مجله تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۴۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، ص ۱۰۶-۹۵

تأثیر کرم خاکی *ایسینیا فتیدا* (*Eisenia fetida*) بر گیاه‌پالایی آنتراسن توسط گیاه چمن (*Loluim perenne*)

حسینعلی علیخانی[۱*]، اکبر قویدل[۲]، باقر یخچالی[۳]، محمدرضا نقوی[۴]، احمدعلی پوربابایی[۵]، سمیه ناجی‌راد[۶]

۱. *دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران*

۲. *دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران*

۳. *دانشیار گروه صنایع تخمیری پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری*

۴. *استاد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه تهران*

۵. *استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران*

۶. *استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل*

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۱۵ ـ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۷/۲۹)

چکیده

گیاه‌پالایی یک فن‌آوری پایدار و دوستدار محیط زیست است که توانایی رفع آلودگی‌های خاک را به‌خوبی نشان داده است. از طرفی، فعالیت کرم خاکی باعث بهبود شرایط خاک می‌شود. انتظار بر این است که حضور کرم خاکی ایسینیا فتیدا[۱] باعث افزایش میزان گیاه‌پالایی آنتراسن شود. هدف این تحقیق بررسی تأثیر استفادهٔ توأم ایسینیا فتیدا و گیاه چمن [۲] در پالایش آنتراسن خاک است. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، با هفت تیمار و سه تکرار در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم آنتراسن در کیلوگرم خاک، در شرایط گل‌خانه‌ای به مدت سه ماه انجام گرفت. پس از این مدت مقدار آنتراسن باقیمانده از طریق کروماتوگرافی (*HPLC*) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد ایسنیا فتیدا و گیاه چمن به‌تنهایی توانایی حذف، به‌ترتیب، ۱۹/۴ و ۲۴/۲ درصد آنتراسن خاک را دارند؛ در حالی که با حضور توأم کرم خاکی و گیاه میزان تجزیه تا حذف کامل آنتراسن افزایش یافت.

کلیدواژگان

آلودگی هیدروکربنی خاک، آنتراسن، ایسنیا فتیدا، گیاه‌پالایی و هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی.

* نویسنده مسئول: halikhan@ut.ac.ir

1.Eisenia fetida
2.Loluim perenne

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

به‌منظور دستیابی به محیط زیستی پایدار، باید به خاک، به‌مثابهٔ اصلی‌ترین عامل در این زمینه، توجه کرد. حفظ سلامت خاک و نیز مؤلفه‌های مؤثر بر آن ضروری است. پاک‌سازی خاک از آلودگی‌هایی که باعث کاهش کیفیت سلامتی و نیز باروری خاک می‌شود، یکی از این رویکردهاست. هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای[1] (PAHs) از ترکیبات سمی و آلایندهٔ شایع در خاک‌اند. منشأ اصلی تولید این ترکیبات احتراق ترکیبات فسیلی است. تولید ترکیبات آروماتیک در بیشتر مواقع به‌دلیل احتراق ناقص ترکیبات هیدروکربنی اتفاق می‌افتد که هم به‌صورت طبیعی و هم با دخالت انسان در طبیعت تولید می‌شوند (Kanaly and Harayama, 2000). شانزده ترکیب از این طیف از آلاینده‌ها را سازمان حفاظت محیط زیست امریکا در گروه ترکیبات سمی و خطرناک برای انسان رده‌بندی کرده‌اند (Keith and Telliard, 1979). از آنجا که این ترکیبات با قدرت زیاد روی ذرات رس جذب می‌شوند، دسترسی زیستی آن‌ها کم است و تا مدت طولانی در خاک می‌مانند. مطالعات زیادی در مورد تجزیهٔ زیستی و گیاه‌پالایی این ترکیبات انجام شده است. در بیشتر مطالعات، دامنهٔ وسیعی از این ترکیبات مد نظر بوده و از یک یا چند ترکیب به‌مثابهٔ مدل استفاده شده است (Leneva et al, 2009). آلایندهٔ آنتراسن ویژگی‌هایی دارد که موجب می‌شود در مطالعات تجزیهٔ ترکیبات آروماتیک حلقوی به‌منزلهٔ مدل استفاده شود. از این ویژگی‌ها می‌توان به حلالیت کم در آب، ساختار خطی در نحوهٔ اتصال حلقه‌های بنزنی، که باعث مقاومت بیشتر در مقابل تجزیهٔ زیستی می‌شود، و نیز وزن مولکولی متوسط آن اشاره کرد (Bonnet et al, 2005).

گیاه‌پالایی امروزه روشی نوین و پایدار در رفع آلودگی خاک به‌شمار می‌رود و به‌دلیل استفاده از پتانسیل طبیعت برای پاک‌سازی آلودگی‌ها به فناوری سبز مشهور است (Cofield et al, 2007). در این روش، به‌کارگیری گیاهان سبب می‌شود آلودگی موجود در خاک از بین برود یا به موادی با آلودگی کمتر تبدیل شود. گیاهان از مکانیسم‌هایی متفاوت برای فرایند گیاه‌پالایی استفاده می‌کنند. گیاهان باعث تجزیهٔ آلودگی‌های ناشی از مواد آلی می‌شوند؛ که برخی موارد مستقیماً در اثر واکنش‌های آنزیمی گیاه رخ می‌دهد و مواردی نیز به‌دلیل تأثیر غیر مستقیم گیاه بر این مواد انجام می‌شود (Gerhardt et al, 2009). با وجود این، روش‌های محدودی برای بهبود آن ارائه شده است و این فرایند تا حد زیادی به‌صورت طبیعی انجام می‌گیرد. یکی از راه‌های افزایش کارایی گیاه‌پالایی بهبود شرایط رشد گیاه است که می‌تواند با بهبود تغذیه یا بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک انجام شود (Ibid). گیاه با ایجاد شرایط مساعد برای ریزموجودات ریزوسفری سبب افزایش توانایی آن‌ها در تجزیهٔ زیستی می‌شود (Weyens et al, 2009). توانایی گیاه چمن در تجزیهٔ ترکیبات آلاینده اثبات شده است (Mingji et al, 2009; Chiapusio et al, 2007; Binet et al, 2000). توانایی این گیاه در گیاه‌پالایی آنتراسن نیز مطالعه شده است (Binet et al, 2001). این گیاه، به‌دلیل داشتن سیستم ریشه‌ای افشان، سطح تماس زیادی با تودهٔ ذرات خاک ایجاد می‌کند و از این طریق قابلیت دسترسی به آلاینده‌های خاک افزایش می‌یابد. حضور کرم‌های خاکی سبب بهبود

1. Poly Aromatic Hydrocarbons

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شود. کرم‌های خاکی، با حفرکردن تونل در خاک، باعث افزایش تخلخل و تهویه و ضریب آب‌گذری خاک می‌شوند. از سوی دیگر، با ترشح مواد موکوئیدی از سطح بدن کرم‌های خاکی، ذرات خاک به یک‌دیگر متصل و خاک‌دانه‌سازی تقویت می‌شود. بنابراین، تأثیر نهایی فعالیت و حرکت کرم‌های خاکی بهبود شرایط فیزیکی خاک است (Edwards, 2004). همچنین کرم‌های خاکی، با عبوردادن مقدار زیادی خاک از دستگاه گوارش خود، باعث افزودن ترکیبات آهکی به خاک می‌شوند؛ که به‌خصوص در خاک‌های اسیدی می‌تواند مفید باشد. از سویی دیگر عبور خاک از دستگاه گوارش کرم‌ها باعث می‌شود قابلیت دسترسی عناصر غذایی خاک افزایش یابد (Barois and Lavelle, 1986). کرم‌های خاکی بسیاری از ترکیبات آلاینده و چربی‌دوست[1] خاک را در بدنشان جمع می‌کنند. این کار از طریق جذب غیر فعال جزء محلول، توسط دیوارهٔ روده، صورت می‌گیرد (Belfroid et al, 1994). مقدار این تجمع با افزایش غلظت آلاینده در محیط پیرامون یا در مواد غذایی کرم خاکی بیشتر می‌شود (Belfroid et al, 1995). تاکنون تأثیرات مثبت کرم‌های خاکی در افزایش تجزیهٔ آلاینده‌هایی، از قبیل فتالات و فنانترن و فلورانتن، به‌اثبات رسیده است (Ma et al, 1995; Albro et al, 1993). بعضی گزارش‌ها حاکی از آن است که در کرم‌های خاکی ردهٔ پرتاران حضور آنزیم سیتوکروم P450 می‌تواند به متابولیزه‌کردن بنزو (آلفا) پیرن کمک کند (Kane and McElroy, 1997). فعالیت‌های آنزیمی مشابه در کرم‌هایی از قبیل ایسینیا فتیدا نیز وجود دارد (Achazi et al, 1998). با اینکه ریزموجودات بومی (اتوکتون) می‌توانند هیدروکربن‌ها را تجزیه کنند، اگر کرم‌ها به خاک اضافه شوند، به‌دلیل بهبود تهویه و تحریک رشد میکروبی، سرعت تجزیه افزایش می‌یابد (Cerniglia, 1992; Johnsen et al, 2005). تحقیقات دیگری نیز به برهمکنش مثبت بین کرم‌های خاکی و ریزموجودات خاک در تجزیهٔ هیدروکربن‌های آروماتیک اشاره کرده‌اند (Eijsackers et al, 2001). کرم خاکی ایسنیا فتیدا از گونه‌های کمپوست‌ساز است و توانایی بالایی در استفاده از دامنهٔ وسیعی از مواد آلی، به‌منزلهٔ منبع غذایی، دارد (Parrish et al, 2006). تحقیقات انجام‌شده توانایی این‌گونه کرم خاکی را در کمک به تجزیهٔ زیستی آنتراسن اثبات کرده است (Coutiño-González et al, 2010; Contreras-Ramos et al, 2008).

با توجه به موارد ذکرشده، تأثیر کلی حضور کرم خاکی بر گیاه مثبت است و انتظار می‌رود این اثر مثبت در کارایی گیاه‌پالایی نیز قابل مشاهده باشد. بنابراین این فرضیه مطرح می‌شود که حضور کرم‌های خاکی باعث بهبود شرایط رشد گیاه می‌شود و از آن طریق میزان گیاه‌پالایی را تغییر می‌دهد. هدف این تحقیق بررسی تأثیر حضور کرم خاکی ایسنیا فتیدا بر میزان گیاه‌پالایی آنتراسن توسط گیاه چمن است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از کرم خاکی ایسِنیا فتیدا، که از گونه‌های متداول در تولید ورمی‌کمپوست است، استفاده شد. یک روز قبل از شروع تحقیق، کرم‌های بالغ به تعداد کافی از ایستگاه ورمی‌کمپوست دانشگاه تهران تهیه و در ظروفی حاوی کمپوست به آزمایشگاه منتقل شد. کرم‌های انتخاب‌شده، از لحاظ اندازه و رنگ و سایر شرایط ظاهری، یکسان بودند. بذر گیاه

1. liphophilic

Archive of SID

www.SID.ir

چمن از سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و قبل از کشتْ ضد عفونی سطحی شد. برای بستر کشت از خاک لومی از منطقهٔ جنوب پالایشگاه تهران استفاده شد. خاک نمونه به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از روش‌های استاندارد (Page, 1982) مشخصات عمومی آن تعیین شد.این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار گیاه چمن (۱)، کرم خاکی ایسنیا فتیدا (۲)، گیاه چمن و کرم خاکی (۳)، و شاهد (۴)، در سه تکرار (مجموعاً ۱۲ واحد آزمایشی)، انجام شد. به منظور مقایسهٔ اثر آلایندهٔ آنتراسن بر برخی فاکتورهای زراعی گیاه و نیز تعداد کرم‌های زنده سه تیمار دیگر در خاک غیر آلوده به آنتراسن گیاه چمن (۱)، کرم خاکی ایسنیا فتیدا (۲)، و گیاه چمن و کرم خاکی (۳)، با سه تکرار، در نظر گرفته شد. آزمایش در شرایط گل‌خانه‌ای و در گلدان‌های یک کیلوگرمی انجام گرفت. برای گلدان‌های حاوی کرم تعداد ۱۰ عدد کرم و برای گلدان‌های دارای گیاه تعداد ۴ گیاه در نظر گرفته شد که پس از رشد تعداد گیاه در هر گلدان به دو عدد رسانده شد. سپس هر گلدان خاک با مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتراسن آلوده شد (Joner et al, 2001). علت انتخاب این غلظت قابلیت تحمل گیاه و کرم خاکی است؛ به‌طوری‌که می‌توانند در این غلظت بدون محدودیت شدید رشد و فعالیت کنند. در غلظت‌های بالاتر معمولاً رشد و توسعهٔ گیاه و فعالیت کرم خاکی محدود می‌شود. بنابراین، نمی‌توان پتانسیل واقعی گیاه و کرم خاکی را در حذف آلاینده بررسی کرد (Ibid).

برای افزودن آنتراسن به گلدان‌ها، ابتدا مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم آنتراسن توزین و در استن حل شد (با نسبت حلالیت ۱۳ گرم آنتراسن در هر لیتر استن). در مرحلهٔ بعد، محلول استن و آنتراسن به ۱۰۰ گرم خاک اضافه شد و به‌طور کامل مخلوط و یکنواخت شد. خاک مخلوط‌شده به مدت ۴۸ ساعت زیر هود قرار گرفت تا استن موجود در خاک تبخیر شود. نهایتاً نمونهٔ ۱۰۰ گرمی آلوده با بقیهٔ خاک گلدان (۹۰۰ گرم) مخلوط شد. علت استفاده از این روش این بود که آلایندهٔ آنتراسن به‌صورت کاملاً یکنواخت با خاک مخلوط شود. در طول مدت کشت دمای گل‌خانه ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد حفظ و همهٔ گلدان‌ها به‌طور روزانه آبیاری شدند و مقدار آب در گلدان‌ها، در طول مدت آزمایش، در حد رطوبت ظرفیت مزرعه (حدود ۲۵ درصد) حفظ شد. در طول مدت آزمایش همهٔ شرایط برای گلدان‌های شاهد و تیمارها یکسان اعمال شد؛ مثلاً شرایط آبیاری به‌طور یکسان برای تیمارهای حاوی گیاه یا کرم و شاهد اعمال شد. با توجه به اینکه مقداری از آنتراسن در طول آزمایش از طریق آب‌شویی از خاک خارج می‌شود، اعمال شرایط یکسان برای همهٔ واحدهای آزمایشی حائز اهمیت است. این آزمایش به مدت نود روز ادامه داشت و در پایان این مدت گلدان‌ها یک روز آبیاری نشدند تا در زمان برداشت مشکلی از لحاظ کل آلودگی وجود نداشته باشد. در پایان آزمایش، گلدان‌ها به‌آرامی تکان داده شدند تا هیچ‌گونه آسیبی به ریشه‌های گیاه وارد نشود. تعداد کرم‌های زنده در داخل هر یک از گلدان‌ها شمارش و فاکتورهای زراعی گیاه، شامل طول ریشه و طول ساقه، اندازه‌گیری شد. در نهایت، خاک گلدان‌ها بسته‌بندی شد و درون کیسه‌های پلاستیکی داخل یخچال قرار گرفت. برای آنالیز مقدار آنتراسن باقیمانده، ۱۰ گرم از خاک هر گلدان استفاده شد. این نمونه‌ها داخل سیستم عصاره‌گیری سوکسیله[1] قرارگرفت و به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از حلال

1. Soxhlet

Archive of SID

به‌دست‌آمده برای آنالیز مقدار آنتراسن باقیمانده توسط دستگاه HPLC (شرکت هیولت پاکارد HP) استفاده شد (مشخصات ستون: MZ-250X4.6mm, ODS-3 5µm). در نهایت، تجزیهٔ واریانس تیمارها از لحاظ مقدار آنتراسن باقیمانده، فاکتورهای زراعی گیاه، و تعداد کرم‌های خاکی زنده انجام شد و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسهٔ میانگین تیمارها به‌کار رفت.

یافته‌ها و بحث

با توجه به اینکه نتایج تحقیق گل‌خانه‌ای در نهایت باید در شرایط مزرعه بر خاک آلوده آزمایش شود، تلاش بر این بود که از خاکی با ویژگی‌های مشابه با خاک‌های جنوب پالایشگاه تهران، که اغلب مشکلات حاد آلودگی نفتی دارند، استفاده شود. از سویی دیگر، خاک مورد آزمایش باید شرایط رشد گیاه را می‌داشت و رشد گیاه را محدود نمی‌کرد. بنابراین، خاک یک منطقهٔ تحت کشت در نزدیکی پالایشگاه تهران انتخاب و مشخصات خاک اندازه‌گیری شد. نتایج برخی اندازه‌گیری‌های خاک مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱می‌آید.

نتایج شکل ۱ نشان می‌دهد کاربرد توأم کرم خاکی ایسینیا فتیدا و گیاه چمن می‌تواند همهٔ آنتراسن خاک را حذف کند. نتایج گیاه‌پالایی آنتراسن توسط لولیوم پرن با تحقیقات انجام‌شده بر آنتراسن مشابهت دارد (Cheung et al, 2008; Kim et al, 2004; Binet et al, 2001; Binet et al, 2000). با وجود این، تأثیر کرم خاکی بر گیاه‌پالایی آنتراسن تا به حال مطالعه نشده است. مقدار حذف (۱۹/۴٪) در تیمار حاوی کرم خاکی، به‌تنهایی، قابل مقایسه با نتایج Contreras-Ramos et al. (2008) بود.

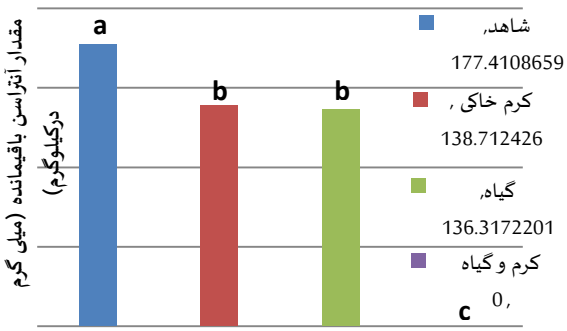
جدول ۱. مشخصات خاک مورد آزمایش

بافت	لوم
pH	۸/۲
قابلیت هدایت الکتریکی (dS/m)	۱/۲۲
کربن آلی (٪)	۰/۸۲
نیتروژن (کلدال) (٪)	۰/۱۱۵
فسفر(اولسن) (mg/kg)	۴۰/۴۶
پتاسیم (mg/kg)	۲۲۱

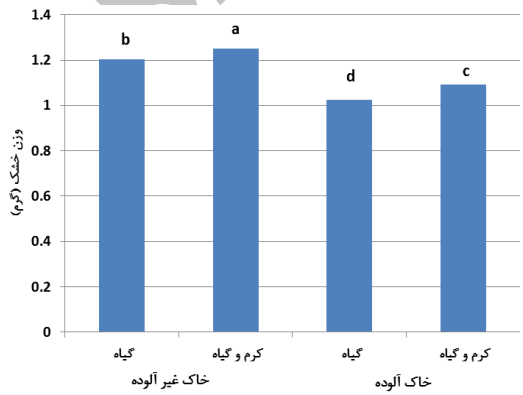
اگرچه مقدار آنتراسن اندازه‌گیری‌شده در این تیمار صفر بود، می‌توان گفت احتمالاً اگر مدت آزمایش کمتر می‌بود، مقداری از آنتراسن در خاک باقی می‌ماند که قابل اندازه‌گیری باشد. از طرفی دیگر، این احتمال وجود دارد که طی مراحل عصاره‌گیری مقداری از آنتراسن در خاک باقی مانده یا به‌دلیل جذب سطحی بر ذرات خاک قابل عصاره‌گیری نبوده باشد. این موضوع، با توجه به وجود خطا در مراحل عصاره‌گیری، قابل انتظار است و جزء خطاهای عصاره‌گیری محسوب می‌شود. از سویی دیگر، حتی در شرایط عدم حضور کرم و گیاه نیز مقداری از آنتراسن می‌تواند توسط ریزموجودات بومی از خاک حذف شود. پس، می‌توان گفت مقدار واقعی حذف احتمالاً کمتر بوده است.

نتایج شکل ۱ نشان داد که حضور کرم خاکی باعث افزایش معنادار گیاه‌پالایی آنتراسن می‌شود (سطح احتمال ۰/۰۱). کرم خاکی ایسینیا فتیدا توانایی حذف ۱۹/۴ درصد آنتراسن خاک را دارد؛ درحالی‌که گیاه چمن توانست ۲۴/۲ درصد آنتراسن خاک را حذف کند.

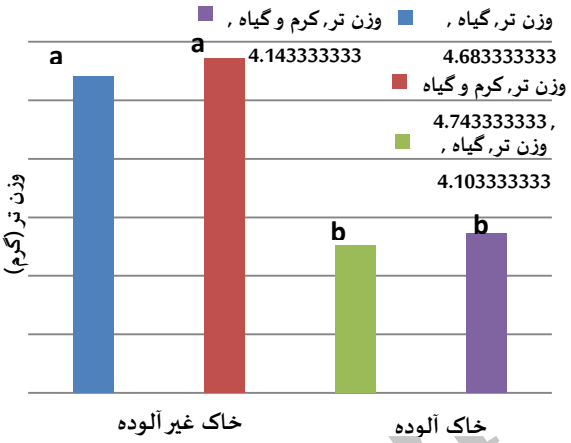
با حضور توأم کرم خاکی و گیاه، میزان این تجزیه تا حذف کامل آنتراسن افزایش پیدا کرد. بین این سه تیمار اختلافی معناداری وجود داشت (سطح احتمال ۰/۰۱). مقدار حذف در تیمار گیاه و تیمار



شکل ۱. مقایسهٔ میانگین مقدار آنتراسن باقیمانده پس از اعمال تیمارهای کرم خاکی و گیاه در مقایسه با شاهد



شکل ۲. مقایسهٔ میانگین وزن تر گیاه در تیمارهای کرم خاکی و گیاه در خاک آلوده و غیر آلوده



شکل ۳. مقایسهٔ میانگین وزن خشک گیاه در تیمارهای کرم خاکی و گیاه در خاک آلوده و غیر آلوده

کرم خاکی تفاوتی معنادار با شاهد دارد (سطح احتمال ۰/۰۱). با توجه به اینکه حضور کرم خاکی باعث بهبود شرایط رشد گیاه در خاک می‌شود (Ma et al, 2003)، انتظار بر این بود که حضور کرم باعث افزایش حذف آنتراسن شود. تحمل ایسینیا فتیدا نسبت به کرم‌های خاکی دیگر، که در خاک به‌وفور یافت می‌شوند، بیشتر است؛ مثلاً Shakir Hanna et al. (2002) نشان دادند ایسینیا فتیدا می‌تواند در غلظت ۱/۵ درصد نفت خام زنده بماند، درصورتی‌که لومبریکوس ترستریس[1] توانایی تحمل غلظت ۰/۵ درصد را ندارد.

مقایسهٔ میانگین وزن تر گیاه در خاک آلوده و خاک غیر آلوده نشان می‌دهد تفاوتی معنادار بین تیمارهاوجود دارد (شکل۲)؛ به این مفهوم که عامل مؤثر در کاهش وزن تر گیاه حضور آنتراسن است. همچنین حضور کرم خاکی تفاوتی معنادار در وزن تر گیاه ایجاد نمی‌کند (شکل۲).

1. Lumbricus terrestris

Archive of SID

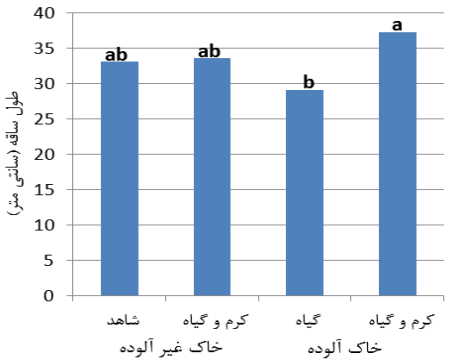
www.SID.ir

از لحاظ وزن خشک گیاه بین همهٔ تیمارها تفاوتی معنادار وجود داشت (شکل ۳). به این مفهوم که هم حضور آنتراسن و هم حضور کرم خاکی سبب تغییر وزن خشک گیاه شد. حضور آنتراسن باعث کاهش وزن خشک گیاه می‌شود. در عین حال حضور کرم خاکی باعث افزایش وزن خشک گیاه نسبت به تیمار بدون کرم می‌شود. بدین ترتیب، تیمار کرم و گیاه در بستر خاک غیر آلوده دارای بیشترین وزن خشک گیاه است. کمترین وزن خشک در تیمار گیاه در بستر خاک آلوده مشاهده شد (شکل ۳).

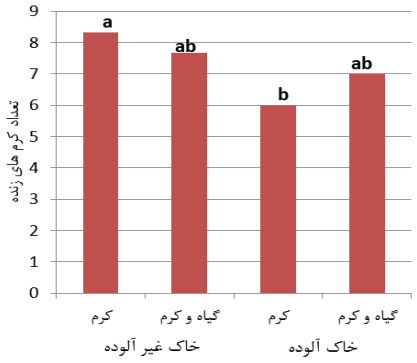
مقایسهٔ میانگین طول ساقهٔ گیاه (شکل ۴) نشان می‌دهد در خاک غیر آلوده تفاوتی بین تیمارها وجود ندارد. به‌عبارت دیگر حضور کرم خاکی باعث بهبود رشد طولی ساقه نمی‌شود. ولی در خاک آلوده، در حضور آنتراسن، تأثیر حضور کرم خاکی بر رشد ساقه معنادار است (سطح احتمال ۰/۰۵). حضور کرم خاکی باعث افزایش تحمل گیاه در این شرایط می‌شود و رشد طولی ساقه را نسبت به تیمار گیاه افزایش می‌دهد. با توجه به اینکه در شرایط حضور آنتراسن گیاه با تنش سمیت آنتراسن روبه‌رو می‌شود، حضور کرم خاکی با ایجاد شرایط فیزیکی و شیمیایی بهتر از یک طرف موجب تجزیهٔ آنتراسن توسط ریزموجودات خاکزی شده و از طرفی دیگر باعث بهبود رشد گیاه می‌شود. بنابراین، برآیند حضور کرم خاکی باعث کاهش تأثیر سمیت آنتراسن گیاه می‌شود (Marinari et al, 2000).

مقایسهٔ میانگین تعداد کرم‌های زنده (شکل ۵) نشان می‌دهد حضور آنتراسن باعث کاهش معنادار تعداد کرم‌های زنده نسبت به تیمار عدم آلودگی می‌شود (سطح احتمال ۰/۰۵). این نتایج ثابت می‌کند حضور گیاه بر تحمل کرم خاکی در مقابل آنتراسن تأثیر معنادار ندارد. سمیت آنتراسن حتی در حضور گیاه نیز تأثیر خود را به‌صورت کاهش جمعیت کرم خاکی نشان می‌دهد.

تحقیقات اخیر نشان داده‌اند جانوران خاکزی بر گیاه‌پالایی آلاینده‌ها در خاک مؤثرند و می‌توان در مطالعات گیاه‌پالایی از آن‌ها استفاده کرد (Wang et al, 2006). به‌طور کلی، جانداران پرسلولی، مثل نماتدها و بندپایان و کرم‌های خاکی، با تحرک مداوم در خاک، در تماس با آلاینده‌های خاک قرار می‌گیرند. این تماس ممکن است باعث شود



شکل ۴. مقایسهٔ میانگین طول ساقه در تیمارهای کرم خاکی و گیاه در خاک آلوده و غیر آلوده



شکل ۵. مقایسهٔ میانگین تعداد کرم‌های زنده در تیمارهای کرم خاکی و گیاه در خاک آلوده و غیر آلوده

Archive of SID

www.SID.ir

آلاینده‌های مذکور جذب بدن این جانداران شود. از طرفی جانوران خاکزی، در حین تغذیه، مقداری خاک وارد بدن خود می‌کنند که در خاک‌های آلوده منجر به واردشدن آلاینده به بدن این موجودات می‌شود. آنزیم‌های گوارشی بدن جانداران بر آلاینده‌ها تأثیر می‌گذارند و تا حدی آن‌ها را تجزیه می‌کنند. بقایای آلاینده‌ها همراه مواد دفعی دیگر وارد خاک می‌شود. این آلاینده‌ها، به‌دلیل عبور از دشتگاه گوارشی جانوران خاکزی، زیست‌فراهمی بالایی برای ریزموجودات خاکزی به‌وجود می‌آورند (Johnsen et al, 2005).

حضور کرم خاکی به‌طور مستقیم سبب بهبود شرایط رشد گیاه و به‌طور غیر مستقیم باعث بهبود رشد ریزموجودات ریزوسفری خاک می‌شود که متعاقب آن تجزیهٔ زیستی در منطقهٔ ریزوسفر افزایش پیدا می‌کند. همچنین کرم خاکی، به‌دلیل تعدیل میزان pH خاک و افزایش زیست‌فراهمی عناصر غذایی و نیز کمک به خرد و ریز شدن بقایای آلی، باعث تشدید فعالیت زیستی (میکروبی و گیاهی) خاک می‌شود (Edwards, 2004). به همین دلیل مشاهده می‌شود که حضور کرم خاکی، به‌تنهایی، می‌تواند باعث حذف مقدار زیادی از آنتراسن خاک شود. برخی تحقیقات نشان داده‌اند کرم‌های خاکی می‌توانند هم عناصر غذایی، مثل نیتروژن و فسفر، و هم برخی ریزموجودات را از طریق فضولات خود وارد خاک کنند که سبب تشدید تجزیهٔ ترکیبات آروماتیک می‌شود (Marinari et al, 2000). همچنین، Singleton et al. (2003) باکتری‌های روده‌ای کرم خاکی را مطالعه کردند و دریافتند که در رودهٔ کرم خاکی باکتری‌هایی وجود دارد؛ مانند سودوموناس، پانی باسیلوس، آزوارکوس، بورخولدریا، و اسیدو باکتریوم. توانایی برخی از این باکتری‌ها، از جمله سودوموناس و بورخولدریا، در تجزیهٔ ترکیبات آروماتیک اثبات شده است (Johnsen et al, 2005; Cerniglia, 1992). بنابراین، به‌نظر می‌رسد مقداری از حذف انجام‌شده در تیمار حاوی کرم خاکی توسط ریزموجودات ساکن دستگاه گوارش کرم خاکی صورت گرفته است. بدیهی است بیشتر ریزموجودات ساکن در دستگاه گوارش کرم خاکی منشأ خاکی دارند؛ ولی شرایط درون دستگاه گوارش کرم خاکی به‌گونه‌ای است که برخی از باکتری‌ها به‌صورت انتخابی غالب‌اند. شرایط درون دستگاه گوارش کرم خاکی موجب می‌شود فعالیت باکتری‌های هتروتروف و نیز بی‌هوازی در این محیط بیشتر از خاک پیرامون آن باشد (Hickman and Reid, 2008).

بدیهی است ریزموجودات خاکزی به‌طور ذاتی نیز توانایی تجزیهٔ دامنهٔ وسیعی از آلاینده‌ها را دارند؛ اما حضور کرم باعث افزایش میزان این تجزیه می‌شود. یکی دیگر از آثار کرم‌های خاکی در خاک‌های آلوده کمک به پراکنش ریزموجودات خاکزی در همهٔ آشیانه‌های اکولوژیک خاک است. کرم‌های خاکی با بلعیدن خاک و عبوردادن آن از دستگاه گوارش خود باعث جابه‌جایی خاک از نقطه‌ای به نقطهٔ دیگر می‌شوند. همچنین ترشح مواد موکوئیدی از سطح بدن کرم خاکی باعث چسبیدن ذرات خاک به بدن کرم و جابه‌جایی این ذرات در خاک می‌شود (Ibid).گیاه‌پالایی به طرق مختلف انجام می‌گیرد. در مجموع، برآیند همهٔ این فرایندها میزان تجزیه یا حذف را تعیین می‌کند. از راه‌هایی که گیاه از طریق آن باعث تجزیهٔ آلاینده‌ها می شود «تجزیهٔ ریشه‌ای»[1] است.گیاهان، به‌طور مستقیم، به‌وسیلهٔ فرایند

1. Rhizodegradation

Archive of SID

www.SID.ir

متابولیکی خودشان[1] یا، به‌طور غیر مستقیم، با تحریک باکتری‌های ریزوسفری، که در تجزیهٔ آلایندهٔ مورد نظر نقش دارند، باعث تجزیهٔ زیستی آلاینده‌های آلی می‌شوند (Parrish et al, 2006). حضور گیاه باعث بهبود شرایط رشد ریزموجودات ریزوسفری می‌شود و درنتیجهٔ رشد این ریزموجودات میزان تجزیهٔ زیستی آلاینده‌ها در ریزوسفر افزایش می‌یابد. این تأثیر یک برهمکنش مثبت است؛ یعنی هم گیاه و هم ریزموجودات ریزوسفری به‌طور فزاینده تأثیر یک‌دیگر را بهبود می بخشند. تشدید رشد و فعالیت ریزموجودات ریزوسفری باعث تجزیهٔ زیستی بیشتر آلاینده می‌شود. به‌دنبال کاهش مقدار آلاینده رشد گیاه بهبود می‌یابد و افزایش رشد گیاه با ترشح ترکیبات آلی از ریشهٔ گیاه همراه می‌شود. ترشح این مواد متعاقباً باعث تشدید فعالیت و رشد ریزموجودات ریزوسفری می‌شود (Hickman and Reid, 2008).

در تحقیق Bianchi and Ceccanti (2010) سیستم سه جزئی گیاه و کرم خاکی و ریزموجودات، با نام TRIAS (Three Component System)، بررسی شد. این سه جزء در ابعاد مختلف انجام وظیفه می‌کنند؛ گیاه در ابعاد بزرگ (ماکرو)، کرم خاکی در ابعاد متوسط (مزو)، و باکتری‌ها در ابعاد ریز (میکرو). در این سیستم، گیاه ترکیبات آلی را در خاک ترشح می‌کند، ریزموجودات از طریق معدنی کردن این ترکیبات رشد می‌کنند و مواد مغذی را برای گیاهان فراهم می‌آورند، و کرم‌های خاکی از این ریزموجودات تغذیه می‌کنند.

می‌توان گفت همهٔ اجزای سیستم برهمکنش دارند و در صورت بهبود در هر یک از عوامل کل سیستم بهبود می‌یابد. در اکوسیستم‌های طبیعی، هر سه جزء در کنار یک‌دیگر قرار دارند و با هم در تعامل‌اند. برآیند این تعامل مثبت است. به‌همین دلیل شرایط اکوسیستم‌های طبیعی معمولاً پایدار است (Edwards, 2004). اما اگر یک عامل بیرونی، مثل یک آلاینده، وارد اکوسیستم شود، باعث برهم‌خوردن تعادل و پایداری آن می‌شود. در این‌گونه موارد می‌توان با تغییر شرایط دوباره سیستم خوداحیایی اکوسیستم را فعال کرد؛ مثلاً اگر مقدار آلودگی از حد تحمل گیاهان بومی یک اکوسیستم بیشتر شود، گیاهان از آن اکوسیستم حذف می‌شوند. در این‌گونه موارد می‌توان، با بهبود شرایط رشد ریزموجودات، تجزیهٔ زیستی را در خاک افزایش داد. این کار باعث می‌شود به مرور زمان شرایط برای رشد دوبارهٔ گیاهان بومی فراهم شود.

درنتیجه می‌توان گفت تأثیر حضور کرم خاکی ایسینیا فتیدا بر گیاه‌پالایی آنتراسن مثبت است. براساس این نتایج می‌توان توصیه کرد برای سایر ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای و نیز سایر ترکیبات آلایندهٔ آلی از پتانسیل گیاهان و آثار کمکی کرم خاکی استفاده شود. بدیهی است هر گونه تغییری که اثر مثبتی بر یکی از اجزا داشته باشد باعث افزایش کارآیی کل سیستم می‌شود.

نتیجه‌گیری

گیاه لولیوم پرن توانایی حذف ۲۴/۲ درصد آنتراسن خاک را دارد. این توانایی در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌دست می‌آید و ممکن است در غلظت‌های

1. Phytotransformation

Archive of SID

www.SID.ir

پایین‌تر یا بالاتر میزان تجزیه متفاوت باشد. کاربرد کرم خاکی نیز به‌تنهایی قادر به حذف حدود ۱۹/۴ درصد آنتراسن است. این موضوع آثار مثبت کرم خاکی بر بهبود شرایط خاک و نیز تشدید فعالیت جامعهٔ میکروبی خاک را اثبات می‌کند. اگرچه گیاه و کرم خاکی هر یک به‌تنهایی قادر به حذف آنتراسن و احتمالاً سایر ترکیبات آروماتیک حلقوی (آنتراسن به‌منزلهٔ مدل استفاده شده است) هستند، حضور توأم این دو باعث افزایش کارآیی گیاه‌پالایی می‌شود. حضور آنتراسن در خاک باعث کاهش عملکرد و فاکتورهای رشد گیاه می‌شود؛ ولی رشد گیاه با مشکلات جدّی مواجه نمی‌شود. از طرفی، ترکیب تیماری کرم خاکی ایسنیا فتیدا و گیاه لولیوم پرن توانست همهٔ آنتراسن موجود در خاک را حذف کند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این ترکیب تیماری احتمالاً قابلیت و توانایی کاربرد در غلظت‌هایی کمی بالاتر را دارد و می‌تواند با موفقیت برای غلظت‌های بیشتر نیز به کار رود.

REFERENCE

Achazi, R. K. C. Flenner, Livingstone, D. R. Peters, L. D. Schaub, K. and Scheiwe, E. (1998), Cytochrome P 450 and Dependent Activities in Unexposed and Pah-Exposed Terrestrial Annelids, *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology,* 121 (1), 339-350.

Albro, P. W. Corbett, J. T. and Schroeder, J. L. (1993), Endogenous Lipids of the Earthworm Lumbricus Terrestris, *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire,* 71 (3), 220-221.

Barois, I. and Lavelle, P. (1986), Changes in Respiration Rate and Some Physicochemical Properties of a Tropical Soil During Transit through Pontoscolex-Corethrurus (Glossoscolecidae, Oligochaeta), *Soil Biology & Biochemistry,* 18 (5), 539-541.

Belfroid, A. Meiling, J. Drenth, H. J. Hermens, J. Seinen, W. and Van Gestel, K. (1995), Dietary Uptake of Superlipophilic Compounds by Earthworms (*Eisenia Andrei*), *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 31 (3), 185-191.

Belfroid, A. Sikkenk, M. Seinen, W. Van Gestel, K. and Hermens. J. (1994), The Toxicokinetic

Behavior of Chlorobenzenes in Earthworm (Eisenia Andrei) Experiments in Soil, *Environmental Toxicology and Chemistry,* 13 (1), 93-99.

Bianchi, V. and Ceccanti, B. (2010), A Three Components System (TRIAS) in the Phytoremediation of Polluted Environmental Matrices, *Toxicological and Environmental Chemistry,* 92 (3), 477-493.

Binet, P. Portal, J. M. and Leyval, C. (2000), Dissipation of 3-6-Ring Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Rhizosphere of Ryegrass, *Soil Biology and Biochemistry,* 32 (14), 2011-2017.

Binet, P. Portal, J. M. and Leyval, C. (2001), Application of Gc-Ms to the Study of Anthracene Disappearance in the Rhizosphere of Ryegrass, *Organic Geochemistry,* 32 (2), 217-222.

Bonnet, J. L. Guiraud, P. Dusser, M. Kadri, M. Laffosse, J. Steiman, R. and Bohatier, J. (2005), Assessment of Anthracene Toxicity toward Environmental Eukaryotic Microorganisms:

Tetrahymena Pyriformis and Selected Micromycetes, *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 60 (1), 87-100.

Cerniglia, C. E. (1992), Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Biodegradation,* 3 (2), 351-368.

Cheung, K. Zhang, J. Deng, H. Ou, Y. Leung, H. Wu, S. and Wong, M. (2008), Interaction of Higher Plant (Jute), Electrofused Bacteria and Mycorrhiza on Anthracene Biodegradation, *Bioresource Technology,* 99 (7), 2148-2155.

Archive of SID

www.SID.ir

Chiapusio, G. Pujol, S. Toussaint, M. L. Badot, P. M. and Binet, P. (2007), Phenanthrene Toxicity and Dissipation in Rhizosphere of Grassland Plants *Lolium Perenne L.* And *Trifolium Pratense L.* in Three Spiked Soils, *Plant and Soil*, 294 (1),103-112.

Cofield, N. Banks, M. K. and Schwab, A. P. (2007), Evaluation of Hydrophobicity in Pah-Contaminated Soils During Phytoremediation, *Environmental Pollution*, 145 (1), 60-67.

Contreras-Ramos, S. M. Álvarez-Bernal, D. and Dendooven, L. (2008), Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Soil Amended with Biosolid or Vermicompost in the Presence of Earthworms (*Eisenia Fetida*), *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (7), 1954-1959.

Coutiño-González, E. Hernández-Carlos, B. Gutiérrez-Ortiz, R. and Dendooven, L. (2010), The Earthworm Eisenia Fetida Accelerates the Removal of Anthracene and 9, 10-Anthraquinone, the Most Abundant Degradation Product, in Soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64 (6), 525-529.

Edwards, C. A. (2004), Earthworm Ecology, *Earthworm ecology*, Second Edition, 441 pp.

Eijsackers, H. Van Gestel, C. A. M. De Jonge, S. Muijs, B. and Slijkerman, D. (2001), Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Polluted Dredged Peat Sediments and Earthworms: A Mutual Interference, *Ecotoxicology*,10 (1), 35-50.

Gerhardt, K. E. Huang, X. D. Glick, B. R. and Greenberg, B. M. (2009), Phytoremediation and Rhizoremediation of Organic Soil Contaminants: Potential and Challenges, *Plant Science* ,176 (1), 20-30.

Hickman, Z. A. and Reid, B. J. (2008), Earthworm Assisted Bioremediation of Organic Contaminants, *Environment International*,34 (7), 1072-1081.

Johnsen, A. R. Wick, L. Y. and Harms, H. (2005), Principles of Microbial Pah-Degradation in Soil, *Environmental Pollution*, 133(1), 71-84.

Joner, E. J. Johansen, A. Loibner, A. P. Cruz, M. A. D. Szolar, O. H. J. Portal, J. M. and Leyval, C. (2001), Rhizosphere Effects on Microbial Community Structure and Dissipation and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Spiked Soil, *Environmental Science and Technology*, 35 (13), 2773-2777.

Kanaly, R. A. and Harayama, S. (2000), Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria, *Journal of Bacteriology*, 182 (8), 2059-2067.

Kane Driscoll, S. B. and McElroy, A. E. (1997), Elimination of Sediment-Associated Benzo[a]Pyrene and Its Metabolites by Polychaete Worms Exposed to 3-Methylcholanthrene, *Aquatic Toxicology*, 39 (1) 77-91.

Keith, L. H. and Telliard, W. A. (1979), Priority Pollutants, I. A Perspective View, *Environmental Science and Technology*, 13 (4), 416-423.

Kim, S. J. Jones, R. C. Cha, C. J. Kweon, O. Edmondson, R. D. and Cerniglia, C. E. (2004), Identification of Proteins Induced by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Mycobacterium

Vanbaalenii Pyr-1 Using Two-Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis and De Novo Sequencing Methods, *Proteomics*, 4 (12), 3899-3908.

Leneva, N. A. Kolomytseva, M. P. Baskunov, B. P. and Golovleva, L. A. (2009), Phenanthrene and Anthracene Degradation by Microorganisms of the Genus

Rhodococcus, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45 (2), 169-175.

Ma, W. C. Immerzeel, J. and Bodt, J. (1995), Earthworm and Food Interactions on Bioaccumulation and Disappearance in Soil of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Studies on Phenanthrene and Fluoranthene, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32 (3), 226-232.

Ma, Y. Dickinson, N. M. and Wong, M. H. (2003), Interactions between Earthworms, Trees, Soil Nutrition and Metal Mobility in Amended Pb/Zn Mine Tailings from Guangdong, China, *Soil Biology & Biochemistry*, 35 (10), 1369-1379.

Marinari, S. Masciandaro, G. Ceccanti, B. and Grego, S. (2000), Influence of Organic and Mineral Fertilisers on Soil Biological and Physical Properties, *Bioresource Technology*, 72 (1), 9-17.

Archive of SID

www.SID.ir

Mingji, Xie, Yan Chongling, Ye Jing, and Wei Lily, (2009), Impact of Phenanthrene on Organic Acids Secretion and Accumulation by Perennial Ryegrass, Lolium Perenne L., Root, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83 (1), 75-80.

Page, A. L. (1982), *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.

Parrish, Z. D. White, J. C. Isleyen, M. Gent, M. P. N. Iannucci-Berger, W. Eitzer, B. D. Kelsey, J. W. and Mattina, M. I. (2006), Accumulation of Weathered Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Pahs) by Plant and Earthworm Species, *Chemosphere*, 64 (4), 609-618.

Shakir Hanna, S. H. and Weaver, R. W. (2002), Earthworm Survival in Oil Contaminated Soil, *Plant and Soil*, 240(1),127-132.

Singleton, D. R. Hendrix, P. F. Coleman, D. C. and Whitman, W. B. (2003), Identification of Uncultured Bacteria Tightly Associated
with the Intestine of the Earthworm Lumbricus Rubellus (Lumbricidae; Oligochaeta), *Soil Biology and Biochemistry*, 35 (12), 1547-1555.

Wang, D. Li, H. Wei, Z. Wang, X. and Hu, F. (2006), Effect of Earthworms on the Phytoremediation of Zinc-Polluted Soil by Ryegrass and Indian Mustard, *Biology and Fertility of Soils*, 43 (1), 120-123.

Weyens, N. van der Lelie, D. Taghavi, S. and Vangronsveld, J. (2009), Phytoremediation: Plant-Endophyte Partnerships Take the Challenge, *Current Opinion in Biotechnology*, 20 (2), 248 -254.

Archive of SID

www.SID.ir