اولین همایش ملی گیاه پالایی

کرمان، ۲۷ بهمن ماه ۱۳۹۰

افزایش کارایی گیاه پالایی برخی آلاینده های آلی و معدنی در خاک با استفاده از قارچهای اندوفایت

نویسندگان: محسن سلیمانی[۱]، محمدعلی حاج عباسی[۲] و مجید افیونی[۲]

آدرس[۱]: گروه خاکشناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

آدرس[۲]: : گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

چکیده: گیاه پالایی به عنوان یکی از روشهای نوین پالایش محیطهای آلوده با وجود مزایای بسیار، محدودیتهایی نیز دارد که از مهمترین آنها محدودیت رشد گیاه در محیطهایی است که سمیت آلاینده (ها) بالاست. لذا در سالهای اخیر استفاده از گیاهانی که دارای رابطه همزیستی با باکتریها و قارچها می باشند، به عنوان یک راهکار طبیعی برای افزایش کارایی این روش مطرح شده است. در این پژوهش تاثیر حضور قارچهای اندوفایت همزیست با گیاهان *Festuca arundinacea* و *Festuca pratensis* بر غلظت آلاینده های نفتی، کادمیم و آرسنیک در محیط خاک بررسی شده است. نتایج بیانگر تاثیر معنی دار ($p<0.05$) گیاهان حاوی اندوفایت در کاهش غلظت برخی آلاینده های نفتی (هیدروکربنهای آلیفاتیک با زنجیره ۱۰ تا ۲۵ کربن) در محیط خاک و نیز انباشت بیشتر کادمیم در اندام هوایی گیاهان مذکور در مقایسه با گیاهان بدون قارچ بود. تجزیه هیدروکربنهای آروماتیک چندحلقه ای مورد مطالعه در محیط ریشه و انباشت آرسنیک در کل بافتهای گیاهی در گیاهان (با و بدون اندوفایت) اختلاف معنی دار نشان نداد. حضور قارچهای اندوفایت در گیاه می تواند از طریق افزایش مقاومت گیاه به تنشهای محیطی و نیز افزایش زیست توده، کارایی گیاه پالایی را افزایش دهد.

کلمات کلیدی: *گیاه پالایی، قارچهای اندوفایت، آلاینده های نفتی، کادمیم، آرسنیک*

مقدمه

آلودگی خاک و روش های حذف آلاینده ها یکی از مهم ترین موضوع هایی است که در ده ه های اخیر به آن توجه زیادی شده است. با توجه به اهمیت آلاینده های آلی و معدنی در سلامتی انسان و محیط زیست، پاک سازی آن ها از محیط امری ضروری است. روش های مختلفی برای حذف آلاینده های خاک وجود دارد که به طور کلی به سه دسته شیمیایی، فیزیکی و زیستی (بیولوژیکی) تقسیم می شوند. به علت آثار جانبی روش های فیزیکی و شیمیایی و نیز به دلیل هزینه های بالای آن ها، در سال های اخیر به روش های زیستی و به ویژه گیاه پالایی توجه زیادی شده است . گیاه پالایی به استفاده از گیاهان برای حذف، تثبیت و برداشت آلاینده های آلی و معدنی گفته می شود که روشی سازگار با محیط زیست، ارزان قیمت و قابل استفاده در سطح وسیع است (Pilon-Smits, 2005) . پژوهش های جدید در این زمینه به افزایش کارایی این روش معطوف شده است. یکی از جدیدترین راهکارهای پیشنهاد شده برای افزایش کارایی گیاه پالایی ، استفاده از روابط همزیستی باکتری ها و قارچ ها با گیاهانی است که برای فرآیند گیاه پالایی استفاده می شوند(Soleimani et al., 2010, 2011). قارچ های اندوفایت که به طور سیستمیک در اندام هوایی برخی گیاهان علفی وجود دارند ، قادر به افزایش مقاومت گیاه میزبان به تنش های زیستی (مانند آفات و بیماریها) و غیر زیستی (مانند خشکی،

شوری و سمیت فلز ها) هستند (Malinowski and Belesky, 2000). تاثیر قارچهای اندوفایت بر افزایش تحمل گیاه به سمیت عناصر مس، روی و آلومینیوم گزارش شده است (Malinoski and Belesky, 2000; Bonnet et al., 2000; Monnet et al., 2001). در این پژوهش، کارایی پالایش عناصر کادمیم، آرسنیک و هیدروکربنهای نفتی در محیط خاک به وسیله دو گیاه مرتعی (فسکیوی بلند و فسکیوی مرتعی) بررسی شده است.

مواد و روشها

گیاهان مورد استفاده شامل گیاه فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea*) و فسکیوی مرتعی (*Festuca pratensis*) با و بدون قارچهای اندوفایت *Neotyphodium* بودند که به روش رنگ آمیزی با رزبنگال و مشاهده قارچها در زیر میکروسکوپ تشخیص داده شدند (Saha et al., 1988). از دو نوع خاک در این پژوهش استفاده شد؛ یکی خاک سطحی (۰ تا ۳۰ سانتی متر مزرعه لورک دانشگاه صنعتی اصفهان) که در محیط آزمایشگاه به عناصر کادمیم و آرسنیک آلوده شد (۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک در هر گلدان از هر عنصر به صورت جداگانه) و دیگری خاک منطقه پالایشگاه تهران که به هیدروکربنهای نفتی آلوده بود. کشت پنجه های گیاهان ذکر شده در خاکهای آلوده به کادمیم و آرسنیک به مدت ۲ ماه و در خاکهای آلوده به نفت به مدت ۷ ماه در شرایط گلخانه ای در مجموعه گلخانه های تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. گلدانهای آلوده شده به کادمیم و آرسنیک ۲ هفته پس از استقرار گیاه با محلول ۲۰ میلی مولار نیتریلوتری استات (NTA) نیز تیمار شدند. حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستمII (Fv/Fm) یک هفته قبل از برداشت گیاهان با استفاده از کلروفیل فلوریمتر (Hansatech) اندازه گیری شد. در پایان آزمایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه و غلظت کادمیم و آرسنیک ریشه و اندام هوایی) با استفاده از دستگاه های جذب اتمی (Perkin Elmer) مجهز به شعله و کوره گرافیتی اندازه گیری گردید. غلظت 19 ترکیب هیدروکربن آروماتیک چندحلقه ای و نیز کل هیدروکربنهای نفتی قبل و بعد از کشت گیاه در خاک و گیاه با استفاده از دستگاههای GC-FID و GC-MS در دانشگاه کپنهاگ دانمارک اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز، جمعیت کل باکتریها و نیز باکتریهای تجزیه کننده نفت نیز در خاک آلوده به نفت، قبل و بعد از کشت گیاهان اندازه گیری شد (Soleimani et al., 2010). تجزیه و تحلیلهای آماری با استفاده از نرم افزار SAS و تفاوت میانگینها با درنظر گرفتن آزمون توکی در سطح ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که گیاهان مورد مطالعه پتانسیل قابل توجهی در انباشت کادمیم در ریشه و اندام هوایی خود دارند که چند برابر مقدار استاندارد معین شده برای گیاهان بیش انباشتگر کادمیم (بیش از ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک) بود (جدولهای ۱ و ۲). با این وجود، پتانسیل انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی در این گیاهان کمتر از مقدار به دست آمده برای گیاهان بیش انباشتگر بود (ضریب انتقال کمتر از یک). به نظر می رسد توانایی گیاه فسکیوی مرتعی نسبت به فسکیوی بلند برای جذب و انباشت کادمیم در بافت های گیاهی بیشتر است . وجود قارچ های اندوفایت موجب افزایش کار ایی گیاه پالایی کادمیم از طریق تولید زیست توده بیشتر (۸ تا ۲۶٪)، افزایش انباشت این عنصر در بافت های گیاه (۶ تا ۱۶٪) و نیز افزایش تحمل گیاه به تنش کادمیم گردید. نتایج مربوط به پارامتر Fv/Fm به تنش کمتر در گیاهان حاوی اندوفات نسبت به گیاهان بدون اندوفایت اشاره داشت. اضافه کردن

کلات NTA منجر به افزایش ۱/۵ تا۳ برابری انباشت کادمیم در اندام های گیاه (جدولهای ۱ و ۲) و انتقال بیشتر آن از ریشه ها به اندام های هوایی گردید که این امر در فرآیند گیاه پالایی شاخصی مهم محسوب می شود .به دلیل تحمل بیشتر گیاهان دارای اندوفایت به غلظت های بالای کادمیم، به نظر می رسد که استفاده از این گیاهان می تواند برای پالایش خاک هایی که میزان آلودگی کادمیم آن ها بالاست، مانند خاک های نزدیک به صنایع ذوب فلز ها، موثر باشد.

میزان انباشت آرسنیک در گیاهان مورد مطالعه پایین تر ازآستانه تعریف شده برای گیاهان بیش انباشتگر(بیش از ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه) بود. وجود قارچ های اندوفایت در گیاه منجر به کاهش انتقال آرسنیک از ریشه به اندام هوایی گردید . وجود آرسنیک در محیط به کاهش زیست توده ریشه و اندام هوایی گیاهان مورد مطالعه (با و بدون اندوفایت) منجر شد که بیانگر تنش زیستی وارد شده به گیاهان و اختلال در رشد آنها بود . اضافه کردن کلات NTA به خاک باعث افزایش معنی دار برداشت آرسنیک توسط گیاه از خاک شد ولی اثری بر انتقال آن از ریشه به اندام هوایی نداشت. بنابراین استفاده از گیاهان مذکور (با و بدون قارچهای اندوفایت) برای گیاه پالایی خاکهای آلوده به آرسنیک توصیه نمی شود.

کشت گیاهان مورد مطالعه (با و بدون اندوفایت) منجر به افزایش تجزیه کل هیدروکربن های نفتی (از ۳۰ به ۷۰٪) و نیز افزایش تجزیه هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (از ۲۰ به ۶۰٪) در خاک شد . تفاوتی در تجزیه هیدروکربنهای نفتی در ریزوسفر دو گیاه مشاهده نشد . کشت گیاهان مذکور در خاک موجب افزایش کل باکتری های خاک و باکتری های تجزیه کننده نفت، افزایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک و مقدار ترکیب های فنولی موجود در خاک گردید . گیاهان حاوی اندوفایت توانایی بیشتری (حدود ۱۰٪ کارایی بیشتر) درافزایش تجزیه کل هیدروکربن های نفتی و آلکان های با زنجیره ۱۰ تا ۲۵ کربن در محیط ریشه نشان دادند. علت این امر می تواند افزایش زیست توده ریشه ، افزایش ترشحات ریشه (مانند ترکیب های فنولی محلول در آب) به خاک و به تبع آن افزایش فعالیت ریزسازواره های تجزیه کننده نفت در خاک باشد. لذا به نظر می رسد کشت گیاهان مورد مطالعه که حاوی اندوفایت هستند برای گیاه پالایی هیدروکربن های نفتی در خاک مفید خواهد بود.

جدول ۱- کادمیم انباشت شده در ریشه و اندام هوایی گیاهان (با و بدون اندوفایت ، E^-, E^+) در غلظتهای مختلف کادمیم و در حضور کلات NTA در خاک

	فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea*)								فسکیوی مرتعی (*Festuca pratensis*)							
	E^+				E^-				E^+				E^-			
	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}
اندام هوایی	ND	۱۴۱/۱ f	۲۰۸/۳ c	۳۱۸/۵ b	ND	۵۸/۳ i	۹۵/۲ h	۱۵۵/۹ e	ND	۱۱۷/۵ g	۲۱۰/۷ c	۳۸۷/۱ a	ND	۹۹/۲ h	۱۳۵/۳ f	۱۹۶/۵ d
ریشه	ND	۸۹/۸ i	۱۹۴/۹ e	۳۳۶/۷ b	ND	۹۱/۰ i	۱۷۷/۱ f	۲۴۸/۸ d	ND	۱۵۲/۱ g	۲۴۷/۱ d	۴۰۴/۶ a	ND	۱۳۹/۰ h	۲۳۹/۸ d	۳۱۵/۲ c

حروف غیر یکسان در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون توکی است. ND: به وسیله دستگاه شناسایی نشده است.

جدول ۲- کادمیم انباشت شده در ریشه و اندام هوایی گیاهان (با و بدون اندوفایت ، E^-, E^+) در غلظتهای مختلف کادمیم بدون اضافه کردن کلات NTA به خاک

	فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea*)								فسکیوی مرتعی (*Festuca pratensis*)							
	E^+				E^-				E^+				E^-			
	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}	Cd_0	Cd_{10}	Cd_{20}	Cd_{40}
اندام هوایی	ND	۳۲/۹ gh	۶۶/۵ d	۹۸/۶ b	ND	۲۵/۲ h	۴۹/۸ e	۸۰/۳ c	ND	۳۸/۹ f	۸۶/۲ c	۱۳۰/۸ a	ND	۲۹/۱ h	۶۳/۳ d	۱۰۰/۲ b
ریشه	ND	۶۰/۹ j	۱۳۷/۴ f	۲۴۴/۷ b	ND	۴۳/۲ k	۹۱۰/۳ g	۱۷۲/۰ de	ND	۹۵/۰ h	۱۸۲/۷ d	۳۰۲/۸ a	ND	۸۷/۱ hi	۱۵۰/۰ f	۲۳۰/۴ c

حروف غیر یکسان در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون توکی است. ND: به وسیله دستگاه شناسایی نشده است.

فهرست منابع:

Bonnet, M., Camares, O., and Veisseire, P. (2000). Effects of Zinc and Influence of *Acremanium lolli* on Growth Parameters, Chlorophyll a Fluorescence and Antioxidant Enzyme Activities of Ryegrass (*Lolium Perenne* L. cv Apollo). J. Exp. Botany, 346: 945-953.

Malinowski, D. P., and Belesky, D. P. (2000). Adaption of Endophyte Infetced Cool-season Grasses to Environmental Stresses: Mechanisms of Drought and Mineral Stress Tolerance. Crop Sci., 40: 923-940.

Monnet, F., Vaillant, N., Hitmi, A., Coudret, A., and Sallanon, H. (2001). Endophytic *Neotyphodium lolli* Induced tolerance to Zn stress in *Lolium perenne*. Physiol. Plant, 113:557-563.

Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Biol., 56: 15-39.

Saha, D. C., Jackson, M. A., and Johnson-Cicalese, J. M. (1988). A Rapid Staining Method for Detection of Endophytic Fungi in Turf and Forage Grasses. Phytopathol., 78: 237-239.

Soleimani M., Akbar, S. and Hajabbasi, M. A. (2011) Enhancing Phytoremediation Efficiency in Response to Environmetal Pollution Stress. In: Plants and Environment. Hemanth KN. Vasanthaiah and Devaiah Kambiranda (Eds.). InTech-Open Access Publisher. First Edition. pp. 1-14. ISBN: 978-953-307-779-6.

Soleimani, M., Afyuni, M., Hajabbasi ,M. A., Nourbakhsh, F., Sabzalian, M. R., and Christensen, J. H. (2010) Phytoremediation of an Aged Petroleum Contaminated Soil using Endophyte Infected and Non-infected Grasses. Chemosphere, 81: 1084-1090.

Enhancing Phytoremediation Efficiency of some Organic and Inorganic Pollutants in Soil using Endophytic Fungi

Mohsen Soleimani[1], Mohammad Ali Hajabbasi[2] and Majid Afyuni[2]

[1]Department of Soil Science, Agricultural Faculty, The University of Guilan

[1]Department of Soil Science, Agricultural Faculty, Isfahan University of Technology

Abstract: Phytoremediation, as a new method of remediation of contaminated media not only has a lot of benefits, but also includes some limitations such as plant growth limitation in response to high toxicity of pollutants. Thus, using plant symbiosis with bacteria and fungi has been considered as a natural method to enhance efficiency of the techniques nowadays. Effect of endophytic fungi presented in two plant species (*Festuca arundinacea* Schreb. and *Festuca pratensis* Huds.) on dissipation of soil petroleum hydrocarbons and cadmium (Cd) and arsenic (As) accumulation by the plants has been investigated. Results revealed that endophyte- infected plants could significantly enhance dissipation of some petroleum hydrocarbons (e.g. n-alkanes in C10-C25 chain lengths) and also accumulated more Cd in their shoots in comparison to non-infected plants ($p<0.05$). There was no significant difference in dissipation of soil polycyclic aromatic hydrocarbons and plant As accumulation in infected and non-infected plants. Endophyte infected plants could be effective in enhancement of phytoremediation efficiency via increasing plant tolerance to environmental stresses, and increasing plant biomass as well.