یا می‌توانند رشد کنند". متخصصین کشاورزی خاک را به عنوان محیط رشد گیاه مورد مطالعه قرار می‌دهند. در حالی که زمین شناسان، اغلب آن را به عنوان محصول هوازدگی سنگ‌ها و کانی‌ها در نظر می‌گیرند (صادقی، ۱۳۸۰).

خاک به عنوان بخشی از اکوسیستم سطحی، نقش مهمی در گردش عناصر ایفا می‌کند. این بخش، وظایفی همچون ذخیره-سازی، خنثی‌سازی، پاکسازی و انتقال عناصر را بر عهده داشته و در واقع، رابط بین بخش‌های زنده و غیرزنده می‌باشد. خاک به عنوان یک فیلتر فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی و جذب‌کننده آنچه که وارد آن می‌شود، عمل می‌کند. اگرچه خاک بزرگترین تصفیه‌کننده طبیعت است ولی ظرفیت آن نامحدود نمی‌باشد. ممکن است درصد مواد سمی وارد شده به خاک به حد خطرناک رسیده و منجر به مسمومیت انسان، احشام و یا گیاهان گردد (صادقی،۱۳۸۰). آلاینده‌های آلی و غیرآلی زیادی وجود دارند که در آب و خاک حائز اهمیت هستند. این آلاینده‌ها شامل گونه‌های غیرآلی نظیر فسفات و نیترات، فلزهای سنگین مانند کادمیوم، کروم و سرب، مواد شیمیایی آلی، اسیدهای غیرآلی و رادیو نوکلیدها می‌باشند. منشاء این آلاینده‌ها، کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها، معادن آلوده‌ی صنعتی، مواد زائد و ریزش غبار رادیواکتیو است (اوستان، ۱۳۸۳). واژه فلزات سنگین اگرچه به آسانی تعریف نمی-

شود، ولی به صورت گسترده استفاده شده و معمولاً به عنوان نام گروهی از فلزات و شبه فلزات که با سمیت و آلودگی ارتباط دارند، به کار می‌رود. همچنین فلزات سنگین شامل عناصری است که برای زندگی موجودات زنده در غلظت‌های کم ضروری می‌باشد (Alloway,۱۹۹۰).

از میان این عناصر، سرب فلزی سنگین، خاکستری مایل به آبی، با عدد اتمی ۸۲ و نقطه ذوب ۳۲۷درجه سانتی‌گراد است. این عنصر در گیاهان و خاک به مقدار بسیار کم یافت می‌شود. مقدار این عنصر در خاک‌های اسیدی دارای حلالیت زیادی بوده و برای گیاهان سمی خواهد بود (Aldrich and Feng, 2002). لذا باران‌های اسیدی به صورت غیر مستقیم در افزایش مسمومیت گیاهان و جانوران نقش دارند. از بین تمام ترکیبات سرب، تترا اتیل سرب که در بنزین به عنوان ماده بالابرنده درجه اکتان مصرف می‌شود، در دمای معمولی اتاق قابل تصعید است، لذا این ترکیب جزء سمی‌ترین ترکیبات سرب محسوب می‌گردد (احمدی زاده،۱۳۷۶). شایع-ترین علت مسمومیت با سرب، جذب ذرات سرب موجود در هوا از طریق مجاری تنفسی به خصوص در صنایعی است که گرد و غبار، بخارات و دود سرب تولید می‌شود (Amodio- Cocieri and Fiore, 1987). در بین فلزات سنگین، سرب دارای اهمیت ویژه‌ای است، زیرا به راحتی توسط سیستم ریشه‌ای گیاه جذب می‌شود، در ضمن میزان سمیت آن برای گیاه بین ۲ تا ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین می‌باشد (Sharma and Dubey, 2005).

در سال‌های اخیر آلودگی به سرب به یک نگرانی عمده تبدیل شده است، چرا که تجمع سرب در بدن انسان می‌تواند موجب توسعه اختلال و کاهش هوش، از دست رفتن حافظه کوتاه مدت، ناتوانی در یادگیری و خطر بیماری قلبی و عروقی گردد. هم اکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه پاکسازی محیط زیست و خاک‌های مناطق آلوده به‌وسیله گیاهان توسط محققین مختلف در سطح دنیا در حال انجام است گیاه پالایی یکی از مهم ترین روش‌های زیستی مورد استفاده جهت پاکسازی خاک های آلوده به فلزات سنگین نظیر سرب است (Dixit et al, 2015). این فناوری مستلزم استفاده از گیاهان، زدایش، جابه جایی و یا تثبیت آلاینده های فلزی موجود در خاک می باشد، با این وجود زمان بر بودن این تکنیک یکی از معایب اصلی آن محسوب می‌گردد (Adriano, 2001)

زیست پالایی، یکی از روش‌های زیستی نوظهور در اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است، که شامل استفاده از میکروارگانیسم‌ها به منظور زدودن و یا بی اثر کردن آلاینده‌های فلزی خطرناک موجود در محیط‌های مختلف نظیر آب و خاک می‌باشد (Prasad, 2003). تکنولوژی زیست پالایی، از لحاظ مالی کم هزینه و از لحاظ زیست محیطی غیرمخرب می‌باشد و موجب افزایش فعالیت و تنوع میکروارگانیسم‌های خاک و ارتقای سلامت اکوسیستم‌ها می‌گردد (Glick, 2003). کارآیی زیست پالایی فلزات سنگین وابسته‌ی به روابط متقابل میان ریشه‌ی گیاه با میکروارگانیسم‌های خاک و غلظت قابل جذب فلزات سنگین می‌باشد (Wang et al, 1989). ارتقای روابط متقابل میان گیاهان و میکروارگانیسم‌های ریزوسفری سودمند که می‌تواند موجب افزایش تولید بیوماس و تحمل گیاهان نسبت به فلزات سنگین شود، به عنوان یکی از مهمترین اجزای تکنولوژی زیست پالایی در نظر گرفته شده است (Glick, 2003). چرا که این میکروارگانیزم‌ها مواد محرک رشد گیاه نظیر هورمون‌ها و ویتامین‌ها را تولید می‌کنند، ذرات خاک را به خاکدانه‌های پایداری که می‌توانند ساختمان خاک را بهبود بخشند، تبدیل کرده، پتانسیل فرسایش خاک را کاهش و در افزایش دسترسی گیاهان به عناصر غذایی خاک نقش موثری دارند (Shetty et al, 1994; Tallio et al, 2003).

با توجه به اهمیت مطالب مذکور، این مطالعه با هدف جداسازی باکتری‌های مقاوم به سرب در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و ارزیابی ارتباط متقابل بین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده با باکتری های موجود انجام شد.

مواد و روش ها

در این تحقیق، نمونه‌های خاک از بخش‌های داخلی (عمق‌های مختلف) و بیرونی دو معدن جاجرم و دهملا در استان سمنان تهیه و نمونه‌ها پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری جهت انجام مراحل بعدی به آزمایشگاه منتقل شدند. در معدن جاجرم دو نمونه

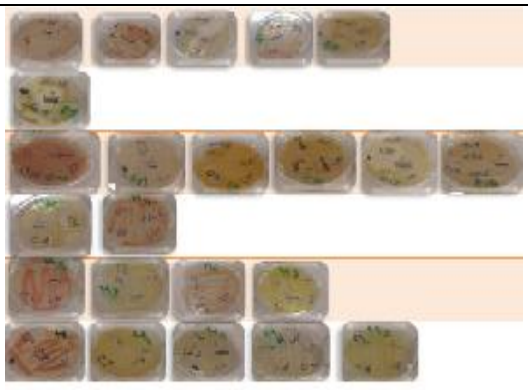
داخلی از عمق‌های ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متری و یک نمونه خارجی (اطراف معدن) و در معدن دهملا یک نمونه داخلی، یک نمونه بیرون از معدن (به علت وجود ذغال‌سنگ) و یک نمونه خارجی تهیه شد.

میزان سرب در نمونه‌ها با استفاده از روش عصاره‌گیری با AAAc+EDTA و دستگاه جذب اتمی تعیین شد. همچنین به منظور آنالیزهای بیشتر بافت خاک، از روش هیدرومتری، اندازه‌گیری EC و pH استفاده گردید. به منظور تعیین نوع، جنس و تعداد گونه‌ی باکتری‌های موجود در نمونه‌ها، سوسپانسیون‌هایی باغلظت‌های متفاوت (۱، 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4} و 10^{-5}) تهیه و در محیط کشت استریل LB Agar در پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری کشت شدند. محیط‌های کشت برای مدت ۳ روز در اتاقک رشد با نور مناسب و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رشد کردند. تنوع و تعداد باکتری‌ها به صورت چشمی شمارش و جهت دستیابی به تک کلونی، هر یک از محیط‌های کشت چند مرتبه باز کشت شدند.

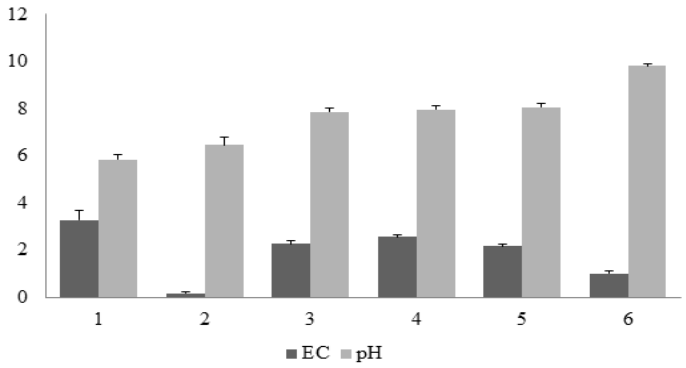
نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی و همچنین آنالیز بافت خاک در جدول ۱ نمایش داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از جدول ۱ می‌توان استنباط کرد که بین خصوصیات اندازه‌گیری شده و تعداد و تنوع باکتری‌ها یک رابطه معنی داری وجود دارد.

جدول ۱- خواص فیزیکی و شیمیایی و تنوع باکتریایی در خاک های مورد مطالعه

میزان سرب (میکرو گرم بر میلی گرم)	درصد شن	درصد سیلت	درصد رس	تنوع باکتریایی	نمونه خاک
۱۷/۷۵۶	۶۸/۵	۱۲	۱۹/۵		داخل معدن جاجرم عمق ۰ تا ۳۰
۱۸/۹۱۸	۷۸/۵	۱/۵	۲۰		داخل معدن جاجرم عمق ۴۰ تا ۳۰
۰/۴۲۱	۸۴	۱۴	۲		اطراف معدن جاجرم
۰/۲۴۱	۹۶	۲	۲		داخل معدن دهملا
۰/۳۲۲	۹۶/۵	۳/۵	۰		خارج از معدن دهملا (لایه ذغال سنگ)
۰	۷۱/۵	۲۱	۷/۷		اطراف معدن دهملا

در هر دو معدن نمونه‌های خاک بیرونی و اطراف معدن دارای تنوع بیشتری نسبت به نمونه‌های داخل معدن بودند، این موضوع احتمالا نشان‌دهنده این مطلب است که شرایط داخل معدن از قبیل کمبود نور، کمبود اکسیژن و بالا بودن حرارت و همچنین وجود مقادیر زیادی سرب بویژه در معدن جاجرم شرایط زندگی را برای میکروارگانیسم‌ها دشوار کرده است و در نتیجه فقط باکتری‌های مقاوم قادر به زیست در این شرایط شده‌اند. در ضمن در معدن جاجرم با افزایش عمق نمونه برداری تنوع باکتری به شدت کاهش یافته است، که این موضوع نتیجه‌گیری فوق را تایید خواهد کرد، چراکه با افزایش عمق نمونه برداری احتمالا شرایط رشدی سخت‌تر شده و مسلما تنوع باکتری‌های موجود کاهش خواهد یافت.



شکل ۱ – میزان pH و EC اندازه‌گیری شده در نمونه‌های خاک (شماره‌های ۱ تا ۶ به ترتیب مربوط به خاک داخل معدن دهملا، خاک خارج از معدن دهملا یا لایه ذغال‌سنگی، خاک اطراف معدن دهملا، خاک داخل معدن جاجرم در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر، خاک داخل معدن جاجرم در عمق ۳۰ تا ۴۰ و خاک اطراف معدن جاجرم می‌باشند).

در این تحقیق در مجموع با توجه به شکل و رنگ کلنی تعداد ۱۵ نوع باکتری مختلف شناسایی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان سرب و همچنین تنوع باکتری‌های موجود در معدن جاجرم نسبت به دهملا بیشتر بود. یعنی نمونه حاصل از معدن جاجرم در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر دارای بیشترین میزان سرب (۱۷/۷۵ میکروگرم بر میلی‌گرم) و همچنین تنوع باکتری بود. این نتیجه‌گیری می‌تواند نویدی برای شناسایی و جداسازی باکتری‌های باشد که قادر به زندگی در خاک‌هایی با مقادیر زیادی از سرب هستند. در حقیقت می‌توان با جداسازی باکتری‌های مقاوم به سرب در این معدن (جاجرم) و همچنین استفاده همزمان از این باکتری‌ها با گیاهانی که دارای پتانسیل گیاه پالایی هستند به پاکسازی هر چه بیشتر مکان‌های آلوده امیدوار بود.

Harichová و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی نمونه خاکی که به عناصر نیکل، کبالت، روی، آهن و مس آلوده بود، ۷۴ کلون باکتریایی را از خاک آلوده به عناصر مذکور جدا سازی و با استفاده از آنالیز ناحیه 16S rRNA این باکتری ها را در ۴ گروه مختلف طبقه بندی کردند. هر چند تعدادی از این باکتری ها به هیچ یک از این ۴ گروه تعلق نداشتند و ناشناخته ماندند. تعداد ۶ کلون باکتریای دارای ژن nccA (ژن مقاومت به فلزات سنگین) بودند. تعدادی زیادی از این کلون های باکتریایی به علت عدم شباهت با باکتری های شناخته شده، ناشناخته ماندند. این محققین ابراز داشتند که این ژن و باکتری‌های ناشناخته می‌توانند در فرآیندهای زیست پالایی به علت تفاوت در قدرت جذب و انتقالشان موثر واقع شوند.

نمونه مربوط به معدن جاجرم در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر نسبت به عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر دارای تنوع باکتری بسیار بیشتری بود. با توجه به جدول ۱ بین صفات درصد رس، شن، pH، EC و میزان سرب در این دو نمونه تفاوت معنی داری وجود ندارد، در حالیکه این دو نمونه در میزان درصد سیلت (به ترتیب ۱۲ و ۱/۵درصد) دارای اختلاف بسیار معنی داری هستند. با توجه به مطالب ذکر شده شاید بتوان وجود تنوع بالای باکتریایی در معدن جاجرم و در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری نسبت به عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی-متر را به وجود درصد بالای سیلت در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری مرتبط دانست . بنابراین معدن جاجرم در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی-متری به علت فراهم بودن شرایط مناسب رشدی و احتمالا وجود مقادیر بیشتر سیلت دارای تنوع باکتریای بیشتری بود.

Banerjee و همکاران (۲۰۱۵) از یک نمونه خاک آلوده به عناصر سرب،کادمیوم و نیکل یک نمونه باکتری به نام *Enterobacter cloaceae* را جداسازی کردند. میزان جذب عناصر سرب،کادمیوم و نیکل از خاک آلوده توسط این باکتری به ترتیب ۹۶،۶۴ و ۳۷ درصد بود. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۴۰۰ ppm از عناصر فوق در این باکتری اندازه گیری شد. در ضمن پروفایل بیان پروتئین در این باکتری در حضور این عناصر آنالیز گردید، نتایج نشان داد که بیان تعداد زیادی از پروتئین ها در حضور این عناصر در باکتری مذکور تغییر کرده است.

نتایج این تحقیق نشان داد هر چه میزان pH اندازه‌گیری بیشتر و EC کمتر باشد، تنوع باکتریای افزایش خواهد یافت. تنوع باکتری در نمونه خاک سطحی (عمق ۰ تا ۳۰) در معدن جاجرم با pH بیشتر و EC کمتر نسبت به معدن دهملا بیشتر بود. در ضمن بیشترین تنوع باکتریایی متعلق به معدن جاجرم می‌باشد، این نمونه دارای بیشترین pH (۹/۸) و کمترین میزان EC (۱ دسی‌زیمنس) می‌باشد. با توجه به جدول ۱ و شکل ۱ می‌توان نتیجه گرفت که هر چه pH بیشتر و EC کمتر باشد، تنوع باکتریایی افزایش می‌یابد. این موضوع تاکید می‌کند که باکتری‌های جداسازی شده در این پژوهش نسبت به pH اسیدی و شوری بالا حساس هستند.

منابع

احمدی‌زاده م. ۱۳۷۶. سم شناسی صنعتی فلزات سنگین. چاپ اول. انتشارات هزاران.

اوستان، ش. ۱۳۸۳. شیمی خاک (با نگرش زیست محیطی)(ترجمه). انتشارات دانشگاه تبریز.

صادقی، ع . ۱۳۸۰. جغرافیای خاک‌ها. انتشارات دانشگاه پیام نور.

Adriano D.C. 2001.Trace Elements in the Terrestrial Environment.New York.Springer-verlag.

Aldrich C and Feng D. 2002. Removal of heavy metals-from waste water effluents by biosorpitive flotation. Minerals Engineering,13:1129-1138.

Alloway B.J. 1990. Heavy metals in Soils. Halsted press, USA & Canada.

Amodio- Cocieri R and Fiore P. 1987. lead and cadmium concentration in Livestock bred in Campani, Italy. Bull of Environ. Contam .Toxicol,39:460-464.

Banerjee G., Pandey S., Ray A. K and Kumar R. 2015. Bioremediation of Heavy Metals by a Novel Bacterial Strain Enterobacter cloacae and Its Antioxidant Enzyme Activity, Flocculant Production, and Protein Expression in Presence of Lead, Cadmium, and Nickel. Water, Air, & Soil Pollution, 226(4): 1-9.

Dixit R., Wasiullah E.Y., Malaviya D., Pandiyan K., Singh U., Sahu A., Shukla R., Singh B., Rai J., Sharma P., Lade H., Paul D. 2015. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. Sustainability , 7: 2189-2212.

Glick B. R. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotech. Adv, 21: 383–393.

Harichová J., Karelová E., Pangallo D. and Ferianc P. 2012. Structure analysis of bacterial community and their heavy-metal resistance determinants in the heavy-metal-contaminated soil sample. Biologia, 67(6): 1038-1048.

Kabata-Pendias A and Pendias H. 2001. Trace metals in soils & plants. 3nd Edition. CRC press Inc. Florida, USA.

Kalinowski B. E., Liermann L. J., Brantley S. L. 2000. X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. Geochim. Cosmochim. Acta, 107: 225–231.

Prasad, M. N. 2003. Phytoremediation of Metal-Polluted Ecosystems: Hype for Commercialization. Russ. J. Plant Phys, 50: 686-700.

Sharma P and Dubey R.S. 2005. lead toxicity in plants.Braz.J.plant. physiol,17:35-52.

Shetty K. G., Hetrick B. A., Figge D. A., Schwab A. P. 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy-metal contaminated mine spoil. Env. Pollu, 86: 181–188.

Tallio M.F., Pierandrein A.,Salerno and Rea E. 2003.Tolerance to cadmium of vesicular arbuscular my corrhizae spurs isolated from a cadmium polluted an un polluted soil .Bio fertile soil ,37:211-214.

Wang P. C., Mori T., Komori K., Sasatsu M., Toda K., Ohtake H. 1989. Isolation and characterization of an Enterobacter cloacae strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. Appl. Environ. Microb, 55: 1665–1669.

Evaluation of physical, chemical and bacterial properties of contaminated soils with lead in the mines around of the Shahrood

F. Kordi[1], H. Ghorbani[1], A. Ebrahimi[2] and P. Heidari[2]

1- Soil science Department, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Semnan,
2- Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Semnan

Abstract

Lead (Pb) causes to disorders of physiological, biochemical and behavioral. Unfortunately, lead exposure is inevitable, because the metal is widely used in human life and strongly accumulates in the environment. In recent years, lead contamination has become a major concern. Bioremediation is one of the effective ways to remove pollution from heavy metals. In this study, bacterial diversity and interaction between the physical and chemical properties of contaminated soils in two mines Jajarm and Dehmola were investigated. . In this study, Surface samples compared to the deep samples had more diverse bacteria. This is probably due to favorable growing conditions (oxygen, temperature and light) are in surface samples. Also samples with high pH and low EC had more diverse bacteria. Overall, the survey results showed that bacterial diversity was affected by depth, environment (internal or external), pH and EC and Structural properties of soil have less effect on the population and bacterial diversity.

Keywords: Heavy metal, Lead, Soil microorganisms and Physical and chemical properties