Archive of SID

زیست پالایی خاک‌های آلوده به روغن موتور مصرف شده با استفاده از گیاه آلاله *Ranunculus arvensis* L. و برخی قارچهای ریزوسفری

فریبا محسن زاده* و سودابه خدابنده لو

همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

آلودگی خاک با روغن موتور مصرف شده (سوخته) مشکل مشترک اغلب کشورهای درحال توسعه و صنعتی است. زیست پالایی خاکهای آلوده به روغن موتور، با استفاده از گیاهان و باکتریها و قارچهای تجزیه کننده ترکیبات نفتی میسر است. پژوهشهای پیشین نشان داده که برخی از گیاهان و قارچها نسبت به آلودگی با ترکیبات نفتی مقاوم هستند و در خاکهای آلوده به نفت و مشتقات نفتی رشد می‌کنند. زیست پالایی آلودگی روغن موتور، با استفاده از گونه های قارچی و باکتریایی مقاوم به آلودگی انجام می‌شود. آلاله .*Ranunculus arvensis* L گیاهی است که از یک منطقه صنعتی تعمیرگاهی در شهر همدان جمع آوری شد. علاوه بر این، قارچهای میکوریزی همراه ریشه این گیاه نیز جمع آوری شد. نتایج نشان داد ۱۴ گونه قارچی در میکوریز این گیاه وجود دارد که ۸ تای آن با کلیدهای تاکسونومیک شناسایی شدند. در خاکهای غیر آلوده ۸ گونه قارچی از ریزوسفر این گیاه جداسازی شد که ۴ مورد قابل شناسایی بود. آزمون زیست پالایی با استفاده از کشت گلدانی گیاه آلاله همراه با قارچهای میکوریزی نشان داد بیشترین عملکرد زیست پالایی مربوط به مجموعه کنسرسیوم قارچ و گیاه به میزان ۷۸٪ کاهش آلودگی است. موثرترین گونه‌های قارچی، قارچ های *Fusarium acuminatum* و *Trichoderma harizana* بودند که هر کدام به تنهایی به ترتیب موجب کاهش به میزان ۶۹ و ۵۷ درصدی آلودگی شدند. بر اساس نتایج ما گونه های قارچی نقش عمده در زیست پالایی خاکهای آلوده به روغن موتور سوخته دارند.

واژه های کلیدی: روغن موتور سوخته، قارچهای ریزوسفری، زیست پالایی، آلاله

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۸۳۸۱۰۵۸ ، پست الکترونیکی: fmohsenzade@gmail.com

مقدمه

آلودگی خاک با مشتقات نفتی به ویژه روغن موتور استفاده شده (روغن موتور سوخته) مشکل عمومی و رایج زیست محیطی در اغلب کشورها است (۲۱، ۲۲). روشهای مختلفی برای پاکسازی خاکهای آلوده وجود دارد که عبارتست از: شستشو. جابجایی خاکهای آلوده. استفاده از شوینده‌ها و زیست پالایی (۱۶). زیست پالایی عبارتست از استفاده از گیاهان و میکروارگانیسمها برای حذف تجزیه و یا سم زدایی آلاینده‌های زیست محیطی که روشی کم هزینه و سازگار با محیط زیست است و در سالهای اخیر مورد توجه جدی قرار گرفته است (۹، ۲۱). مطالعات پیشین نشان داده که برخی گیاهان و میکروارگانیسمها نسبت به آلودگی فرآورده های نفتی مقاوم هستند و می توانند هیدروکربنهای نفتی را تجزیه و یا به سایر مواد تبدیل کنند (۱۰). از روش زیست پالایی برای حذف آلودگی خاک با نفت خام (۳۶، ۳۱،۲۹ ، ۴، ۳) روغن موتور (۱۱) و گازوییل (۸) استفاده شده است . با توجه به اینکه در گیاه پالایی خاکهای آلوده به ترکیبات نفتی، تجزیه زیستی ترکیبات توسط قارچهای همزیست ریشه گیاهان

www.SID.ir

Archive of SID

انجام می شود (۲۳، ۲۴، ۱۴) ، سیستم ریشه ای گیاهان نقش مهمی بر عهده دارد. سیستم ریشه ای می تواند با ترشحات ویژه خود مواد لازم جهت رشد میکروارگانیسمها را تامین کند (۱۰، ۱۹) و یا با تغییر شرایط فیزیکی خاک عمل تجزیه را تسهیل نماید (۶).

Merkel و همکاران (۲۱) نشان دادند که برخی از گیاهان مناطق گرمسیری نه تنها نسبت به آلودگی ترکیبات نفتی مقاوم هستند بلکه در خاکهای آلوده به خوبی رشد می کنند و سیستم ریشه ای خود را توسعه می دهند یافته‌های مشابهی در مورد گیاهان مناطق معتدله و سردسیر نیز گزارش شده است (۲۲، ۲۳). همچنین گزارشهای متعددی در دسترس است که نشان می‌دهند برخی از گونه های قارچی می توانند در خاکهای آلوده به مشتقات نفتی به خوبی رشد کنند و در تجزیه زیستی نفت خام (۴، ۲۲، ۲۳). گازوییل (۳ ، ۸) و روغن موتور مصرف شده (۱۱) موثر باشند.

مناطق متعدد زراعی و غیر زراعی در اغلب کشورها وجود دارد که خاک آنها آلوده به ترکیبات و فراورده های نفتی است که آلودگی با روغن موتور سوخته (مصرف شده) یکی از موارد مهم به شمار می رود (۲۲). هدف از پژوهش حاضر بررسی توان زیست پالایی گیاه آلاله *R. arvensis* رویش یافته در خاکهای آلوده به روغن موتور سوخته یک مجتمع تعمیرگاهی واقع در شهرستان همدان و قارچهای همزیست آن در تجزیه زیستی روغن سوخته و حذف این آلاینده زیست محیطی است.

مواد و روشها

جمع آوری گیاه مورد مطالعه: منطقه مورد مطالعه یک مجتمع تعمیرگاهی خودوهای سنگین واقع در شهرستان همدان (استان همدان).است. تعمیرگاه گاراژی واقع در جنوب شهر همدان ابتدای جاده ملایر است که در آن تعمیرات کامیون و اتوبوس انجام می شود و در بخشی از آن آلودگی واضح خاک با روغن موتور تخلیه شده از خودروها دیده می‌شود. در ناحیه آلوده پوشش گیاهی متشکل از چند گونه گیاهی مشاهده شد که گیاه آلاله *R. arvensis* مشخص ترین گیاه رویش یافته در خاکهای آلوده به روغن موتور بود.

جداسازی قارچهای همزیست ریشه: قطعات ریشه گیاه آلاله برداشت و به قطعات یک سانتی متری برش داده شد. قطعات ریشه با آب جاری شستشو داده شد و سپس در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شد تا خشک شوند. قطعات ریشه به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپو کلرید سدیم ۱٪ و سپس به همین مدت در اتانول ۷٪ قرار داده شدند تا میکروارگانیسمهای چسبیده به سطح قطعات ریشه حذف شوند. سپس قطعات ریشه با آب مقطر شستشو داده شد و پس از خشک شدن در پتری دیشهای حاوی محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) دارای لاکتیک اسید قرار داده شدند. پتری دیشها به مدت چهار روز در دمای ۲±۲۵ در انکوباتور نگه داری شدند. بعد از چهار روز کلنی های رشد کرده جداسازی شد و هر کدام به صورت جداگانه و منفرد در محیط کشت PDA کشت داده شد. پس از رشد کلنی های ایزوله شده با استفاده میکروسکپ نوری خصوصیات ریسه و اندامهای زایشی قارچها به دقت مورد مطالعه قرار گرفت و با استفاده از ویژگی های ریختی و صفات تاکسونومیک و همچنین مراجعه به کتابهای مرجع (۱۷، ۳۵) گونه های قارچی مورد شناسایی قرار گرفت.

ارزیابی حذف روغن موتور سوخته: ۴۰ گلدان پلاستیکی با ۵۰ سانتی متر طول و ۴۰ سانتی متر قطر با ۴ کیلوگرم خاک زراعی استریل پر شد. گلدانها به ۱۰ گروه پنج تایی تقسیم شدند. گروه بندی گلدانها به شرح زیر بود:

۱)خاک استریل

۲)خاک استریل همراه با دو بوته گیاه آلاله

www.SID.ir

Archive of SID

۳) خاک استریل + قارچ *Altenaria* sp

۴) خاک استریل + قارچ *Altenaria* sp + *دو بوته گیاه آلاله*

۵) *خاک* استریل + قارچ *Trichoderma harzianum*

۶) خاک استریل + قارچ *Trichoderma harzianum* + دو بوته گیاه آلاله

۷) خاک استریل + قارچ *Fusarium acuminatum*

۸) خاک استریل + قارچ *Fusarium acuminatum* + دو بوته گیاه آلاله

۹) خاک استریل + هر سه قارچ فوق

۱۰) خاک استریل + هر سه قارچ فوق + دو بوته گیاه آلاله

همه گلدانها با ۱۰٪ وزنی روغن موتور سوخته (مصرف شده) خودروها آلوده شدند. همه گلدانها در شرایط یکسان به مدت دو ماه نگهداری شدند که عبارتست از دمای روزانه حدود ۲۷ درجه سانتیگراد. رطوبت ۷۰ ٪ و روشنایی ۱۶ ساعت در روز. نمونه برداری هر ۱۰ روز یکبار از خاک گلدانها از عمق ۵ سانتی متری به مقدار ۱۰ گرم انجام گرفت. نمونه ها در کیسه ای پلاستیکی ریخته شد و در یخچال نگهداری شدند.

اندازه گیری مقدار روغن موتور در خاک: اندازه گیری مقدار روغن موتور باقیمانده در خاک بر اساس روش EPA 9071 A و EPA 3540 B انجام شد (۳۳). مقدار ۵ گرم از خاک هر نمونه با اسید کلریدریک ۱ نرمال اسیدی شد تا pH آن به ۲ رسید وسپس با استفاده از سولفات منیزیم (۵/۲ گرم) به مدت ۱۵ دقیقه آب گیری شد. نمونه خاکها در چند لایه کاغذ صافی بسته بندی شد و در دستگاه سوکسوله قرار داده شدند. استخراج روغن موتور با استفاده از ۲۵ میلی لیتر دی کلرومتان به مدت ۸ ساعت انجام شد. بخش استخراج شده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شد. حلال با استفاده از دستگاه تبخیر کننده روتاری (Rotary evaporator) تبخیر شد و بخش باقیمانده با تراوزی آزمایشگاهی با دقت بالا توزین گردید. درصد روغن موتور باقیمانده با استفاده از وزن روغن باقیمانده نسبت به وزن روغن در ابتدای آزمایش محاسبه گردید.

مطالعات آماری: برای ارزیابی آماری داده های آزمایش و مقایسه گروههای آزمایشی با شاهد از آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. هر داده به صورت میانگین حداقل سه تکرار ± انحراف معیار محاسبه گردید. نمودارها با نرم افزار Excell نسخه ۲۰۱۰ رسم گردید.

نتایج

نتایج جداسازی قارچهای همزیست ریشه: قارچهای ریزوسفری (همزیست ریشه) گیاه آلاله رویش یافته در خاکهای آلوده به روغن موتور جداسازی و بر اساس ویژگیهای ریخت شناختی و کلیدهای تاکسونومی مورد شناسایی قرار گرفتند. حدود چهارده گونه قارچی همزیست ریشه گیاه آلاله جداسازی شد که شناسایی فقط هشت گونه با روشهای متداول (کلیدهای تاکسونومیک) میسر گشت (جدول ۱). گونه های شناسایی شده عبارتند از:

Alternaria alternata, *Cladosporium* sp., *Fusarium acuminatum*, *F. equisetti*, *F.reticulatum*, *Penicillinium* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Trichoderma harzianum*

از ریشه گیاهان آلاله رویش یافته در خاکهای غیر آلوده نیز ۸ گونه قارچی جداسازی شد که فقط ۴ گونه قارچی با استفاده از روشهای متداول تاکسونومیک شناسایی گردید. این گونه ها عبارتند از:

Alternaria alternate, *Penicillinium* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Trichoderma harzianum*

نتایج زیست پالایی: بعد از دو ماه آزمونهای زیست پالایی با استفاده گیاه آلاله و قارچهای همزیست ریشه آن، غلظت

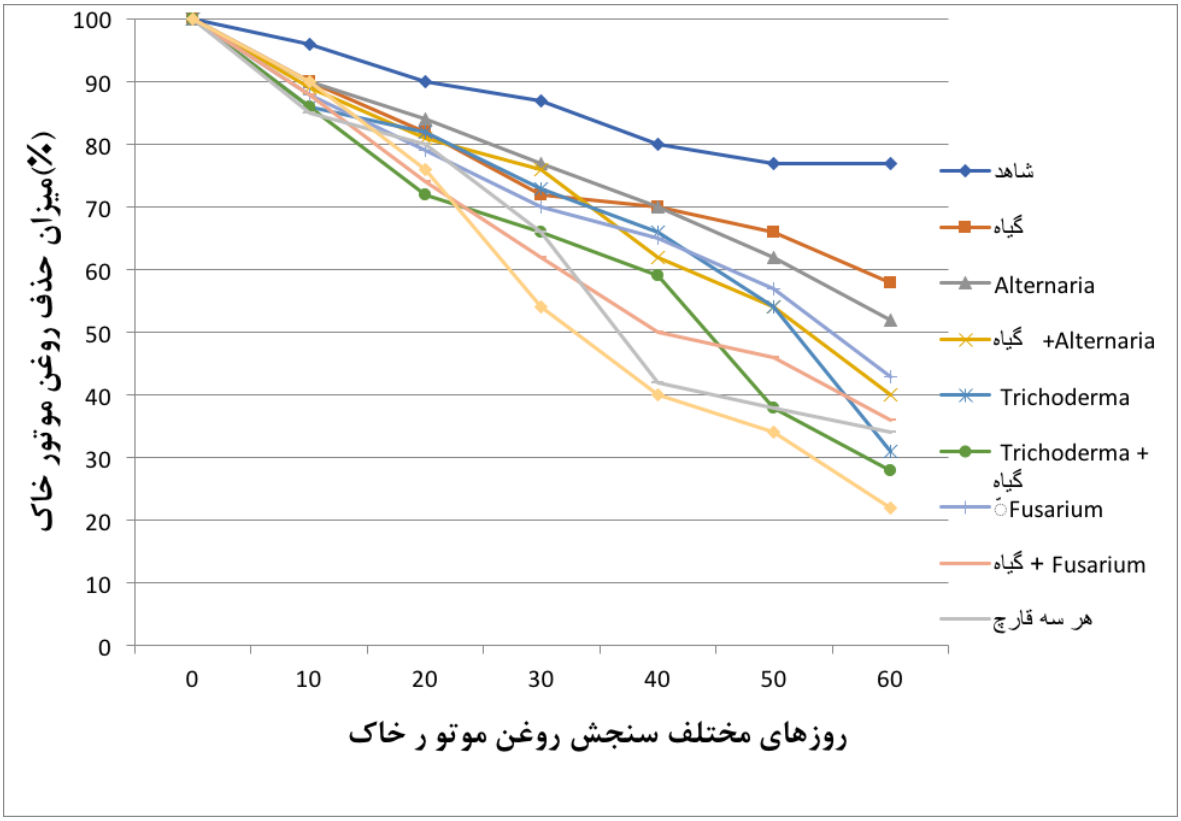
www.SID.ir

Archive of SID

روغن موتور خاک در گلدانهای شاهد و تحت تیمار اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان آلودگی خاک به روغن موتور در طی آزمایش در همه گلدانهای شاهد و تحت تیمار کاهش یافته است اما این کاهش در گلدانهای تحت تیمار بسیار بیشتر بود (شکل ۱).

جدول ۱- مقایسه جمعیتهای قارچی همراه ریشه *Ranunculus arvensis* در خاکهای آلوده به روغن موتور مصرف شده و غیر آلوده

قارچهای ناحیه آلوده	قارچهای ناحیه غیر آلوده
Alternaria alternata, Cladosporium sp., *Fusarium acuminatum, F. equisetti, F.reticulatum, Penicillinium* sp., *Rhizoctonia* sp. , *Trichoderma harzianum* and 6 others	*Alternaria alternate, Penicillinium* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Trichoderma harzianum* and 4 others



شکل ۱- میزان حذف زیستی روغن موتور استفاده شده (بر حسب) از خاکهای آلوده به روغن موتور با استفاده از گیاه آلاله و برخی از قارچهای همزیست ریشه. در ابتدای آزمایش همه گروهها دارای آلودگی با روغن موتور به میزان ۱۰٪ بودند. نتایج نشان داد که آلودگی خاک با روغن موتور با زیست پالایی حذف شده است. بیشترین حذف نتیجه عملکرد کنسرسیوم قارچ- گیاه بوده است (۷۸٪). در همه گروههای تیماری کاهش معنی دار درصد آلودگی با روغن موتور نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P\leq 0.01$). هر داده میانگین حداقل سه تکرار است. به علت جلوگیری از شلوغی بیش از حد شکل انحراف معیار نمودارها حذف شده است.

بیشترین کاهش غلظت روغن موتور خاک مربوط به گروه تیماری گلدانهای دارای گیاه آلاله همراه با هر سه قارچ مورد آزمون بود. این مقدار کاهش در پایان آزمایش ۷۸٪ اندازه گیری شد. نمودار تهیه شده نشان می‌دهد که در ۲۰ روز اول آزمایش روند کاهش مقدار روغن موتور خیلی کند و آرام است (شکل ۱). بیشترین مقدار کاهش مربوط به روزهای ۲۰ الی ۴۰ است. بعد از ۴۰ روز کاهش مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

آلودگی روغن موتور روند کندتری به خود می گیرید اما هنوز چشمگیر و قابل توجه بود (شکل ۱).

در گروههای تیماری گلدانهای حاوی قارچ بیشترین کاهش مقدار روغن موتور سوخته مربوط به دو قارچ *Fusarium acuminatum* و *Trichoderma harzianum* بود که به ترتیب موجب کاهش ۵۷ درصدی و ۶۹ درصدی آلودگی روغن موتور شدند. در مورد گروههای تیماری با قارچ (بدون گیاه) نیز مشاهده شد که روند کاهش در ۲۰ روز اول بسیار کند است اما بعد از ۲۰ روز روند حذف روغن موتور شدت می گیرد. افزایش روند حذف روغن موتور در گروههای تحت تیمار قارچ نسبت به گروه تحت تیمار قارچ همراه با گیاه آهسته تر بود (شکل ۱).

در گروه تحت تیمار گیاه آلاله بدون قارچهای همزیست کاهش آلودگی خاک با روغن موتور مشاهده شد (شکل ۱). در این گروه تیماری روند حذف آلودگی روغن موتور یک روند نسبتا ثابتی بود و از الگوی حذف روغن موتور توسط قارچها پیروی نمی کرد.

بحث

آلودگی با ترکیبات نفتی مشکل عمده زیست محیطی در بسیاری از کشورها است (۲۰). آلودگی با ترکیبات مشتق از نفت موجب اثرات سوء بر سلامت انسان و سایر موجودات زنده است (۲۶). نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی با روغن موتور سوخته تا غلظت ۱۰٪، گیاه مورد پژوهش (آلاله) و قارچهای همزیست ریشه آن را آسیب نمی‌زند. بر اساس گزارشات پیشین، برخی از گیاهان تیره بقولات و گراسها قادرند آلودگی خاک با نفت خام را تا میزان ۵٪ تحمل کنند و در این آلودگی به رشد و نمو خود ادامه دهند (۱۹، ۳۶). یافته‌های پژوهش حاضر تحمل غلظتهای بالاتر آلودگی روغن موتور سوخته (۱۰٪) را نسبت به نفت خام نشان داد که مفهوم آن این است که نفت خام مسمومیت بیشتر و اثرات سوء بیشتری نسبت به روغن موتور سوخته دارد که علت آن می‌تواند پیچیدگی بیشتر ترکیبات شیمیایی مواد تشکیل دهنده نفت خام نسبت به روغن موتور باشد (۱۴). وجود غلظتهای بالای فلزات سنگین در نفت خام یکی دیگر از دلایل احتمالی است (۲۴). کاهش رشد و مسمومیت گیاهان تحت تیمار آلودگی نفتی در برخی از گیاهان گزارش شده است که عبارتند از:*Festuca rubra* و *Puccinellia maritime* (۵)، *Trifolium* (۱۹). همچنین گزارش شده که برخی گراس ها و بقولات کاملا به آلودگی با ترکیبات نفتی مقاوم هستند و در حذف آلودگی نیز موثر می باشند (۲۱، ۳۰).

قارچهای همزیست ریشه گیاه آلاله رویش یافته در خاکهای آلوده به روغن موتور سوخته جمع آوری، جداسازی و با روشهای متداول تاکسونومیک مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در ریزوسفر گیاهان رشد کرده در خاکهای آلوده به روغن موتور سوخته ۱۴ جدایه قارچی وجود دارد که ۸ جدایه آن با کلیدهای تاکسونومیک شناسایی شد که عبارتند از:

Alternaria sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium acuminatum, F. equisetti, F.reticulatum, Penicillinium* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Trichoderma harzianum.*

در حالیکه در ریزوسفر گیاهان آلاله رویش یافته در خاکهای غیر آلوده به روغن موتور فقط ۸ سویه قارچی جداسازی شد و چهار مورد با روشهای تاکسونومیک شناسایی گردید. مفهوم نتایج این پژوهش نشان می دهد که در خاکهای آلوده به روغن موتور غنای گونه های قارچی همزیست ریشه بیشتر از خاکهای غیر آلوده است. این یافته با برخی از پژوهشهای پیشین در مورد سایر ترکیبات نفتی و نفت خام همسویی دارد (۶، ۱۸، ۳۴). گزارش مشابهی در مورد افزایش جمعیت و تنوع باکتریهای بی هوازی در ریزوسفر ریشه آفتاب گردان و جو دوسر و همچنین افزایش جمعیت باکتریهای هوازی در ریزوسفر جو دوسر گزارش شده است (۲) .علت احتمالی ان می تواند استفاده قارچها از مواد آلی موجود در روغن موتور به عنوان مواد

www.SID.ir

Archive of SID

غذایی ومنبع کربن باشد (۲۴) و یا دخالت قارچهای ریزوسفری در کاهش تنش آلودگی خاک با روغن موتور باشد که مورد اخیر در مورد سایر آلاینده ها ازجمله فلزات سنگین نیز گزارشات مشابهی در دست است (۷). افزایش تنوع در قارچهای ریزوسفری و همچنین میزان رشد قارچها در محیطهای آلوده با ترکیبات نفتی و نفت خام گزارش شده است (۱۳، ۱۲، ۲۳، ۲۷، ۲۴). بررسیهای چندی نیز نشان داده افزایش قارچهای ریزوسفری در گیاهان یک مکانیسم تدافعی و مقاوت به تنشهای محیطی از جمله تنش شوری است (۱)

بعد از دو ماه آزمونهای زیست پالایی با استفاده از گیاه آلاله و قارچهای همزیست ریشه آن، غلظت روغن موتور خاک در گلدانهای شاهد و تحت تیمار اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان آلودگی خاک به روغن موتور در طی آزمایش در همه گلدانهای شاهد و تحت تیمار کاهش یافته است اما این کاهش در گلدانهای تحت تیمار بسیار بیشتر بود (شکل ۱). کاهش میزان روغن موتور سوخته در خاک گلدانهای شاهد را می توان نتیجه تبخیر مواد تشکیل دهنده روغن موتور خام در نظر گرفت که در مطالعات پیشین نیز به آن اشاره شده است (۲۲، ۲۳). با توجه به اینکه کاهش آلودگی با روغن موتور سوخته به طور معنی داری ($P\leq0.05$) در گروههای تیماری از گروه شاهد بیشتر است می توان نتیجه گیری کرد که فرایند زیست پالایی با استفاده از گروههای تیماری، در پژوهش حاضر موفق عمل کرده است.

بیشترین کاهش غلظت روغن موتور خاک مربوط به گروه تیماری گلدانهای دارای گیاه آلاله همراه با هر سه قارچ مورد آزمون بود. این مقدار کاهش در پایان آزمایش ۷۸٪ اندازه گیری شد. نمودار تهیه شده نشان می دهد که در ۲۰ روز اول آزمایش روند کاهش مقدار روغن موتور خیلی کند و آرام است (شکل ۱). بیشترین مقدار کاهش مربوط به روزهای ۲۰ الی ۴۰ است. بعد از ۴۰ روز کاهش مقدار آلودگی روغن موتور روند کندتری به خود می گیرد اما هنوز چشمگیر و قابل توجه است (شکل ۱). می توان علت این پدیده را مربوط به روند رشد میکروارگانیسمها دانست (۲۴، ۳۴). به این معنی که که در بیست روز اول قارچهای ریزوسفری در حال رشد و تکثیر هستند و به همین دلیل کارایی کمی در تجزیه زیستی و زیست پالایی روغن موتور سوخته دارند. پس از آن تجزیه زیستی و زیست پالایی شتاب می گیرد و پس از مدتی به این علت که رشد قارچها کاهش می یابد و جمعیت آنها در محیط به حالت حداکثری در می آید فرایند تجزیه زیستی و زیست پالایی با سرعت تقریبا ثابتی ادامه می یابد (شکل ۱).

در گروههای تیماری حاوی قارچ بیشترین کاهش به دو قارچ *Fusarium equisetti* و *Trichoderma harziana* بود که به ترتیب موجب کاهش ۶۹ درصدی و ۵۷ درصدی آلودگی روغن موتور شدند. در مورد گروههای تیماری با قارچ (بدون گیاه) نیز مشاهده شد که روند کاهش در ۲۰ روز اول بسیار کند است اما بعد از ۲۰ روز روند حذف روغن موتور شدت می‌گیرد. افزایش روند حذف روغن موتور در گروههای تحت تیمار قارچ نسبت به گروه تحت تیمار قارچ همراه با گیاه آهسته تر بود (شکل ۱). علت این پدیده را می توان نقش هم افزایی میانکنش گیاه – میکروارگانیسم در فرایند تجزیه زیستی ترکیبات موجود در روغن موتور سوخته دانست (۲۱، ۱۱). به این معنی که گیاه، مواد غذایی لازم برای رشد قارچها و ترکیبات محرک رشد آنها را ترشح می کند (۲۱، ۳۱). از طرف دیگر سیستم ریشه ای گیاه با تسهیل هوارسانی به خاک اکسید شدن ترکیبات فوق توسط قارچها را افزایش می‌دهد (۲۲). اما عمل اصلی تجزیه بر عهده قارچها است.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر و گزارشات پیشین می‌توان گفت زیست پالایی ترکیبات با پایه نفتی، علاوه بر باکتریها (۱۰) به طور عمده نتیجه تجزیه زیستی توسط ریزوسفر گیاهان است و قارچهای موجود در ریزوسفر گیاهان یکی

www.SID.ir

Archive of SID

از مهمترین عوامل به شمار می روند (۱۴و ۲۸). نتایج این پژوهش نشان می دهد که قارچهای مورد مطالعه قادر به تجزیه زیستی و حذف روغن موتور سوخته از خاک هستند و بیشترین راندمان مربوط به قارچ *Trichoderma* می باشد (۵۷٪ کاهش آلودگی) و نتایج همچنین نشان داد گیاه آلاله نیز قادر به حذف روغن موتور سوخته است و راندمان کاهش آلودگی خاک طی دو ماه آزمایش زیست پالایی ۴۲ درصد است. بر اساس داده های حاصله، در این پژوهش، استفاده توام از گیاه آلاله همراه با قارچهای ریزوسفری موجب بالاترین راندمان حذف روغن موتور سوخته (۷۸ درصد) از خاک شد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با استفاده از گرنت پژوهشی ارایه شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است و نویسندگان از حمایتهای مالی و امکانات فراهم شده توسط این معاونت محترم تشکر می نمایند.

منابع

۱- حاجی بلند، ر. ، دشتبانی، ف. ، اصغر زاده، ن. ع. (۱۳۹۶). جوانه‌زنی، فتوسنتز و رشد دو گونه هالوفیت پوکسنلیا دیستانس و آلوروپوس لیتورالیس تحت شرایط شوری و همزیستی آن‌ها با قارچ‌های میکوریز آربوسکول‌دار در شرایط طبیعی زیستگاه در دشت تبریز. مجله پژوهشهای گیاهی، جلد ۳۰ (۴): ۷۷۵-۷۶۴.

۱-کیارستمی، خ. ، غفاری رهبر، ف. ، روانبخش، ش. (۱۳۹۲). مطالعه رشد و واکنش دفاعی ریشه گیاهان در خاکهای آلوده به نفت. مجله پژوهشهای گیاهی، جلد ۲۶ (۴): ۵۰۹-۵۰۰.

۳-محسن زاده. ف. (۱۳۹۶). بررسی قابلیت تجزیه زیستی برخی از فراورده های نفتی توسط باکتری های بومی ریزوسفر گیاهان. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی. جلد ۳۰ (۱): ۱۳۶-۱۵۲.

۴-محسن زاده. ف. ظفری. د. نوری صفا. ب. (۱۳۹۵). سازش پذیری برخی از گونه های قارچ تریکودرما (*Trichoderma*) به آلودگی نفتی. مجله پژوهشهای سلولی و ملکولی. جلد ۲۹ (۳): ۳۳۰-۳۲۱.

5-Alrumman, S.A, Standing, D.B. and Paton, G.I. 2015. Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. *J. King Saud Univ. Sci*. 27: 31-41.

6-Anderson, T.A., E.A. Guthrie, and B.T. Walton. 1993. Bioremediation in the rhizosphere-plant roots and associated microbes clean contaminated soils. *Environmental Science and Technology* 27: 2630-2636.

7-Baker, J.M. 1999. The effect of oils on plants. *Environmental Pollution* 1: 27-44.

8-Chaineau, C.H., J.L. More, and J. Oudot. 2000. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Journal of Environmental Quality* 29: 568-578

9-Chehregani, A., F. Mohsenzadeh, F. Vaezi. 2008. Introducing a new metal accumulator plant and the evaluation of its ability in removing heavy metals. *Toxicological and Environmental Chemistry* 91: 1105-1114

10-Cunningham, S.D., T.A. Anderson, P.A. Schwab, and F.C. Hsu. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advanced Agronomy* 56: 44-114

11-Dominguez-Rosado, E., and J. Pichtel. 2004. Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil: II. Greenhouse studies. *Environmental Engineering Science* 21: 169-180

12-Dritsa V, F. Rigas, K. Natsis, and R. Marchant. 2007. Characterization of a fungal strain isolated from a polyphenol polluted site. *Bioresource Technology* 98: 1741–1747

13-Eggen, T., A. Majcherczyk. 1998. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biodeterioration and Biodegradation* 4: 111-l 17

14-Frick, C.M., R.E. Farrell, and J.J. Germida. 1999. "Assessment of phytoremediation as an *in-situ* technique for cleaning oil-contaminated sites". Petroleum Technology Alliance Canada, Calgary.

15-Friedrich, J., P. Zalar, M. Mohorcic, U. Klun, and A. Krzan. 2007. Ability of fungi to degrade synthetic polymer nylon-6. *Chemosphere* 67: 2089–2095

16-Garcia, M.A., L.Y. Yanez-Trujillo, J.A. Zermeno-Eguia Liz, and M. Gutierrez-Rojas.

www.SID.ir

Archive of SID

2000. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. *Water Science and Technology* 42: 377-384

17-Gilman, J.C. 1998. "A manual of soil fungi". Daya Publishing House. USA.

18-Hashem, A.R. 2007. Bioremediation of petroleum contaminated soils in the Arabian Gulf region: A review. *Journal of Kuwait Science* 19: 81-91

19-James, G.S., and K.A. Karuna. 2012. "Bioremediation of Petroleum and Petroleum Products". Wiley. USA.

20-Klokk, M. 1984. Effects of oil pollution on the germination and vegetative growth of five species of vascular plant. *Oil and Petrochemical Pollution* 2: 25-30

21-Merkel, N., R. Schultze-Kraft, and C. Infante. 2004b. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils in the tropics- Preselection of plant species from eastern Venezuela. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 78: 185-192

22-Mohsenzade, F., S. Nasseri, A. Mesdaghinia, R. Nabizadeh, D. Zafari, and A. Chehregani. 2009a. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: pre-screening for suitable plants and rhizospheral fungi. *Toxicological and Environmental Chemistry* 91: 1105-1114

23-Mohsenzadeh, F., S. Naseri, A. Mesdaghinia, R. Nabizadeh, A. Chehregani, and D. Zafari. 2009b. Identification of petroleum resistant plants and rhizospheral fungi for phytoremediation of petroleum contaminated soils. *Journal of Japan Petroleum Institute* 52: 198-204

24-Mohsenzadeh, F., and Z. Shirkhani. 2016. Removing of crude oil from polluted areas using the isolated fungi from Tehran oil refinery. *Soil and Sediment Contamination* (Online published).

25-Nelson, P.E., T.A. Tousooun, and W.F.O. Marasas. 1983. "*Fusarium* species: An Illustrated manual for identification". The Pennsylvania State University Press. USA.

26-Nicolotti, G., and S. Egli. 1998. Soil contamination by crude oil: impact on the mycorhizosphere and on the revegetation potential of forest trees. *Environmental Pollution* 99: 37-43

27-Obuekwe, C.O., A.M. Badrudeen, E. Al-Saleh, and JL. Mulder. 2005. Growth and hydrocarbon degradation by three desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress, *International Journal of Biodeterioration and Biodegredation* 56: 197-206

28-Orji, F.A., A.a. Iblene, and E.N. Dike. 2012. Laboratory scale bioremediation of petroleum hydrocarbon- polluted mangrove swamps in the Niger Delta using cow dung. *Malaysian Journal of Microbiology* 8: 219-228.

29-Radwan, S.S., H. Al-Awadhi, N.A. Sorkhoh, and I.M. El-Nemer. 1998. Rhizospheric hydrocarbon-utilizing microorganisms as potential contributors to phytoremediation for the oily Kuwait desert. *Microbiological Research* 153: 247-251

30-Schroder, P., P.J. Harve, and J.P. Schwitzguebel. 2002. Prospects for the phytoremediation of organic pollutants in Europe. *Environmental Science and Pollution Research* 9: 1-3

31-Thapa, B., K.C. Ajay-Kumar, and A. Ghimire. 2012. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contamiants in soil. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology* 8: 164-170.

32-Ulfig, K., G. Płaza, A. Worsztynowicz, T. Manko, A.J. Tien, and R.L. Brigmon. 2003. Keratinolytic fungi as indicators of hydrocarbon contamination and bioremediation progress in a petroleum refinery. *Polish Journal of Environmental Studies* 12: 245-250

33-US EPA. 1994. United States Environmental Protection Agency Quality Assurance Management Staff, Washington, DC 20460.

34-Usman, D.H., A.M. Ibrahim, S. and Abdullahi. 2012. Potencials of bacterial isolates in bioremediation of petroleum refinary wastewater. *Journal of Applied phytotechnology in Environmetal Sanitation* 1: 131-138.

35-Watanabe, T. 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphology and key to species.2nd Ed. CRC Press

36-Wiltse, C.C., W.L. Rooney, Z. Chen, A.P. Schwab, and M.K. Banks. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *Journal of Environmental Quality* 27: 169-173.

www.SID.ir

Archive of SID

Bioremediation of used engine-oil polluted soils with *Ranunculus arvensis* L. plant and its root associated fungi

Mohsenzadeh F. and Khodabandelou S.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Pollution of soils with used-engine oil is a common problem in both developmental and industrial countries. Previous researches showed that some resistant plants and their root associated fungal strains can grow in petroleum and its derivate polluted soils. Bioremediation of engine oil contamination of soils is based on the stimulation of petroleum hydrocarbon-degrading fungal and microbial communities. *Ranunculus arvensis* L. (Ranunculaceae) is one of these that collected from an industrial garage in Hamedan. Root-associated fungi of the plant were determined, showing the presence of 16 species of which 8 were determined taxonomically. Eight fungal strains were also found in non-polluted soils that four ones were determined taxonomically. Bioremediation tests with *R. arvensis*, with and without the fungal strains, showed that joint application of the plant and its root associated fungal strains was more effective than of the plant and the fungi separately. The most effective fungal strains were *Fusarium acuminatum* and *Trichoderma harizana* with removing 57 and 69% decreasing respectively. Based on the results, the fungal strains had the main role in bioremediation of engine oil-polluted soils.

Key words: Used engine oil, Rhizospheral fungi, Bioremediation, *Ranunculus arvensis*

www.SID.ir