محيط شناسي، سال سي و ششم، شمارة ۵۳ بهار ۸۹، صفحة ۷۹-۸۸

گياه‌پالايي خاك‌هاي آلوده به " فنانترن" با استفاده از گياه سورگوم

ابراهيم علايي[1*]، فروزان وكيلي[2]، اميرعبدالله مهرداد شريف[3]

۱- استاديار پژوهشگاه صنعت نفت تهران

۲- مربي پژوهشگاه صنعت نفت تهران vakilif@ripi.ir

۳- استاديار دانشكدة علوم وفنون دريايي دانشگاه آزاد اسلامي واحد تهران شمال A_m_sharif@yahoo.com

تاريخ دريافت: ۸۷/۵/۱۴ تاريخ پذيرش: ۸۸/۷/۳۰

چكيده

مطالعات انجام شده در حوزه‌هاي مختلف مناطق نفت‌خيز نشان داد كه تركيب "فنانترن" از خانوادة هيدروكربن‌هاي آروماتيك چندحلقه‌اي(PAHs) آلاينده غالب در اغلب مناطق اطراف تأسيسات نفت و گاز است. در اين كار تحقيقاتي به مطالعه نقش گياه سورگوم (*Sorghum vulgare Pers. Sudanense*) در حذف آلاينده فوق با روش گياه‌پالايي پرداخته شده است. پس از تيماربندي بر اساس طرح بلوك‌هاي كاملاً تصادفي و كشت گياه انتخابي در محيط گلخانه با شرايط مشابه منطقة مورد نظر، روند تغييرات غلظت آلاينده در خاك در مدت ۱۶ هفته (دورة رشد كامل گياه) دنبال شد. به منظور بررسي تأثير آلاينده بر فعاليت‌هاي فيزيولوژيك گياه، ابتدا ميزان كلروفيل و بيوماس توليدي و سپس براي تعيين ريسك اكولوژيكي روش، ميزان تجمع آلاينده مذكور در گياه و خاك مطالعه شد. اندازه‌گيري غلظت آلاينده توسط دستگاه HPLC ،ميزان كلروفيل با استفاده از دستگاه كلروفيل‌سنج و تحليل‌هاي آماري با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. نتايج به‌دست آمده نشان داد كه گياه مذكور ميزان حذف آلاينده در خاك را در شرايط اعمال شده تا ۲۰ درصد افزايش داده است.تحليل آماری و مقايسة ميانگين داده‌ها، اختلاف معنی‌دار در عملكرد تيمارهای گياهی و فاقد گياه را تأييد كرد($P< ۰/۰۵$). در عين حال ثابت شد كه آلاينده در ناحيه ريزوسفر گياه تجزيه و به اندام‌هاي هوايي منتقل نشده است. به‌علاوه فعاليت‌هاي فيزيولوژيك گياه، نظير ميزان بيوسنتز كلروفيل و بيوماس توليدی تأثير چنداني نداشته و نهايتاً در زنجيرة غذايی نيز وارد نمی‌شود.

كليدواژه

هيدروكربن‌هاي آروماتيك چندحلقه‌اي، گياه پالايي، جذب، خاك آلوده، تجمع، فنانترن

سرآغاز

وجود خاك و آب آلوده به مواد نفتي يكي از مشكلات متداول در نواحي اطراف سايت‌هاي نفتي و پالايشگاههاست و هيدروكربن‌هاي آروماتيك چندحلقه‌اي[1](PAHs) يكي از انواع مشتقات نفتي ناشي از سوختن ذغال‌سنگ، نفت كوره و غيره هستند (گيتي‌پور و همكاران،۱۳۸۳). با توجه به اين‌كه انواع هيدروكربن‌هاي پلي‌آروماتيك، نظير فنانترن، نفتالين، فلورانتن و بنزوآلفاپايرن از سمي‌ترين مواد شناخته شده براي محيط زيست هستند، بنابراين حذف آنها از خاك و آبهاي آلوده ضروري است. (Milton,1981; Bjorrseth,1983; Casrett and Daull's,1995) تحقيقات بيشماري بر روي خاكهاي آلوده و به منظور يافتن روش‌هايي براي حذف آلاينده‌هاي PAHs در خاك انجام گرفته است. (Kipopoulou,et.al., 1999; Joner, 2003 ; Gao, and Zhu,2003). امروزه روش‌هاي متداول زيادي براي تصفيه و پاكسازي محيط‌هاي آبي و خاكي آلوده به تركيبات سمي مورد استفاده قرار مي‌گيرد، با وجود اين آژانس حفاظت محيط زيست آمريكا، مناسب‌ترين و اقتصادي‌ترين روش براي پاكسازي خاكهاي آلوده را "روش تصفيه در جا" معرفي كرده است. (Mattney Cole., 1994). استفاده از روش‌هاي بيولوژيك و از جمله "گياه‌پالايي" يعني استفاده از گياهان براي پاكسازي زمين‌هاي آلوده، به عنوان گزينه‌هايي كه از لحاظ اقتصادي نيز مقبول‌اند، مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان رويكردي جديد در پاكسازي خاك و آبهاي آلوده مطرح شده است. هدف نهايي از كاشت گياهان در زمين‌هاي آلوده به PAHs، استفاده از توانايي طبيعي آنها براي جذب، تجمع، تجزيه و حذف اين تركيبات است. در چند سال گذشته نيز، گزارش‌هايي مبني بر اصلاح و بهبود خاكهاي حاوي PAHs در حضور گياهان ارائه شده است. (Aprill and Sims,1990; Binet et al., 2000; Joner,

نويسنده مسئول:تلفن: ۰۹۱۲۲۷۷۰۹۳۹ E-mail: alaiee@ripi.ir

2003; Mattina, et al.,2003). شايان ذكر است كه در صورت بالا بودن غلظت تركيبات سمي، مرحلة پيش‌تصفيه، و يا حذف اوليه با روش‌هاي مختلف شيميايي و فيزيكي به منظور مهيا ساختن شرايط براي مبارزه بيولوژيك، ضروري است. براي رسيدن به بيشترين مقدار كاهش در غلظت آلاينده‌ها و ايجاد پوشش گياهي پايدار و مقاوم، گياهان بايد با دقت زياد و به‌گونه‌اي انتخاب شوند كه از سطح ريشه‌اي مناسب برخوردار باشند، حتي‌المقدور از گياهان بومي بوده و نسبت به شرايط خاك منطقه سازگار باشند. نشان داده شده است كه گونه‌های گراس، نظير گياه سورگوم كه از خانواده گندميان است توانايي رشد و سازش با شرايط اقليمی مختلف، نظير آب و هوای گرم و خشک و اقليم‌های معتدل را داشته و گياهان اين خانواده توانايی حذف آلاينده‌های آلی ناشی از تركيبات نفتی را به خوبی دارا هستند. (Aprill and Sims, 1990; Lee, 1996; Banks, 1999;Mc Catcheon et al.,2003)

پژوهش حاضر به منظور بررسي عملكرد گياه سورگوم، *(Sorghum vulgare Pers. Sudanense)*، در كاهش آلايندگي فنانترن، به عنوان آلايندة غالب در خاك اطراف سايت‌هاي نفت وگاز و همچنين بررسي نحوة تجمع آلاينده در گياه در شرايط گلخانه‌ای كه در آن دما، رطوبت و ساير عوامل اقليمی مشابه شرايط منطقه مورد مطالعه ايجاد شد، انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونة خاك كشاورزي مورد استفاده با روش‌هاي استاندارد و به شرح زير مورد تجزيه فيزيكي و شيميايي قرار گرفت:

تعيين pH و EC در عصاره اشباع، تعيين عناصر ريزمغذی به روش ASTM E885، اندازه‌گيری عناصر ماكرو مطابق دستورالعمل موجود در AOAC (۱۹۹۰)، روش كوره برای تعيين كربن آلی و روش بايكاس براي تعيين قطر ذرات و ظرفيت زراعی خاک استفاده شد. فنانترن با خلوص ۹۸% محصول شركت Aldrich به عنوان آلاينده مورد استفاده قرار گرفت. بررسی‌ها نشان داده كه دامنة غلظت آلاينده در منطقة مورد مطالعه بين ۱۷-۱۳ ميلی‌گرم بر كيلوگرم متغير است، بنابراين آلاينده فنانترن در ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ ميلي‌گرم در كيلوگرم خاك خشك با خاك مذكور مخلوط شد. مشخصات فنانترن مورد استفاده در جدول شمارة (۱) نشان داده شده است.

جدول شمارة (۱): مشخصات فنانترن

نام	تعداد حلقه‌ها	وزن مولكولی (g)	وزن مخصوص (g/l)	نقطه ذوب (^{O}C)	حلاليت درآب$۲۵^{O}C$ (mg/lit)	$LogK_{ow}$
فنانترن	۳	۱۷۸/۲	۱/۱۷	۱۰۱	۱/۲۹	۴/۴۶

نمونه‌هاي خاك پس از قرار گرفتن در معرض آلاينده (فنانترن) در بلوك‌هايي با گنجايش ۳۰ كيلوگرم توزيع شدند. توزيع يكنواخت فنانترن در خاک با استفاده ازحلال دی‌كلرومتان و به اين ترتيب صورت گرفت كه نمونه‌هاي خاك پس ازخشك شدن در معرض هوا، از الك با مش۲۴(۰/۷۰۷ mm) عبور داده شدند. حدود ۱۰% وزن خاك مورد استفاده با محلول فنانترن در دي‌كلرومتان آغشته شده و پس از تبخير دي‌كلرومتان، خاك آغشته به فنانترن با باقيماندة خاك غيرآلوده مخلوط و همگن شد. براي اطمينان از يكنواختي آلاينده در تيمارهاي مورد بررسي، خاك حاصل مجدداً از الك با مش ۲۴ عبور داده شد (Wang and Jones,1994). در اين بررسي تأثير مشخصه‌های مختلف نظير وجود، يا عدم وجود پوشش گياهی، غلظت‌های مختلف از آلاينده و زمان، بر اساس طرح آماري بلوك‌هاي كاملاً تصادفي و با ۳ تكرار مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات انجام گرفته نشان داد كه گونه‌هاي مختلف گراس در حذف آلاينده‌هاي PAHs از خاك مؤثر بوده و براي اين منظور بذرهاي سورگوم گونة *(Sorghum vulgare Pers. Sudanense)* كه در اقليم‌های مختلف قابل كشت است، در پلات‌هاي پلي‌اتيلني به ابعاد ۴۶×۱۱۰ سانتيمتر و با لايه‌اي از فويل آلومينيوم پوشش داده شده بود و در عمق ۴-۵ سانتيمتري از سطح كاشته شدند. تيماربندي‌ها عبارت بودند از:

۱)نمونه‌هاي كنترل كاشته شده در خاك غير آلوده (كنترل)؛

۲) نمونه‌هاي كنترل خاك آلوده بدون گياه $_{۱,۲,۳}$ (خاک كشت نشده) به ترتيب با ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ ميلي گرم در كيلوگرم؛

۳)نمونه‌هاي خاك آلوده كاشته شده $_{۱,۲,۳}$ (خاک كشت شده) به ترتيب با ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ ميلي‌گرم در كيلوگرم. پلات‌هاي كاشته شده در فواصل زماني مناسب در گلخانه جابه‌جا شده و به طور مرتب و با دقت با مقدار ۵۰% ظرفيت زراعي خاك، آبياري شده و در مواقع لزوم به‌وسيلة محلول‌هاي حاوي مواد معدني كوددهي شدند. محدودة دما و رطوبت در محيط گلخانه به ترتيب$۴۰^{O}C$- ۲۰ و ۶۵-۳۰% بوده و آزمايش‌ها در فاصلة ارديبهشت لغايت شهريور ۱۳۸۶ انجام

گرفت، بنابراين سيستم سرمايشي فراهم و در مواقع لزوم از نور مصنوعي براي تأمين روشنايي گلخانه استفاده شد. نمونه‌برداري و آناليز نمونه‌هاي خاك در فواصل زماني مشخص انجام گرفت. به منظور تعيين غلظت آلاينده در زمان‌هاي مختلف، لازم بود اين تركيب از نمونه‌هاي خاك استخراج شود. براي استخراج فنانترن، خاك تيمارهاي كنترل فاقد گياه و تيمارهاي كاشته شده به‌دقت جمع‌آوري و همگن گشته و پس از ساييده شدن در هاون، از الك استاندارد با مش ۲۴ عبور داده شدند. سپس نمونه‌ها براي حذف رطوبت با سولفات سديم بدون آب مخلوط شدند و به‌وسيلة امواج اولتراسونيك و با استفاده از حلال دي‌كلرومتان استخراج شدند. اين عمل ۳ بار تكرار شد و سپس مجموعة فاز مايع حاوي PAHs از ستون سيليكاژل و آلومينا توسط مخلوط۱:۱حلال‌هاي پنتان و دي‌كلرومتان عبور داده شدند. (Mattney Cole, 1994; Guerin, 1999; Kipopoulou, et al., 1999; Gao and Zhu, 2004; Martinez, et al.,2004; Jason, et al., 2005).

سرنوشت PAH_S در ناحية ريزوسفر به كمك مقادير ضريب توزيع اكتانل به آب (K_{ow}) آنها، كه يكي از ويژگي‌هاي اين تركيبات و نشان دهندة حلاليت آنها در آب است، تعيين مي‌شود. حضور و تجمع اين تركيبات در ريشه به‌طورمستقيم با مقدار K_{ow} وبه طور معكوس با حلاليت آنها مربوط مي‌شود. به عنوان قانوني كلي، تركيباتي با ضريب توزيع بيش از ۳، توسط تركيبات سازندة غشاي سلولي گياه بشدت جذب شده و اين كار مانع جابه‌جايي آنها در گياه شده و ترجيحاً در ناحية ريشه‌اي باقي مي‌مانند (Dzantor, 2000). به نظر مي‌رسد كه امكان حركت و انتقال فنانترن با ضريب توزيع اكتانل به آب ۴/۴۶، پس از ورود به بافت ريشه، در ساير اندام‌هاي گياه نظير ساقه و برگ بسيار اندك است. بنابراين تجمع آلاينده فنانترن در بافت ريشة گياه و در مراحل نهايي رشد، بررسي شد. به اين ترتيب كه نمونه‌هاي ريشه در دستگاه خشك‌كن انجمادي[۲] در دماي $-۵۲\ ^oC$ به مدت ۸ ساعت قرار گرفته و خشك شدند؛ سپس در هاون ساييده شده و مقدار مشخصي از آنها با مخلوط ۱:۱ از استن و هگزان توسط اولتراسونيك و به مدت يك ساعت استخراج شدند و به‌دنبال آن فاز حلال جدا شد (Gao and Zhu , 2004). اين عمليات ۳ بار تكرار شده و سپس مراحل پاكسازي، مطابق نمونه‌هاي خاك انجام گرفت. ميزان آلاينده در نمونه‌ها توسط دستگاه كروماتوگرافي مايع با كارآيي بالا[۳] (HPLC) تعيين مقدار گشته و براي اين منظور فاز مايع حاصل از مرحله قبل در حمام روتاري تبخير و تعويض حلال مصرفي با استونيتريل صورت گرفته و آماده تزريق و آناليز توسط دستگاه كروماتوگرافي مايع با كارآيي بالا با مشخصات ذيل شد. (جدول شمارة ۲).

جدول شمارة (۲): مشخصات دستگاه **HPLC**

HPLC – WATERS	
Column : PAH 250 mm × 4.6 mm Injector: Rheodyne Loop 20 micro lit. Solvent A: (H2O/ Acetonitrile) : 35/36 Soft ware: Azur	Detector: Model 470 – Fluorescence Flow: 1 ml/min. ; Temperature: 30 ^{OC} Solvent B: Pure Acetonitrile (Merck – HPLC Grade)

ميزان كلروفيل با استفاده از دستگاه كلروفيل‌سنج Minolta مدل SPAD-502 تعيين شد. براي اين منظور مقدار متوسط سه اندازه‌گيري براي هر بوته قرائت شده و اين عمل در هر بلوك براي پنج بوته مجزا و در چهار مرحله زماني در هفته‌هاي هشتم، نهم، دهم و دوازدهم انجام گرفت. ميزان بيوماس توليدي در اواخر دورة كشت كه رشد گياه كامل شده بود در دو مرحله در هفته‌هاي دوازدهم و شانزدهم تعيين شد. (وكيلي و همكاران، ۱۳۸۳) مقدار حذف فنانترن(بر حسب ميلي‌گرم به ازاي هر بلوك كاشته شده) و همچنين درصد حذف در خاكهاي فاقد گياه و كاشته شده با استفاده از روش‌هاي استاندارد توصيه شده محاسبه شد (Gao and Zhu, 2003). در نهايت داده‌هاي به دست آمده به وسيلة تست‌هاي مقايسة ميانگين نمونه‌های مستقل(T-Test) ، آناليز واريانس و با استفاده از برنامه آماري SPSS مورد تحليل قرارشدند.

نتايج

خاک مورد استفاده در گلخانه از منطقة مجاور ناحية آلوده (در تأسيسات نفتی ری) با ويژگی‌های فيزيکی و شيميايی مشابه با ناحيه آلوده انتخاب شد. خصوصيات فيزيكوشيميايي و تغذيه‌اي خاك منطقه و خاک مورد استفاده در گلخانه در جدول شمارة (۳) به‌نمايش گذاشته شده است. پس از آلوده كردن خاك با فنانترن، نمونه‌هاي خاك تحت عمليات استخراج و آناليز قرار گرفته و غلظت آلاينده در زمان و تيمارهاي مختلف مورد بررسي قرار گرفت. قابل ذكر است كه متوسط بازيابي آلاينده ازخاك با اين روش ۹۰% (n =۳ , RSD =۱/۳۴۰۵) وميزان بازيافت ستون، ۹۷% (n = ۵ , RSD =۰/۵۶۶) بود. مقدار متوسط فنانترن اندازه‌گيري شده در تيمارهاي مختلف (كاشته شده، فاقد گياه و شاهد) درفواصل زماني مشخص در جدول شمارة (۴) نشان داده شده است.

جدول شمارة(۳): مشخصات فيزيكوشيمايي خاك منطقه وخاک مورد استفاده

خاک گلخانه	خاک منطقه	ویژگی	خاک گلخانه	خاک منطقه	ویژگی
۸/۱۲	۸/۰۷	pH	لوم	لوم	بافت خاك
۲/۰۱	۲/۱۶	EC ($mScm^{-1}$)	۱۹/۰۵	۲۰	(%) رس
۶۳/۴	۶۳	P_2O_5 (ppm)	۴۱/۱۰	۴۰/۸	(%) شن
۲۱۵	۲۱۳	K (ppm)	۳۹/۸۵	۳۹/۲	(%) سيلت
۱۴	۱۲	Fe (ppm)	۱۲/۷۵	۱۲/۳۷	(%)كربن آلی
۱۵	۱۶	Mg (ppm)	۰/۱۲	۰/۱۱	(%)ازت كل
۷۹ (ppb)	۱۵ (ppm)	فنانترن	۱/۳۷۵	۱/۴	دانسيته ($g.cm^3$)
			۰/۲۶۱۵	۰/۲۶۱۱	ظرفيت مزرعه ای (cm^3water/cm^3soil)

جدول شمارة (۴): مقادير متوسط غلظت فنانترن درتيمارو زمان‌هاي مختلف (ppm)

تيمار هفته	Cont. ± (Sd)	Unp_1 ± (Sd)	Unp_2 ± (Sd)	Unp_3 ± (Sd)	Pl_1 ± (Sd)	Pl_2 ± (Sd)	Pl_3 ± (Sd)
۰	۰/۰۷۹± ۰/۰۰۲	۸/۵۰۰ ± ۰/۲۶۵	۱۳/۵۰۰ ± ۰/۱۷۶	۱۷/۲۰۰ ± ۰/۲۰۸	۸/۴۲۰ ± ۰/۰۸۰	۱۲/۹۷۰ ± ۰/۲۵۶	۱۷/۱۳۰ ± ۰/۲۰۸
۲	۰/۰۷۴± ۰/۰۰۱	۵/.۸۸۰ ± ۰/۰۵۶	۸/۸۲۰ ± ۰/۳۳۶	۱۱/۷۶۰ ± ۰/۲۲۲	۵/۸۱۰ ± ۰/۱۷۳	۸/۳۰ ± ۰/۴۸۲	۱۱/۸۱۰ ± ۰/۱۵۷
۵	۰/۰۳۵± ۰/۰۰۳	۳/۶۷۰ ± ۰/۲۸۴	۵/۵۲۰ ± ۰/۵۱۴	۷/۶۳۰ ± ۰/۳۵۶	۰/۳۰۳ ± ۰/۰۰۵	۱/۶۰۰ ± ۰/۲۷۴	۴/۳۵۰ ± ۰/۲۰۰
۸	۰/۰۱۷± ۰/۰۰۰	۲/۷۰۰ ± ۰/۰۵۶	۳/۲۵۰ ± ۰/۰۹۵	۴/۳۵۰ ± ۰/۲۴۵	۰/۰۶۰ ± ۰/۰۰۴	۰/۱۹۳ ± ۰/۰۰۴	۰/۳۶۴ ± ۰/۰۰۷
۱۲	۰/۰۱۲± ۰/۰۰۱	۲/۰۱۰ ± ۰/۲۲۵	۲/۶۳۰ ± ۰/۰۵۹	۳/۳۲۰ ± ۰/۲۳۴	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰۳	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۰۲	۰/۰۵۶ ± ۰/۰۰۴

sd : انحراف معيار

Cont: كنترل(خاك بلانك به همراه گياه)

$Unp_{1,2,3}$: خاك آلودة فاقد گياه با غلظت‌های به ترتيب ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ ميلي‌گرم در كيلوگرم خاك

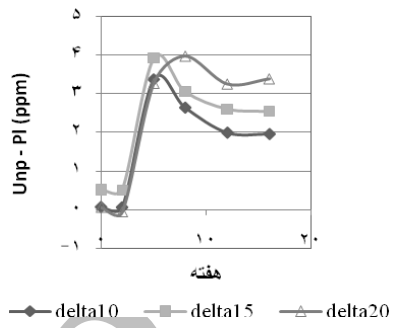
$pl_{1,2,3}$: خاك آلوده كاشته شده با غلظت های به ترتيب ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ ميلي گرم در كيلوگرم خاك

نتايج نشان مي‌دهد كه در چهار هفتة اوّل بعد از كاشت گياه تفاوت محسوسي در عملكرد تيمارهاي كاشته شده و فاقد گياه وجود ندارد، درصورتي‌كه از هفتة پنجم به بعد كاهش محسوسي در غلظت فنانترن خاك در تيمارهاي كاشته شده در مقايسه با خاك فاقد گياه ايجاد مي‌شود. (شكل شماره ۱).

مقادير مربوط به كاهش غلظت آلاينده در خاك، در جدول شمارة (۵) نشان داده شده است. علاوه بر اين، نتايج نشان مي‌دهد كه در پايان دورة كشت، ميزان غلظت آلاينده در تيمارهاي كاشته شده تقريباً مشابه با نمونه‌هاي شاهد است. (شكل شمارة ۲).

شكل شمارة(۳) ميزان تجمع فنانترن در بافت ريشه در غلظت‌هاي مختلف را نشان مي‌دهد.

به دليل محدوديت دسترسي به بافت ريشه، عمل برداشت در مراحل انتهايي تحقيق يعني هفته‌هاي دوازدهم و شانزدهم انجام شد. همچنين نتايج مندرج در جدول شمارة (۶)، مقادير تجمع در ريشه و حذف بيولوژيک، با تأكيد بر فرايند "تجزية گياهی" ساز وكار غالب در حذف آلاينده را نشان مي‌دهد.

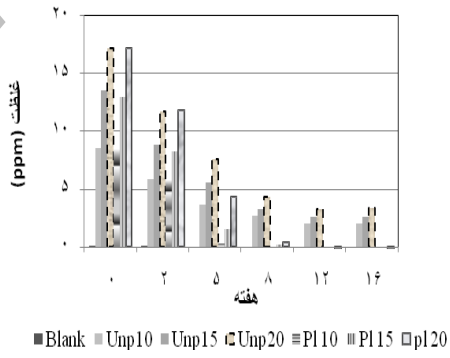


شکل شمارة (۱): تغییر غلظت آلاینده در تیمارهاي مختلف

delta10: تغییرات غلظت آلاینده در تیمارهاي کاشته شده و کشت نشده در غلظت ppm ۱۰

delta15: تغییرات غلظت آلاینده در تیمارهاي کاشته شده و کشت نشده در غلظت ppm ۱۵

Delta20: تغییرات غلظت آلاینده در تیمارهاي کاشته شده و کشت نشده در غلظت ppm ۲۰



شکل شمارة (۲): مقایسه غلظت آلاینده در خاك تیمارهاي مختلف با شاهد

Blank : شاهد

Unp10 :تیمار کشت نشده در غلظت ppm ۱۰ از آلاینده

Unp15: تیمار کشت نشده در غلظت ppm ۱۵ از آلاینده

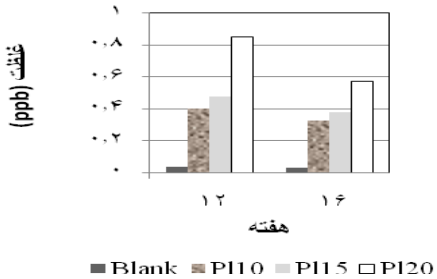
Unp20 : تیمار کشت نشده در غلظت ppm ۲۰ از آلاینده

Pl 10 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۰ از آلاینده

Pl 15 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۵ از آلاینده

Pl 20 : تیمار کاشته شده در ppm ۲۰ از آلاینده

شکل شمارة (۴) محتوي کلروفیل در غلظت‌هاي مختلف آلاینده در تیمار کاشته شده و در مقایسه با شاهد در زمان‌هاي مختلف را نمایش مي‌دهد. علاوه بر این مقدار بیوماس کل که از جمله مشخصه‌هاي فیزیولوژیك گیاهي محسوب مي‌شود، در شکل شمارة (۵) نشان داده شده است.



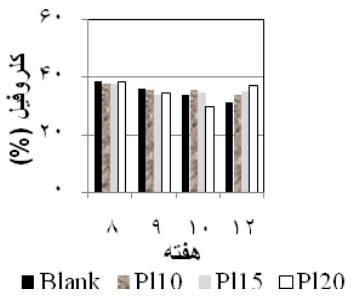
شکل شمارة (۳): تجمع فنا نترن در ریشه

Blank : شاهد

Pl 10 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۰ از آلاینده

Pl 15 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۵ از آلاینده

Pl 20 : تیمار کاشته شده در ppm ۲۰ از آلاینده



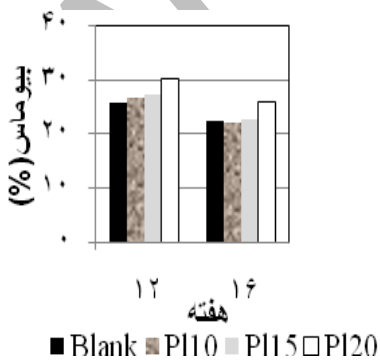
شکل شمارة (۴): محتوي کلروفیل در غلظت هاي مختلف

Blank : شاهد

Pl 10 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۰ از آلاینده

Pl 15 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۵ از آلاینده

Pl 20 : تیمار کاشته شده در ppm ۲۰ از آلاینده



شکل شمارة (۵): میزان بیو ماس گیاه

Blank : شاهد

Pl 10 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۰ از آلاینده

Pl 15 : تیمار کاشته شده در ppm ۱۵ از آلاینده

Pl 20 : تیمار کاشته شده در ppm ۲۰ از آلاینده

جدول شمارة (۵): مقدار حذف فنا نترن ($mg.plot^{-1}$) درخاكهاي موردبررسي پس از ۱۶ هفته

درصد حذف در تيمار كاشته شده	درصد حذف در تيمار فاقد گياه	نسبت كاهش در تيمار كاشته شده به تيمار فاقد گياه	مقدار حذف در تيمارهاي كاشته شده **($mg.plot^{-1}$)**	مقدار حذف در تيمارهاي خاك آلوده**($mg.plot^{-1}$)**	غلظت
۹۹/۸۶	۷۶/۸	۱/۲۹	۲۵۲/۳	۱۹۵/۹	۱۰ppm
۹۹/۸۹	۸۱/۰	۱/۲۰	۳۸۹/۰	۳۲۸/۲	۱۵ppm
۹۹/۸۶	۸۰/۱	۱/۲۴	۵۱۳/۲۱	۴۱۳/۴	۲۰ppm

جدول شمارة(۶): مقادير تجمع در ريشه و حذف بيولوژيک

حذف بيولوژيک **(T_b) (ppm)**	غلظت در خاک كاشته شده **(ppm)**	غلظت درشاهد خاک آلوده **(ppm)**	تجمع در ريشه **(P_a) (ppm)**	زمان (هفته)	غلظت تيمار
۱/۵۹۴	۰/۰۱۵	۲/۰۱	۰/۴۰۱	۱۲	۱۰
۲/۱۳۶	۰/۰۲۱	۲/۶۳	۰/۴۷۳	۱۲	۱۵
۲/۲۳۹	۰/۰۵۴	۳/۳۲	۰/۸۵۲	۱۲	۲۰
-	۰/۰۱۲	-	۰/۰۳۵	۱۲	شاهد
۱/۶۳۴	۰/۰۱۱	۱/۹۷	۰/۳۲۵	۱۶	۱۰
۲/۱۶۹	۰/۰۱۴	۲/۵۶	۰/۳۷۷	۱۶	۱۵
۲/۸۲۷	۰/۰۲۳	۳/۴۲	۰/۵۷۰	۱۶	۲۰
-	۰/۰۱	-	۰/۰۲۸	۱۶	شاهد

بحث و نتيجه‌گيري

نقش گياه در كاهش آلاينده فنانترن در خاك

كاهش غلظت فنانترن در خاكهاي فاقد گياه به عواملي مانند شست‌وشوي آن از بافت خاك، جذب سطحي، اكسيداسيون در مقابل نور، تبخير و تجزيه بيولوژيكي نسبت داده شده (Reillyet, et al. 1996). درحالي‌كه در خاكهاي داراى پوشش گياهي، مشخصه جذب و تجزية گياهي نيز به موارد فوق اضافه مي‌شود.

با استفاده از نتايج مندرج در جدول شمارة (۵) مشاهده مي‌شود كه گياه مورد مطالعه روند اصلاح خاك آلوده به فنانترن را در هر سه غلظت مورد بررسي و در شرايط اعمال شده حدود۲۰ درصد بهبود بخشيده وميزان حذف آلاينده به ۹۹% مي‌رسد و همان‌طوركه شكل شمارة (۱) نشان مي‌دهد، اين تغيير غلظت در نمونه‌هاي كاشته شده و فاقد گياه از هفته پنجم از كاشت آغاز شده و در پايان دوره كشت ميزان غلظت آلاينده در تيمارهاي كاشته شده مشابه با نمونه‌هاي شاهد است، در حالي‌كه اختلاف محسوسي بين نمونه‌هاي فاقد پوشش گياهي با شاهد وجود دارد (شكل شمارة ۵). علاوه بر اين تحليل‌هاي آماري، آناليز واريانس و مقايسه ميانگين نمونه‌هاي مستقل، اختلاف معني‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ بين تيمارهاي كاشته شده و فاقد گياه را نشان داد. همچنين ملاحظه شد كه بين ميانگين غلظت آلاينده در تيمارهاي كاشته شده در مقايسه با نمونة بلانك اختلاف معني‌دار نبوده، در حالي‌كه بين تيمارهاي آلودة فاقد گياه با بلانك اختلاف معني‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ وجود دارد. در نهايت نتايج به‌دست آمده مبين نقش مثبت و عملكرد مناسب گياه انتخابي در حذف آلاينده فنانترن از مخلوط خاك و برگشت شرايط خاك به حالت بدون آلايندگي، مشابه با حالت شاهد، در شرايط گلخانه‌اي و وضعيت دما و رطوبت محيط و نوع خاك مورد استفاده است. نتيجه‌گيري مشابهي در اين مورد مشاهده شد (Gao and Zhu, 2004)، همچنين نتايج مشابه ديگري براي اثبات اين‌كه گياهان وسيله مناسبي براي تسريع تجزيه آلاينده‌ها در خاك هستند، وجود دارد (Anderson, et al., 1993, Reilly, et al., 1996). علاوه براين نشان داده شده كه حضور گياهاني

نظير يونجه سبب افزايش حذف آلاينده‌هاي آروماتيك چندحلقه‌اي بخصوص ۳ حلقه‌اي، نظير فنانترن و آنتراسن تا حدود ۸۶% است(Erik, et al., 2004). همچنين مشخص شده كه گياهاني مانند فستوكا و يونجه زرد ميزان تجزيه PAHs را افزايش مي‌دهند (Zakia, et al., 2005). مجموعة نتايج به‌دست آمده و موارد فوق نشان مي‌دهند كه گياهان قادرند در راستاي پالايش خاك آلوده به PAHs عمل كنند. در اين خصوص گياه سورگوم كه در اين كار تحقيقاتي استفاده شده است نيز همانند موارد ذكر شده قادر است تا ميزان كاهش آلاينده‌هاي آلي و بويژه فنانترن در خاك را به ميزان ۲۳% در تيمارهاي حاوي ۱۰ppm، ۱۹% درتيمارهاي حاويppm ۱۵ و ۲۰% در تيمارهاي حاوي ۲۰ppm افزايش دهد كه اين موضوع اهميت واقعي خود را زماني نشان مي‌دهد كه بدانيم آلاينده‌هاي مختلف و به ويژه انواع آلي آن نظير PAHs ، حتي در غلظت‌هاي بسيار اندك، تهديدي جدي براي سلامتي بشر محسوب مي‌شوند، بنابراين اندك افزايش در ميزان حذف آلاينده‌هاي مذكور در حضور گياهان مختلف نظير، سورگوم، نقشي بسيار مهم دارا خواهد بود.

تجمع و تجزية آلاينده توسط گياه

بررسي شكل شمارة (۳) نشان مي‌دهد كه غلظت فنانترن در ريشه، بر مبناي وزن خشك، تابعي از غلظت آن در خاك بوده و تجمع در بافت ريشه با افزايش غلظت در خاك افزايش مي‌يابد. همچنين نتايج حاكي از كاهش مقدار تجمع يافته در بافت ريشه با گذشت زمان است كه مي‌توان آن را به فعاليت‌هاي متابوليك در داخل گياه نسبت داد.

تحليل آماري داده‌ها و آناليز واريانس نشان‌دهندة وجود اختلاف معني‌دار در سطح ۰/۰۵ بين غلظت ريشه‌اي نمونه‌هاي كاشته شده در خاك حاوي مقادير متفاوت از آلاينده بوده و همچنين اختلاف بين غلظت ريشه‌اي در زمان‌هاي مختلف را تأييد مي‌كند.

اصولاً كاهش غلظت فنانترن در خاكهاي فاقد پوشش گياهي به عواملي مانند شست‌وشو از بافت خاك، تجزيه بيولوژيک و حذف غيربيولوژيک آلاينده (نظير جذب سطحي، اكسيداسيون نوري، تبخير و...) از بافت خاک نسبت داده شده است. در تيمارهای دارای پوشش گياهی عامل جذب گياهی و تأثير گياه بر تجزية بيولوژيکی نيز به عوامل سابق‌الذكر اضافه می‌شود (Gao and Zhu , 2003).

با توجه به اين‌كه جذب و تجمع در بافت گياه و نيز تجزية بيولوژيک گياهی باعث ايجاد اختلاف در عملكرد تيمارهای كاشته شده و بدون گياه است بنابراين با در دست داشتن مقادير تجمع گياهی، تفاوت بين عملكرد تيمارها به تجزيه بيولوژيک گياهی نسبت داده می‌شود. داده‌هاي ستون حذف بيولوژيك در جدول شمارة (۶) در واقع نشان دهندة تأثير همين عامل در كاهش مقدار فنانترن در خاك است. با توجه به داده‌هاي جدول به نظر مي‌رسد "تجزية گياهي" سازوكار غالب و فعال در كاهش آلايندگي باشد زيرا مقدار تجمع در بافت گياه كمتر از ppb ۹۰۰ در غلظت‌هاي مختلف از آلاينده بوده، در حالي كه تجزية گياهي تا بيش از ppm ۲ از آلاينده را در غلظت‌هاي مختلف آلاينده در تيمارهاي كاشته شده حذف كرده است.

افزايش تجزية بيولوژيک توسط گياه در مورد تركيبات آلی موجود در خاک در گذشته نيز مورد مطالعه قرار گرفته است. سهم گياهان در تجزية آلاينده‌های آلی، يا از طريق افزايش تعداد ميكرب‌ها (Aprill, et al., 1990; Reilly, et al., 1996; Binet, et al., 2000)، يا توسط افزايش فعاليت و بهبود اجتماع ميكربی درناحية ريزوسفر (Joner, 2003) است. ارتباط و تعامل بين ريشة گياه با ميكرب‌ها و آلاينده‌ها، فرايندهای مختلف گياه‌پالايی را ممكن می‌سازد كه در نهايت منجر به تجزيه، حذف و معدنی‌سازی PAHs می‌شود (Jiao, 2007). علاوه بر اين با استفاده از يك دستگاه فتوگراف نشري ماوراء بنفش، تأثير سيستم ريشه‌اي فعال در تجزية مواد شيميايي نشان داده شده است(Thoma, 2004). در مطالعات و بررسي‌هايي كه به‌وسيلة دستگاه TPEM[۴] هنگام بررسي جذب فنانترن انجام گرفته، عدم انتقال ماده به اندام‌هاي هوايي گياه تأييد شده و مشخص شده كه اين ماده فقط تا محدودة سلول‌هاي پوست ريشه مهاجرت كرده و به سيستم انتقالي آوند چوبي-آبكشی نمي‌رسند و اين بدين معناست كه چنين تركيبي پس از حركت محدود، در لاية پوست ريشه مجتمع شده و احتمال انتقال به بخش‌هاي هوايي گياه از طريق مكانيزم آوندي وجود ندارد (Wild, 2005). بررسی‌های ديگری نيز به نتيجه‌گيری مشابهی رسيده‌اند كه هيدروكربن‌های چند حلقه‌ای آروماتيک پس از جذب در سطح ريشه، توان انتقال به بخش‌های بالايی گياه را ندارند (Jones, 1991; Fismes, 2002) و به نظر می‌رسد وجود اين تركيبات در برگ، در نتيجة ترسيب ذرات اتمسفری باشد.

تأثير بر ميزان توليد كلروفيل و بيوماس

به منظور افزايش كارايي روش"گياه پالايي" در حذف آلاينده‌هاي آلي، لازم است گونه‌هاي گياهي مقاوم در برابر آلودگي براي اين كار انتخاب شوند. بعضي از خواص فيزيولوژيك نظير رشد، مقدار ثابت يا رو به افزايش بيوماس، سيستم ريشه‌اي قوي و رشد يافته، توان نگهداري

آب و مقدار كلروفيل مي‌توانند به عنوان معرف براي نمايش حساسيت گياه نسبت به آلاينده مورد بررسي قرار گيرند (Huang, 2004). محتوي كلروفيل، مشخصة مؤثري در فعاليت‌هاي فتوسنتزي بوده و بيشتر به عنوان معرف براي نمايش استرس در گياهان استفاده مي‌شود. در مجموع خصوصياتي، نظير ثبات، يا افزايش بيوماس گياهي و تثبيت محتوي كلروفيل پاسخ‌هاي مثبت گياه براي غلبه بر استرس ناشي از حضورPAHs در خاك است (Huang, 1997; Marwood, 2001). با مراجعه به اشكال شماره‌هاى (۳و ۴) و تأييد ثبات نسبي ميزان كلروفيل و بيوماس در گياه مورد مطالعة انتخابي، به نظر مي‌رسد گونه مورد بررسي توانسته با شرايط محيطي انطباق يافته و تنش ناشي از حضور فنانترن در محيط را تحمل كند. عدم تغيير در پاسخ بخش‌هاي هوايي گياه، مجدداً تأكيدي بر عدم انتقال آلاينده، و يا حتي فرم تغيير شكل يافته آن در اثر فعاليت گياه، از ريشه به برگ است. تحليل آماري داده‌ها، مقايسة ميانگين‌ها و آناليز واريانس (تست Tukey) نشان مي‌دهد كه بين مقادير كلروفيل و بيوماس نمونه شاهد با نمونه‌هاي رشد يافته در محيط آلوده تفاوت معني‌داري درسطح۹۵% ۰/۰۵ > p) مشاهده نمي‌شود.

در مجموع بررسي نتايج به دست آمده نشان داد كه گونة انتخابي سورگوم به علت دارا بودن شرايط فيزيولوژيك و بيوشيميايي خاص و تحت شرايط اعمال شده در گلخانه، نسبت به آلاينده فنانترن مقاوم بوده و ميزان نسبتاً ثابت كلروفيل و بيوماس توليدي در واقع نوعي پاسخ مثبت گياه در غلبه بر تأثير سمي‌بودن ناشي از حضور آلاينده در گياه است. وجود ثبات، و يا تغييرات جزيي در مقدار اين مشخصه‌ها حاكي از عدم انتقال آلاينده به اندام‌هاي هوايي بوده و با توجه به نقش گياه در اكوسيستم و انتقال مواد آلاينده در زنجيرة غذايي، موارد ياد شده از ويژگي‌هاي مثبت گياه پيش‌گفته محسوب مي‌شود. از سوي ديگر بررسي ميزان تجمع در ريشه و روند تغييرات آلودگي، نشان مي‌دهد كه اين گياه قادر است با افزايش ميزان تجزية بيولوژيكي، ميزان آلاينده مذكور را در خاك كاهش دهد.

يادداشت‌ها

1-Poly Aromatic Hydrocarbons(PAHs)
2-Freeze drier
3-High Perfromance Liquid Chromatography (HPLC)
4-Two Photon Excitation Microscopy

منابع مورد استفاده

گيتي پور، س.، نبي بيدهندي، غ.ر. و گرجي، م.ا. ۱۳۸۳. آلودگي خاكهاي جنب پالايشگاه تهران در اثر نشت تركيبات نفتي. محيط شناسي،سال سي‌ام، شمارة ۳۴، ص ۴۵-۳۹.

وكيلي، ف .، علايي، ا. ۱۳۸۳. تست گلخانه‌اي و كنترل كيفيت كود اوره با پوشش روي و گوگرد. گزارش پاياني، پژوهشگاه صنعت نفت.

Anderson,T. A., E.A.,Guthrie, B.T.,Walton. 1993. Bioremediation in the rhizosphere, plant roots and associated microbes clean contaminated soil, Environ. Sci.Tech. 27(13): 2630-2636.

Aprill,W., R.C.,Sims. 1990. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soils, Chemosphere 20: 253-265.

Banks,M.K. 1999. Evaluation of dissipation mechanisms for benzo(a) pyrene in the rhizosphere of tall fescue, J. Environ. Qual. 28: 294-29

Binet,P., J.M.,Portal, C.,Leyval. 2000. Dissipation of 3-6 ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass, Soil Biol. Biochem. 32: 2011-2017.

Bjorrseth,A. 1983. Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons. Marcel Dekker, Inc.
Casrett, and Daull's. 1995. Toxicology: The basic science of poisons. 5th edition, Mc Graw- Hill, New York.

Dzantor,E.K. 2000. Phytoremediation – Organic Compounds. Department of Natural Resource Sciences and Landscape Architecture, Maryland Cooperative Extension, Fact Sheet No. 764.

Erik,J.J.and et al. 2004. Priming effects on PAH degradation and ecotoxicity during a phytoremediation experiment, Environ. Pollut. 128: 429-435.

Fismes,J. 2002. Soil- to- root transfer and translocation of PAHs by vegetables grown on industrial contaminated soils, J. Environmental Quality, 31: 1649-1656.

Gao,Y.Z., L.Z.,Zhu. 2003. Phytoremediation and its models for organic contaminated soils, J. Environ. Sci. Tech., 15: 302- 310.

Gao,Y.Z., L.Z.,Zhu. 2004. Plant uptake, accumulation and translocation of Phenanthrene and Pyrene in soils, Chemosphere , vol.55, Issue 9: 1169-1178.

Guerin,T.F. 1999. The extraction of aged polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) residues from a clay soil using sonication and soxhlet procedures: a comparative study, J. Environmental Monitoring, 63-67.

Huang,X.- D. 1997. Mechanism of photoinduced toxicity of photomodified Anthracene to plants: Inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plants *Lemna gibba*(duck weed), Environ. Toxicol. Chem. 16: 1707-1715.

Huang,X.- D. 2004. Responses of three grass species to creosote during phytoremediation, Environmental pollution. 130: 453-463.

Jason, P. and et al. 2005 . Sorption of Aromatic Organic Pollutants to grasses from water. Environ. Sci. Tech., 39 : 8369-8373.

Jiao,X.C. 2007. Adsorption and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to rice roots , Environmental Pollution . 148: 230-235.

Joner,E.J. 2003. Rhizosphere gradients of PAHs dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorhiza, Environ. Sci. Tech. 37: 2371-5.

Jones, K.C. 1991. Contaminants Trends in soils and crops, Environmental Pollution 69: 311-325.

Kipopoulou,A.M. , E., Manoli and C., Samara. 1999. Bioconcentration of PAHs in vegetables grown in an industrial area. Environ. Pollut. 106: 369-380.

Lee,E. 1996. The fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of Festuca arundiancea. *Ph.D.* dissertation, Dept. of Civil engineering , Kansas state university, Manhatan.

Martinez,E. 2004. Simplified procedures for the analysis of PAHs in water, sediments and mussels, J. of Chromatography A. vol. 47: 181-188.

Marwood,C.A. 2001. Chlorophyll fluorescence as a bioindicator of effects on growth in aquatic macrophytes from mixtures of PAHs , Environ. Toxicol. Chem. 20: 890-898.

Mattina, M.J.I. and et al. 2003 . Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. Environ. Pollut. 124: 375-378.

Mattney Cole, G. 1994. Assessment and remediation of petroleum sites , Lewis pub., London, Tokyo.

Mc Catcheon,S.C., J.L.,Schnoor. 2003. Phytoremediation, transformation and control of contaminants, Wiley- Interscience.

Milton,L.L. 1981. Analytical chemistry of polycyclic aromatic hydrocarbons, academic press, Inc.

Reilly,K., M.K.,Banks, A.P.,Schwab. 1996. Dissipation of polynuclear aromatic hydrocarbons in the rhizosphere, J. of Environ. Qual. 25:212-219.

Thoma,G. and et al. 2004. A model approved to measurment of rhizosphere effect in phytoremediation. Report on IPEC conference.

Wang, M. and K.C.,Jones. 1994. Uptake of chlorobenzens by carrots from spiked and sewage sludge-amended soil, Environ. Sci. Technol. 28: 1260-67.

Wild,E.2005. Direct observation of organic contaminant uptake, storage and metabolism within plant roots, Environ. Sci. Technol. 39:3695-3702

Zakia,D. and et al. 2005. Bioremediation and Biodegradation, J. of Environ. Quality, 34:206-216.