محیط شناسی، سال سی و ششم، شمارهٔ ۵۳ بهار ۸۹، صفحهٔ ۷۹-۸۸

گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به " فنانترن" با استفاده از گیاه سورگوم

چکیده

مطالعات انجام شده در حوزه‌های مختلف مناطق نفت‌خیز نشان داد که ترکیب "فنانترن" از خانوادهٔ هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای(PAHs) آلاینده غالب در اغلب مناطق اطراف تأسیسات نفت و گاز است. در این کار تحقیقاتی به مطالعه نقش گیاه سورگوم *(Sorghum vulgare (Pers. Sudanense* در حذف آلاینده فوق با روش گیاه‌پالایی پرداخته شده است. پس از تیماربندی بر اساس طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و کشت گیاه انتخابی در محیط گلخانه با شرایط مشابه منطقهٔ مورد نظر، روند تغییرات غلظت آلاینده در خاک در مدت ۱۶ هفته (دورهٔ رشد کامل گیاه) دنبال شد. به منظور بررسی تأثیر آلاینده بر فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه، ابتدا میزان کلروفیل و بیوماس تولیدی و سپس برای تعیین ریسک اکولوژیکی روش، میزان تجمع آلاینده مذکور در گیاه و خاک مطالعه شد. اندازه‌گیری غلظت آلاینده توسط دستگاه HPLC ،میزان کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که گیاه مذکور میزان حذف آلاینده در خاک را در شرایط اعمال شده تا ۲۰ درصد افزایش داده است.تحلیل آماری و مقایسهٔ میانگین داده‌ها، اختلاف معنی‌دار در عملکرد تیمارهای گیاهی و فاقد گیاه را تأیید کرد($P< ۰/۰۵$). در عین حال ثابت شد که آلاینده در ناحیه ریزوسفر گیاه تجزیه و به اندام‌های هوایی منتقل نشده است. به‌علاوه فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه، نظیر میزان بیوسنتز کلروفیل و بیوماس تولیدی تأثیر چندانی نداشته و نهایتاً در زنجیرهٔ غذایی نیز وارد نمی‌شود.

کلیدواژه

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای، گیاه پالایی، جذب، خاک آلوده، تجمع، فنانترن

سرآغاز

وجود خاک و آب آلوده به مواد نفتی یکی از مشکلات متداول در نواحی اطراف سایت‌های نفتی و پالایشگاهها‌ست و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای [1](PAHs) یکی از انواع مشتقات نفتی ناشی از سوختن ذغال‌سنگ، نفت کوره و غیره هستند (گیتی‌پور و همکاران،۱۳۸۳). با توجه به این‌که انواع هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک، نظیر فنانترن، نفتالین، فلورانتن و بنزوآلفاپایرن از سمی‌ترین مواد شناخته شده برای محیط زیست هستند، بنابراین حذف آنها از خاک و آبهای آلوده ضروری است. (Milton,1981; Bjorrseth,1983; Casrett and Daull's,1995) تحقیقات بیشماری بر روی خاکهای آلوده و به منظور یافتن روش‌هایی برای حذف آلاینده‌های PAHs در خاک انجام گرفته است. (Kipopoulou,et.al., 1999; Joner, 2003 ; Gao, and Zhu,2003). امروزه روش‌های متداول زیادی برای تصفیه و پاکسازی محیطهای آبی و خاکی آلوده به ترکیبات سمی مورد استفاده قرار می‌گیرد، با وجود این آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا، مناسب‌ترین و اقتصادی‌ترین روش برای پاکسازی خاکهای آلوده را "روش تصفیه در جا" معرفی کرده است. (Mattney Cole., 1994). استفاده از روش‌های بیولوژیک و از جمله "گیاه‌پالایی" یعنی استفاده از گیاهان برای پاکسازی زمین‌های آلوده، به عنوان گزینه‌هایی که از لحاظ اقتصادی نیز مقبول‌اند، مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان رویکردی جدید در پاکسازی خاک و آبهای آلوده مطرح شده است. هدف نهایی از کاشت گیاهان در زمین‌های آلوده به PAHs، استفاده از توانایی طبیعی آنها برای جذب، تجمع، تجزیه و حذف این ترکیبات است. در چند سال گذشته نیز، گزارش‌هایی مبنی بر اصلاح و بهبود خاکهای حاوی PAHs در حضور گیاهان ارائه شده است. (Aprill and Sims,1990; Binet et al., 2000; Joner,

نویسنده مسئول:تلفن: ۰۹۱۲۲۷۷۰۹۳۹

E-mail: alaiee@ripi.ir

2003; Mattina, et al.,2003 (. شایان ذکر است که در صورت بالا بودن غلظت ترکیبات سمی، مرحلهٔ پیش‌تصفیه، و یا حذف اولیه با روش‌های مختلف شیمیایی و فیزیکی به منظور مهیا ساختن شرایط برای مبارزه بیولوژیک، ضروری است. برای رسیدن به بیشترین مقدار کاهش در غلظت آلاینده‌ها و ایجاد پوشش گیاهی پایدار و مقاوم، گیاهان باید با دقت زیاد و به‌گونه‌ای انتخاب شوند که از سطح ریشه‌ای مناسب برخوردار باشند، حتی‌المقدور از گیاهان بومی بوده و نسبت به شرایط خاک منطقه سازگار باشند. نشان داده شده است که گونه‌های گراس، نظیر گیاه سورگوم که از خانواده گندمیان است توانایی رشد و سازش با شرایط اقلیمی مختلف، نظیر آب و هوای گرم و خشک و اقلیم‌های معتدل را داشته و گیاهان این خانواده توانایی حذف آلاینده‌های آلی ناشی از ترکیبات نفتی را به خوبی دارا هستند. (Aprill and Sims, 1990; Lee, 1996; Banks, 1999;Mc Catcheon et al.,2003)

پژوهش حاضر به منظور بررسی عملکرد گیاه سورگوم، *(Sorghum vulgare Pers. Sudanense)*، در کاهش آلایندگی فنانترن، به عنوان آلایندهٔ غالب در خاک اطراف سایت‌های نفت وگاز و همچنین بررسی نحوهٔ تجمع آلاینده در گیاه در شرایط گلخانه‌ای که در آن دما، رطوبت و سایر عوامل اقلیمی مشابه شرایط منطقه مورد مطالعه ایجاد شد، انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونهٔ خاک کشاورزی مورد استفاده با روش‌های استاندارد و به شرح زیر مورد تجزیه فیزیکی و شیمیایی قرار گرفت:

تعیین pH و EC در عصاره اشباع، تعیین عناصر ریزمغذی به روش ASTM E885، اندازه‌گیری عناصر ماکرو مطابق دستورالعمل موجود در AOAC (۱۹۹۰)، روش کوره برای تعیین کربن آلی و روش بایکاس برای تعیین قطر ذرات و ظرفیت زراعی خاک استفاده شد. فنانترن با خلوص ۹۸٪ محصول شرکت Aldrich به عنوان آلاینده مورد استفاده قرار گرفت. بررسی‌ها نشان داده که دامنهٔ غلظت آلاینده در منطقهٔ مورد مطالعه بین ۱۷-۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر است، بنابراین آلاینده فنانترن در ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک با خاک مذکور مخلوط شد. مشخصات فنانترن مورد استفاده در جدول شمارهٔ (۱) نشان داده شده است.

جدول شمارهٔ (۱): مشخصات فنانترن

نام	تعداد حلقه‌ها	وزن مولکولی (g)	وزن مخصوص (g/l)	نقطه ذوب (^{O}C)	حلالیت درآب ^{O}C۲۵ (mg/lit)	$LogK_{ow}$
فنانترن	۳	۱۷۸/۲	۱/۱۷	۱۰۱	۱/۲۹	۴/۴۶

نمونه‌های خاک پس از قرار گرفتن در معرض آلاینده (فنانترن) در بلوک‌هایی با گنجایش ۳۰ کیلوگرم توزیع شدند. توزیع یکنواخت فنانترن در خاک با استفاده ازحلال دی‌کلرومتان و به این ترتیب صورت گرفت که نمونه‌های خاک پس ازخشک شدن در معرض هوا، از الک با مش۲۴(۰/۷۰۷ mm) عبور داده شدند. حدود ۱۰٪ وزن خاک مورد استفاده با محلول فنانترن در دی‌کلرومتان آغشته شده و پس از تبخیر دی‌کلرومتان، خاک آغشته به فنانترن با باقیماندهٔ خاک غیرآلوده مخلوط و همگن شد. برای اطمینان از یکنواختی آلاینده در تیمارهای مورد بررسی، خاک حاصل مجدداً از الک با مش ۲۴ عبور داده شد (Wang and Jones,1994). در این بررسی تأثیر مشخصه‌های مختلف نظیر وجود، یا عدم وجود پوشش گیاهی، غلظت‌های مختلف از آلاینده و زمان، بر اساس طرح آماری بلوک‌های کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات انجام گرفته نشان داد که گونه‌های مختلف گراس در حذف آلاینده‌های PAHs از خاک مؤثر بوده و برای این منظور بذرهای سورگوم گونهٔ *(Sorghum vulgare Pers. Sudanense)* که در اقلیم‌های مختلف قابل کشت است، در پلات‌های پلی‌اتیلنی به ابعاد ۴۶×۱۱۰ سانتیمتر و با لایه‌ای از فویل آلومینیوم پوشش داده شده بود و در عمق ۴-۵ سانتیمتری از سطح کاشته شدند. تیماربندی‌ها عبارت بودند از:

۱)نمونه‌های کنترل کاشته شده در خاک غیر آلوده (کنترل)؛

۲) نمونه‌های کنترل خاک آلوده بدون گیاه $_{۱،۲،۳}$ (خاک کشت نشده) به ترتیب با ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم؛

۳)نمونه‌های خاک آلوده کاشته شده $_{۱،۲،۳}$ (خاک کشت شده) به ترتیب با ۳ غلظت ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم. پلات‌های کاشته شده در فواصل زمانی مناسب در گلخانه جابه‌جا شده و به طور مرتب و با دقت با مقدار ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک، آبیاری شده و در مواقع لزوم به‌وسیلهٔ محلول‌های حاوی مواد معدنی کوددهی شدند. محدودهٔ دما و رطوبت در محیط گلخانه به ترتیب ^{O}C۴۰- ۲۰ و ۶۵-۳۰٪ بوده و آزمایش‌ها در فاصلهٔ اردیبهشت لغایت شهریور ۱۳۸۶ انجام

گرفت، بنابراین سیستم سرمایشی فراهم و در مواقع لزوم از نور مصنوعی برای تأمین روشنایی گلخانه استفاده شد. نمونه‌برداری و آنالیز نمونه‌های خاک در فواصل زمانی مشخص انجام گرفت. به منظور تعیین غلظت آلاینده در زمان‌های مختلف، لازم بود این ترکیب از نمونه‌های خاک استخراج شود. برای استخراج فنانترن، خاک تیمارهای کنترل فاقد گیاه و تیمارهای کاشته شده به‌دقت جمع‌آوری و همگن گشته و پس از ساییده شدن در هاون، از الک استاندارد با مش ۲۴ عبور داده شدند. سپس نمونه‌ها برای حذف رطوبت با سولفات سدیم بدون آب مخلوط شدند و به‌وسیلهٔ امواج اولتراسونیک و با استفاده از حلال دی‌کلرومتان استخراج شدند. این عمل ۳ بار تکرار شد و سپس مجموعهٔ فاز مایع حاوی PAHs از ستون سیلیکاژل و آلومینا توسط مخلوط۱:۱حلال‌های پنتان و دی‌کلرومتان 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 ناحیهٔ ریزوسفر به کمک مقادیر ضریب توزیع اکتانل به آب (K_{ow}) آنها، که یکی از ویژگی‌های این ترکیبات و نشان دهندهٔ حلالیت آنها در آب است، تعیین می‌شود. حضور و تجمع این ترکیبات در ریشه به‌طورمستقیم با مقدار K_{ow} وبه طور معکوس با حلالیت آنها مربوط می‌شود. به عنوان قانونی کلی، ترکیباتی با ضریب توزیع بیش از ۳، توسط ترکیبات سازندهٔ غشای سلولی گیاه بشدت جذب شده و این کار مانع جابه‌جایی آنها در گیاه شده و ترجیحاً در ناحیهٔ ریشه‌ای باقی می‌مانند (Dzantor, 2000). به نظر می‌رسد که امکان حرکت و انتقال فنانترن با ضریب توزیع اکتانل به آب ۴/۴۶، پس از ورود به بافت ریشه، در سایر اندام‌های گیاه نظیر ساقه و برگ بسیار اندک است. بنابراین تجمع آلاینده فنانترن در بافت ریشهٔ گیاه و در مراحل نهایی رشد، بررسی شد. به این ترتیب که نمونه‌های ریشه در دستگاه خشک‌کن انجمادی[۲] در دمای ۵۲- ^{o}C به مدت ۸ ساعت قرار گرفته و خشک شدند؛ سپس در هاون ساییده شده و مقدار مشخصی از آنها با مخلوط ۱:۱ از استن و هگزان توسط اولتراسونیک و به مدت یک ساعت استخراج شدند و به‌دنبال آن فاز حلال جدا شد (Gao and Zhu , 2004). این عملیات ۳ بار تکرار شده و سپس مراحل پاکسازی، مطابق نمونه‌های خاک انجام گرفت. میزان آلاینده در نمونه‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا[۳] (HPLC) تعیین مقدار گشته و برای این منظور فاز مایع حاصل از مرحله قبل در حمام روتاری تبخیر و تعویض حلال مصرفی با استونیتریل صورت گرفته و آماده تزریق و آنالیز توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا با مشخصات ذیل شد. (جدول شمارهٔ ۲).

جدول شمارهٔ (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)

میزان کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج Minolta مدل SPAD-502 تعیین شد. برای این منظور مقدار متوسط سه اندازه‌گیری برای هر بوته قرائت شده و این عمل در هر بلوک برای پنج بوته مجزا و در چهار مرحله زمانی در هفته‌های هشتم، نهم، دهم و دوازدهم انجام گرفت. میزان بیوماس تولیدی در اواخر دورهٔ کشت که رشد گیاه کامل شده بود در دو مرحله در هفته‌های دوازدهم و شانزدهم تعیین شد. (وکیلی و همکاران، ۱۳۸۳) مقدار حذف فنانترن(بر حسب میلی‌گرم به ازای هر بلوک کاشته شده) و همچنین درصد حذف در خاکهای فاقد گیاه و کاشته شده با استفاده از روش‌های استاندارد توصیه شده محاسبه شد (Gao and Zhu, 2003). در نهایت داده‌های به دست آمده به وسیلهٔ تست‌های مقایسهٔ میانگین نمونه‌های مستقل(T-Test) ، آنالیز واریانس و با استفاده از برنامه آماری SPSS مورد تحلیل قرارشدند.

نتایج

خاک مورد استفاده در گلخانه از منطقهٔ مجاور ناحیهٔ آلوده (در تأسیسات نفتی ری) با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مشابه با ناحیه آلوده انتخاب شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تغذیه‌ای خاک منطقه و خاک مورد استفاده در گلخانه در جدول شمارهٔ (۳) به‌نمایش گذاشته شده است. پس از آلوده کردن خاک با فنانترن، نمونه‌های خاک تحت عملیات استخراج و آنالیز قرار گرفته و غلظت آلاینده در زمان و تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. قابل ذکر است که متوسط بازیابی آلاینده ازخاک با این روش ۹۰٪ (n =۳ , RSD =۱/۳۴۰۵) ومیزان بازیافت ستون، ۹۷٪ (n = ۵ ,RSD =۰/۵۶۶) بود. مقدار متوسط فنانترن اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف (کاشته شده، فاقد گیاه و شاهد) درفواصل زمانی مشخص در جدول شمارهٔ (۴) نشان داده شده است.

جدول شمارهٔ(۳): مشخصات فیزیکوشیمایی خاک منطقه وخاک مورد استفاده

خاک گلخانه	خاک منطقه	ویژگی	خاک گلخانه	خاک منطقه	ویژگی
۸ /۱۲	۸ /۰۷	pH	لوم	لوم	بافت خاک
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	(٪) سیلت
۱۴	۱۲	Fe (ppm)	۱۲/۷۵	۱۲/۳۷	(٪)کربن آلی
۱۵	۱۶	Mg (ppm)	۰/۱۲	۰/۱۱	(٪)ازت کل
۷۹ (ppb)	۱۵ (ppm)	فنانترن	۱/۳۷۵	۱/۴	دانسیته ($g.cm^3$)
			۰/۲۶۱۵	۰/۲۶۱۱	ظرفیت مزرعه ای (cm^3water/cm^3soil)

جدول شمارهٔ (۴): مقادیر متوسط غلظت فنانترن درتیمارو زمان‌های مختلف (ppm)

تیمار 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 معیار

Cont: کنترل(خاک بلانک به همراه گیاه)

$Unp_{1,2,3}$: خاک آلودهٔ فاقد گیاه با غلظت‌های به ترتیب ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک

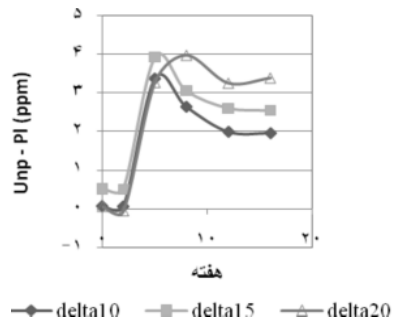
$pl_{1,2,3}$: خاک آلوده کاشته شده با غلظت های به ترتیب ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک

نتایج نشان می‌دهد که در چهار هفتهٔ اوّل بعد از کاشت گیاه تفاوت محسوسی در عملکرد تیمارهای کاشته شده و فاقد گیاه وجود ندارد، درصورتی‌که از هفتهٔ پنجم به بعد کاهش محسوسی در غلظت فنانترن خاک در تیمارهای کاشته شده در مقایسه با خاک فاقد گیاه ایجاد می‌شود. (شکل شماره ۱).

مقادیر مربوط به کاهش غلظت آلاینده در خاک، در جدول شمارهٔ (۵) نشان داده شده است. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که در پایان دورهٔ کشت، میزان غلظت آلاینده در تیمارهای کاشته شده تقریباً مشابه با نمونه‌های شاهد است. (شکل شمارهٔ ۲).

شکل شمارهٔ(۳) میزان تجمع فنانترن در بافت ریشه در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد.

به دلیل محدودیت دسترسی به بافت ریشه، عمل برداشت در مراحل انتهایی تحقیق یعنی هفته‌های دوازدهم و شانزدهم انجام شد. همچنین نتایج مندرج در جدول شمارهٔ (۶)، مقادیر تجمع در ریشه و حذف بیولوژیک، با تأکید بر فرایند "تجزیهٔ گیاهی" ساز وکار غالب در حذف آلاینده را نشان می‌دهد.

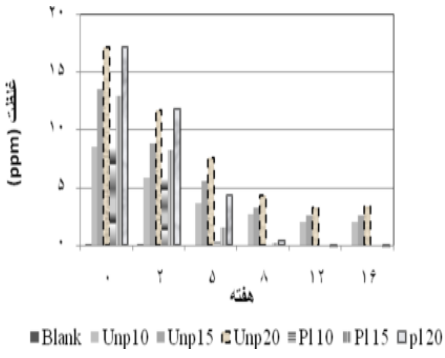


شکل شمارهٔ (۱): تغییر غلظت آلاینده در تیمارهای مختلف

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

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

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



شکل شمارهٔ (۲): مقایسه غلظت آلاینده در خاک تیمارهای 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

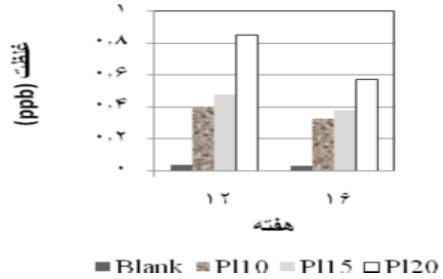
Unp20 : تیمار کشت نشده در غلظت ppm ۲۰ از آلاینده

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 شمارهٔ (۴) محتوی کلروفیل در غلظت‌های مختلف آلاینده در تیمار کاشته شده و در مقایسه با شاهد در زمان‌های مختلف را نمایش می‌دهد. علاوه بر این مقدار بیوماس کل که از جمله مشخصه‌های فیزیولوژیک گیاهی محسوب می‌شود، در شکل شمارهٔ (۵) نشان داده شده است.



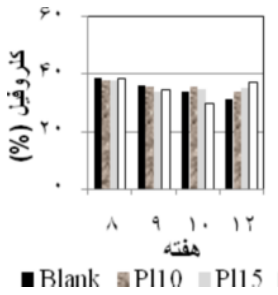
شکل شمارهٔ (۳): تجمع فنا نترن در ریشه

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



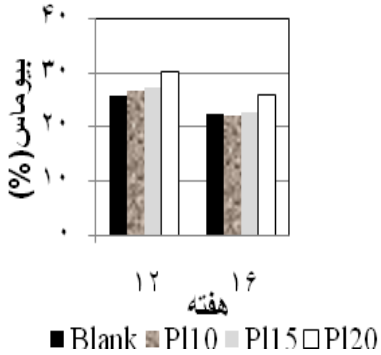
شکل شمارهٔ (۴): محتوی کلروفیل در غلظت های مختلف

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 شمارهٔ (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 شمارهٔ (۵): مقدار حذف فنا نترن ($mg.plot^{-1}$) **درخاکهای موردبررسی پس از ۱۶ هفته**

غلظت	مقدار حذف در تیمارهای خاک آلوده($mg.plot^{-1}$)	مقدار حذف در تیمارهای کاشته شده ($mg.\ plot^{-1}$)	نسبت کاهش در تیمار کاشته شده به تیمار فاقد گیاه	درصد حذف در تیمار فاقد گیاه	درصد حذف در تیمار کاشته شده
۱۰ppm	۱۹۵/۹	۲۵۲/۳	۱/۲۹	۷۶/۸	۹۹/۸۶
۱۵ppm	۳۲۸/۲	۳۸۹/۰	۱/۲۰	۸۱/۰	۹۹/۸۹
۲۰ppm	۴۱۳/۴	۵۱۳/۲۱	۱/۲۴	۸۰/۱	۹۹/۸۶

جدول شمارهٔ(۶): مقادیر تجمع در ریشه و حذف بیولوژیک

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

بحث و نتیجه‌گیری

نقش گیاه در کاهش آلاینده فنانترن در خاک

کاهش غلظت فنانترن در خاکهای فاقد گیاه به عواملی مانند شست‌وشوی آن از بافت خاک، جذب سطحی، اکسیداسیون در مقابل نور، تبخیر و تجزیه بیولوژیکی نسبت داده شده (Reillyet, et .al 1996)،. درحالی‌که در خاکهای دارای پوشش گیاهی، مشخصه جذب و تجزیهٔ گیاهی نیز به موارد فوق اضافه می‌شود.

با استفاده از نتایج مندرج در جدول شمارهٔ (۵) مشاهده می‌شود که گیاه مورد مطالعه روند اصلاح خاک آلوده به فنانترن را در هر سه غلظت مورد بررسی و در شرایط اعمال شده حدود۲۰ درصد بهبود بخشیده ومیزان حذف آلاینده به ۹۹٪ می‌رسد و همان‌طورکه شکل شمارهٔ (۱) نشان می‌دهد، این تغییر غلظت در نمونه‌های کاشته شده و فاقد گیاه از هفته پنجم از کاشت آغاز شده و در پایان دوره کشت میزان غلظت آلاینده در تیمارهای کاشته شده مشابه با نمونه‌های شاهد است، در حالی‌که اختلاف محسوسی بین نمونه‌های فاقد پوشش گیاهی با شاهد وجود دارد (شکل شمارهٔ ۵). علاوه بر این تحلیل‌های آماری، آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نمونه‌های مستقل، اختلاف معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ بین تیمارهای کاشته شده و فاقد گیاه را نشان داد. همچنین ملاحظه شد که بین میانگین غلظت آلاینده در تیمارهای کاشته شده در مقایسه با نمونهٔ بلانک اختلاف معنی‌دار نبوده، در حالی‌که بین تیمارهای آلودهٔ فاقد گیاه با بلانک اختلاف معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ وجود دارد. در نهایت نتایج به‌دست آمده مبین نقش مثبت و عملکرد مناسب گیاه انتخابی در حذف آلاینده فنانترن از مخلوط خاک و برگشت شرایط خاک به حالت بدون آلایندگی، مشابه با حالت شاهد، در شرایط گلخانه‌ای و وضعیت دما و رطوبت محیط و نوع خاک مورد استفاده است. نتیجه‌گیری مشابهی در این مورد مشاهده شد (Gao and Zhu, 2004)، همچنین نتایج مشابه دیگری برای اثبات این‌که گیاهان وسیله مناسبی برای تسریع تجزیه آلاینده‌ها در خاک هستند، وجود دارد (Anderson, et al., 1993,) . Reilly, et al., 1996. علاوه براین نشان داده شده که حضور گیاهانی

نظیر یونجه سبب افزایش حذف آلاینده‌های آروماتیک چندحلقه‌ای بخصوص ۳ حلقه‌ای، نظیر فنانترن و آنتراسن تا حدود ۸۶٪ است(Erik, et al., 2004). همچنین مشخص شده که گیاهانی مانند فستوکا و یونجه زرد میزان تجزیه PAHs را افزایش می‌دهند (Zakia, et al., 2005). مجموعهٔ نتایج به‌دست آمده و موارد فوق نشان می‌دهند که گیاهان قادرند در راستای پالایش خاک آلوده به PAHs عمل کنند. در این خصوص گیاه سورگوم که در این کار تحقیقاتی استفاده شده است نیز همانند موارد ذکر شده قادر است تا میزان کاهش آلاینده‌های آلی و بویژه فنانترن در خاک را به میزان ۲۳٪ در تیمارهای حاوی ۱۰ppm، ۱۹٪ درتیمارهای حاویppm ۱۵ و ۲۰٪ در تیمارهای حاوی ۲۰ppm افزایش دهد که این موضوع اهمیت واقعی خود را زمانی نشان می‌دهد که بدانیم آلاینده‌های مختلف و به ویژه انواع آلی آن نظیر PAHs ، حتی در غلظت‌های بسیار اندک، تهدیدی جدی برای سلامتی بشر محسوب می‌شوند، بنابراین اندک افزایش در میزان حذف آلاینده‌های مذکور در حضور گیاهان مختلف نظیر، سورگوم، نقشی بسیار مهم دارا خواهد بود.

تجمع و تجزیهٔ آلاینده توسط گیاه

بررسی شکل شمارهٔ (۳) نشان می‌دهد که غلظت فنانترن در ریشه، بر مبنای وزن خشک، تابعی از غلظت آن در خاک بوده و تجمع در بافت ریشه با افزایش غلظت در خاک افزایش می‌یابد. همچنین نتایج حاکی از کاهش مقدار تجمع یافته در بافت ریشه با گذشت زمان است که می‌توان آن را به فعالیت‌های متابولیک در داخل گیاه نسبت داد.

تحلیل آماری داده‌ها و آنالیز واریانس نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین غلظت ریشه‌ای نمونه‌های کاشته شده در خاک حاوی مقادیر متفاوت از آلاینده بوده و همچنین اختلاف بین غلظت ریشه‌ای در زمان‌های مختلف را تأیید می‌کند.

اصولاً کاهش غلظت فنانترن در خاکهای فاقد پوشش گیاهی به عواملی مانند شست‌وشو از بافت خاک، تجزیه بیولوژیک و حذف غیربیولوژیک آلاینده (نظیر جذب سطحی، اکسیداسیون نوری، تبخیر و...) از بافت خاک نسبت داده شده است. در تیمارهای دارای پوشش گیاهی عامل جذب گیاهی و تأثیر گیاه بر تجزیهٔ بیولوژیکی نیز به عوامل سابق‌الذکر اضافه می‌شود (Gao and Zhu , 2003).

با توجه به این‌که جذب و تجمع در بافت گیاه و نیز تجزیهٔ بیولوژیک گیاهی باعث ایجاد اختلاف در عملکرد تیمارهای کاشته شده و بدون گیاه است بنابراین با در دست داشتن مقادیر تجمع گیاهی، تفاوت بین عملکرد تیمارها به تجزیه بیولوژیک گیاهی نسبت داده می‌شود. داده‌های ستون حذف بیولوژیک در جدول شمارهٔ (۶) در واقع نشان دهندهٔ تأثیر همین عامل در کاهش مقدار فنانترن در خاک است. با توجه به داده‌های جدول به نظر می‌رسد "تجزیهٔ گیاهی" سازوکار غالب و فعال در کاهش آلایندگی باشد زیرا مقدار تجمع در بافت گیاه کمتر از ۹۰۰ ppb در غلظت‌های مختلف از آلاینده بوده، در حالی که تجزیهٔ گیاهی تا بیش از ۲ ppm از آلاینده را در غلظت‌های مختلف آلاینده در تیمارهای کاشته شده حذف کرده است.

افزایش تجزیهٔ بیولوژیک توسط گیاه در مورد ترکیبات آلی موجود در خاک در گذشته نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. سهم گیاهان در تجزیهٔ آلاینده‌های آلی، یا از طریق افزایش تعداد میکرب‌ها (Aprill, et al., 1990; Reilly, et al., 1996; Binet, et al., 2000)، یا توسط افزایش فعالیت و بهبود اجتماع میکربی درناحیهٔ ریزوسفر (Joner, 2003) است. ارتباط و تعامل بین ریشهٔ گیاه با میکرب‌ها و آلاینده‌ها، فرایندهای مختلف گیاه‌پالایی را ممکن می‌سازد که در نهایت منجر به تجزیه، حذف و معدنی‌سازی PAHs می‌شود (Jiao, 2007). علاوه بر این با استفاده از یک دستگاه فتوگراف نشری ماوراء بنفش، تأثیر سیستم ریشه‌ای فعال در تجزیهٔ مواد شیمیایی نشان داده شده است(Thoma, 2004). در مطالعات و بررسی‌هایی که به‌وسیلهٔ دستگاه TPEM[۴] هنگام بررسی جذب فنانترن انجام گرفته، عدم انتقال ماده به اندام‌های هوایی گیاه تأیید شده و مشخص شده که این ماده فقط تا محدودهٔ سلول‌های پوست ریشه مهاجرت کرده و به سیستم انتقالی آوند چوبی–آبکشی نمی‌رسند و این بدین معناست که چنین ترکیبی پس از حرکت محدود، در لایهٔ پوست ریشه مجتمع شده و احتمال انتقال به بخش‌های هوایی گیاه از طریق مکانیزم آوندی وجود ندارد (Wild, 2005). بررسی‌های دیگری نیز به نتیجه‌گیری مشابهی رسیده‌اند که هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک پس از جذب در سطح ریشه، توان انتقال به بخش‌های بالایی گیاه را ندارند (Jones, 1991; Fismes, 2002) و به نظر می‌رسد وجود این ترکیبات در برگ، در نتیجهٔ ترسیب ذرات اتمسفری باشد.

تأثیر بر میزان تولید کلروفیل و بیوماس

به منظور افزایش کارایی روش"گیاه پالایی" در حذف آلاینده‌های آلی، لازم است گونه‌های گیاهی مقاوم در برابر آلودگی برای این کار انتخاب شوند. بعضی از خواص فیزیولوژیک نظیر رشد، مقدار ثابت یا رو به افزایش بیوماس، سیستم ریشه‌ای قوی و رشد یافته، توان نگهداری

آب و مقدار کلروفیل می‌توانند به عنوان معرف برای نمایش حساسیت گیاه نسبت به آلاینده مورد بررسی قرار گیرند (Huang, 2004). محتوی کلروفیل، مشخصهٔ مؤثری در فعالیت‌های فتوسنتزی بوده و بیشتر به عنوان معرف برای نمایش استرس در گیاهان استفاده می‌شود. در مجموع خصوصیاتی، نظیر ثبات، یا افزایش بیوماس گیاهی و تثبیت محتوی کلروفیل پاسخ‌های مثبت گیاه برای غلبه بر استرس ناشی از حضورPAHs در خاک است (Huang, 1997; Marwood, 2001). با مراجعه به اشکال شماره‌های (۳و ۴) و تأیید ثبات نسبی میزان کلروفیل و بیوماس در گیاه مورد مطالعهٔ انتخابی، به نظر می‌رسد گونه مورد بررسی توانسته با شرایط محیطی انطباق یافته و تنش ناشی از حضور فنانترن در محیط را تحمل کند. عدم تغییر در پاسخ بخش‌های هوایی گیاه، مجدداً تأکیدی بر عدم انتقال آلاینده، و یا حتی فرم تغییر شکل یافته آن در اثر فعالیت گیاه، از ریشه به برگ است. تحلیل آماری داده‌ها، مقایسهٔ میانگین‌ها و آنالیز واریانس (تست Tukey) نشان می‌دهد که بین مقادیر کلروفیل و بیوماس نمونه شاهد با نمونه‌های رشد یافته در محیط آلوده تفاوت معنی‌داری درسطح۹۵٪ ۰۵/۰ ($p < 0/05$) مشاهده نمی‌شود.

در مجموع بررسی نتایج به دست آمده نشان داد که گونهٔ انتخابی سورگوم به علت دارا بودن شرایط فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خاص و تحت شرایط اعمال شده در گلخانه، نسبت به آلاینده فنانترن مقاوم بوده و میزان نسبتاً ثابت کلروفیل و بیوماس تولیدی در واقع نوعی پاسخ مثبت گیاه در غلبه بر تأثیر سمی‌بودن ناشی از حضور آلاینده در گیاه است. وجود ثبات، و یا تغییرات جزیی در مقدار این مشخصه‌ها حاکی از عدم انتقال آلاینده به اندام‌های هوایی بوده و با توجه به نقش گیاه در اکوسیستم و انتقال مواد آلاینده در زنجیرهٔ غذایی، موارد یاد شده از ویژگی‌های مثبت گیاه پیش‌گفته محسوب می‌شود. از سوی دیگر بررسی میزان تجمع در ریشه و روند تغییرات آلودگی، نشان می‌دهد که این گیاه قادر است با افزایش میزان تجزیهٔ بیولوژیکی، میزان آلاینده مذکور را در خاک کاهش دهد.

یادداشت‌ها

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

منابع مورد استفاده

گیتی پور، س.، نبی بیدهندی، غ.ر. و گرجی، م.ا. ۱۳۸۳. آلودگی خاکهای جنب پالایشگاه تهران در اثر نشت ترکیبات نفتی. محیط شناسی،سال سی‌ام، شمارهٔ ۳۴، ص ۴۵-۳۹.

وکیلی، ف .، علایی، ا. ۱۳۸۳. تست گلخانه‌ای و کنترل کیفیت کود اوره با پوشش روی و گوگرد. گزارش پایانی، 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.