

کارآیی باکتریهای باسیلوس و سودوموناس در زیست پالایی یک خاک آلوده به هیدروکربنها

سالومه سیدعلیخانی^{1*}، مهدی شرفا² و احمد اصغرزاده³

تاریخ دریافت: 88/10/17 تاریخ پذیرش: 89/11/23

1- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

2- دانشیار، گروه خاکشناسی، دانشگاه تهران

3- استادیار، بخش تحقیقات بیولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

* مسئول مکاتبه Email: Sa.alikhani@gmail.com

چکیده

آلوده‌شدن خاک به ترکیبات نفتی در ایران از بدو استخراج نفت از سده گذشته و انباشت تدریجی آنها در محیط سلامتی منابع آب و خاک کشور را تهدید می‌کند. این تحقیق با هدف دستیابی به شیوه موثر زدودن آلودگی خاک-های آلوده به مواد نفتی انجام شد. با توجه به ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی از بین انواع روش‌های پاکسازی، روش بیولوژیک انتخاب و در خاک مورد نظر به کار برده شد. در این آزمایش تاثیر 5 تیمار متشکل از گونه‌های مختلف دو جنس باکتری باسیلوس و سودوموناس همراه با کشت گیاه جو و بدون آن بر پالایش هیدروکربن‌های نفتی در یک خاک لوم ارزیابی شد. تحلیل داده‌های به دست آمده نشان داد که بالاترین عملکرد مربوط به تیمار باسیلوس 2 بود. این باکتری میزان هیدروکربن‌های نفتی خاک را همراه با کشت گیاه جو پس از 105 روز، تا 72/5% و بدون حضور گیاه تا 59/8% کاهش داد. همچنین سریع‌ترین تاثیر نیز مربوط به همین تیمار بود باین معنی که در مدت زمانی حدود 20 روز میزان آلودگی بیش از 40% کاهش یافت. کارآیی کاربرد باکتری در مقایسه با کاشت گیاه (بدون باکتری) بسیار بالاتر ارزیابی شد. با افزودن باکتری مذکور بر خاک و بدون عملیات نگهداری خاص می‌توان آلودگی نفتی را به صورت موثر کنترل کرد. از میان انواع باکتریهای آزمایش شده باسیلوس 2 برای برطرف کردن آلودگی نفتی خاک مناسب‌تر از دیگر باکتریها تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، باسیلوس، خاک، سودوموناس، هیدروکربن

Efficiency of *Bacillus* and *Pseudomonas* Bacteria in Bioremediation of a Soil Contaminated with Hydrocarbons

S Seyed Alikhani^{1*}, M Shorafa² and A Asgharzadeh³

Received: 7 January 2010 Accepted: 2 February 2011

¹MSc Graduated Student, Islamic Azad Univ., Karaj Branch, Iran

² Assoc. Prof., Soil Sci. Dept., Univ. of Tehran, Iran

³ Assist. Prof., Soil Biology Dept., Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran

*Corresponding author: E-mail: Sa.alikhani@gmail.com

Abstract

Soil contamination with petroleum compounds since the petroleum exploration in the last century in Iran, and accumulation of these compounds in the environment threaten the health of soil and water resources of the country. The current research was conducted with the purpose of reaching to an efficient approach for the remediation of soils polluted with petroleum compounds. In this research the effect of five experimental treatments including various species of *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria with and without barely (*Karron cv.*) planting on the biodegradation of those compounds in an artificially polluted loam soil was investigated. Analysis of the data indicated that the maximum purification belonged to the *Bacillus* 2 treatment. With barely planting this bacteria reduced soil total petroleum hydrocarbons up to %72.5 during 105 days. Without barely the reduction became %59.8 at the same period. The rate of biodegradation was also highest at the same treatment, meaning that during a 20-day the reduction of catumination became %40. Degredation rate considerably increased with the presence of bacteria in the soil comparing to the barely planting alone. Inoculating of contaminated soil with bacteria without the need for particular nursery seems to be enough to control effectively the soil pollution. Among the several examined bacteria, *Bacillus* 2 turned to be the most suitable one for removing the petroleum- loased contamination.

Keywords: *Bacillus*, Contaminated soil, Hydrocarbon, Pollution, *Pseudomonas*

صنایع شیمیایی آلاینده محیط زیست، منابع آب و خاک را با تهدید جدی مواجه ساخته است. در حالت طبیعی پس از نشت آلودگی نفتی، فعالیت میکروارگانیسم‌های بومی و یا عواملی همچون فوتواکسیداسیون، منجر به

مقدمه

افزایش سریع مصرف منابع فسیلی به ویژه نفت و به تبع آن رسوخ آلودگی‌ها از کشتی‌های حمل نفت، لوله‌های نفتی و یا پساب‌های صنعتی پالایشگاه‌ها و

باکتری *Bacillus* و *Pseudomonas* را برای کاهش مجموع هیدروکربن‌های نفتی (TPHs)¹ در خاکی از منطقه‌ی شمال شرقی هند بررسی نمودند. نتایج پژوهش آن‌ها حاکی از توانایی هر دو باکتری در کاهش TPHs بود.

هدف این پژوهش ارزیابی روش زیست‌پالایی با حضور دو گونه پتانسیل باکتری باسیلوس و سودوموناس به همراه با کاشت جو در یک خاک آلوده به نفت است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به مواد نفتی از منطقه‌ی باقرشهر در شهر ری استان تهران در مجاورت پالایشگاه نفت با مختصات "36/1 30° 35 تا "26/3 31° 35 شمالی و "57/6 24° 51 تا "1/9 26° 51 شرقی صورت پذیرفت. خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از الک چهار میلی‌متر گذرانده شد و جهت آزمایشات تجزیه‌ی خاک و ایجاد تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. توده‌ی خاک مورد نظر به خوبی بهم زده شد تا آلودگی نقاط مختلف آن تا حد ممکن همگن گردد. آزمایشات تجزیه‌ی خاک با روش‌های استاندارد صورت پذیرفت. اندازه‌گیری‌های درصد مواد آلی با روش والکی و بلاک (1934)، کربنات کلسیم به روش تیتراسیون و بافت خاک با روش هیدرومتر مندرج در کتاب کلوت (1986)، فسفر قابل جذب به روش اولسون (هوبا و همکاران 1989) و ازت با استفاده از کج‌لدال مندرج در کتاب کلوت (1986) انجام گردیدند. تعیین مجموع هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) با روش استاندارد آژانس حفاظت محیط

حذف آلودگی می‌شد. اما با سرعتی که این آلاینده‌ها به منابع آب و خاک راه پیدا می‌کنند عوامل طبیعی دیگر قادر به زدودن آنها نیستند (عنایت‌زاده 1385). از این-رو در قرن بیست و یکم نگرانی جامعه بشری از به هم خوردن چرخه طبیعی حیات کره زمین و تخریب و از دست رفتن منابع خاک و آب بیش از پیش افزایش یافته است. در کشوری نفت‌خیز مثل ایران، کم‌توجهی به پیامدهای مخرب زیست‌محیطی ناشی از استحصال و پالایش نفت، باعث آلودگی بخش‌هایی از منابع خاک و آب به خصوص در جنوب کشور به هیدروکربن‌های نفتی شده است. لذا اتخاذ یک استراتژی صحیح جهت از بین بردن این مشکل و دستیابی به توسعه پایدار در این زمینه ضروری است. بدون شک این استراتژی باید مبتنی بر شناخت دقیق امکانات و شرایط موجود بوده و تا حد ممکن کمترین ریسک را در بهم زدن تعادل محیط زیست داشته باشد.

تاکنون روش‌های متعدد فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی در زمینه‌ی پاکسازی آلودگی‌های نفتی مورد استفاده قرار گرفته است. در زمینه‌ی پاکسازی بیولوژیکی، کیم و هائو (1999)، لی و گیلسون (1996)، لی و همکاران (1995) و شیلدز و همکاران (1991) طی پژوهش‌های خود تاثیر مثبت حضور باکتری سودوموناس را در زدودن آلاینده‌های آلی گزارش کرده‌اند. وکت و همکاران (1989) تاثیر مثبت باسیلوس را در تجزیه‌ی ترکیبات آلاینده آلی نشان دادند. بوسرت و بارتا (1984) باکتری‌های سودوموناس، آرتروباکتر، کورینه باکتریوم، فلاوباکتریوم، آکروموباکتر، میکروکوکوس، نوکاردیا و مایکوباکتریوم را به عنوان فعال‌ترین گونه‌های باکتریایی در تجزیه‌ی هیدروکربن‌ها در خاک گزارش کردند. داس و ماخرجی (2006) بکارگیری دو گونه

¹ Total petroleum hydrocarbons

سودوموناس. لیست کامل تیمارهای آزمایش در جدول 2 ارائه شده است. گونه‌های باسیلوس 1 و 2 هنوز کامل شناخته نشده است و مطالعه و شناسایی گونه‌ی آن‌ها توسط موسسه خاک و آب تهران در حال انجام است. باسیلوس‌های 1 و 2 هیچ کدام بیماری‌زا نیستند و از کلکسیون موسسه‌ی تحقیقاتی خاک و آب کرج تهیه، و از مواد آلی در حال تجزیه و در مرحله‌ی ترموفیل جداسازی شدند. جمعیت باکتری‌های به کار رفته در این آزمایش در هر تیمار مجموعاً 2×10^8 و برای تیمار قرص جوشان $2/2 \times 10^6$ سلول باکتری در هر کیلوگرم خاک محاسبه گردید و در مخلوط با پرلیت به خاک افزوده شد. سپس در تیمارهای حاوی گیاه تعداد 30 عدد بذر در گلدان‌هایی با قطر 24 و ارتفاع 25 سانتی‌متر که حاوی 5 کیلوگرم خاک با بافت لوم بود با سه تکرار کشت گردید. در طول آزمایش رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرع‌ای حفظ گردید. در سه دوره رشد گیاه (جوانه‌زنی، رویشی و زایشی) مقدار مجموع هیدروکربن‌های نفتی خاک (TPHs) در هر تکرار و تیمار اندازه‌گیری شد. این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل انجام یافت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه‌ی خاک مورد آزمایش در جدول 1 آمده است. جدول 2 میزان آلودگی خاک تحت تیمارهای مختلف را در مراحل متفاوت رشد گیاه جو نشان می‌دهد. در جدول‌ها و شکل‌ها عبارت باسیلوس 5 بیانگر تیمار حاوی پنج گونه از باکتری‌های جنس باسیلوس و کلمه‌ی قرص جوشان بیانگر تیمار قرص جوشان حاوی پنج گونه از باکتری‌های جنس باسیلوس می‌باشند.

زیست امریکا (EPA413/1)¹ صورت پذیرفت (هات-چینسون و همکاران 2001). در این روش 1 گرم خاک با 10 میلی لیتر دی‌کلرومتان مخلوط و به مدت 5 دقیقه تکان داده شد. سپس به مدت 5 دقیقه با دور 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی 1 میلی لیتر برداشت گردید و به ظرف شیشه‌ای منتقل و 48 ساعت در هوای آزمایشگاه قرار داده شد تا دی-کلرومتان تبخیر گردد. پس از 48 ساعت، آنچه در ظرف باقی مانده بود با توزین به عنوان TPHs بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مشخص گردید. با استناد به تحقیقات انجام گرفته در گذشته و نگاهی به گیاهان مقاوم در برابر آلودگی‌های نفتی (فریک و همکاران 1999)، در پژوهش جاری گیاه جو انتخاب گردید تا تاثیر آن در کاهش آلودگی هیدروکربن‌های نفتی خاک، به همراه و بدون حضور باکتری بررسی شود. رقم گیاه جو مورد استفاده کارون بود. به این منظور دو گونه باکتری از جنس باسیلوس گرم مثبت اسپوردار و یک گونه باکتری سودوموناس انتخاب شدند. مبنای انتخاب این دو تحقیقات گذشتگان بوده است که نشان می‌دهد این دو جنس کارایی بالایی برای تجزیه‌ی نفت و مواد آلی دارند (فریک و همکاران 1999). به منظور بررسی توانایی پاکسازی باکتری‌ها در صورت تلفیق با یکدیگر، تیمارهای ترکیب نیز در نظر گرفته شد. تیمارهای مورد استفاده عبارت بودند از الف) باسیلوس 1، ب) باسیلوس 2 و ج) مجموعه پنج گونه از باکتری‌های جنس باسیلوس (با عنوان باسیلوس 5) شامل *laterosporous licheniformis megaterium* (د) قرص جوشان حاوی همان باکتری‌ها با نسبت متفاوت و ه) باکتری جنس

¹ Environmental Protection Agency of America

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی

7	pH
2	قابلیت هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)
2/85	کربن آلی (درصد)
0/46	نیترژن کل (درصد)
16/4	کلسیم (میلی‌اکی‌والان بر لیتر)
17/2	منیزیم (میلی‌اکی‌والان بر لیتر)
328	پتاسیم (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
9/1	سدیم (میلی‌گرم بر لیتر)
37	فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
16	آهک (درصد)
لوم	کلاس بافت خاک

جدول 2- میزان آلودگی خاک به TPHs* بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک (ppm) در هر تیمار و در زمان‌های مختلف**

پس از رشد گیاه جو

تیمار	روز صفر	روز 20	روز 80	روز 105
باسیلوس 1+ گیاه	22167	16018	12250	8580
باسیلوس 1- گیاه	22167	18000	13333	11833
باسیلوس 2+ گیاه	22167	9250	8250	6100
باسیلوس 2- گیاه	22167	9750	9660	8910
باسیلوس 5+ گیاه	22167	13410	12500	11666
باسیلوس 5- گیاه	22167	16080	14666	13583
سودوموناس + گیاه	22167	13666	12666	10410
سودوموناس - گیاه	22167	15083	14500	11830
قرص جوشان + گیاه	22167	13250	11000	10000
قرص جوشان - گیاه	22167	13833	11916	11750
خاک + گیاه (بدون باکتری)	22167	17830	14250	13900
خاک (شاهد)	22167	21083	18830	18500

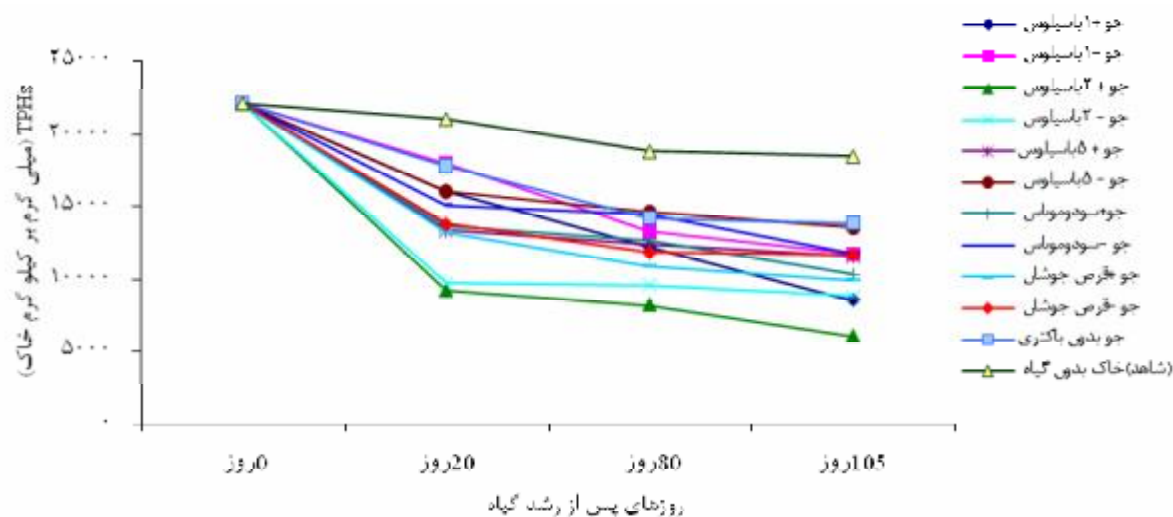
* TPHs: کل هیدروکربن‌های نفتی خاک،

روز صفر بیانگر میزان آلودگی اولیه خاک، روز 20 میزان آلودگی پس از مرحله جوانه‌زنی، روز 80 میزان آلودگی در انتهای مرحله رشد رویشی و روز 105 میزان آلودگی پس از مرحله رشد زایشی می‌باشد.

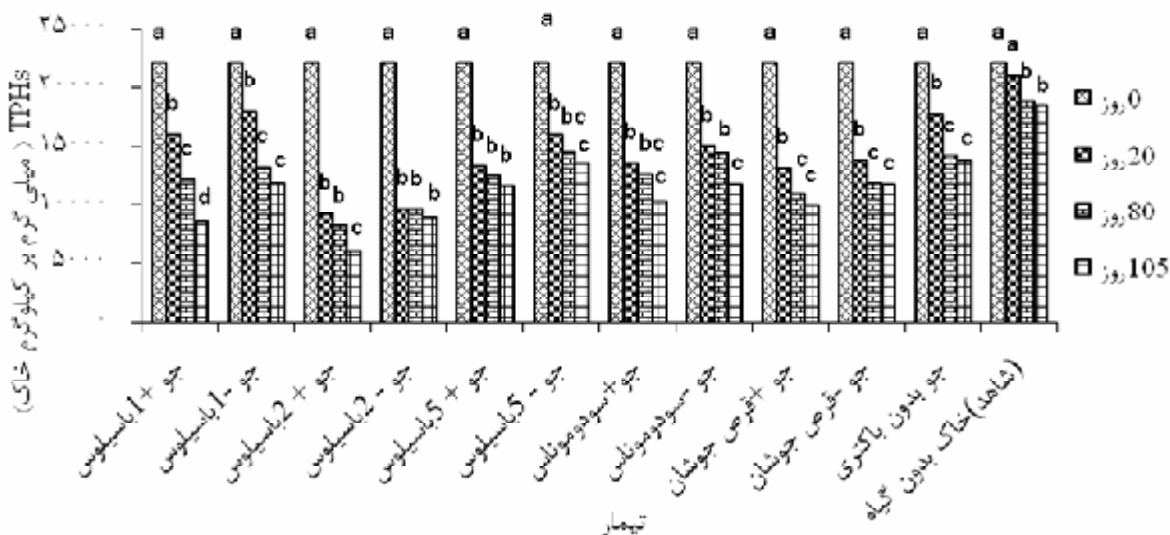
در لیست تیمارها " + گیاه " و " - گیاه " به ترتیب به معنی کاشت گیاه جو و بدون کاشت آن می‌باشند.

مختلف رشد گیاه، در خاک‌های شاهد و تحت تیمار-های مختلف می‌باشند.

شکل‌های 1 و 2 به ترتیب نشان دهنده‌ی روند و مقدار کاهش آلودگی و هم‌چنین وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در کاهش آلودگی در مراحل



شکل 1- روند کاهش آلودگی خاک به هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) در مراحل مختلف رشد گیاه در مدت 105 روز، در تیمارهای مختلف و خاک شاهد



شکل 2- مقایسه‌ی آلودگی خاک در هر کدام از روزهای پس از رشد گیاه جو بین تیمارهای مختلف و خاک شاهد* مراحل رشد با حروف یکسان در هر تیمار اختلاف معنی‌دار در سطح 5% ندارند

مراحل اول و دوم اندازه‌گیری TPH اختلاف معنی‌دار وجود دارد در حالی که در خاک شاهد این اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. هم‌چنین بین مراحل اول اندازه‌گیری آلودگی و مرحله‌ی نهایی در تمام تیمارها

با توجه به شکل 1 حداکثر پالایش (حداقل TPH) مربوط به تیمار باسیلوس 2 به همراه گیاه جو است. شکل 2 بیانگر تاثیرگذاری سریع تیمارها در کاهش هیدروکربن‌های نفتی می‌باشد. در تمام تیمارها بین

همچنین عملکرد تیمار باسیلوس 5- جو مشابه عملکرد تیمار کشت گیاه جو به تنهایی می باشد و این در حالی است که عملکرد تیمار باسیلوس 5- جو در ابتدا پایین تر از تیمار کشت جو به تنهایی مشاهده شد. با توجه به شکل 2 بین روز 20 و روز 105 تیمار باسیلوس 5+ جو و روز 80 و روز 105 تیمار باسیلوس 5- جو اختلاف معنی دار مشاهده نمی شود و باسیلوس 5+ جو هیدروکربن های نفتی را نسبت به تیمار بدون گیاه، سریع تر کاهش داده است. در نتیجه در اجرای این تیمارها جهت پاکسازی خاک های آلوده به هیدروکربن های نفتی برای تیمار باسیلوس 5+ جو تا پایان مرحله ی جوانه زنی یعنی حدود 20 روز و برای تیمار باسیلوس 5- جو تا حدود 80 روز پس از اعمال تیمار اجرای عملیات منطقی می باشد.

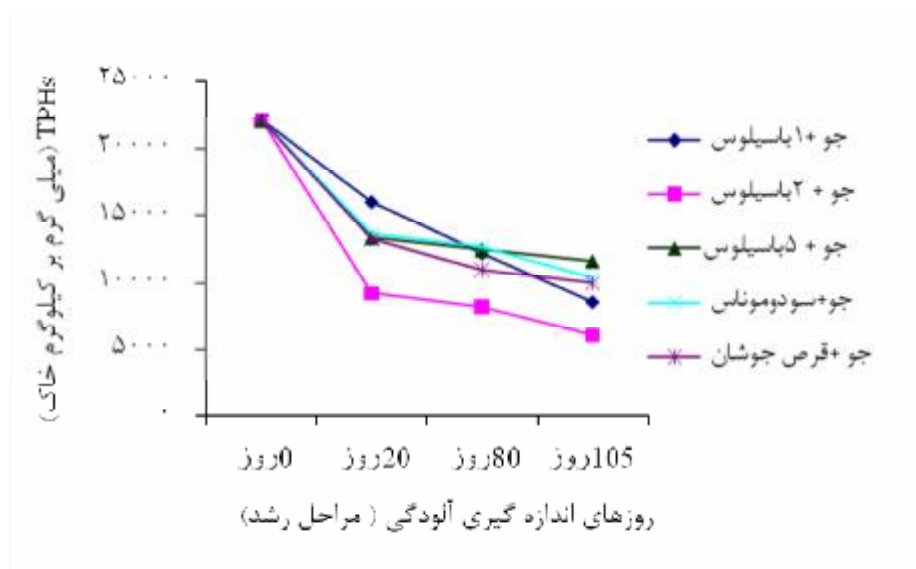
همچنین با توجه به شکل 1 در به کارگیری سودوموناس جهت پاکسازی، به ترتیب تیمار سودوموناس به همراه رشد جو، سودوموناس به تنهایی و در نهایت کشت جو به تنهایی بیشترین تا کمترین پالایش را انجام دادند. در روز 80 عملکرد تیمار کشت گیاه جو به تنهایی و سودوموناس به تنهایی تقریباً مشابه بود. با توجه به شکل 2 ادامه تیمار سودوموناس + جو تا روز 80 و تیمار سودوموناس - جو تا روز 105 سبب تجزیه ی بیشتر نفت گردید.

شکل های 3 و 4 به ترتیب بیانگر مقایسه میزان کاهش TPHs توسط تیمارهای حاوی گیاه و بدون جو می باشند.

اختلاف معنی دار وجود داشت. همانگونه که از شکل 2 پیداست در تیمار باسیلوس 1 بدون کشت جو بین مراحل 3 و 4 اندازه گیری آلودگی یعنی بین روز 80 و روز 105 اختلاف معنی دار مشاهده نمی شود و بیانگر آن است که با این تیمارها پیش بردن پاکسازی تا پایان مرحله رویشی یعنی حدود 80 روز پس از کشت کافی می باشد.

در تیمار باسیلوس 2 با توجه به شکل 1 حداکثر پالایش مربوط به تیمار کشت باکتری به همراه جو می باشد و پس از آن کشت باکتری به تنهایی بهتر از کشت گیاه جو به تنهایی آلودگی هیدروکربنی خاک را پالایش نموده است. نکته ی حائز اهمیت در بررسی این تیمار، عمل سریع و مشابه دو تیمار باسیلوس 2+ جو و باسیلوس 2- جو در مراحل اولیه ی پالایش یعنی پس از مرحله ی جوانه زنی می باشد که در مدت زمانی کوتاه (حدود 20 روز) میزان آلودگی را بیش از 40% کاهش دادند. با گذشت زمان میزان کاهش آلودگی در خاک تحت تیمار باسیلوس 2+ جو بیشتر از تیمار دیگر مشاهده شد و همانطور که در شکل 2 مشخص است در تیمار باسیلوس 2- جو از روز 20 تا روز 105 اختلاف معنی دار مشاهده نمی شود در صورتی که بین روز 20 تا روز 105 در تیمار باسیلوس 2+ جو اختلاف معنی دار مشاهده می شود. این نتیجه بیانگر آن است که در صورت به کارگیری تیمار باسیلوس 2 به همراه رشد جو، ادامه دادن تیمار تا پایان دوره رشد گیاه و در صورت به کارگیری تیمار باسیلوس 2 بدون جو ادامه دادن تیمار تا 20 روز کافی می باشد.

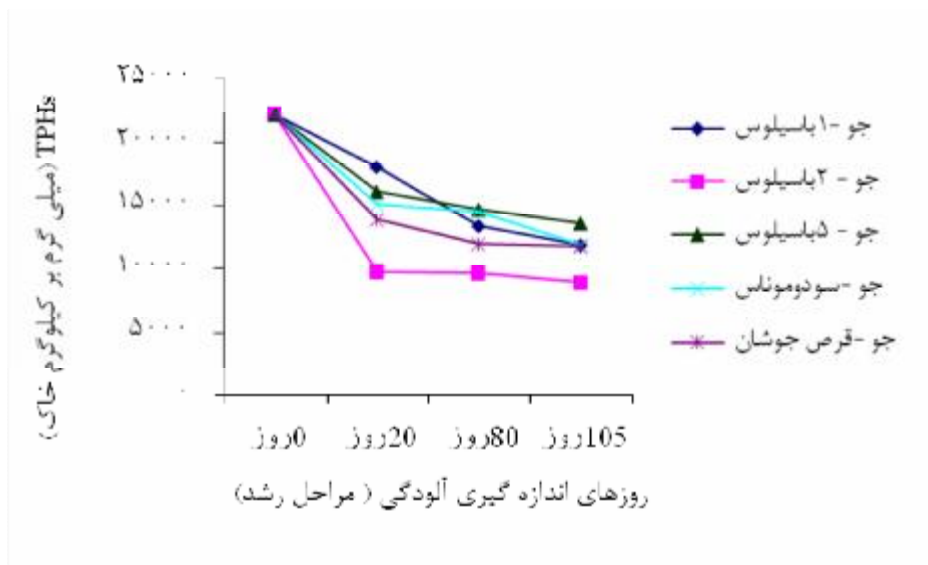
با توجه به شکل 1 در به کارگیری تیمار مخلوط پنج باکتری از گونه های مختلف جنس باسیلوس یعنی تیمار باسیلوس 5، حداکثر نرخ پالایش در پایان 105 روز مربوط به تیمار باکتری به همراه جو می باشد،



شکل 3- مقایسه میزان کاهش TPHs توسط تیمارهای حاوی گیاه

به ترتیب باسیلوس 1، قرص جوشان، سودوموناس و باسیلوس 5 به همراه جو آلودگی را کاهش دادند.

با توجه به شکل 3 حداکثر میزان پالایش خاک آلوده در تیمار باسیلوس 2 + جو مشاهده می‌شود. پس از آن



شکل 4- مقایسه میزان کاهش TPHs توسط تیمارهای بدون گیاه

جو می‌باشد. اجرای هریک از این تیمارها هزینه‌بر بوده و جهت توجیه اقتصادی اجرای عملیات پاکسازی در شرایط مختلف باید هزینه‌ها به دقت محاسبه گردند. جدول 3 مقایسه‌ی اجمالی هزینه تهیه باکتری‌های مصرفی این پژوهش در ایران را نشان می‌دهد.

با توجه به شکل 4 حداکثر میزان پالایش هیدروکربن‌های نفتی توسط تیمارهای بدون گیاه در تیمار باسیلوس 2 مشاهده شد. پس از آن به ترتیب سودوموناس، قرص جوشان، باسیلوس 1 و باسیلوس 5 آلودگی را بیشتری کاهش داده‌اند.

با توجه به شکل 1 حداکثر نرخ پالایش توسط تیمارهای مورد آزمون مربوط به تیمار باسیلوس 2 +

جدول 3- هزینه تهیه هر لیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مصرفی
(بر پایه‌ی هر دلار 10000 ریال)

قیمت (ریال)	باکتری
80000	باسیلوس 1
80000	باسیلوس 2
400000	باسیلوس 5
25000	سودوموناس
100000	قرص جوشان

است که با نتایج کار شوآب و همکاران (1995) و شهریاری (1385) تاثیر فسکیو و یونجه را بر آلودگی-های نفتی بررسی کرده است مطابقت دارد. در اکثر موارد در میزان TPHs بین تیمار حاوی گیاه و مستقل از گیاه اختلاف معنی‌دار وجود نداشت و فقط در روز 105 تیمارهای باسیلوس 1 و باسیلوس 2 همچنین در روز 80 تیمار باسیلوس 5 اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. با توجه به هزینه بالا و شرایط سخت نگهداری گیاه و از سوی دیگر مقاوم بودن تیمارهای باکتریایی مورد آزمون به انواع شرایط محیطی و با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای حاوی گیاه و مستقل از گیاه در اکثر موارد ساده‌ترین راه رفع آلودگی‌های نفتی استفاده از باکتری پیشنهاد می‌شود. بالاترین عملکرد مربوط به تیمار باسیلوس 2 بود که میزان آلودگی را در حالت توأم با گیاه پس از حدود 105 روز نهایتاً تا 72/48% و در حالت مستقل از گیاه تا 59/8% کاهش داد. همچنین سریع‌ترین تاثیر پاکسازی نیز مربوط به همین تیمار بوده که در مدت زمانی کوتاه (حدود 20 روز) میزان آلودگی را بیش از 40% کاهش داد. البته با توجه به جدول 3، هزینه کاربرد سودوموناس از باسیلوس کمتر می‌باشد و چنانچه فوریت در پاکسازی کمتر مطرح باشد و همچنین میزان آلودگی چندان بالا نباشد، کاربرد سودوموناس اقتصادی‌تر می‌باشد. در تیمارهای بدون کشت بعد از باسیلوس 2 عملکرد تیمار قرص جوشان

در این پژوهش در گیاه جو با کاهش میزان آلودگی علائم ظاهری خاصی ظاهر نگردید. یافته‌های این پژوهش با مطالعه بالاجی و همکاران (2007) همخوانی داشت. در مطالعه مذکور گیاه جو تا مرحله‌ی نهایی رشد عملاً میزان 11283 میلی‌گرم بر کیلوگرم روی و 584 میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم را در ریشه‌های خود جمع کرد، یعنی گیاه جو توانایی تجمع مقدار قابل توجهی روی و کادمیم را داشت بدون اینکه در غلظت-های پایین علائم ظاهری سمیت در آن ایجاد شود.

نتایج به دست آمده حاکی از توانایی تیمار باکتریایی سودوموناس، که از هیدروکربن‌های نفتی به عنوان منبع انرژی و کربن استفاده می‌کنند در تجزیه و در نتیجه کاهش آلودگی نفتی (TPHs) می‌باشد که با نتایج کیم و هائو (1999)، لی و گییسون (1996)، لی و همکاران (1995) شیلدز و همکاران (1991) هماهنگی دارد. آنها طی پژوهش‌های خود تاثیر مثبت حضور سودوموناس را در کاهش آلاینده‌های آلی گزارش کردند.

وکت و همکاران در سال 1989 تاثیر مثبت باسیلوس را در تغییر ترکیبات آلاینده آلی گزارش دادند. یافته‌های آنها و نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

تاثیر مثبت سودوموناس در پالایش نفت که از نتایج این تحقیق است با نتیجه بوسرت و بارتا (1984) نیز هماهنگی دارد. در تمام موارد کاهش آلودگی در همان مراحل اولیه رشد گیاه چشمگیرتر از مراحل بعد

نیز امکان‌پذیر است، بدون عملیات نگهداری خاص عملیات رفع آلودگی نفتی خاک را انجام داد.

سپاسگزاری

نگارندگان از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جناب آقای دکتر علیرضا نوشری برای انجام تجزیه و تحلیل آماری و مسئول محترم آزمایشگاه خاکشناسی این دانشکده جناب آقای مهندس حسین اکبری برای راهنمایی‌های ارزشمند و تامین امکانات جهت انجام آزمایش‌ها کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

بالتر از دیگر تیمارها مشاهده شد و این در حالی است که در تیمارهای حاوی کشت، قرص جوشان در یک رده پایین‌تر یعنی بعد از تیمار باسیلوس 1 قرار گرفت. همانطور که در شکل 1 مشخص است عملکرد تیمار سودوموناس بدون کشت گیاه تقریباً مشابه عملکرد تیمار باسیلوس 1 بدون کشت گیاه می‌باشد. در صورتی‌که هزینه کاربرد آن بیش از 30% از هزینه کاربرد باسیلوس کمتر است. استفاده از این باکتری‌ها به منظور رفع آلودگی بسیار ساده بوده و می‌توان با اسپری کردن باکتری‌ها بر خاک، که در شرایط مزرعه

منابع مورد استفاده

- شهریاری م، 1385. تاثیر مخلوط دو گیاه فسکیو و یونجه در گیاه‌پالایی خاک آلوده به نفت خام، نشریه علوم محیطی، شماره 13. صفحه‌های 33-40.
- عنایت زاده م، 1385. حذف آلودگی‌های حاصل از نفت خام در محیط زیست و آب‌های آلوده به روش زیستی، پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی امیرکبیر.
- Balaji MB, Fengxiang HX, Susan DV, David ML and Yi Su, 2007. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiological characteristics of barley plants. *Braz J Plant Physiol* 19:15-22.
- Boosert ID and Bartha R, 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. Pp. 435-474. In: Atlas RM (ed). *Petroleum Microbiology*. Mac Millan Publishing Co, New York.
- Das K and Mukherjee AK, 2006. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from north-east India. *Bioresource Technology* 98: 1339-1345.
- Frick CM, Farrell RE and Germida JJ, 1999. Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil- Contaminated Sites. Saskatchewan, Canada.
- Hutchinson SL, Schwab AP and Banks MK, 2001. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effect of irrigation techniques and scheduling. *Journal of Environmental Quality* 30:1516-1522.
- Houba VJG, Van der Lee JJ, Navozamasky I and Walgina I, 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. *Soil Analysis Procedures*. Soil Sci 13:487-496.
- Kim MH and Hao OJ, 1999. Co-metabolic degradation of chlorophenols by *Acinetobacter* species. *Water Res* 33: 562-574.

- Klute A(ed.), 1986. Methods of Soil Analysis.Part 1, 2nd ed. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Lee K and Gibson DT, 1996. Toluene and ethylbenzene oxidation by purified naphthalene dioxygenase from *Pseudomonas* sp. Strain NCIB 9816-4. Appl Environ Microbiol 62: 3101-3106.
- Lee K, Brand JM and Gibson DT, 1995. Stereospecific sulfoxidation by toluene and naphthalene dioxygenases. Biochem Biophys Res Commun 212: 9-15.
- Schwab AP, Banks MK and Arunachalam M, 1995. Biodegradation of Polycyclic Aromatic hydrocarbons in Rhizosphere Soil. Bioremediation of Recalcitrant Organics. Battelle Press, Columbus. OH.
- Shields MS, Montgomery SO, Cuskey SM Chapman PJ and Priichard PH, 1991. Mutants of *Pseudomonas cepacia* G4 defective in catabolism of aromatic compounds and trichloroethylene. Appl Environ Microbiol 57: 1935-1941.
- Wackett LP, Brusseau GA, Householder SR and Hanson RS, 1989. A Survey of microbial oxygenases: trichloroethylene degradation by propane-oxidizing bacteria. Appl Environ Microbiol 55: 2960-2964.
- Walkley A and Black IA, 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid totration method. Soil Sci 37: 29-37.