بررسی اثرات ترکیبات پلی‌کلرینه بی‌فنیل بروی تعداد باکتری‌های ناحیه ریزوسفر گیاه سورگوم و اسپرس بصورت کشت جدا و ترکیبی

محمد مهدی بانشی[1]، علیرضا رایگان شیرازی[1]، مرتضی زارع[2*] ، سهیلا رضایی[1]، عبدالمحمد سادات[1]

[1] مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

[2] گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹٤/۱۰/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۸

چکیده

مقدمه: پلی کلرینه بی فنیل‌ها (PCBs) ترکیبات ژئوبیوتیک سمی هستند که به شدت در محیط مقاوم می‌باشند. استفاده از گیاه برای تصفیه خاک‌های آلوده بطور موفقیت‌آمیزی برای حذف انواع ترکیبات آلی مانند PCBs مورد استفاده قرار گرفته است. در این پژوهش اثرات ترکیبات پلی کلرینه بی‌فنیل بر جمعیت باکتریایی ناحیه ریزوسفر دو گیاه اسپرس و سورگوم بصورت کشت جدا و ترکیبی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، خاک مورد نیاز از مراتع جاده قدیم یاسوج–شیراز در عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری از سطح خاک جمع‌آوری شده و سپس با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰ و ۸۰۰ ppm از پلی کلرینه بی فنیل آلوده گردید. برای سنجش جمعیت باکتریایی خاک از روش سری متوالی (Serial-method) استفاده و درنهایت بصورت cfu_g^{-1} خاک خشک بیان شد. بعد از ۱۲۰ روز و در پایان مطالعه بیومس گیاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده میانگین جمعیت باکتریایی در خاک دارای گیاه در مقایسه با خاک بدون گیاه دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0.05$). در بین حالت‌های مختلف بیشترین تأثیر در جمعیت باکتری‌ها بصورت کشت ترکیبی>سورگوم>اسپرس می‌باشد. نسبت جرم ریشه به جرم اندام هوایی در حالت کشت ترکیبی دارای بیشترین مقدار (۹۰درصد) و بعد از آن اسپرس (۷۲درصد) و سورگوم (٦۳درصد) می‌باشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج الگوی کشت ترکیبی نسبت به کشت جدا باعث تحریک بیشتر باکتری‌ها و افزایش جمعیت آن‌ها در ناحیه ریزوسفر شده و بطور کلی شرایط کشت ترکیبی با سورفاکتانت (Tween80) به عنوان بهترین حالت مشخص گردید.

کلمات کلیدی: گیاه‌پالایی، سورگوم، اسپرس، کشت ترکیبی، سورفاکتانت

مقدمه

پلی‌کلرینه‌بی‌فنیل‌ها گروهی از آلاینده‌های آلی مقاوم (POPs) می‌باشند. این ترکیبات حاوی ۱ تا ۱۰ اتم کلر هستند که به حلقه‌های بی فنیل متصل شده‌اند. پلی‌کلرینه بی‌فنیل‌ها

* مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
ایمیل: mortezazare.env@gmail.com - **شماره تماس:** ۰۷٤۱-۲۲۲۳۵۰۵

به‌طور گسترده در طی سال‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۷۰ ساخته و در روغن‌های ترانسفورماتورها، روان‌سازها، عایق‌ها و سیالات دی‌الکتریک مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به اینکه از سال ۱۹۷۰ تولید این مواد در برخی از کشورها ممنوع اعلام شده است اما به دلیل حمل و نقل، ذخیره و دفن نامناسب به درون محیط زیست مخصوصاً آب و خاک نفوذ پیدا کرده‌اند. در حال حاضر، پلی کلرینه بی فنیل‌ها هنوز یک مشکل جهانی محسوب می‌شوند و به عنوان یک عامل تهدیدکننده محیط زیست که دارای ظرفیت جذب بالا در خاک، حلالیت کم در آب و پایداری زیاد در بافت انسان هستند شناخته می‌شوند.[۱و۲] این ترکیبات جزء آلاینده‌های منحصربه‌فرد در محیط زیست تلقی می‌شوند زیرا درجاهایی که از آن‌ها استفاده نمی‌شوند مانند مناطق قطبی و اعماق اقیانوس‌ها دیده می‌شوند. با توجه به گران و مخرب بودن روش‌های معمول حذف این ترکیبات روشی نیازمند است که در عین مؤثر و کارآمد بودن با محیط زیست نیز سازگار باشد. تعداد زیادی از مطالعات انجام شده نشان‌دهنده افزایش تجزیه پلی کلرینه بی فنیل‌ها در خاک دارای گیاه در مقایسه با خاک بدون گیاه می‌باشند.[۳و۴] گیاه‌پالایی روشی است که در آن با استفاده از گیاه آلاینده‌های موجود در خاک و آب‌های سطحی و زیرزمینی را حذف می‌کنند. فرآیندهای اصلی که در گیاه‌پالایی رخ می‌دهد شامل تجزیه در ناحیه ریزوسفر که با همکاری باکتری‌های ناحیه ریشه گیاه ترکیبات آلی را حذف می‌کنند و جذب آلاینده از خاک و انتقال به ریشه و اندام‌های هوایی می‌باشد.[۵و۶]

بدلیل حلالیت کم این ترکیبات در آب (K_{ow}=۷-۵) روش انتقال آلاینده به اندام‌های هوایی و ریشه نسبت به روش ریزوسفر از اهمیت کمتری برخوردار است. بنابراین نقش گیاه در روش گیاه‌پالایی و در ناحیه ریزوسفر باعث تزریق هوا به درون خاک از طریق ریشه و درنتیجه افزایش فعالیت باکتری‌های بومی هوازی را به دنبال دارد. همچنین از طریق ترشح موادی از قبیل قند و اسیدهای آلی منبع انرژی را برای استفاده باکتری‌ها (متابولیسم هوازی) تأمین می‌کند.

استفاده از گیاهان جهت تصفیه آلودگی خاک‌ها روشی است که موفقیت‌های زیادی را در تصفیه انواع مختلفی از ترکیبات آلی از قبیل پلی کلرینه کسب نموده است.[۷] گیاه‌پالایی یک استراتژی ارزان و سازگار با محیط زیست است. مکانیسم‌های متعددی در گیاه‌پالایی وجود دارد ولی مکانیسم اصلی گیاه‌پالایی تحریک فعالیت میکروبی خاک و همچنین تجزیه آلودگی‌ها می‌شود.[۸]

از مزایای دیگر گیاه‌پالایی جلوگیری از فرسایش خاک و کاهش حرکت آلاینده‌ها به سمت آب‌های زیرزمینی می‌باشد. همچنین ساختار خاک را حفظ کرده و ماده آلی خاک را افزایش می‌دهند. بنابراین خاک‌های اصلاح‌شده برای مصارف کشاورزی مناسب خواهند بود.[۹]

با استفاده از گیاهان بومی که نیازمند مراقبت اندک هستند می‌توان حجم زیادی از این آلودگی‌ها را از بین برد. گیاهان بومی به دلیل اینکه با شرایط اقلیمی سازگار شده‌اند و در شرایط هیدرولوژیکی منطقه بهتر رشد و نمو می‌کنند و از طرفی احتمال اینکه به‌صورت یک آفت برای گیاهان منطقه تبدیل شوند کمتر است نسبت به گیاهان غیربومی ارجحیت دارند.[۱۰]

از آنجایی که مؤثر بودن فرآیند گیاه‌پالایی به مقدار خیلی زیادی به گونه گیاه، شرایط خاک، شرایط آب و هوا و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آلاینده بستگی دارد ضرورت دارد گیاهانی که در سطح وسیعی از مراتع رویش میابند در فرآیند گیاه‌پالایی استفاده شده و گونه مناسب برای حذف آلاینده‌ها مشخص گردد. در این تحقیق از اسپرس که گیاه بومی بوده در کنار سورگوم که یک گیاه با قابلیت خوب برای فرایند گیاه‌پالایی معرفی شده استفاده گردید و توانایی این دو گیاه برای گیاه‌پالایی ترکیبات پلی کلرینه بی فنیل بررسی شد، همچنین تأثیر افزودن سورفاکتانت غیر یونی Tween80 بر بازده کارایی آن‌ها مورد بررسی قرار

گرفت.

مواد و روش‌ها

ترکیبات پلی کلرینه مورد استفاده در این طرح از نوعی بود که در روغن ترانسفورماتور محلول بودند و با استفاده از مطالعات قبلی غلظت آن ۱۰۰ ، ۲۰۰ و۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام تعیین گردید.

نمونه‌های خاک که دارای هیچ سابقه آلودگی مشخصی نبودند را در عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری از مراتع حاشیه جاده قدیم یاسوج–شیراز جمع‌آوری شد. نمونه‌های خاک پس از خشک شدن توسط الک ٤ میلی‌متری سرند شدند سپس نمونه‌ها با غلظت‌های ذکرشده از روغن ترانسفورماتور آلوده شدند، از استون به عنوان حلال برای پخش یکنواخت آلاینده در خاک استفاده شد، استن به خاک با وزن مشخص که در یک استوانه‌ای قرار داشت اضافه گردید و فرصت داده شد تا استن به انتهای ظرف نفوذ کند سپس درب ظرف را بسته و در جهات مختلف به هم زده می‌شود، سپس ظرف را در زیر هود قرار گرفت. عمل به هم زدن هر نیم ساعت یک‌بار به مدت ۳ ساعت و پس‌ازآن هر دو ساعت یک‌بار و به مدت ٦ ساعت تکرار شد. برای اطمینان از یکنواخت بودن آلاینده‌های خاک آن‌ها را زیرورو کرده و دوباره با الک ٤ میلی‌متری سرند می‌کنیم. پس‌ازآن خاک را به مدت یک هفته در دمای محیط می‌گذاریم تا کاملاً استون آن تبخیر گردد. ۱/۵ کیلوگرم از خاک‌های آماده‌شده از هر غلظت در گلدان‌های با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و پهنای ۱۵ سانتی‌متر منتقل می‌شود.[11] طراحی آزمایش برای تمامی حالات در جدول ۱ نشان داده‌شده است. برای افزودن سورفاکتانت، ابتدا سورفاکتانت Tween80 را در آب مقطر حل کرده و سپس خاک گلدان را کاملاً پخش نموده و بوسیله اسپری کردن و به هم زدن حجمی از محلول به خاک اضافه می‌گردد تا به غلظت ٤٥ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک برسد. با در نظر گرفتن ۳ تکرار ۱۲۰ گلدان لازم می‌باشد:

گلدان۱۲۰ =۳(تکرار)×۲(سورفاکتانت) ×٤(حالت گیاه)×۵(غلظت پلی‌کلرینه‌بی‌فنیل)

در هر ۱۲۰ گلدان، ۱/۵ کیلوگرم خاک آماده قرار می‌دهیم بعلاوه ۱۰ بذر از گیاه سورگوم و ۱۰ بذر از گیاه اسپرس که از شرکت پاکان بذر تهیه شده است کشت داده می‌شود. در مورد کشت ترکیبی ۲۰ بذر که شامل ۱۰ بذر سورگوم و ۱۰ بذر اسپرس می‌باشد را در گلدان کشت داده و بعد از رویش به ۸ گیاه کاهش می‌یابد در مورد کشت جدا بعد از رویش در هر گلدان ٦ گیاه را باقی گذاشته و بقیه حذف می‌گردند. آب دهی به‌صورت یک روز در میان انجام گرفت.

برای سنجش جمعیت باکتریایی خاک از روش رقت متوالی (Serial method) استفاده شد، ابتدا ۱ گرم از خاک ریزوسفر با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب استریل مخلوط تا به رقت 10^{-2} برسد سپس ۱ میلی‌لیتر به ۹ میلی‌لیتر آب مقطر بطور متوالی اضافه شد تا رقت‌های 10^{-3}، 10^{-4} ، 10^{-5} حاصل گردد. از هرکدام از این سه رقت یک میلی‌لیتر بر روی پلیت که شامل نوترینت آگار متوسط است برده می‌شود سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱ روز قرار گرفته و سپس تعداد کلنی‌ها شمارش شده و بصورت $CFUg^{-1}$ خاک خشک بیان شد. در پایان مطالعه (۱۲۰ روز بعد از کشت گیاهان)، گیاهان به‌آرامی از خاک جدا شدند. پس از جداسازی ریشه از اندام هوایی، طول اندام هوایی آن‌ها اندازه‌گیری شد سپس هر یک از این اجزاء بطور جدا بوسیله آب مورد شستشو قرار گرفتند، با آب مقطر آب‌کشی گردیده و بوسیله دستمال‌کاغذی نرم آب آن‌ها گرفته شد و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت خشک شدند. در انتها وزن آن‌ها بوسیله ترازوی دیجیتالی مشخص گردید.[12]

در این مطالعه از نرم‌افزار spss ver.16 استفاده گردید و تجزیه‌وتحلیل نتایج با آزمون آنالیز واریانس انجام گرفت، سطح معنی‌داری آماری معادل $p\leq$ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای رسم

نمودارها نیز از نـرم‌افـزار Excel و Design Expert 7 اسـتفاده شد.

جدول ۱: حالات مختلف تصفیه

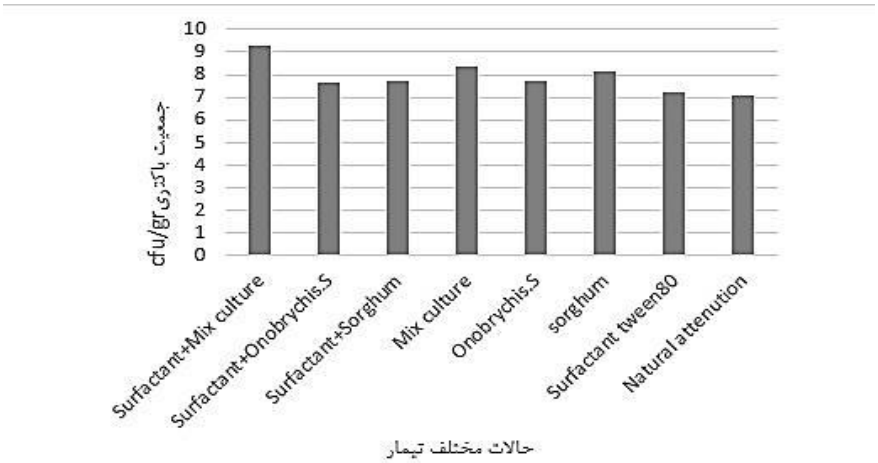
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_7
طبیعی	+							
سورفاکتانت		+			+	+		+
سورگوم			+		+			
اسپرس				+		+		
کشت ترکیبی							+	+

یافته‌ها

یکی از فاکتورهای مهمی که در عمل گیـاه‌پـالایی و حـذف آلاینده‌های آلی از خاک مؤثری می‌باشد، جمعیـت میکروبـی در ناحیه ریزوسفر گیاه می‌باشد. با افزایش جمعیت باکتری شـرایط مساعدی برای گیاه در ناحیه ریزوسفر بوجود می آید. مطالعـات زیادی تأثیر متفـاوت گونـه‌هـای مختلـف گیـاهی بـر جمعیـت میکروبی ریزوسفری را به اثبات رسانده‌انـد.[11] ترشـحات ریشـه گیاه در ناحیه ریزوسفر باعث تحریک میکروارگانیسم های خاک می‌شود از طرف دیگر فعالیت میکروبی در ناحیـه ریشـه سـبب تغییر الگو و خصوصیت ریشه می شود و فرآورده های غذایی را برای گیـاه فـراهم مـی‌سـازد همزیسـتی بـین گیـاه و میکـروب می‌تواند در تجزیه آلاینده‌های مقاوم در خاک یک فـاکتور مهـم محسوب گردد.[12] میانگین لگاریتم جمعیت باکتری در هـر گـرم خاک در ٦ حالت و ٥ غلظـت بـه‌صـورت نمـودار ١ مـی‌باشـد کمترین جمعیت در حالت طبیعی (T_0) به میـزان ٦/٤ CFU/gr و بیشـترین جمعیـت باکتریـایی در حالـت کشـت ترکیبـی + سـورفاکتانت و در غلظـت ٢٠٠ و ٤٠٠ پـی پـی ام بـه میـزان ٩/٤ CFU/gr بوده است.

ازلحـاظ میـانگین کمتـرین لگـاریتم جمعیـت میکروبـی در حالت طبیعی به میزان ٧/٠٧ CFU/gr و ماکزیمم آن در حالـت کشت ترکیبی به همراه سورفاکتانت و غلظت٢٠٠ پی پی ام بـه میزان ٩/٣٠ CFU/gr بوده است

تعداد باکتری ها در حالات مختلف خاک بدون گیـاه شـامل طبیعی و سورفاکتانت در محدوده $10^6 CFU/gr$ خاک خشـک بـود و در ریزوسـفر حـالات مختلـف بـا گیـاه در محـدوده $10^9 CFU/gr$ بر گرم بود.

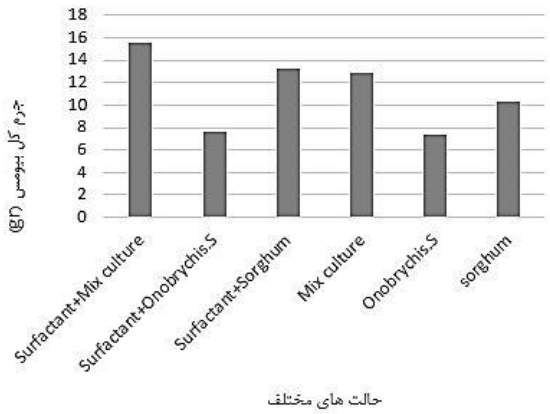


نمودار ۱: میانگین لگاریتم تعداد باکتری در حالت‌های مختلف

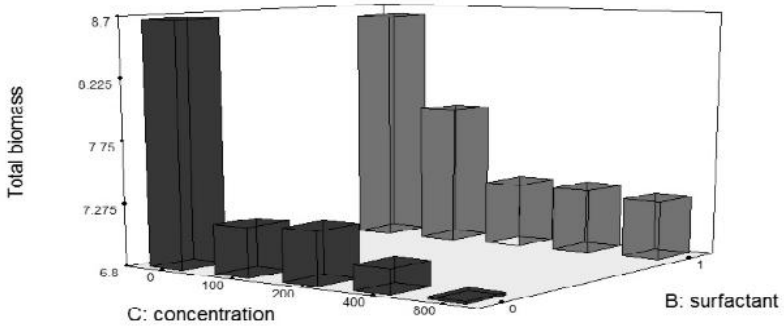
با کاشت هر دو گیاه تعداد باکتری های خاک به مقدار قابل توجه‌ای افزایش نشان می دهد این افزایش جمعیت باکتری درنتیجه رشد باکتری ها در حضور ریشه گیاهان است این موضوع می‌تواند به دلیل ترشح موادی از قبیل آمینواسیدها، اسیدهای آلی، آنزیم ها، قندها و ترکیباتی مانند سورفاکتانت در ناحیه ریشه گیاه باشد که این مواد می‌تواند به‌عنوان منبع کربن و انرژی مورد استفاده قرار گرفته و باعث افزایش جمعیت باکتری در خاک به خصوص در ناحیه ریزوسفر گردد.[۱۳] آزمون آماری نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در جمعیت باکتری خاک بدون گیاه و در ریزوسفر گیاهان می باشد ($P\leq0.05$) در ریزوسفر گیاه سورگوم جمعیت باکتری به‌صورت معنی‌دارتر از ریزوسفر گیاه اسپرس بود که این موضوع می تواند به دلیل سیستم ریشه‌ای قوی‌تر و همچنین شبکه‌ای گیاه سورگوم نسبت به گیاه اسپرس باشد.[۱۴] در حالت طبیعی ارتباط معنی داری بین اضافه کردن سورفاکتانت و افزایش جمعیت میکروبی وجود نداشت اما در حالت وجود گیاه ارتباط معنی داری بین اضافه کردن سورفاکتانت و افزایش جمعیت میکروبی وجود داشت، این بدین دلیل است که با اضافه کردن سورفاکتانت به خاک آلوده دسترسی زیستی به آلاینده توسط گیاه و باکتری افزایش یافته و باکتری‌ها می‌توانند از آن‌ها به‌عنوان منبع انرژی و کربن استفاده کنند و علاوه بر تجزیه این ترکیبات باعث افزایش جمعیت باکتری در ناحیه ریزوسفر گردد.[۱۵] در بین دو گیاه تأثیر سورفاکتانت همراه با گیاه سورگوم نسبت به اسپرس از درجه معنی داری بیشتری برخوردار بود غلظت های اولیه پلی کلری نه بی فنیل تأثیر معنی داری بر جمعیت میکروبی خاک نداشته است با توجه به سمت پلی کلرینه بی فنیل ها برای باکتری های بومی خاک به نظر می رسد کارایی بالای روش گیاه پالایی در کاهش غلظت اولیه و یا تبدیل و شکستن آلاینده ها و همچنین مدت زمانی که باعث خو گرفتن باکتری‌ها با شرایط گردیده است منجر به عدم تأثیر غلظت به روی جمعیت باکتری شده است. به‌طورکلی در بین حالت‌های مختلف بیشترین تأثیر در جمعیت باکتری ها به صورت کشت ترکیبی> سورگوم > اسپرس می باشد. مطالعات گذشته نتایج این یافته را تأیید می‌کنند.[۱۶] در مطالعه‌ای که توسط Ying Li و همکاران انجام گرفت میزان تأثیر کشت دو گیاه فستوکا و یونجه بصورت ترکیبی بیشتر از دو حالت کشت جدا بود.[۱۱]

جرم کل گیاه

ازلحاظ میانگین جرم کل گیاه کمترین مقدار مربوط به کشت جدا و گیاه اسپرس به میزان ۷/۳۷ گرم و بیشترین مقدار مربوط به حالت کشت ترکیبی و سورفاکتانت به میزان ۱۵/۵۳ گرم می‌باشد.(نمودار ۲)



نمودار ۲: میانگین جرم کل گیاهان در غلظت‌های مختلف اولیه آلاینده



نمودار ۳: اثر متقابل سورفاکتانت و غلظت بر جرم کل گیاه

برای گیاه سورگوم در حالت ترکیبی سورگوم و سورفاکتانت تفاوت معنی‌داری با حالت سورگوم تنها داشته است ($P\leq0.05$) و چنین به نظر می‌رسد که سورفاکتانت Tween 80 باعث کاهش جرم کل سورگوم شده است دلیل آن را می‌توان چنین عنوان کرد که سورفاکتانت باعث آزاد شدن آلاینده‌ها از خاک و درنتیجه دسترسی آن برای گیاه افزایش میابد و با توجه به اثر سمی این آلاینده‌ها بر گیاه توانسته است در غلظت‌های بالا اثر کاهشی بر جرم گیاه داشته باشد.[۱۷]

در گیاه اسپرس تفاوت معنی‌داری بین اسپرس تنها و حالت ترکیبی اسپرس و سورفاکتانت وجود نداشت و به نظر می‌رسد گیاه اسپرس به دلیل رشد کمتر نسبت به سورگوم جرم کمتری نیز تولید کرده است و اینکه گیاه اسپرس تحمل بیشتری نسبت به گیاه سورگوم داشته است. می توان این کاهش را با عمل زیست افزایی برطرف نمود.[۱۸] اثر غلظت آلاینده بر جرم کل گیاه نیز نشان می‌دهد که حداکثر جرم در حالتی بوده که هیچ آلاینده‌ای در خاک وجود نداشته است و یا در غلظت‌های پایین آلاینده و کمترین آن در حالتی که غلظت آلاینده حداکثر بوده است. ازنظر آماری تفاوت معنی داری بین جرم کل گیاه در غلظت‌های متفاوت از آلاینده مشاهده نگردید.

در حالت کشت ترکیبی سورگوم و اسپرس مانند کشت جدا سورگوم تفاوت معنی‌داری بین کشت ترکیبی و سورفاکتانت باحالت کشت ترکیبی بدون سورفاکتانت وجود داشت. تداخل اثر بین گیاه و سورفاکتانت، گیاه و غلظت اولیه آلاینده بر جرم گیاه در سطح معنی داری مشاهده گردید. ولی تداخل اثر بین سورفاکتانت و غلظت اولیه در سطح معنی دار نبوده است (نمودار۳).

جرم ریشه

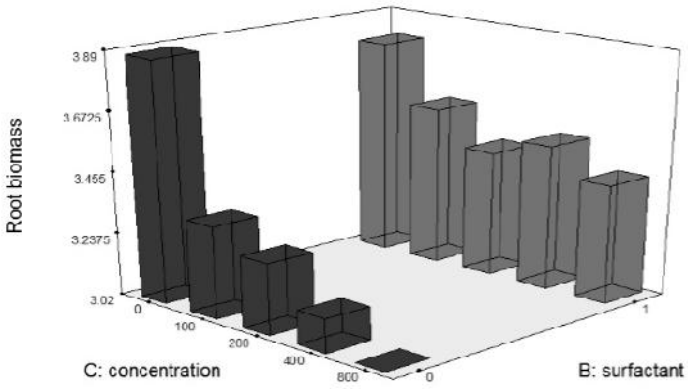
میانگین جرم خشک ریشه سورگوم ٤/٥٨ و ریشه اسپرس ٣/٣٤ گرم در هر گلدان بود که کمترین جرم خشک ریشه سورگوم در حالت سورگوم تنها و غلت ٨٠٠ پی پی ام و بیشترین آن در حالت ترکیبی سورگوم و سورفاکتانت در غلظت ١٠٠ پی پی ام بوده است. در رابطه با گیاه اسپرس کمترین جرم خشک ریشه در حالت اسپرس تنها و در غلظت ٨٠٠ پی پی ام به میزان ٢/٩ گرم و بیشترین جرم خشک ریشه به میزان ٣/٩ و در حالت گیاه به‌تنهایی بود. در حالت کشت ترکیبی میانگین جرم خشک ریشه ٦/٧٢ گرم بود. میانگین جرم خشک ریشه و اندام هوایی در حالت های مختلف بصورت جدول ٢ می‌باشد.

همان گونه که مشاهده شد حداکثر جرم ریشه در حالتی بود که هیچ‌گونه آلاینده‌ای در خاک وجود نداشت و همچنین حداقل جرم ریشه در حالت حداکثر آلاینده بود. تأثیر غلظت‌های مختلف آلاینده‌ای بر جرم ریشه تأثیر معنی‌داری داشت درصورتی‌که غلظت بر جرم کل گیاه تأثیر معنی‌داری نداشت این موضوع نشان می دهد که غلظت بر جرم ریشه بیش از جرم کل گیاه تأثیر گذاشته است و افزایش غلظت تأثیر زیادی بر جرم ریشه داشته است.

ازآنجایی‌که ریشه بعضی از گیاهان به پلی کلرینه بی فنیل حساس می‌باشد این نتیجه می‌تواند در مورد فوق صحت داشته باشد در رابطه با گیاه سورگوم ارتباط معنی‌داری بین افزایش غلظت و جرم ریشه وجود نداشت اضافه کردن سورفاکتانت نیز تأثیر چندانی بروی جرم ریشه گیاه نداشته است.[١٩] در مورد گیاه اسپرس کاهش معنی‌داری با افزایش غلظت پلی کلرینه بی فنیل در بیومس ریشه گیاه مشاهده گردید اما هنگام کشت ترکیبی این گیاه با سورگوم تفاوت معنی‌داری بین غلظت آلاینده و جرم ریشه گیاه مشاهده نگردید. این موضوع می‌تواند مربوط به حساسیت ریشه گیاهان به آلاینده پلی کلرینه بی فنیل باشد و همچنین کشت ترکیبی می‌تواند باعث مقاومت گیاهان در برابر آلاینده‌ها شود و همچنین ثبات گیاه حفظ شود. در مطالعه‌ای که توسط chekol و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که ریزوسفر گیاهان لگام در مقایسه با گیاهان علفی از حساسیت بیشتری نسبت به ترکیبات PCBs برخوردار هستند. تداخل اثر مانند حالت جرم کل گیاه بین سورفاکتانت و غلظت اولیه در سطح معنی‌دار نبوده است[١٤] (نمودار٤).

جرم اندام هوایی

جرم اندام هوایی برای سورگوم به‌طور میانگین ٧ و برای اسپرس ٤/٠٧ گرم در هر گلدان بوده کمترین جرم هوایی سورگوم مربوط به حالت سورگوم و بدون سورفاکتانت در غلظت ٤٠٠ پی پی ام و بیشترین مقدار آن در حالت گیاه تنها می‌باشد که از نظر آماری در حالت سورگوم و سورفاکتانت کاهش معنی داری در میزان جرم اندام هوایی نسبت به سورگوم در حالت تنها رخ داده است و در بقیه حالات تفاوت معنی‌داری باهم نداشته است. در اسپرس بین حالات مختلف در جرم اندام هوایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.



نمودار٤: اثر متقابل سورفاکتانت و غلظت آلاینده بر جرم خشک ریشه گیاه

جدول ۲: میانگین جرم خشک ریشه و اندام هوایی در الگوهای کشت مختلف

حالتهای مختلف	وزن ریشه گیاه (گرم)					وزن اندام هوایی (گرم)				
	شاهد	۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰	۸۰۰	شاهد	۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰	۸۰۰
سورگوم	٤/۷	٤/۹	٤/۷۸	٤/۳۷	٤/۱٥	٥/۷۲	۷/۱۲	٥/۸۲	٥	٥/٥
اسپرس	۳/۸۸	۳/۳٥	۳/۲۷	۳/۱۸	۳/۰۲	٤/۷۹	۳/۸۳	۳/۹۳	۳/۸۳	۳/۸
سورگوم+سورفاکتانت	٥/٥	٥/٤٥	٤/۸۷	٤/۸۷	٤/۷٥	۹/۸	۹/٥٤	٦/۸۸	۷/٥۷	۷/۳۱
اسپرس+سورفاکتانت	۳/۸	۳/٥۹	۳/٤۷	۳/٥۳	۳/٤٤	٤/۸۲	٤/۲۸	۳/۸۲	۳/۷۷	۳/۸۱
کشت ترکیبی	٥/٤٥	٥/٦	٦/۰٦	٦/۳۲	٦/٦	۲/٦	٦/۲٦	٦/۲	۷/۳٥	۸/۰۳
کشتی ترکیبی+سورفاکتانت	۷/۱٤	۷/۳٦	۷/۳۹	۷/٦٤	۷/۷۱	۸/۱۳	۸/۰۹	۸/۰۷	۸/۰٤	۸/۰٥

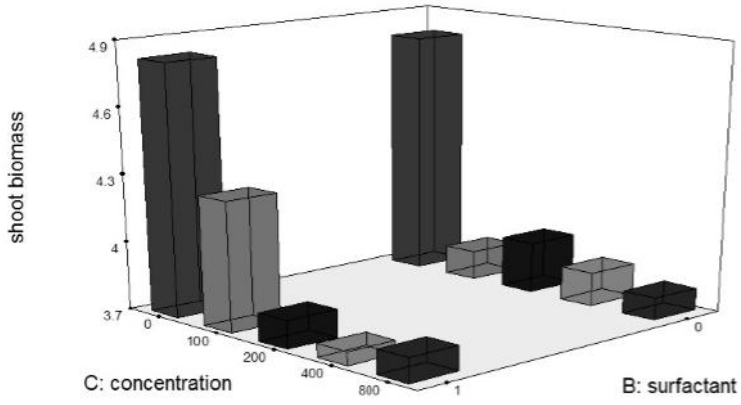
در این شاخص اگرچه هر دو گیاه دارای ثبات خوبی هستند ولی اسپرس از ثبات بیشتری برخوردار است. در حالت کشت ترکیبی جرم اندام هوایی ۷/٤٤ گرم در هر گلدان می‌باشد .

غلظت‌های مختلف آلاینده‌ها نیز تأثیری بر جرم اندام هوایی در سطح معنی‌داری نداشته است و به نظر می‌رسد تأثیر اصلی پلی کلرینه بی فنیل‌ها بر ریشه گیاه است و بر اندام هوایی تأثیر چشمگیری ندارد. در غلظت‌های بالای پلی کلرینه بی فنیل (۸۰۰ پی پی ام) در چند گیاه سورگوم رنگ پریدگی برگ‌ها مشاهده گردید و همچنین باعث رشد کم در تعدادی از گیاهان اسپرس شد که دلیل آن می تواند اثر پلی کلرینه بی فنیل بر رشد گیاه باشد. ازلحاظ آماری بین غلظت‌های PCB و طول هر دو گیاه ارتباط معنی داری وجود نداشت و این نتیجه با تأثیر کم آن بروی اندام هوایی گیاه می‌تواند توجیه شود.

نسبت جرم ریشه بر جرم اندام هوایی

نسبت جرم ریشه به جرم اندام هوایی می تواند یک شاخص مهم در تعیین شایستگی گیاه برای گیاه پالایی محسوب شود زیرا هرچقدر این نسبت بیشتر باشد شرایط ریزوسفری برای فعالیت باکتری‌ها افزایش میابد. میانگین این نسبت برای سورگوم ٦۳ درصد و برای اسپرس ۷۲ درصد بود بنابراین اسپرس علی‌رغم جرم کمتر چون نسبت ریشه به اندام هوایی بیشتر بوده می تواند یک انتخاب خوب برای عمل گیاه پالایی ترکیبات پلی کلرینه بی فنیل باشد که می تواند عمل تجزیه آلاینده ها را نیز مانند سورگوم و حتی بهتر از آن انجام دهد این در حالتی است که نسبت جرم ریشه به اندام هوایی در کشت ترکیبی ۹۰ درصد می‌باشد که این مقدار نسبت به دو حالت قبل بسیار بالا می‌باشد.

سورفاکتانت در غلظت پایین پلی‌کلرینه بی فنیل تأثیر کمتری بر این نسبت داشته است اما در غلظت‌های بالای آلاینده تأثیر قابل‌توجهی گذاشته بود که دلیل آن می‌تواند آزاد شدن بیشتر آلاینده‌ها از ترکیب خاک و درنتیجه ایجاد سمیت بیشتر برای گیاه می‌باشد بطوریکه برای هر دو گیاه در غلظت‌های بالای پلی‌کلرینه بی فنیل رابطه معنی‌داری وجود داشت($P\leq0.05$). در مطالعه‌ای که توسط Chekol و همکاران بروی ۷ گیاه در یک غلظت ۱۰۰ mg/Kg پلی کلرینه بی فنیل صورت گرفت نسبت وزن ریشه به وزن اندام هوایی به میزان بیشتری بدست آمد این عدم تطابق با مطالعه حاضر با توجه به اینکه زمان هر دو آزمایش یکسان بود می‌تواند مربوط به نوع گیاه، شرایط محیطی و غلظت آلاینده‌ها باشد.[۱۴] اثر تداخلی بین سورفاکتانت و غلظت اولیه آلاینده دارای اثر تداخلی بر بیومس اندام هوایی نبودند. (نمودار ۵)



نمودار ۵: اثر متقابل سورفاکتانت و غلظت آلاینده بر اندام هوایی گیاه

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثرات مختلف گونه‌های گیاهی و الگوهای کشت بروی فعالیت‌های میکروبی و قابلیت گیاه‌پالایی در حذف ترکیبات پلی کلرینه بی فنیل از خاک‌های آلوده مورد بررسی قرار گرفت. در خاک‌های دارای گیاه در مقایسه با خاک بدون گیاه جمعیت میکروبی بطور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت که این موضوع باعث تجزیه آلاینده و همچنین سهولت حذف این ترکیبات را ممکن می‌سازد.

با توجه به نتایج، الگوی کشت ترکیبی نسبت به کشت جدا باعث تحریک بیشتر باکتری‌ها و افزایش جمعیت آن‌ها در ناحیه ریزوسفر شد. در این بین اضافه کردن سورفاکتانت غیر یونی Tween80 در بهبود فعالیت جمعیت میکروبی و همچنین حذف آلاینده‌ها از طریق افزایش دسترسی زیستی تأثیر مثبتی داشت.

به‌جز چند مورد در غلظت‌های بالای PCB غلظت‌های مختلف این آلاینده بر زیست‌توده گیاه تأثیری نداشته که این موضوع نشان‌دهنده تحمل بالای گیاه را نشان می‌دهد. درواقع به‌عنوان یک نتیجه‌گیری کلی با بررسی تمام متغیرها می‌توان گفت که هر دو گیاه اسپرس و سورگوم با داشتن ویژگی‌هایی از قبیل قدرت تثبیت نیتروژن و جلوگیری از فرسایش خاک و همچنین سیستم ریشه‌ای بسیار مناسب پتانسیل استفاده در گیاه‌پالایی ترکیبات پلی کلرینه بی فنیل را به نسبت زیادی دارا می‌باشند. به‌طورکلی طبق نتایج حاصله می‌توان شرایط کشت ترکیبی با سورفاکتانت، سورگوم با سورفاکتانت و سپس اسپرس با سورفاکتانت را به عنوان بهترین حالت جهت به‌کارگیری فرآیند گیاه‌پالایی نسبت به سایر حالت‌های دیگر مورد استفاده قرار داد.

منابع

1. Balasubramani A.Hanadi S.Howell N.Polychlorinated biphenyls (PCBs) in industrial and municipal effluents: Concentrations, congener profiles, and partitioning onto particulates and organic carbon. Sci Total Environ 2014;473-474.
2. Jha P, Panwar J, Jha P. Secondary plant metabolites and root exudates: guiding tools for polychlorinated biphenyl biodegradation. Int J Environ Sci Technol 2015;12(2):789-802.
3. Borja J, Taleon DM, Auresenia J, Gallardo S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. Process Biochem 2005;40(6):1999-2013.
4. Lauby-Secretan B, Loomis D, Grosse Y, Ghissassi FE, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. Lancet Oncol 2013;14(4):287-288.
5. C. Tu, Y. Teng, Y. Luo, X. Sun, S. Deng, Z. Li, W. Liu, Z. Xu, PCB removal, soilenzyme activities, and microbial community structures during the phytore-mediation by alfalfa in field soils, J Soils Sediments 2011; 11:649–656.
6. Leigh MB, Prouzová P, Macková M, Macek T, Nagle DP, Fletcher JS. Polychlorinated biphenyl (PCB)-degrading bacteria associated with trees in a PCB-contaminated site. Appl Environ Microbiol 2006;72(4):2331-2342.
7. Aken BV, Correa PA, Schnoor JL. Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyls: New Trends and Promises. Environ Sci Technol 2009;44(8):2767-2776.
8. Meggo RE, Schnoor JL, Hu D. Dechlorination of PCBs in the rhizosphere of switchgrass and poplar. Environ Pollut 2013;178:312-321.
9. Escalante-Espinosa E, Gallegos-Martínez M, Favela-Torres E, Gutiérrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by Cyperus laxus Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. Chemosphere 2005;59(3):405-413.
10. Wiltse C, Rooney W, Chen Z, Schwab A, Banks M. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. J Environ Qual 1998;27(1):169-173.
11. Li Y, Liang F, Zhu Y, Wang F. Phytoremediation of a PCB-contaminated soil by alfalfa and tall fescue single and mixed plants cultivation. J Soils Sediments 2013;13(5):925-931.
12. Peng S, Zhou Q, Cai Z, Zhang Z. Phytoremediation of petroleum contaminated soils by Mirabilis Jalapa L. in a greenhouse plot experiment. J Hazard Mater 2009;168(2):1490-1496.
13. Mleczek M, Rutkowski P, Rissmann I, Kaczmarek Z, Golinski P, Szentner K, et al. Biomass productivity and phytoremediation potential of Salix alba and Salix viminalis. Biomass Bioenergy 2010;34(9):1410-1418.
14. Chekol T, Vough LR, Chaney RL. Phytoremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils: the rhizosphere effect. Environ Int 2004;30(6):799-804.
15. Donnelly PK, Hegde RS, Fletcher JS. Growth of PCB-degrading bacteria oncompounds from photosynthetic plants, Chemosphere 1994;28:981–988.
16. Fava F, Di Gioia D. Effects of Triton X-100 and Quillaya Saponin on the ex situbioremediation of a chronically polychlorobiphenyl-contaminated soil. Appl Microbiol Biotechnol 1998; 50:623–630.
17. Leigh MB, Fletcher JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: an important sourceof microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contami-nants. Environ Sci Technol 2002;36:1579–1583.
18. Smith K, Schwab A, Banks M. Phytoremediation of polychlorinated biphenyl(PCB)-contaminated sediment. J Environ Qual 2007;36:239–244.
19. Federici E, Giubilei MA, Covino S, Zanaroli G, Fava F, D'Annibale A, Petruccioli M. Addition of maize stalks and soybean oil to a historicallyPCB-contaminated soil: effect on degradation performance and indigenousmicrobiota, New Biotechnol 2012;30:69–79.

The Effects of Polychlorinated Biphenyls Compounds on the Number of Bacteria in the Rhizosphere Sorghum and Onobrychis.s Plants by Single and Mix Cultivation

Mohammad Mehdi Baneshi[1], Alireza Raygan Shirazi[1], Morteza Zare[2*], Soheila Rezaei[1], Abdolmohammad Sadat[1]

1. Social Determinants of Health Research Center, School of Public Health, Yasuj University of Medical Science, Yasuj, Iran

2. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

E-mail: mortezazare.env@gmail.com

Received: 9 Jan 2016 ; Accepted: 28 May 2016

ABSTRACT

Background: Polychlorinated biphenyls (PCBs) are toxic xenobiotic compounds that are extremely persistent in the environment. Use of plants for the treatment of polluted sites, has been used successfully to removal of variety of organic compounds, including PCBs. In this study the effects of polychlorinated biphenyls evaluated on bacterial populations of two plants onobrychis.s and sorghum single and mixed plants cultivation.

Materials and methods: The soil samples were collected from ranges (0–20cm Depth) of Yasuj city, province of Kohqiluyeh & Buyerahmad and then polluted with different concentrations of PCBs (0, 100, 200,400,800 ppm). Soil bacterial population was measure than dilution series (Serial method), and, expressed as cfu_g^{-1} dry soil. At the end of the study (120 days after planting), plants were separated from the soil.

Result: According to the results, average bacterial population in the soil with plant in compare by soil without the plant had a significant difference ($p < 0.05$) between of different modes have the greatest impact on the population of bacteria mix culture> sorghum> onobrychis. S. root/shoot ratios have the greatest amount in mix culture (90%) and after onobrychis.s (72%) and sorghum (63 percent)

Conclusion: According to the results of mix culture to single it caused more stimulate of bacteria and increase their numbers in the rhizosphere zone. In generally mix culture + surfactant (Tween80) were as the best mod.

Keyword: Phytoremediation, Sorghum, Onobrychis.s, Mix culture, Surfactant