نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیستم، شماره چهارم، ۱۳۹۲
http://jwsc.gau.ac.ir

پاک‌سازی خاک آلوده به نفت کوره به‌وسیله یونجه و چمن به‌همراه باکتری سودوموناس پوتیدا

*مریم خسروی‌نوده[۱]، علی عباسپور[۲]، سیده‌سهیلا ابراهیمی[۳] و حمیدرضا اصغری[۴]
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه آب و خاک، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران، [۲]استادیار گروه آب و خاک، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران، [۳]استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، [۴]استادیار گروه زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران
تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۰

چکیده

آلودگی منابع آبی و خاک توسط نفت خام و مشتقات آن در هنگام استخراج نفت خام، ترابری، پالایش و سوختن آن مشکلی پیچیده و رایج در سراسر دنیا به‌شمار می‌آید. این نوع آلودگی اثرات منفی و زیان‌آوری بر سلامت انسان و سایر موجودات دارد و تهدیدی جدی برای محیط زیست به‌شمار می‌رود. از این‌رو، پاک‌سازی زیستی آلودگی نفتی در صورت امکان‌سنجی کاربرد، جایگزینی مناسب و کاربردی برای روش‌های فیزیکی و شیمیایی است. در این راستا، هدف از انجام این پژوهش، بررسی نرخ کاهش آلودگی هیدروکربنی خاک‌های آلوده به مواد هیدروکربنی (نفت کوره) توسط کشت دو گیاه یونجه و چمن با و بدون همراهی باکتری سودوموناس پوتیدا به روش گیاه‌پالایی بود. به این منظور بذور دو گیاه یونجه و چمن در دو سطح تراکم و به همراه دو تیمار با و بدون باکتری سودوموناس پوتیدا در تعدادی گلدان شامل خاک آلوده به نفت کوره با درصد آلودگی مشخص، کشت و در شرایط گل‌خانه‌ای نگهداری شدند. نمونه‌برداری خاک در مراحل جوانه‌زنی، رویشی و زایشی گیاهان انجام شد. سپس نمونه‌های خاک به آزمایشگاه منتقل و آزمایش‌های لازم بر روی نمونه‌های خاک موردنظر انجام شد. بررسی نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که هر دو گیاه یونجه و

* مسئول مکاتبه: m.khosravinodeh@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

چمن میزان آلودگی خاک به نفت کوره را کاهش دادند. همچنین افزایش تراکم کشت و اعمال تیمار باکتری نیز در کاهش میزان آلودگی هیدروکربنی خاک اثر مثبتی داشته اما این کاهش نسبت به تیمار بدون باکتری و تراکم کم‌تر گیاه معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، سودوموناس پوتیدا، گیاه‌پالایی، نفت کوره

مقدمه

جامعه مدرن امروز هم‌چنان در درجه اول به استفاده از هیدروکربن‌های نفت خام برای تولید انرژی مورد نیاز تکیه دارد. با وجود پیشرفت‌های اخیر فن‌آوری، آلودگی خاک در اثر نشت تصادفی نفت خام و محصولات تصفیه شده آن به‌طور مکرر در طی عملیات معمول استخراج، حمل و نقل، ذخیره‌سازی، پالایش و توزیع رخ می‌دهد (ژو و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین آلودگی محیط زیست توسط نفت خام و مشتقات آن یک مشکل جدی در سراسر جهان است. به‌طورکلی تجمع آلاینده‌ها در خاک می‌تواند اثرات مخربی بر محیط زیست و سلامت انسان داشته باشد. آلاینده‌های موجود در خاک می‌توانند وارد زنجیره غذایی شده و سلامت حیوان و انسان را با خطر جدی مواجه سازد (مرکل و همکاران، ۲۰۰٤). نفت خام یک ترکیب پیچیده و مخلوطی از ترکیبات آلی است که به آن‌ها هیدروکربن گفته می‌شود. این ترکیبات می‌توانند شکل‌های مختلف داشته باشند؛ گاز طبیعی، نفت خام مایع، آسفالت جامد یا نیمه‌جامد یا قیر (ژیونگ و همکاران، ۱۹۹۷). نفت خام و محصولات آن شامل انواع زیادی از ترکیبات آلی دربرگیرنده هیدروکربن‌های آروماتیک و آلیفاتیک هستند (فوکویی و همکاران، ۱۹۹۹). این هیدروکربن‌ها در ۳ گروه پارافینی (آلکان‌ها)، نفتنی (سیکلوآلکان‌ها) و آروماتیک قرار می‌گیرند. ترکیبات آروماتیک شامل بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن (بی تی ای ایکس) هستند. علاوه‌بر این هیدروکربن‌های نفت دارای مقدار کمی ترکیبات آلی گوگرددار، نیتروژن‌دار و اکسیژن‌دار و مقدار بسیار جزیی ترکیبات آلی- فلزی با پایه نیکل، وانادیم و آهن می‌باشد. از نظر تجزیه‌پذیری نفت را می‌توان به ٤ جزء هیدروکربن‌های اشباع، هیدروکربن‌های آروماتیک، مواد قطبی غیرهیدروکربنی مثل رزین و در نهایت آسفالتن تقسیم کرد. نفت سبک بیش‌تر از هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک تشکیل شده که دارای درصد کمی از رزین و آسفالتن می‌باشد اما نفت سنگین که ناشی از تجزیه نفت خام در شرایط بدون اکسیژن در مخازن طبیعی است هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک کم‌تری دارد و بیش‌تر از

Archive of SID

www.SID.ir

ترکیبات قطبی، رزین و آسفالتن تشکیل شده است. هنگام تجزیه زیستی نفت خام در محیط طبیعی، مواد مشابه‌ای با تجزیه نفت سنگین به‌دست می‌آید. به‌دلیل این‌که بیش‌ترین قسمت نفت را هیدروکربن‌ها تشکیل می‌دهند، تجزیه آن‌ها از نظر کمی مهم‌ترین فرآیند حذف نفت از محیط است. آلودگی‌های نفتی به ۳ روش فیزیکی، شیمیایی و زیستی پاک‌سازی می‌شوند. در روش فیزیکی در مورد آلودگی آب‌ها ممکن است از ابزارهای جمع‌کننده و در مورد خاک‌ها از روش دفن بهداشتی مواد آلوده استفاده شود و یا سوزاندن به‌کار گرفته می‌شود. روش‌های شیمیایی شامل تزریق مستقیم اکسیدکننده‌های شیمیایی به محیط است که منجر به تغییر ماهیت طبیعی محیط می‌شود. روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیار گران هستند و بیش‌تر در پاک‌سازی آلودگی‌های با شدت زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرند. متأسفانه هزینه‌های بالای حذف آلاینده‌ها از خاک به‌وسیله روش‌های فیزیکی و شیمیایی متداول سبب شده است بسیاری از کشورها، به‌ویژه کشورهای در حال توسعه که از قدرت فنی و اقتصادی کم‌تری نسبت به کشورهای پیشرفته برخوردارند، از این مشکل به‌طورکلی صرف‌نظر کنند. در عین‌حال کشورهای صنعتی برای دست‌یابی به فن‌آوری‌های پالایش ارزان و کارآمد، پیش‌گام و پیشتاز هستند که این نشانی از درک صحیح از اهمیت مسایل زیست‌محیطی و تلاش آگاهانه در برخورد با معضلات زیست‌محیطی می‌باشد. اما روش‌های زیستی ارزان‌تر، مؤثرتر و بی‌ضررتر به‌نظر می‌رسند. زیست‌پالایی یک فن‌آوری حذف آلودگی است که در آن سیستم زیستی برای تخریب یا تغییر شکل مواد شیمیایی زیان‌بار استفاده می‌شود. عموماً احیاء زیستی به دو روش در محل[1] و خارج از محل[2] انجام می‌شود. هدف زیست‌پالایی نفت، تجزیه کامل هیدروکربن‌ها به آب و دی‌اکسیدکربن توسط میکروارگانیسم است. این تکنیک نسبت به سایر روش‌های حذف آلودگی نفتی چندین برتری دارد، که از جمله می‌توان به این موارد اشاره نمود: تبدیل مواد سمی به محصولات نهایی و بی‌خطر، هزینه پایین، کاهش اثرات جانبی روی سلامت انسان و محیط زیست، تأثیر طولانی‌مدت همراه با روش‌های غیرمخرب و بالاخره توانایی حذف آلودگی به‌صورت درجا و بدون این‌که لازم باشد اختلالی در اکوسیستم ایجاد شود (راه‌پیما سروستانی، ۲۰۱۰). در میان روش‌های زیستی، استفاده از باکتری‌ها در حذف آلودگی بازدهی بسیار خوبی دارد و مورد مطالعه فراوان قرار گرفته است (اطلس، ۱۹۸۱؛ براگ و همکاران، ۱۹۹٤) روش دیگر گیاه‌پالایی است که شامل استفاده از گیاهان برای

1- In Situ
2- Ex Situ

Archive of SID

www.SID.ir

پاک‌سازی آلاینده‌های خاک است. در گیاه‌پالایی، گیاهان معمولاً آلاینده‌ها را جذب، اندوخته و یا متصاعد می‌کنند. در حقیقت گیاه‌پالایی خاک‌های نفتی را برای استفاده میکروفلور رایزوسفر نسبت به خود گیاه سریع‌تر آماده می‌سازد (رادوان، ۲۰۰۸). هم‌چنین موفقیت گیاه‌پالایی تا حد زیادی به سن و گونه گیاهی، قابلیت دسترسی مواد غذایی و آلاینده‌ها بستگی دارد (لیسته و فلجنتریا، ۲۰۰٦). در دهه اخیر مطالعات زیادی در خصوص استفاده از انواع روش‌های مختلف تصفیه خاک‌های آلوده به مواد نفتی انجام شده است. در این راستا، هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر منفرد و تلفیقی چندین سیستم زیستی پاک‌سازی آلودگی هیدروکربوری خاک‌های آلوده، یافتن گیاهان اصلاح‌کننده بومی منطقه با خاصیت زیست‌پالایی و انتخاب نوع مناسب آن با توجه به زیست‌بوم، به‌عنوان راهی عملی و پایدار برای استفاده در خاک‌های آلوده در حذف و پالایش هیدروکربورهای نفتی از خاک می‌باشد. علاوه‌بر آن بررسی خواهد شد که اثر باکتری‌های نفت‌خوار در پالایش منطقه به چه صورت است. افزون بر آن، سعی می‌شود اثر مشترک هر دو سیستم پاک‌سازی مورد ارزیابی قرار گیرد و حذف یا کاهش آلودگی خاک‌های منطقه مورد مطالعه از آلاینده‌های نفتی با استفاده از گیاه و ارزیابی مقدار و چگونگی امکان پالایش خاک‌های آلوده به آلاینده‌های نفتی اطراف پالایشگاه‌ها با استفاده از روش‌های زیستی و دست‌یابی به دانش فنی پالایش این خاک‌ها موردنظر قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

خصوصیات خاک: در این پژوهش، خاک مورد مطالعه از شرکت ملی پخش و پالایش فرآورده‌های نفتی واقع در شرق شاهرود تهیه شد. آلاینده هیدروکربنی خاک موردنظر، از نوع نفت کوره بود. نفت کوره برشی از نفت خام تقطیر شده است و به‌طور عمده به مایعی گفته می‌شود که برای سوختن در کوره و بویلر و موتورهای تولید قدرت مصرف می‌شود. نفت کوره متشکل از سنگین‌ترین بخش‌های نفت خام و معمولاً فرآورده پایین ستون تقطیر در خلاء است و چون سیاه‌رنگ است به نفت سیاه نیز موسوم است. مطالعات خاک‌شناسی نمونه‌های خاک شامل هیدروکربن‌های نفتی (نفت کوره) شامل pH عصاره اشباع خاک (توماس، ۱۹۹٦)، قابلیت هدایت الکتریکی خاک با دستگاه هدایت‌سنج (EC) (رودس، ۱۹۹٦)، مقدار آهک (بویویوکاس، ۱۹٦۲)، نیتروژن کل خاک به روش کجلدال (برمر، ۱۹۹٦)، کربن آلی به روش والکی بلک (نلسون و سامر، ۱۹۸۲)، فسفر خاک به روش اولسن (کائو، ۱۹۹٦) در آزمایشگاه انجام شد (جدول ۱). غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک در ابتدای آزمایش و براساس

Archive of SID

www.SID.ir

دستورالعمل EPA (آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا، ۲۰۰۱) به‌صورت انتقال آلودگی از ماتریکس خاک به سیال حلال به‌نام دی‌کلرومتان، تبخیر حلال و سنجش آلاینده هیدروکربنی بود. به ین صورت آلودگی اولیه خاک حدود ۱۶/۵ درصد برآورد شد، که این مقدار آلودگی برای گیاه بسیار بالاتر از ماکزیمم بازدهی گیاه‌پالایی بود (شهریاری و همکاران، ۲۰۰۶) که حداکثر معادل ۱۰ درصد برآورد شده است، بنابراین خاک آلوده براساس آلودگی اولیه با مقداری خاک رسی مخلوط گردید تا مقدار آلودگی آن به ۶/۵ درصد رسید و برای کاشت گیاهان آماده شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در گیاه‌پالایی.

پارامتر	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)	بافت	pH	EC (دسی‌زیمنس بر متر)	آهک	نیتروژن کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	فسفر قابل دسترس (درصد)
مقدار	۳/۹	۱۷/۶	۷۸/۵	شنی لوم	۷/۹۹	۱/۳۴	۲۳	۰/۱۰۴	۳/۸	۲۹

انتخاب گیاهان برای انجام گیاه‌پالایی: برای شناسایی و انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم و مستعد در حذف آلودگی هیدروکربن‌های نفتی، مطالعات لازم انجام شد و در نهایت ۲ گیاه یونجه یک‌ساله (*Medicagoscutellata*) از خانواده لگوم‌ها و چمن پوآ (*Poabulbosa*) از خانواده گراس‌ها انتخاب شد (مرکل و همکاران، ۲۰۰۴).

یونجه گیاهی یک یا چندساله از خانواده لگوم‌ها است که ریشه‌ای راست و مستقیم دارد. برخوردار بودن این گیاه از یک سیستم ریشه‌ای قوی، عامل موفقیت آن در مقاومت به همه عوامل نامساعد به‌شمار می‌آید. هم‌چنین لگوم‌ها به‌دلیل تثبیت نیتروژن توسط ریشه‌های گره‌ای خود بازسازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی را تسهیل می‌کنند (مرکل و همکاران، ۲۰۰۴).

چمن جزو تیره گندمیان[1] محسوب شده و به‌عنوان گیاه مؤثر در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی پیشنهاد شده‌است. چمن گیاه علفی بوده و دارای سیستم ریشه‌ای فیبری است و به تعامل جامعه میکروبی و آلاینده کمک می‌کند (وایت و همکاران، ۲۰۰۵).

1- (Graminae) *Poaceae*

Archive of SID

www.SID.ir

انتخاب باکتری: مطالعات لازم بر روی گونه‌های مختلف باکتریایی انجام گرفت (رادوان، ۲۰۰۹). گونه‌های باکتریایی که بیش‌تر به‌عنوان تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی عمل می‌کنند، به‌طور عمومی شامل *Acinetobacter*، *Pseudomonas*، *Arthrobacter*، *Bucillus* و *Alkaligenes* هستند. در این پژوهش باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonasputida*) (محرک رشد گیاه PGPR) انتخاب شد. از دلایل اصلی انتخاب این باکتری رایزوسفری (تثبیت‌کننده نیتروژن) توانایی آن در افزایش آزاد کردن ترکیبات آلی ساده توسط ریشه‌های گیاهی و پتانسیل مصرف هیدروکربن‌های نفتی در میان این گونه است (کورن و همکاران، ۲۰۰۳؛ رابسون و همکاران، ۲۰۰٤؛ رادوان، ۲۰۰۹).

آزمایش گل‌خانه‌ای: برای آماده‌سازی خاک، نمونه‌های خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد، سپس با نسبت معینی از خاک رسی مخلوط شد و به‌میزان آلودگی مشخص اولیه رسید و پس از زمان تعادلی مقدار آلودگی کل هیدروکربنی آن معادل ٦/٥ درصد اندازه‌گیری شد. سپس مقدار ۳ کیلوگرم از خاک آلوده موردنظر (با آلودگی ٦/٥ درصد) به هر گلدان منتقل شد و بذور ۲ گیاه یونجه (یک‌ساله) و چمن (پوآ) در ۲ سطح تراکم (تراکم ۱۰ و ۲۰ برای گیاه یونجه و تراکم ۵ و ۱۰ برای گیاه چمن براساس میزان حداقل و حداکثر کاشت در هکتار (خطیبی و همکاران، ۲۰۰۹) و با ۲ تیمار با و بدون باکتری (سودوموناس پوتیدا) به‌کار رفت. به‌دلیل این‌که قوه نامیه بذور یونجه بسیار پایین بود قبل از کشت، ابتدا آن‌ها را به‌مدت ۵ و ۱۰ دقیقه در اسید سولفوریک ۹۸ درصد خوابانده که در مدت زمان ۱۰ دقیقه بالاترین درصد جوانه‌زنی (۹۰ درصد) مشاهده شد. بعد از آن بذور یونجه در گلدان‌ها قرار داده شد و سپس گلدان‌ها در گلخانه و شرایط کنترل شده نگهداری شدند. گلدان‌ها هر ۲ روز یک‌بار آبیاری شدند. بعد از گذشت ۱۱ روز بذور هر دو گیاه یونجه و چمن در خاک آلوده جوانه زدند که در مقایسه با شاهد تاخیری در جوانه‌زنی آن‌ها مشاهده نشد. پس از گذشت حدود ۱ ماه از کشت، نمونه‌برداری خاک به‌صورت حفر دستی در مرحله پس از جوانه‌زنی در ناحیه ریشه گیاهان انجام شد. این نمونه‌برداری هم‌چنین در مرحله پس از رشد رویشی و مرحله زایشی گیاهان موردنظر نیز انجام شد. سپس نمونه‌های خاک به آزمایشگاه منتقل و در دمای اتاق خشک و برای آنالیز آماده شد. این مطالعه به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل در ۲ سطح تراکم، ۲ تیمار با و بدون باکتری، ۳ مرحله رویشی و ۳ تکرار انجام شد. تیمار شاهد شامل خاک غیرآلوده و هر دو گیاه در ۲ سطح تراکم، ۲ تیمار با و بدون باکتری، ۳ مرحله رویشی و ۳ تکرار بود. تجزیه آماری داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

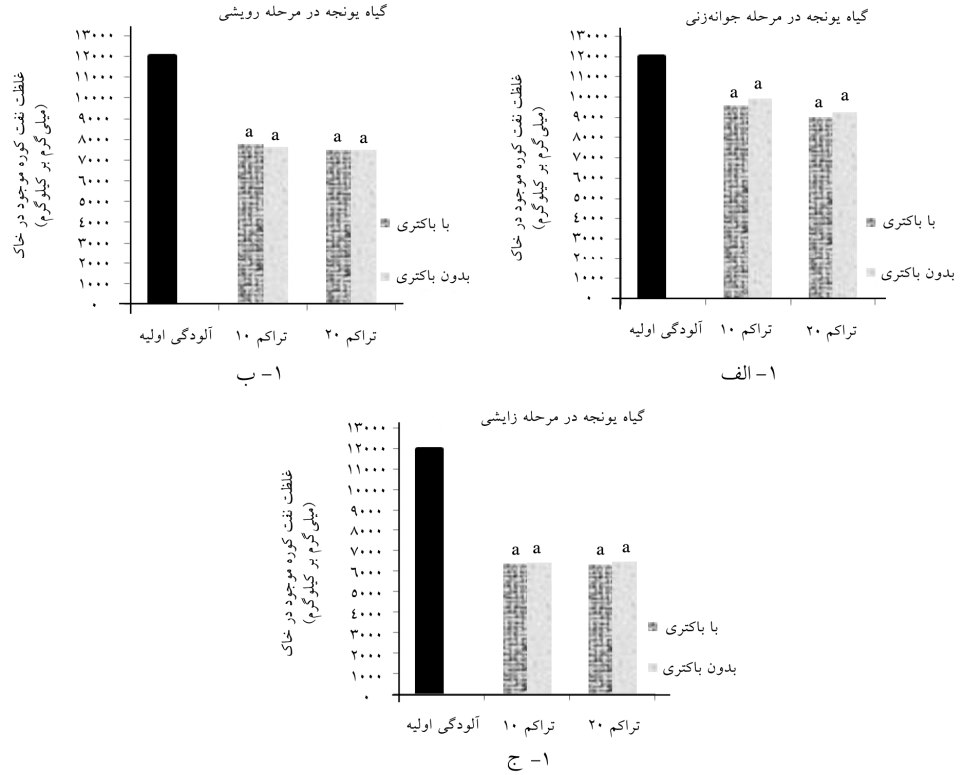
استخراج نفت از خاک: استخراج نفت از خاک طبق روش اصلاح‌شده Marquez-Rocha (مارکوئز روکا و همکاران، ۲۰۰۰) انجام شد. مقدار ۲ گرم خاک آلوده وزن شد و به آن حدود ۱۰ میلی‌لیتر حلال دی‌کلرومتان اضافه شد. مخلوط به‌شدت و به‌مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. سپس مخلوط در دور ۳۰۰۰ و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا خاک آن رسوب نماید. محلول رویی از خاک جدا شد و در ظرف شیشه‌ای که از قبل وزن شده بود ریخته شد. مرحله بالا دوباره تکرار شد. سپس اجازه داده شد که حلال دی‌کلرومتان برای مدت ۲٤ ساعت در دمای آزمایشگاه تبخیر شده و باقی‌مانده دوباره وزن شد. این وزن مقدار نفت موجود در خاک را مشخص می‌کند.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد، گیاه یونجه کشت شده در خاک آلوده به نفت کوره به آلودگی موجود در خاک مقاوم بوده و در آن جوانه زده و رشد کرد و مقدار آلودگی نفتی (نفت کوره) کل خاک را در هر مرحله از رشد کاهش داد. در مرحله جوانه‌زنی گیاه یونجه، مقدار کاهش بیش‌تر آلودگی نفتی خاک مربوط به تیمار با باکتری و در تراکم ۲۰ (تراکم بیش‌تر) بود (اثر تراکم و باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) که مقدار این کاهش برابر با ۳۰/۸ درصد بود (شکل ۱- الف). در مرحله رویشی گیاه یونجه، تراکم ۲۰ نسبت به تراکم ۱۰ اندکی بیش‌تر در میزان آلودگی نفتی خاک کاهش نشان داد (اثر تراکم در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) همچنین اعمال تیمار باکتری تأثیری بر میزان کاهش آلودگی نفتی خاک نداشت (اثر باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) و مقدار کاهش آلودگی نفتی در خاک، در تیمار بدون باکتری با تیمار با باکتری برابر بود که مقدار آن ٤۱/۵ درصد بود (شکل ۱- ب). در مرحله زایشی گیاه یونجه نیز تیمار با باکتری نسبت به تیمار بدون باکتری در هر دو سطح تراکم گیاه یونجه تأثیر کمی در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک داشت و مقدار کاهش آلودگی نفتی خاک در تراکم ۲۰ و تیمار با باکتری نسبت به تراکم ۱۰ و تیمار با باکتری اندکی کاهش بیش‌تری نشان داد (اثر تراکم و باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) که مقدار آن معادل ۵۰ درصد نسبت به آلودگی نفتی اولیه موجود در خاک بود (شکل ۱- ج).

Archive of SID

www.SID.ir



۱- ب

۱- الف

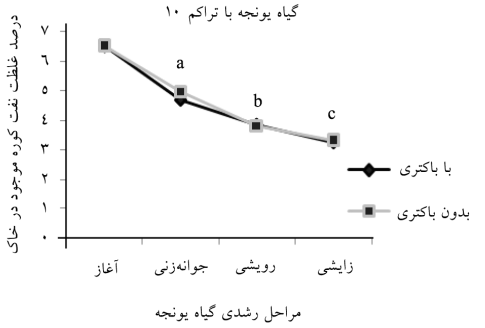
۱- ج

شکل ۱- تغییرات غلظت نفت کوره موجود در خاک پس از کاشت گیاه یونجه در ۳ مرحله رشد در ۲ سطح تراکم و تیمار با و بدون باکتری. الف) مرحله جوانه‌زنی، ب) مرحله رویشی و ج) مرحله زایشی (حروف مشابه نشان‌دهنده این است که اثر تیمار سطح تراکم گیاه و تیمار باکتری در میزان کاهش غلظت آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک معنی‌دار نبوده است).

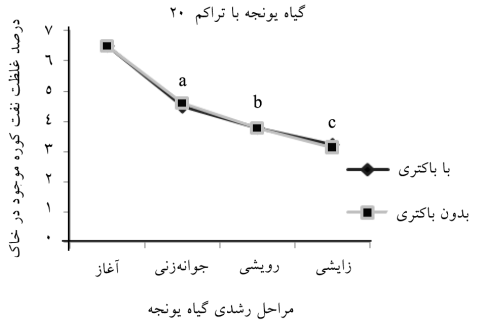
با توجه به نتایج مشاهده‌ها در گیاه یونجه، اعمال تیمار باکتری و سطح تراکم میزان آلودگی موجود در خاک را کاهش داد ولی میزان این کاهش معنی‌دار نبود به این معنی که افزایش تراکم گیاه یونجه و افزودن باکتری به گیاه اثر مثبتی در کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) خاک نداشت، اما تأثیر مراحل مختلف رشدی گیاه یونجه در کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) معنی‌دار بوده به این معنی که در هر مرحله از رشد گیاه، ما شاهد کاهش معنی‌دار میزان آلودگی نفتی (نفت کوره) در خاک بودیم. بنابراین بیش‌ترین میزان کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک در هر ۳ مرحله رشد مربوط به مرحله زایشی در گیاه یونجه در هر دو سطح تراکم گیاه و تیمارهای با و بدون باکتری بود (اثر مرحله رشد در

Archive
www.SID.ir

کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار بود) که میزان آلودگی نفتی موجود در خاک را به نصف کاهش داد (شکل ۲- الف و ب) (جدول ۲) و با پژوهش‌های وایلتس و همکاران (۱۹۹۸) در مورد اثر مثبت گونه‌های گیاه یونجه بر کاهش غلظت آلاینده‌های ناشی از نفت خام در خاک هم‌خوانی داشت.



۲- الف



۲- ب

شکل ۲- بررسی روند تغییرات درصد آلودگی نفتی خاک (نفت کوره) در طول دوره رشدی گیاه یونجه در ۲ سطح تراکم و با ۲ تیمار با و بدون باکتری. الف) گیاه یونجه با تراکم ۱۰. ب) گیاه یونجه با تراکم ۲۰ (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تیمار مرحله رشد در کاهش غلظت آلودگی نفتی (نفت کوره) در خاک است).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر مراحل رویشی، تراکم گیاه و باکتری برمیزان گیاه‌پالایی یونجه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد نفت
تکرار	۲	۰/۰۹۸^{ns}
مرحله رشد	۱	٦/٥٢**
تراکم	۱	۰/۱۷۳^{ns}
باکتری	۱	۰/۰۲۳^{ns}
مرحله رشد × تراکم	۲	۰/۰٤۷^{ns}
مرحله رشد × باکتری	۲	۰/۰٥۳^{ns}
تراکم × باکتری	۱	۰/۰۲٤^{ns}
رشد × تراکم × باکتری	۲	۰/۰۰۹^{ns}
خطا	۲۲	۰/۱۷۷۸
ضریب تغییرات (درصد)	–	۱۰/۷٦

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns}غیرمعنی‌دار.

Archive of SID

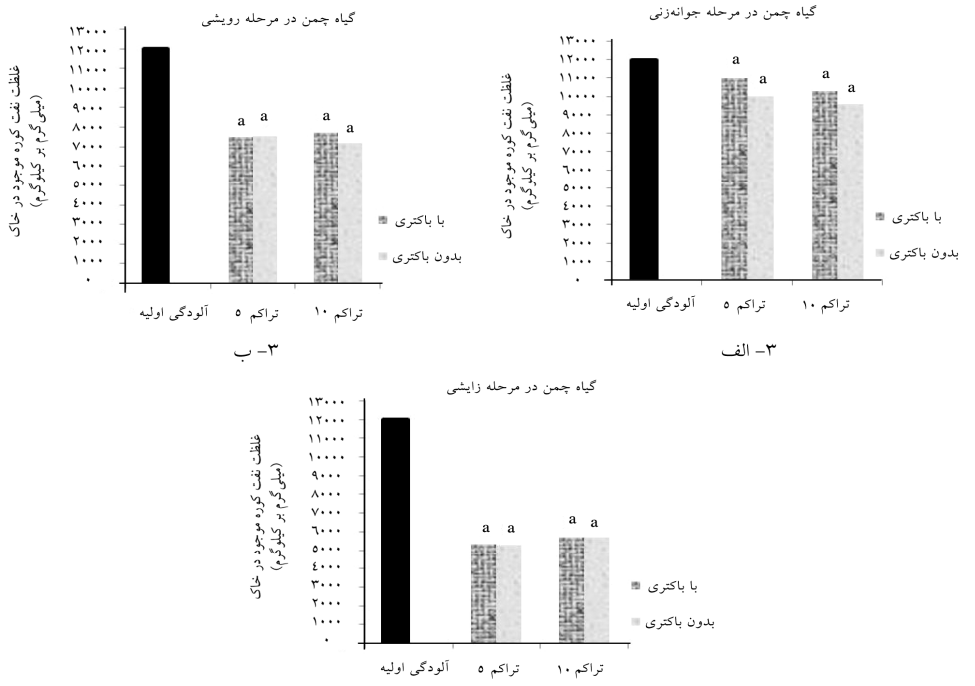
www.SID.ir

نتایج به‌دست آمده در مورد گیاه چمن، نشان داد که گیاه چمن کشت شده در خاک آلوده به نفت کوره نیز به آلودگی نفتی موجود در خاک مقاوم بوده و در آن جوانه زده و رشد کرده و مقدار آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک را در هر مرحله از رشد گیاه چمن کاهش داد. در مرحله جوانه‌زنی گیاه چمن میزان کاهش آلودگی نفتی خاک در تراکم ۱۰ (تراکم بیش‌تر) و در تیمار بدون باکتری بیش‌تر بود که مقدار آن برابر با ۲۵/۲ درصد بود (اثر تراکم و باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) (شکل ۳- الف). در مرحله رویشی گیاه چمن میزان کاهش آلودگی نفتی موجود در خاک در تراکم ۱۰ گیاه چمن و تیمار بدون باکتری نسبت به سایر تیمارها به میزان کمی بیش‌تر بود (اثر تراکم و باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) که مقدار آن برابر با ٤۰ درصد بود (شکل ۳- ب). اما در مرحله زایشی گیاه چمن میزان کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک در تراکم ۵ گیاه چمن (تراکم کم) و در تیمار بدون باکتری نسبت به سایر تیمارها اندکی بیش‌تر بود (اثر تراکم و باکتری در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار نبود) که مقدر آن برابر با ۵۹/۲ درصد بود (شکل ۳- ج).

با توجه به نتایج مشاهده‌ها در گیاه چمن، اعمال تیمار باکتری و سطح تراکم میزان آلودگی موجود در خاک را کاهش داد ولی میزان این کاهش معنی‌دار نبود به این معنی که افزایش تراکم گیاه و افزودن باکتری به گیاه اثر مثبتی در کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) خاک نداشت، اما تأثیر مراحل مختلف رشدی گیاه در کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) معنی‌دار بوده به این معنی که در هر مرحله از رشد گیاه ما شاهد کاهش معنی‌دار میزان آلودگی نفتی (نفت کوره) خاک بودیم و بیش‌ترین میزان کاهش آلودگی نفتی خاک در هر ۳ مرحله رشد مربوط به مرحله زایشی در گیاه چمن در هر ۲ سطح تراکم گیاه و تیمارهای با و بدون باکتری بود (اثر مرحله رشد در کاهش میزان آلودگی نفتی خاک معنی‌دار بود) (جدول ۳) که میزان آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک را به بیش‌تر از نصف کاهش داد (شکل ٤- الف و ب) و با پژوهش‌های دینگ و همکاران (۲۰۰٤) در مورد اثر مثبت گیاه ری‌گرس بر کاهش غلظت آلاینده‌های هیدروکربنی در خاک هم‌خوانی داشت. همچنین کایمی و همکاران (۲۰۰٦) ری‌گرس را گیاهی مقاوم به نفت گزارش کردند که در خاک‌های شور و قلیایی به‌خوبی رشد می‌کنند. ریشه‌های ری‌گرس در افزایش تجزیه زیستی خاک آلوده به نفت دیزل مؤثر نشان داده شده است. ژیو و همکاران (۲۰۰٦) نیز به نقش مؤثرتر کشت هم‌زمان ذرت- ری‌گراس بر کاهش غلظت ترکیبات نفتی در خاک اشاره کردند.

Archive of SID

www.SID.ir

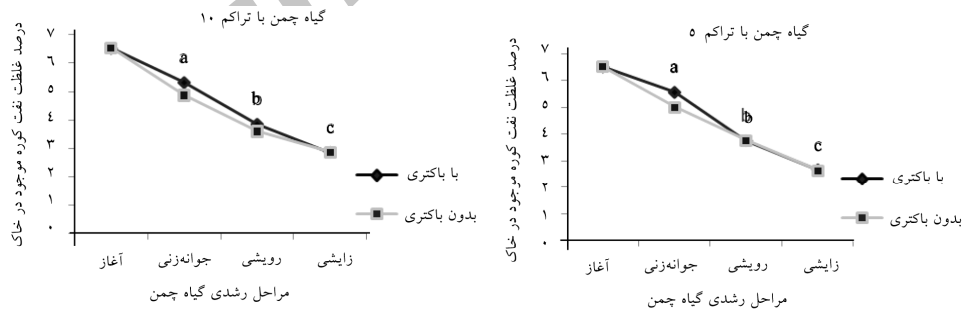


۳- الف

۳- ب

۳- ج

شکل ۳- تغییرات غلظت نفت کوره موجود در خاک پس از کاشت گیاه چمن در ۳ مرحله رشد در ۲ سطح تراکم و تیمار با و بدون باکتری. الف) مرحله جوانه‌زنی. ب) مرحله رویشی. ج) مرحله زایشی (حروف مشابه نشان‌دهنده این است که اثر تیمار سطح تراکم گیاه و تیمار باکتری در میزان کاهش غلظت آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک معنی‌دار نبوده است).



٤- الف

٤- ب

شکل ٤- بررسی روند تغییرات درصد آلودگی نفتی خاک (نفت کوره) در طول دوره رشدی گیاه چمن در ۲ سطح تراکم و با ۲ تیمار با و بدون باکتری. الف) گیاه چمن با تراکم ۵. ب) گیاه چمن با تراکم ۱۰ (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تیمار مرحله رشد در کاهش غلظت آلودگی نفتی (نفت کوره) در خاک است).

www.SID.ir

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر مراحل رویشی، تراکم گیاه و باکتری بر میزان گیاه‌پالایی چمن.

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد نفت
تکرار	۲	۰/۰۲۹^{ns}
مرحله رشد	۱	۱۷/٦۷**
تراکم	۱	۰/۰۰۰۱^{ns}
باکتری	۱	۰/۳٦٦^{ns}
مرحله رشد × تراکم	۲	۰/۱۲۷^{ns}
مرحله رشد × باکتری	۲	۰/۱۹۸^{ns}
تراکم × باکتری	۱	۰/۰۰۳^{ns}
رشد × تراکم × باکتری	۲	۰/۰۲۹^{ns}
خطا	۲۲	۰/۱۷۷۲
ضریب تغییرات (درصد)	–	۱۰/۸۰

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns}غیرمعنی‌دار.

به‌طورکلی نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که دو گیاه یونجه و چمن کشت شده در خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (نفت کوره)، به آلودگی نفتی موجود در خاک مقاوم بوده و در آن جوانه زده و رشد کردند (تاخیری در زمان جوانه‌زنی گیاه نسبت به شاهد مشاهده نشد) و مقدار آلودگی نفتی (نفت کوره) موجود در خاک را در هر مرحله از رشد (هر دو گیاه یونجه و چمن) کاهش دادند، البته به‌نظر می‌رسد عملکرد گیاه چمن در کاهش آلودگی نفتی (نفت کوره) خاک بهتر بوده است. اعمال تیمار باکتری سودوموناس پوتیدا نیز اثر معنی‌داری بر روی میزان کاهش آلودگی نفتی موجود در خاک نسبت به تیمار بدون باکتری نداشته است، همچنین تراکم بیش‌تر گیاه نسبت به تراکم کم‌تر اثر معنی‌داری بر روی میزان کاهش آلودگی نفتی موجود در خاک نداشت. بنابراین گیاه یونجه (از خانواده لگومینه) برای کشت در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به‌دلیل مقاومت به آلودگی هیدروکربنی و گیاه چمن به‌دلیل رشد مناسب در خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی و ایجاد سیستم ریشه‌ای فیبری مناسب برای استفاده در پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به روش گیاه‌پالایی پیشنهاد می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1.Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbial. Rev. 45: 180-209.
2.Bouyoucos, C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Agron. J. 54: 464-465.
3.Bragg, J.R., Prince, R.C., Harner, E.J., and Atlas, R.M. 1994. Effectiveness of Bioremediation of Exxon Valdez oil spill. Nature, 368: 413-418.
4.Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. P 1085-1122, In: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A. and Loeppert, R.H. Method of soil analysis published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of agronomy. Inc: Madison, Washington, USA.
5.Cerniglia, C.E., Gibson, D.T., and Van Baalen, C. 1980a. Oxidation of naphthalene by the cyanobacteria and microalgae. J. Gen. Microbial. 116: 495-500.
6.Curl, E.A., and Truelove, B. 1986. The rhizosphere. Springer, Berlin.
7.Ding, K.Q., Luo, Y.M., Liu, S.L., Wu, L.H., Xin, W.Q., Li, Z.G., and Tao, S. 2004. Dynamics in benzo[a]pyrene concentrations in soil as influenced by ryegrss plants. Act. Pedo. Logi. Sin. 41: 348-353.
8.Fukui, M., Harms, G., Rabus, R., Schramm, A., Widdel, F., Zengler, K., Boreham, C., and Wilkers, H. 1999. Anaerobic degradation of oil hydrocarbons by sulfate-reducing and nitrate-reducing bacteria. P 359-367, In: Bell, C.R., Brylinski, M., Johnson-Green, P. (Eds.), Microbial biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecolcgy. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax Canada.
9.Kaimi, E., Mukaidani, T., Miyoshia, S., and Tamaki, M. 2006. Ryegrass enhancement of biodegragation in diesel-contaminated soil. Environ. Exp. Bot. 55: 110-119.
10.Kao, S. 1996. Phosphorus. P 869-920, In: Sparks, Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A. and Loeppert, R.H. Method of soil analysis published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of agronomy. Inc: Madison, Washington, USA.
11.Khatibi, Sh., Mir Seyyed Hosseini, H., Nezami, M.T., and Ebrahimi, S. 2009. Change the oil pollutants in soil by alfalfa, grass and white clover around Tehran Oil Refinery. 11th Congress of Soil Science, Gorgan.
12.Koren, O., Knezevic, V., Ron, E.Z., and Rosenberg, E. 2003.Petroleum pollution bioremediation using water-insoluble uric acid as the nitrogen source. Appl. Environ. Microbiol. 69: 6337-6339.
13.Liste, H.H., and Felgentrea, D. 2006. Crop growth, culturable bacteria, and degradation of petrol hydrocarbons (PHCs) in a long-term contamination field soil. App. Soil. Ecology, 31: 41-52.
14.Marquez-Rocha, F.J., Hernandez-Rodriguez, V.Z. and Teresa Lamela, M.A. 2000. Biodegradation of diesl oil in soil by microbial consortium. Water. Air. Soil. Pollut. 128: 313-320.

Archive of SID

www.SID.ir

15.Merkl, N., Schultz-Kraft, R., and Infante, C. 2004. Phytoremediation in the tropics-the effect of crude oil on the growth on tropical plants. Bioremed. J. 8: 177-184.
16.Nelson, D.W., and Sommers, L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. P 539-580, In: A.L. Page (ed). Methods of soil analysis part 2. 2nd ed. Chemical and microbiology properties. Agronomy monograph no. 9. SSSA and ASA, Madison, WI.
17.Radwan, S.S. 2008. Microbiology of oil-contaminated desert soils and coastal in the Arabian Gulf region. P 275-298, In: Dion P. Chandra, S.N. (Eds.), Microbiolgy of extreme soils. Soil biology Series 13.Springer, Berlin.
18.Radwan, S.S. 2009. Phytoremediatiom for oily desert soils. App. Bioremed. Soil. Biology. 10: 107-978.
19.Rahpeyma Sarvestani, N. 2010. Bioremediation technology for the removal of oil contaminated in soil and water Utilization of 3-fold. J. Naftepars. 82: 5-8. http://www.Niazemarkazi.com/Article/pdf/10000210.html.
20.Rhoades, J. 1996. Electrical conductivity and total dissolved solids. P 417-436, In: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A. and Loeppert, R.H. Method of soil analysis published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of agronomy. Inc: Madison, Washington, USA.
21.Robson, D.B., Knight, J.D., Farrell, R.E., and Germida, J.J. 2004. Natural revegetation of hydrocarbon-contaminated soil in semi-arid grassland. Can. J. Bot. 82: 22-30.
22.Shahriari, M.H., Savaghebi Firoozabadi, G.R., Minaei Tehrani, D., and Padidaran, M. 2006. The effect of alfalfa and fescuemixesin phytoremediation of soil contaminated with crude oil. J. Environ. Sci. 13: 40-33.
23.Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. P 475-490, In: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A. and Loeppert, R.H. Method of soil analysis published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of agronomy. Inc: Madison, Washington, USA.
24.USEPA. 2001. Treatment technologies for site cleanup. Annual Status Report, Office of Solid Waste and Emergency Response (5102G), 10th ed.United State Environmental Protection Agency.
25.White, P.M., Wolf, D.C., Thoma, G.J., and Reynolds, C.M. 2006. Phytoremediation of alklated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. Water. Air. Soil. Pollut. J. 169: 207-220.
26.Wilts, C.C., Rooney, W.L., Chen, Z., Schawb, A.P., and Banks, M.K. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potantioal among alfalfa genotypes. J. Environ. Qual. 27: 169-173.
27.Xiong, Z.T., Hu, H.X., Wang, Y.X., Fu, G.H., Tan, Z.Q., and Yan, G.A. 1997. Comarative Analyses of soil Contaminant Levels and Plant Species Diversity at Developing and Disused Oil Well Sites in Qianjiang Oilfield, China, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: 667-672.

Archive of SID

www.SID.ir

28.Xu, S.Y., Chen, Y.X., Wu, W.X., Wang, K.X., Lin, Q., and Liang, X.Q. 2006. Enhanced dissipation of phenenthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. Sci. Environ. 363: 206-215.
29.Zhu, X., Venosa, A.D., Suidan, M.T., and Lee, K. 2001. Guidelines for the Bioremediation of Marine Schorelins and Freshwater Wetlands. US Environmental Protection Agency.

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Water and Soil Conservation, Vol. 20(4), 2013
http://jwsc.gau.ac.ir

Phytoremediation of a fuel oil-contaminated soil using alfalfa and grass with pseudomonas putida bacterium

***M. Khosravinodeh[1], A. Abbaspour[2], S.S. Ebrahimi[3] and H.R. Asghari[4]**

[1]M.Sc. Student, Dept. of Water and Soil, University of Technology, Shahrood, Iran, [2]Assistant Prof., Dept. of Water and Soil, University of Technology, Shahrood, Iran, [3]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [4]Assistant Prof., Dept. of Agronomy, University of Technology, Shahrood, Iran

Received: 05/27/2012; Accepted: 12/10/2012

Abstract

Pollution caused by crude oil and its derivatives is the most prevalent problem throughout the world, during its crude oil extraction, transport, refining and burning. Oil spills can have serious effects on human and other creatures. Therefore cleaning up environmental oil pollution is an alternative technique for physicochemical methods. The purpose of this study was to evaluate the biodegradation rate of fuel-oil contaminated soil by alfalfa *(Medicagoscutellata*) and grass *(Poabulbosa*) along with *Pseudomonas putida* bacterium. Thus, alfalfa and grass seeds were planted in two density levels with and without *Pseudomonas putida* in pots containing fuel oil-contaminated soil under greenhouse condition. Soil samplings were done in germination, vegetative and reproductive stages of plant growth. Results obtained in this study showed that both alfalfa and grass plants decreased fuel oil in the contaminated soil. The treatment of bacteria and the plants with high density had a positive effect in reducing the amount of soil hydrocarbon contamination. However, this reduction was not significant compared to treatments without bacteria and plants with less density.

Keywords: Soil pollution, Pseudomonas putida bacteria, Phytoremediation, Fuel oil

* Corresponding Author; Email: m.khosravinodeh@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir