بررسی فروزینگی زیستی ترکیبات نفتی، فعالیت برخی از آنزیم‌ها و عملکرد گیاه شبدر در خاک آلوده به نفت خام

وحید سروی مغانلو[۱*]، مصطفی چرم[۱]، حسین معتمدی[۲]، بهرام علیزاده[۳] و شاهین اوستان[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۱/۱۱)

چکیده

آنزیم‌ها به عنوان کاتالیزور نقش اساسی در فرایندهای متابولیکی مهم مثل تخریب و تجزیه ترکیبات آلی وارد شده به خاک و رفع سمیت آنها دارند. هدف از این پژوهش، بررسی فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، اوره‌از، لیپاز و فسفاتاز و هم‌چنین فراوانی باکتری‌های هتروتروف و تجزیه‌گر، اندازه‌گیری تنفس خاک و عملکرد گیاه در طی فرآیند زیست بهسازی خاک‌های آلوده بود. برای این منظور دو خاک آلوده با سطح آلودگی ۱ و ۲ درصد آماده گردید و چهار تیمار کشت گیاه شبدر (T۱)،کشت گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز(T۲)، کشت گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر(T۳)، کشت گیاه همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز و باکتری‌های تجزیه‌گر نفت(T۴) برای فرایند زیست بهسازی خاک آلوده به کار گرفته شد. سپس پارامترهای فوق در پنج مرحله در طول دوره زیست بهسازی و نهایتاً عملکرد گیاه در انتهای این دوره تعیین شد. نتایج این مطالعات نشان داد که فعالیت آنزیم‌های اوره‌از و دهیدروژناز همراه با افزیش و کاهش آلاینده‌ها به ترتیب افزایش و کاهش یافت. در حالی‌که فعالیت آنزیم لیپاز رفتار عکس فعالیت این آنزیم‌ها را نشان داد به طوری که در سطوح بالای آلودگی با کاهش فعالیت همراه بوده و با افزایش تجزیه ترکیبات آلاینده و کاهش میزان آنها میزان فعالیت آنها افزایش می‌یابد، بنابراین می‌تواند گزینه مناسبی برای بررسی روند زیست بهسازی خاک‌های آلوده باشد. در مورد نتایج فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف میزان آنها با افزایش سطح آلودگی افزایش یافته و میزان باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروترف با کاهش میزان آلاینده‌ها بخصوص در تیمارهای با مایه‌زنی میکوریزا کاهش می‌یابد. عملکرد گیاه و میزان تجزیه ترکیبات نفتی نیز در تیمارهای با مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر بیشترین میزان بود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، باکتری‌های تجزیه‌گر، میکوریزا، مایه‌زنی، زیست بهسازی

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲. استادیار زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳. دانشیار زمین شناسی نفت، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
۴. استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: vsarvi@gmail.com

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

مقدمه

رشد روز افزون فعالیت‌های صنعتی از یک سو و رعایت نکردن الزامات زیست محیطی از سوی دیگر سبب شده است تا در چند دهه گذشته مقادیر زیادی از آلاینده‌های هیدروکربنی به واسطه عواملی مانند دفع و دورریزی نادرست فاضلاب‌ها و ضایعات مراکز صنعتی، پخش آلاینده از مخازن نفتی زیرزمینی و ایستگاه‌های سوخت‌گیری، تصادف تانکرها و نفتکش‌ها و غیره، وارد محیط زیست شوند (۷). خاک‌های مناطق خشک به دلیل دارا بودن مقادیر کم ماده آلی می‌توانند به طور مستقیم در جذب هیدروکربن‌ها و به صورت غیر مستقیم در تخریب هیدروکربن‌ها مؤثر باشند (۱۷). وجود هیدروکربن‌های نفتی در خاک می‌تواند سبب بروز سمیت برای انسان‌ها و سایر موجودات زنده شود و موجبات آلودگی منابع آب، ایجاد سمیت و بیماری برای انسان و سایر موجودات زنده را به دنبال دارد، باید به نحوی از محیط زیست حذف شوند(۱). دو فاکتور عمده در فعالیت آنزیمی تأثیرگذار هستند که شامل فاکتورهای محیطی مثل شرایط جغرافیایی، عمق و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و فاکتورهای انسانی از جمله آلودگی با عناصر سنگین، آلاینده‌های آلی و غیره است. توسعه تمدن و پیشرفت‌های صنعتی انسان نقش مهمی در تغییر فعالیت‌های آنزیمی خاک ایفا می‌کنند(۴). آنزیم‌ها به خاطر نقش اساسی‌شان که در محیط خاک دارند ابزار شایسته‌ای برای بررسی و دیدن تأثیرات آلاینده‌ها روی خاک و روند زیست بهسازی هستند. چرا که آنزیم‌های خاک کاتالیزور فرایندهای متابولیکی مهم مثل تخریب و تجزیه ترکیبات آلی وارد شده به خاک و رفع سمیت و مضرات آنها می‌باشند. با توجه به نقش حیاتی آنها در تخریب هیدروکربن‌ها بهره‌گیری از آنها برای بررسی روند تجزیه و تخریب آلاینده‌ها امری شگفت انگیز نمی‌باشد(۶). در این راستا در اکثر مطالعات انجام شده چه به صورت آزمایشگاهی و چه به صورت مزرعه‌ای بیشتر از آنزیم‌های لیپاز، دهیدروژناز، کاتالاز و اوره‌از بهره‌گیری شده است. بیشتر این بررسی‌ها نشان داده‌اند کاربرد برخی از آنزیم‌ها مانند لیپاز پتانسیل بالایی در بررسی فرایند زیست بهسازی خاک دارند(۱۳). از سوی دیگر از نتایج مطالعه رفتارهای بیولوژیکی خاک برای انتخاب و توسعه روش مناسب زیست بهسازی آلاینده‌ها در خاک‌های آلوده استفاده می‌شود(۴). از طرف دیگر آنزیم‌ها به خاطر فراهم کردن بخشی از عناصر مورد نیاز گیاه نقش مهمی را در رشد و عملکرد گیاه دارند. با توجه به عوامل فوق بررسی تغییرات آنزیم‌ها و فرایندهای متابولیکی خاک می‌توانند در انتخاب راهکارهای مناسب زیست بهسازی مؤثر واقع شود.

عامل کلیدی در زیست بهسازی، موجودات زنده ذره‌بینی و باکتری‌ها هستند که قادر به رشد وحیات با حداقل شرایط است. موجودات زنده ذره‌بینی به عنوان ابزار مناسب برای تخریب آلاینده‌ها بوده، زیرا که آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که به آنها اجازه می‌دهد که از آلاینده‌ها به عنوان منبع غذایی استفاده کنند از طرف دیگر نیز آنها به خاطر اندازه کوچک و سطح ویژه بالا به راحتی با این آلاینده‌ها تماس پیدا می‌کنند، که در زیست بهسازی در جا می‌تواند به عنوان یک روش با کارایی بلند مدت مدنظر قرار گیرد. بدون فعالیت موجودات زنده ذره‌بینی، زمین و خاک قطعاً توسط این ضایعات از بین می‌رفتند و عناصر غذایی مورد نیاز اکثر گیاهان در گرو فعالیت این ریز جانداران است (۲۲). اگرچه موجودات زنده ذره‌بینی در تخریب آلاینده‌های حاصل از فعالیت انسان کارا می‌باشند در کل تخریب این آلاینده‌ها به سه عامل: نوع موجودات زنده ذره‌بینی، نوع آلاینده‌ها و شرایط شیمیایی و ژئولوژیکی منطقه آلوده وابسته است (۱۷).

استان خوزستان نیز با ذخایر فراوان نفت و گاز مهم‌ترین مرکز نفتی ایران به شمار می‌آید. در سال‌های گذشته با توجه به رشد جمعیت و توسعه پالایشگاه‌ها، استخراج و ترابری مواد نفتی نیز افزایش یافته است. در این بین عدم رعایت الزامات زیست محیطی از یک سو و رهاسازی ضایعات هیدروکربنی از طرف دیگر موجب شده که مقادیر فراوانی از آلاینده‌های هیدروکربنی وارد محیط زیست شده و امروزه به عنوان معضل بزرگی برای محیط زیست و اکوسیستم خوزستان درآمده

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

است(۱). هدف از این مطالعه بررسی روند تغییرات فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، اوره‌از، لیپاز، فسفاتاز و هم‌چنین تغییرات جمعیتی باکتری‌های هتروتروف و تجزیه‌گر و اندازه‌گیری تنفس خاک در خاک‌های آلوده به نفت خام و استفاده از نتایج آنها برای بررسی روند تجزیه ترکیبات نفتی در خاک آلوده بود.

مواد و روش‌ها

الف) گردآوری و آماده‌سازی نمونه خاک

جهت انجام این پژوهش خاک لازم از لایه رویین (۳۰cm-۰) خاک‌های کشاورزی غیر آلوده پیرامون چاه‌های نفت مارون اهواز جمع‌آوری شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک بررسی شده شامل بافت خاک به روش هیدرومتری، درصد کربن آلی به روش اکسایش تر، گنجایش تبادل کاتیونی به روش استات آمونیوم، واکنش خاک در گل اشباع و هدایت الکتریکی خاک در عصاره گل اشباع تعیین شد(۱۸). خاک با مقادیر ۱ و ۲ درصد وزنی از نفت خام که از نزدیک‌ترین چاه به منطقه نمونه برداری شده بود، به طور مصنوعی آلوده شد. برای این منظور نفت خام با نسبت ۵:۱ در کلروفرم حل گردید و روی خاک با رطوبت ۱۰ درصد وزنی در روی ظروف شیشه‌ای مسطح اسپری گردید و برای توزیع یک‌نواخت و جذب سطحی آلاینده‌ها نمونه‌ها به مدت دو هفته در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند و طی این مدت خاک‌ها در حد رطوبت ظرفیت زراعی آبیاری شده و کاملاً زیرورو و مخلوط شدند.

ب) آماده‌سازی تیمارها

برای زیست بهسازی خاک‌های آلوده از چهار تیمار بهره‌گیری شد که شامل: ۱- کشت گیاه شبدر(T۱) ۲- کشت گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز(T۲)۳- کشت گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر(T۳) ۴- کشت گیاه همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز و باکتری‌های تجزیه‌گر نفت(T۴) بودند.

در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌های تجزیه‌گر نفت، باکتری‌های تجزیه‌گر دو هفته پیش از کاشت گیاه به نمونه خاک‌های آلوده افزوده شد. در این پروژه از باکتری‌های تجزیه‌گر بومی *سودوموناس*، *استینوباکتر*، *مورکسلا* و *استافیلوکوکوس* که از خاک‌های مناطق آلوده جداسازی شده بودند، بهره‌گیری گردید. برای این منظور ابتدا این باکتری‌ها در محیط کشت مایع TSB به مدت یک هفته و دمای $۲۵^{°C}$ تکثیر داده شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از این محیط با ۰/۵ =OD (میزان نور عبوری اندازه‌گیری شده با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر) به ازای هر کیلوگرم خاک روی خاک آلوده اضافه گردید. و به همراه سایر نمونه خاک‌ها در شرایط مشابه در گلخانه قرار داده شدند. پس از دو هفته در هر گلدان آزمایش که دارای ۵ کیلوگرم خاک بود، ۲۰ عدد بذر شبدر کاشته شد. در تیمارهای دارای قارچ میکوریزا (جنس *Arbescolar-vezicolar* گونه *Glomus intraradices*) ۲۰گرم از مایه آن در عمق ۳ سانتی‌متری از سطح خاک به صورت یک لایه گذاشته شد. یک نمونه شاهد بدون هیچ تیمار با سطح آلودگی ۱/۵ درصد آماده و در تمام مراحل آزمایش در شرایط مشابه با سایر نمونه‌ها نگهداری شد.

ج) آنالیزهای بیولوژیکی

پارامترهای بیولوژیکی اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل شمارش باکتری‌های تجزیه‌گر نفت با روش (MPN) و به کمک محیط کشت بوشنل هاس تهیه شده طبق روش ونوسا و ورن (سولفات منیزیم ۰/۲گرم بر لیتر، کلرید کلسیم ۰/۲ گرم بر لیتر، منوفسفات پتاسیم ۱ گرم بر لیتر، فسفات دی آمونیوم ۱ گرم بر لیتر، نیترات پتاسیم ۱ گرم بر لیتر، کلرید فریک ۰/۵ گرم بر لیتر، ۲ درصد وزنی کلرید سدیم با pH=۷/۲) باکتری‌های هتروتروف به روش شمارش کلونی بر روی محیط کشت(۱۷)، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های لیپاز به روش تیتراسیون (Pakorna modification 1964)، اوره از با روش رنگ سنجی (Zantua and Bremner 1977)، هیدروژناز با روش بستره TTC(Talman modification 1968) و فسفاتاز با روش بستره پارانیتروفنل فسفات (Bremner and Tabataei modification 1969) به

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

همراه اندازه‌گیری تنفس خاک با استفاده از روش تیتراسیون (Ayzermayer modification 1952) در پنج مرحله به ترتیب دو هفته بعد از افزودن آلاینده‌ها، هنگام کشت گیاه شبدر، سه، شش و هشت هفته پس از کشت گیاه بود (۱۶).

د) برداشت اندام‌های گیاهی

پس از پایان هشت هفته اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) هر گلدان از قسمت طوقه جداشده و وزن تر آنها محاسبه گردید و برای جداسازی ریشه‌ها از خاک روش الک مرطوب استفاده شد. به این‌صورت که خاک هر گلدان به همراه ریشه‌های موجود در آن خارج شده و درون الک درون ظرف آب تا جدا شدن کامل ذرات خاک تکان داده شد و سپس وزن آن محاسبه گردید.

ه) استخراج نفت از خاک به روش سوکسیله

به منظور تعیین غلظت کل ترکیبات نفتی در خاک از روش عصاره‌گیری به روش سوکسیله با نسبت مساوی ان هگزان و دی کلرومتان (روش شماره ۸۱۰۰ سازمان حفاظت محیط زیست امریکا) استفاده شد(۵).

د) پردازش داده‌ها

برای تجزیه آماری داده‌ها نیز از نرم‌افزار SPSS و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ای کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن استفاده شد.

بحث و نتایج

الف) مشخصات فیزیکو شیمیایی خاک

خاک آزمایش شده دارای بافت لومی ،pH= ۷/۸ EC=۶dS/m همراه با گنجایش تبادل کاتیونی ۹/۵ meq/100gr و کل کربن آلی خاک نیز۰/۸۴ mg/kg است

.

ب) تجزیه و پالایش ترکیبات نفتی

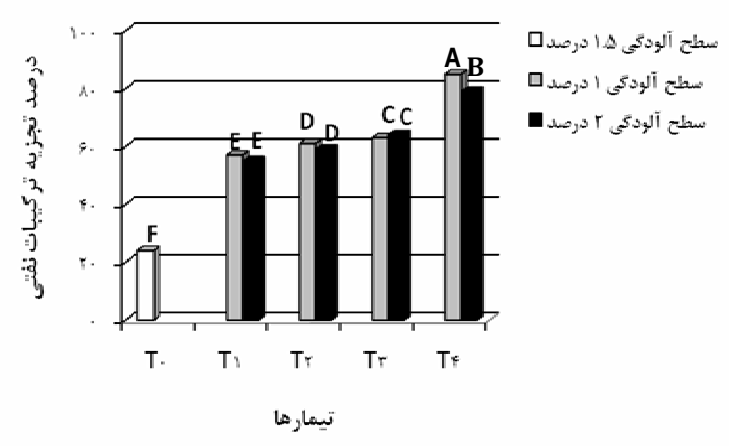
با بررسی نتایج به دست آمده از مقدار ترکیبات نفتی استخراج شده به وسیله سوکسیله چنین برداشت می‌شود که تیمار دریافت کننده مایه میکوریزا به همراه باکتری‌های تجزیه‌گر بیشترین بازدهی را در پالایش ترکیبات نفتی داشتند. به گونه‌ای که در سطح آلودگی ۱ درصد توسط این تیمار ۸۵ درصد تجزیه آلاینده‌های آلی دیده شد، در برابر آن در سطح آلودگی ۲ درصد میزان تجزیه توسط این تیمار ۷۹ درصد بود. میان تجزیه ترکیبات آلی در هر چهار تیمار در هردو سطح آلودگی نسبت به تیمارشاهد با میزان تجزیه ۲۴ درصد تفاوت معنی‌داری درسطخ ۵ درصد دیده شد. از سوی دیگر مقایسه نتایج بازدهی تیمارها بین دو سطح آلودگی ۱ و ۲ درصد بیانگر این است که فقط در تیمار T۴ تفاوت معنی‌داری بین بازدهی تیمارها وجود دارد (شکل۱). در واقع میکوریزا نقش خود را در افزایش تجزیه آلاینده‌های آلی از راه تغییر ساختار میکروبی ریزوسفر و میکوریزوسفر، ایجاد محیط مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها به واسطه افزایش حجم ریشه و ریزوسفر و افزایش ترشحات ریشه اعمال می‌کند (۸). در این صورت حضور هم‌زمان میکوریز با باکتری‌های تجزیه کننده می‌تواند میزان تجزیه و تخریب را افزایش دهد. حضور میکوریزا می‌تواند به عنوان عامل برطرف کننده محدودیت مایه‌زنی میکروارگانیسم‌های تجزیه‌گر، که شامل محدودیت اکسیژن و عناصر غذایی است، عمل کند(۱۹). نتایج مطالعات آلرسون و همکاران نشان داد که در بین چهار تیمار بررسی شده مشابه با این پروژه تیمار دریافت کننده مایه باکتری و میکوریزا با ۵۹ درصد تخریب آلاینده‌های هیدروکربنی بیشترین بازدهی را در بین تیمارها داشته و میان میزان تجزیه هر چهار تیمار نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری گزارش شد(۲).

ج) شمارش باکتری‌های هتروتروف و تجزیه‌گر نفت

نتایج شمارش باکتری‌های خاک نشان داد که با افزایش سطح آلودگی فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر افزایش می‌یابد و میان تیمارهای آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دیده شد، حتی بین سطوح آلودگی ۱و۲ درصد نیز تفاوت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]



شکل ۱. راندمان تیمارهای T۰: تیمار شاهد T۱:تیمار کشت شبدر T۲:کشت شبدر با مایه‌زنی میکوریزا T۳:کشت شبدر با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر T۴:کشت شبدر با مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر برای تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در سطوح مختلف آلودگی

معنی‌دار در سطح ۵ درصد دیده شد(جدول۱). که ناشی از استرس اکولوژیکی مثبت (افزایش فعالیت میکروبی خاک) به وجود آمده در اثر ورود آلاینده‌ها به خاک می‌باشد که در آن باکتری‌ها از این آلاینده‌ها به عنوان منبع جدید کربن و انرژی استفاده می‌کنند. نتایج مطالعات مارگسین و همکاران در مورد روند تغییرات جمعیت باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف نشان داد که بعد از اضافه شدن ترکیبات نفتی شمار باکتری‌های تجزیه‌گر افزایش می‌یابد(۱۴). تعداد باکتری‌های هتروترف پس از دو هفته از افزودن آلاینده‌ها در تمامی تیمارها به جز تیمارهای حاوی مایه میکوریزا و باکتری تجزیه‌گر تقریباً ثابت مانده بود و بین تیمارها و زمان‌های مختلف آزمایش تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دیده نشد (جدول۲). نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر تقریباً برابر با باکتری‌های هتروتروف است که عمدتاً می‌تواند ناشی از سازگاری باکتری‌های هتروترف با شرایط حاکم بر خاک باشد. هم‌چنین نتایج نشان‌دهنده یک افزایش سریع در فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروترف بعد از رشد گیاه است که ناشی از اثر تحریک کننده ریشه‌ها می‌باشد چرا که ترشحات گیاه یک منبع غذایی برای باکتری‌ها محسوب می‌شود. میکوریزا به واسطه افزایش حجم ریشه محیط بزرگ‌تری را محیط ایدال برای فعالیت باکتری‌ها تبدیل می‌کند همین امر نیز باعث شده که فراوانی باکتری‌ها در تیمارهای حاوی میکوریزا در سطح ۵ درصد به طور معنی‌داری بیش از سایر تیمارها باشد. نکته دیگری که از نتایج به دست آمده می‌توان برداشت کرد این است که در تیمارهایی که تجزیه و تخریب آلاینده‌ها به مقدار کم صورت گرفته، فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف در طول هفته‌های سوم، ششم و هشتم تقریباً ثابت باقی‌مانده در حالی‌که در تیمارهایی که کاهش قابل ملاحضه آلاینده‌های نفتی صورت گرفته با یک کاهش در فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف مواجه هستیم که بیشترین کاهش مربوط به تیمارهای دریافت کننده میکوریزا و میکوریزا به همراه باکتری‌های تجزیه‌گر است که این امر می‌تواند ناشی از دو دلیل باشد ۱- آلاینده‌ها به عنوان منبع کربن برای میکروارگانیسم‌ها بوده و با کاهش مقدار آنها و باقی ماندن ترکیبات سنگین‌تر قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌ها به آنها کم شده و میزان آنها پایین آمده است.۲- یکی از وظایف میکوریزا

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

جدول ۱. فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر نفت (MPN. g^{-1}dry soil) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A[a]	B	C	D	F
٪۱	۱[b]	۳/۱×۱۰^{۷b}*	۳/۲×۱۰^{۷b}	۳/۸×۱۰^{۷a}	۳/۷×۱۰^{۷a}	۳/۸×۱۰^{۷a}
	۲	۳/۱×۱۰^{۷b}	۳/۲×۱۰^{۷b}	۳/۹×۱۰^{۷a}	۴/۱×۱۰^{۷a}	۴/۱×۱۰^{۷a}
	۳	۳/۱×۱۰^{۷c}	۵/۸×۱۰^{۷b}	۶/۶×۱۰^{۷a}	۶/۶×۱۰^{۷a}	۶/۶×۱۰^{۷a}
	۴	۳/۱×۱۰^{۷}d	۵/۸×۱۰^{۷b}	۷/۲×۱۰^{۷a}	۶/۹×۱۰^{۷a}	۴/۸×۱۰^{۷c}
٪۲	۱	۳/۸×۱۰^{۷b}	۳/۹×۱۰^{۷a}	۴/۲×۱۰^{۷a}	۴/۲×۱۰^{۷a}	۴/۳×۱۰^{۷a}
	۲	۳/۸×۱۰^{۷b}	۳/۹×۱۰^{۷b}	۴/۴×۱۰^{۷a}	۴/۴×۱۰^{۷a}	۴/۴×۱۰^{۷a}
	۳	۳/۸×۱۰^{۷c}	۶/۱×۱۰^{۷b}	۶/۶×۱۰^{۷a}	۶/۸×۱۰^{۷a}	۶/۲×۱۰^{۷b}
	۴	۳/۸×۱۰^{۷c}	۶/۱×۱۰^{۷b}	۶/۸×۱۰^{۷a}	۶/۸×۱۰^{۷a}	۴/۲×۱۰^{۷c}
٪۱/۵	۰	۳/۶×۱۰^{۷a}	۳/۹×۱۰^{۷a}	۳/۸×۱۰^{۷a}	۳/۱×۱۰^{۷a}	۳ /۱×۱۰^{۷a}

A:a: دو هفته پس از افزودن نفت خام به خاک B: هنگام کاشت بذر C: سه هفته پس از کشت گیاه D: شش هفته پس از کشت گیاه F: هشت هفته پس از کشت گیاه

b ۰: تیمار شاهد ۱ : تیمار کشت شبدر ۲: شبدر با مایه‌زنی میکوریزا ۳: شبدر با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر ۴: شبدر با مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر

* : میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حروف مشترک هستند از نظر آزمون دانکن در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۲. فراوانی باکتری‌های هتروتروف (CFU .g^{-1}dry soil) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۷۸×۱۰^{۶a}	۷۹/۵×۱۰^{۶a}	۸۱×۱۰^{۶a}	۸۱/۵×۱۰^{۶a}	۸۲×۱۰^{۶a}
	۲	۷۸×۱۰^{۶a}	۷۹/۵×۱۰^{۶a}	۸۲/۵×۱۰^{۶a}	۸۲×۱۰^{۶a}	۸۲×۱۰^{۶a}
٪۱	۱	۸۰×۱۰^{۶b}	۸۲×۱۰^{۶ab}	۸۲×۱۰^{۶ab}	۸۵/۵×۱۰^{۶a}	۸۳/۵×۱۰^{۶ab}
	۲	۸۰×۱۰^{۶b}	۸۲×۱۰^{۶b}	۸۶×۱۰^{۶a}	۸۶×۱۰^{۶a}	۸۶×۱۰^{۶a}
	۳	۸۰×۱۰^{۶c}	۹۶×۱۰^{۶b}	۱۰۰×۱۰^{۶a}	۱۰۰×۱۰^{۶a}	۱۰۱×۱۰^{۶a}
	۴	۸۰×۱۰^{۶c}	۱۰۰×۱۰^{۶a}	۱۰۲×۱۰^{۶a}	۱۰۳×۱۰^{۶a}	۹۶×۱۰^{۶b}
٪۲	۱	۸۱×۱۰^{۶a}	۸۲/۵×۱۰^{۶a}	۸۴×۱۰^{۶a}	۸۴/۵×۱۰^{۶a}	۸۴×۱۰^{۶a}
	۲	۸۱×۱۰^{۶b}	۸۳×۱۰^{۶b}	۹۱×۱۰^{۶a}	۹۰×۱۰^{۶a}	۹۱×۱۰^{۶a}
	۳	۸۱×۱۰^{۶b}	۱۰۳×۱۰^{۶a}	۱۰۴×۱۰^{۶a}	۱۰۰×۱۰^{۶a}	۱۰۰×۱۰^{۶a}
	۴	۸۱×۱۰^{۶c}	۱۰۴×۱۰^{۶ab}	۱۰۸×۱۰^{۶a}	۱۰۶×۱۰^{۶a}	۱۰۰×۱۰^{۶b}
٪۱/۵	۰	۸۲×۱۰^{۶a}	۸۵×۱۰^{۶a}	۸۳/۵×۱۰^{۶a}	۸۴×۱۰^{۶a}	۸۴/۵×۱۰^{۶a}

تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه تحت تنش‌های محیطی مثل خاک‌های آلوده است که این امر می‌تواند موجب کاهش میزان عناصر غذایی خاک از یک طرف به همراه کاهش منبع کربن باعث پایین آمدن فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف می‌شود (۹). نتایج مشابهی در تغییر و تحول باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف توسط سونگ و همکاران، سکستون و همکاران در مطالعات قبلی به دست آمده بود (۲۰ و ۲۱). نتایج مطالعات وارده و همکاران نشان‌دهنده یک افزایش سریع در

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

فراوانی باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف بعد از افزودن آلاینده‌ها بود که با گذشت زمان و کاهش میزان آلاینده‌ها میزان آنها کاهش یافته بود(۲۲). مطالعات مارگسین و همکاران نشان‌دهنده چنین روندی در مورد باکتری‌های تجزیه‌گر بود در حالی‌که تعداد باکتری‌های هتروتروف تقریباً ثابت باقی‌مانده بود(۱۴).

د) فعالیت آنزیم‌ها و تنفس خاک

نتایج نشان‌دهنده افزایش سریع و ناگهانی در فعالیت آنزیم‌های اوره از، هیدروژناز و فسفاتاز در تیمارهای آلوده نسبت به تیمار غیر آلوده است در حالی‌که در مورد فعالیت لیپاز در سطح آلودگی ۱ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری نسبت به نمونه غیر آلوده در سطح ۵ درصد دیده نشد اگرچه در سطح آلودگی ۲ درصد کاهش فعالیت آنزیم لیپاز دیده شد و این کاهش نسبت به تیمار غیر آلوده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. در مراحل بعدی با توجه به نوع تیمار اعمال شده آنزیم‌ها رفتارهای متغیری از خود نشان دادند. به عنوان مثال فعالیت آنزیم فسفاتاز بدون توجه به سطح آلودگی، در تیمارهای با مایه‌زنی میکوریزا بالا بود(جدول۳). فعالیت آنزیم‌های اوره‌از و دهیدروژناز بدون توجه به نوع تیمار اعمالی از روند مشخص پیروی می‌کنند(جداول ۴ و ۵) به طوری که تا هفته سوم آزمایش سطح بالای فعالیت خود را حفظ کرده بودند که می‌تواند ناشی از دو دلیل عمده باشد ۱- با افزایش فعالیت و تعداد باکتری‌های تجزیه‌گر و هتروتروف به واسطه استفاده از آلاینده‌ها به عنوان منبع انرژی و کربن فعالیت این آنزیم‌های برون سلولی نیز افزایش یافته است.۲- و یا این‌که می‌تواند ناشی از تحریک کننده ترشحات ریشه گیاه باشد. تغییرات در مراحل بعدی بسته به وضعیت خاک از لحاظ میزان پالایش آلاینده‌ها وضعیت متغییر است، به‌طوری‌که از نتایج به‌دست آمده نیز به وضوح قابل ملاحظه است در تیمارهایی که کاهش قابل ملاحظه آلاینده‌ها صورت گرفته است فعالیت این آنزیم‌ها در اکثر موارد با کاهش ناگهانی همراه است در حالی‌که در تیمارهایی که کاهش قابل ملاحظه آلاینده‌ها صورت نگرفته است، فعالیت این آنزیم‌ها در مراحل بعدی ثابت باقی می‌ماند و یا تغییرات حاصله معنی‌دار نیست.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در تیمارهایی که کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان آلاینده‌ها صورت گرفته است، کاهش میزان منبع کربن و انرژی باعث کاهش فراوانی و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و احتمالاً به واسطه این کار فعالیت این دو آنزیم نیز پایین آمده است. در تیمار با مایه‌زنی قارچ میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر اگرچه بیشترین کاهش آلاینده‌ها را داشتیم اما میزان و روند کاهش فعالیت مشابه تیمارهای دیگر است. بنابراین اگر ملاک اصلی کاهش میزان فعالیت منبع کربن و انرژی (آلاینده‌های هیدروکربنی) باشد، پس باید کاهش شدیدی در فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده می‌کردیم ولی میزان کاهش تقریباً مشابه تیمارهای دیگر می‌باشد که می‌تواند به دلیل حجم بالای ریشه و میزان ترشحات بالای آن باشد.

مطالعات استانیسلاو و همکاران نشان داد که فعالیت‌های آنزیمی خاک از حضور آلاینده‌ها تأثیر می‌پذیرند و در مکان‌های با سطح آلودگی بالاتر از ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم فعالیت آنزیم‌های اوره از، فسفاتاز و پروتئاز افزایش می‌یابد(۳). مدیسوسکا و همکاران و کوچاسک و همکاران گزارش کردند که ورود هیدروکربن‌های نفتی به خاک آثار منفی آنها را روی فعالیت آنزیمی کاهش داده و در اکثر موارد باعث تحریک و افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های خاک می‌شود(۱۰).

میان فعالیت آنزیم لیپاز در خاک‌های آلوده با سطح ۱و ۱/۵ درصد با نمونه غیر آلوده تفاوت معنی‌داری دیده نشد، در حالی‌که در تیمارهای با سطح آلودگی ۲ درصد بلافاصله بعد از اضافه شدن آلاینده‌ها با کاهش فعالیت این آنزیم مواجه بودیم و این سطح فعالیت پایین تا هفته سوم رشد دیده شد و بعد از این مدت فعالیت این آنزیم در تمامی تیمارها اعم از خاک غیر آلوده و خاک‌های آلوده با سطح ۱ و ۲ درصد افزایش یافت. ولی این افزایش فعالیت بین تیمارهای مختلف یکسان نبود (جدول ۶)،

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

جدول ۳. فعالیت فسفاتاز($\mu gPNP .g^{-1}dm.h^{-1}$) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۵۲^{a}	۴۹^{b}	۵۳^{a}	۵۴^{a}	۵۵^{a}
	۲	۵۲^{b}	۴۹^{b}	۵۹^{a}	۶۲^{a}	۶۱^{a}
٪۱	۱	۵۰^{b}	۵۱^{b}	۵۵^{a}	۵۵^{a}	۵۱^{b}
	۲	۵۰^{b}	۵۱^{b}	۶۵^{a}	۶۸^{a}	۶۵^{a}
	۳	۵۰^{d}	۵۴^{c}	۵۶^{b}	۵۸^{ab}	۶۱^{a}
	۴	۵۰^{c}	۴۸^{c}	۶۴^{b}	۷۳^{a}	۶۵^{b}
٪۲	۱	۵۰^{b}	۵۰^{b}	۵۵^{a}	۵۳^{a}	۵۵^{a}
	۲	۵۰^{b}	۵۰^{b}	۶۱^{a}	۶۳^{a}	۶۴^{a}
	۳	۵۰^{b}	۵۶^{a}	۵۸^{a}	۵۸^{a}	۵۵^{a}
	۴	۵۰^{d}	۵۴^{c}	۶۵^{b}	۶۹^{a}	۷۰^{a}
٪۱/۵	۰	۴۸^{ab}	۵۱^{a}	۴۶^{b}	۴۸^{ab}	۴۵^{b}
تأثیر معنی‌دار:						
درصد آلودگی		*	*	*	*	ns
مایه‌زنی میکوریزا		ns	ns	*	*	*
مایه‌زنی باکتری		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری		ns	ns	*	ns	ns
ماه زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	ns	ns
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	*

* : تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد از لحاظ آزمون دانکن دارد.
ns : از لحاظ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

جدول ۴. فعالیت اوره از($\mu gN.g^{-1}dm.2h^{-1}$) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۱۶^{c}	۲۰^{b}	۲۴^{a}	۲۵^{a}	۲۴/۵^{a}
	۲	۱۶^{c}	۲۰^{b}	۲۶^{a}	۲۷^{a}	۲۸^{a}
٪۱	۱	۱۷^{a}	۱۹^{a}	۱۸^{a}	۱۹^{a}	۱۸^{a}
	۲	۱۷^{a}	۱۹^{a}	۲۰^{a}	۲۰^{a}	۲۰^{a}
	۳	۱۷^{c}	۲۱^{b}	۲۳^{ab}	۲۵^{a}	۲۲^{ab}
	۴	۱۷^{b}	۱۹^{b}	۲۵^{a}	۲۵^{a}	۲۰^{b}
٪۲	۱	۱۷/۲^{a}	۱۹^{a}	۱۸^{a}	۱۹^{a}	۱۸^{a}
	۲	۱۷/۲^{c}	۱۹^{bc}	۲۲^{ab}	۲۳^{a}	۲۲^{ab}
	۳	۱۷/۲^{c}	۲۲^{b}	۲۵^{ab}	۲۸^{a}	۲۴^{b}
	۴	۱۷/۲^{c}	۲۱^{bc}	۲۸^{a}	۳۰^{a}	۲۲^{b}
٪۱/۵	۰	۱۸^{a}	۲۰^{a}	۱۷^{b}	۱۷/۵^{b}	۱۷^{b}
تأثیر معنی‌دار:						
درصد آلودگی		ns	ns	*	*	*
مایه‌زنی میکوریزا		ns	ns	*	ns	ns
مایه‌زنی باکتری		ns	*	*	ns	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	ns	ns	ns
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری		ns	ns	ns	ns	ns
مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	ns	ns	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	ns	ns

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

جدول ۵ . فعالیت دهیدروژناز($\mu g\ TPF.g^{-1}dm.16h^{-1}$) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۵۹^{c}	۶۵^{b}	۶۷^{b}	۷۵^{a}	۷۴^{a}
	۲	۵۹^{c}	۶۵^{b}	۶۸^{b}	۸۰^{a}	۸۲^{a}
٪۱	۱	۹۵^{b}	۱۰۵^{a}	۱۰۷^{a}	۱۰۶^{a}	۱۰۵^{a}
	۲	۹۵^{c}	۱۰۵^{b}	۱۱۲^{ab}	۱۱۸^{a}	۱۱۸^{a}
	۳	۹۵^{c}	۱۱۵^{b}	۱۲۰^{ab}	۱۲۵^{a}	۱۱۸^{b}
	۴	۹۵^{c}	۱۱۴^{b}	۱۴۲^{a}	۱۴۵^{a}	۱۱۰^{b}
٪۲	۱	۱۱۵^{a}	۱۲۰^{a}	۱۱۸^{a}	۱۱۵^{a}	۱۱۷^{a}
	۲	۱۱۵^{c}	۱۲۰^{bc}	۱۲۵^{ab}	۱۲۸^{a}	۱۲۶^{a}
	۳	۱۱۵^{b}	۱۲۵^{a}	۱۳۰^{a}	۱۳۰^{a}	۱۲۷^{a}
	۴	۱۱۵^{b}	۱۱۶^{b}	۱۳۵^{a}	۱۳۸^{a}	۱۱۸^{b}
٪۱/۵	۰	۱۰۲^{a}	۱۰۱^{a}	۹۸^{a}	۱۰۳^{a}	۱۰۱^{a}
تأثیر معنی‌دار:						
درصد آلودگی		*	*	*	*	*
مایه‌زنی میکوریزا		ns	ns	*	*	ns
مایه‌زنی باکتری		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	ns
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری		ns	ns	*	*	ns
مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	ns	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	*

جدول۶. فعالیت لیپاز ($ml\ NaOH,.05M.gr^{-}$) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۱۱/۸^{b*}	۱۱/۸^{b}	۱۲/۱^{a}	۱۲/۱^{a}	۱۱/۸^{b}
	۲	۱۱/۸^{c}	۱۱/۸^{c}	۱۲/۳^{b}	۱۲/۷^{a}	۱۲/۶^{a}
٪۱	۱	۱۱/۷^{a}	۱۱/۷^{a}	۱۱/۸^{a}	۱۱/۸^{a}	۱۱/۹^{a}
	۲	۱۱/۷^{b}	۱۱/۷^{b}	۱۱/۸^{ab}	۱۲^{a}	۱۲^{a}
	۳	۱۱/۷^{b}	۱۱/۹^{b}	۱۲^{a}	۱۲^{a}	۱۲/۲^{a}
	۴	۱۱/۷^{b}	۱۱/۹^{b}	۱۲/۲^{a}	۱۲/۱^{a}	۱۲/۳^{a}
٪۲	۱	۹/۸^{b}	۹/۹^{b}	۱۰/۲^{a}	۱۰/۳^{a}	۱۰/۲^{a}
	۲	۹/۸^{c}	۹/۹^{c}	۱۰/۲^{b}	۱۰/۳^{b}	۱۱/۲^{a}
	۳	۹/۸^{d}	۱۰/۳^{c}	۱۰/۸^{b}	۱۱/۳^{a}	۱۱/۵^{a}
	۴	۹/۸^{d}	۱۰/۳^{c}	۱۱^{b}	۱۲/۳^{a}	۱۲/۶^{a}
٪۱/۵	۰	۱۱/۸^{b}	۱۱/۶^{b}	۱۰/۸^{a}	۱۰/۷^{a}	۱۰/۷^{a}
تأثیر معنی‌دار:						
درصد آلودگی		*	*	*	*	*
مایه‌زنی میکوریزا		ns	ns	ns	*	*
مایه‌زنی باکتری		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	ns	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری		ns	ns	ns	*	*
مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	ns	ns	ns
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	ns	*	*

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

به گونه‌ای که تیمارهایی که بیشترین کاهش ترکیبات آلاینده صورت گرفته بود بیشترین فعالیت این آنزیم در همان تیمار مشاهده شد. درمورد نتایج آنزیم لیپاز می‌توان چنین توضیح داد که آلودگی خاک با ترکیبات هیدروکربنه با سطح آلودگی ۲ درصد به بالا برای این آنزیم حالت بازدارنده داشته و با کاهش میزان آلاینده‌ها این اثر بازدارندگی آلاینده‌ها کاهش می‌یابد. هم‌چنین دلیل افزایش فعالیت این آنزیم از هفته سوم به بعد به دلیل ترشحات ریشه است که اثر تحریک کننده روی فعالیت این آنزیم دارند. مطالعات مارگسین و همکاران نشان‌دهنده کاهش فعالیت لیپاز در تمام سطح آلودگی مورد بررسی بود و با کاهش میزان هیدروکربن‌ها میزان فعالیت آن افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر یک رابطه معکوس بین غلظت آلاینده‌ها در خاک با فعالیت آنزیم لیپاز وجود دارد(۱۴). جانک و همکاران، واندر و همکاران و مارگسین و همکاران گزارش کردند که فعالیت لیپاز بر خلاف فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و دهیدروژناز است (۱۳). نتایج مطالعات مارگسین و همکاران نشان داد که فعالیت آنزیم لیپاز از افزایش ترکیبات سنگین، پیچیده و با قابلیت دسترسی پایین کمتر تأثیر می‌پذیرد(۱۵).

در مورد نتایج تنفس خاک نیز می‌توان گزارش کرد که تغییرات تنفس خاک همسو با تغییرات جمعیت باکتری‌ها و فعالیت آنزیم‌هاست، به طوری‌که با افزایش تعداد باکتری‌ها و فعالیت آنزیم‌ها، تنفس خاک افزایش یافته و با کاهش فعالیت آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها میزان آن کاهش می‌یابد(جدول۷). بنابراین افزایش فعالیت آنها در اثر ورود ترکیبات آلی آلاینده به عنوان منبع کربن و انرژی، باعث افزایش فرایندهای متابولیکی و به تبع آن عمل تنفس می‌شود. لابد و همکاران افزایش تنفس در اثر حضور آلاینده‌های آلی را اثبات کردند ولی براین باور بودند که این افزایش تنفس همراه با کاهش بازدهی و راندمان فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد(۱۱).

و) عملکرد ریشه و اندام‌های هوایی گیاه

بررسی وزن اندام‌های هوایی نشان می‌دهد که با افزایش سطح آلودگی وزن اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد، و میان سطح آلودگی ۱و۲ درصد با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دیده شد، هم‌چنین میان عملکرد هر چهار تیمار در دوسطح آلودگی ۱و ۲ درصد نیز تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دیده شد(شکل۲). در بین تیمارها نیز تیمار با مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر و تیمار با مایه‌زنی میکوریزا بیشترین عملکرد دیده شد، در واقع میکوریزا نقش خود را در افزایش عملکرد به واسطه افزایش جذب فسفر به دلیل توسعه ریشه و آثار سینرژیسم بین باکتری‌های حل کننده فسفات با میکوریزا و افزایش تثبیت نیتروژن به دلیل اثر سینرژیسمی بین قارچ‌های میکوریزی VAM و باکتری‌های ریزوبیومی در تثبیت ازت و افزایش گرهک‌های تثبیت کننده ازت ریشه‌ای دانست. باکتری‌های تجزیه‌گر نیز با تجزیه ترکیبات آلاینده از میزان سمیت آنها برای رشد و جوانه‌زنی گیاه را تقلیل می‌دهد. به گونه‌ای که در تیمارهایی که کاهش قابل ملاحظه آلاینده‌ها صورت گرفته، میزان رشد و عملکرد گیاه بالا می‌باشد. بررسی وزن ریشه گیاه نیز نشان داد که در تیمارهای دریافت کننده مایه‌زنی میکوریزا بیشترین راندمان را داشتند و با افزایش سطح آلودگی وزن ریشه کاهش می‌یابد، و بین عملکرد هر چهار تیمار در هر دو سطح آلودگی تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد دیده شد(شکل۲). مطالعات آلرسون و همکاران نشان داد که بیشترین سطح برگ، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه شبدر در سطوح مختلف آلودگی در تیمار مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر مشاهده شد، و با افزایش میزان حذف آلاینده‌ها عملکرد گیاه افزایش یافته بود(۲). آدام و همکاران نیز گزارش کردند که با افزایش میزان تجزیه آلاینده‌ها و افزایش فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه توسط میکوریزا رشد گیاه افزایش می‌یابد(۲).

نتیجه‌گیری

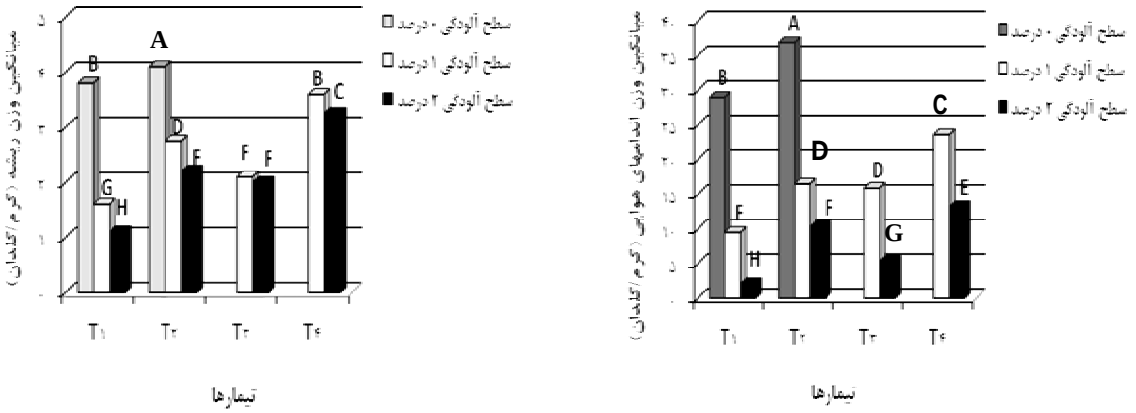
نتایج نشان‌دهنده تغییرات در فعالیت آنزیمها همگام با تغییرات در میزان آلاینده‌های نفتی تحت تیمارهای مختلف

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

جدول ۷. تنفس خاک($mg\ co_2.g^{-1}dm.7day$) در زمان‌های گوناگون آزمایش

سطح آلودگی	تیمارها	A	B	C	D	F
٪۰	۱	۱/۷۶^{c}	۱/۸۱^{c}	۲/۱^{b}	۲/۸^{a}	۲/۸^{a}
	۲	۱/۷۶^{d}	۱/۸۱^{d}	۲/۳^{c}	۲/۷۵^{b}	۳/۱^{a}
٪۱	۱	۳/۱^{c}	۳/۵^{b}	۳/۸۱^{a}	۳/۸۹^{a}	۳/۸۴^{a}
	۲	۳/۱^{c}	۳/۵^{b}	۳/۸۱^{a}	۴/۰۱^{a}	۳/۹۵^{a}
	۳	۳/۱^{c}	۴/۲^{b}	۴/۳^{b}	۴/۳۱^{b}	۴/۸^{a}
	۴	۳/۱^{c}	۴/۱۳^{b}	۴/۹^{a}	۴/۹۳^{a}	۴/۱۳^{b}
٪۲	۱	۴/۸۴^{a}	۴/۹^{a}	۵/۱^{a}	۵/۰۶^{a}	۴/۹۵^{a}
	۲	۴/۸۴^{a}	۴/۸۸^{a}	۵/۱۴^{a}	۵/۱۸^{a}	۵/۲۳^{a}
	۳	۴/۸۴^{c}	۵/۱۲^{b}	۵/۴۸^{a}	۵/۵۱^{a}	۵/۴۳^{ab}
	۴	۴/۸۴^{b}	۵/۰۸^{b}	۵/۵۹^{a}	۵/۸۷^{a}	۵/۱۳^{b}
٪۱/۵	۰	۳/۳^{a}	۳/۴۱^{a}	۳/۳۱^{a}	۳/۱۳^{ab}	۲/۸^{b}
تأثیر معنی‌دار:						
درصد آلودگی		*	*	*	*	*
مایه‌زنی میکوریزا		ns	ns	*	*	*
مایه‌زنی باکتری		ns	*	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری		ns	*	*	*	ns
مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	ns	*	*	*
درصد آلودگی × مایه‌زنی باکتری × مایه‌زنی میکوریز		ns	*	*	*	*



شکل ۲. میانگین وزن اندام‌های هوایی و ریشه در تیمارهای T۰: تیمار شاهد T۱:تیمار کشت شبدر T۲:کشت شبدر با مایه‌زنی میکوریزا T۳:کشت شبدر با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر T۴:کشت شبدر با مایه‌زنی میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر در سطوح مختلف آلودگی

است. در این بین فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در مراحل مختلف اندازه‌گیری رفتارهای مختلفی از خود نشان داد. در حالی‌که فعالیت آنزیم‌های اوره‌از، دهیدروژناز به محض وارد شدن آلاینده‌ها به خاک افزایش یافته و با کاهش میزان آنها فعالیت شیب نزولی به خود می‌گیرد. برخلاف آنزیم‌های فوق فعالیت آنزیم لیپاز با وارد شدن ترکیبات آلاینده کاهش یافته و با کاهش

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

میزان آنها فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد. همان‌طور که گفته شد، تغییرات در فعالیت‌های متابولیکی خاک یکی از راه‌کارهای مد نظر محققان برای بررسی روند زیست بهسازی است(۱۲)، با توجه به این نکته نتایج به دست آمده از پروژه بیانگر این نکته است که فعالیت آنزیم‌های اوره از و دهیدروژناز علاوه بر مقدار آلاینده‌ها از فاکتورهای دیگر مانند مرحله رشد گیاه و ترشحات ریشه گیاه تأثیر می‌پذیرند، در حالی‌که آنزیم لیپاز در سطوح آلودگی ۲ درصد بیشتر از مقدار آلاینده‌ها تأثیر می‌پذیرد به طوری‌که در سطوح بالای آلودگی با کاهش فعالیت همراه بوده و با افزایش تجزیه ترکیبات آلاینده و کاهش میزان آنها میزان فعالیت آنها افزایش می‌یابد. بنابراین می‌تواند گزینه مناسبی برای بررسی روند زیست بهسازی خاک‌های آلوده باشد. از نتایج دیگر این مطالعه می‌توان به تأثیر میکوریز و باکتری‌های تجزیه‌گر در افزایش زیست بهسازی ترکیبات آلی آلاینده اشاره کرد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که از مایه‌زنی خاک آلوده با باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت و میکوریزا در اصلاح خاک‌های آلوده به نفت استفاده شود.

سپاسگزاری

در پایان لازم می‌دانم از زحمات مهندس ترکان اسدی به عنوان مشاور صنعتی و از حمایت مالی شرکت ملی مناطق نفت‌خیز جنوب (شهید تندگویان) از این طرح کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

منابع مورد استفاده

۱. شریفی حسینی، س. ۱۳۷۰. بررسی اثرات کودهای شیمیایی و آلی در زیست بهسازی خاک‌های آلوده به نفت خام اهواز. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز.

2. Alarcon, A., F.T. Davies, R.L Autenrieth and D.A. Zuberer. 2008. Arbuscular mycorrhiza and petroleum-degrading microorganisms enhance phytoremediation of petroleum-contaminated soil. Intl. J. Phytoremed. 10:250-263.
3. Baran, S., E. J. Bielinska and P. Oleszczuk. 2004. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. Geoderma 118: 221–232.
4. Caravaca, F. and A. Roldan. 2003. Assesing change in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludge under semiaried mediterraneam condition. Geoderma 117:53-63.
5. Christopher, S., P. Hein, J. Marsden and A.S. Shurleff. 1988. Evaluation of methods 3540 (soxhlet) and 3550(Sonication) for evaluation of appendix IX analyses from solid samples. S-CUBED, Report for EPA contract 68-03-33-75, work assignment No.03, Document No. SSS-R-88-9436.
6. Dick, R.P. 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. PP:121–157. *In*: Panhurst, C.E., B.M. Double and V.V. Gupta. (Eds.), Biological Indicators of Soil Health. Commonwealth Agricultural Bureaux International. Oxford, UK.
7. Fine, P., E.R. Graber and B. Yaron. 1997. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic processes. Soil Technol. 10: 133– 153.
8. Frankenberger, W.T. and J.B. Johanson. 1982. Influence of crude oil and refined petroleum products on soil dehydrogenase activity. J. Environ. Quality 11: 602–607.
9. Harbhajan, S. 2005. Mycoremediation. A John Wiley & Song Inc. Pub., USA.
10. Kucharski, J., E. Jastrze bska, J. Wyszkowska and A. Hlasko. 2000. Effect of pollution with diesel oil and leaded petrol on enzymatic activity of the soil. Zesz. Probl. Postep. Nauk Rol. 472:457– 464.
11. Labud. V., C. Garcia. and T. Hernandez. 2007. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. Chemosphere 66 :1863–1871.
12. Maila ,P.M. and E. T. Cloete. 2005. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants—perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. Intl. Biodeterior. & Biodegrad. 55: 1–8.
13. Margesin, R., A. Zimmerbauer and F. Schinner. 1999. Soil lipase activity a useful indicator of oil biodegradation. Biotechnol. Techniques 13: 859–863.
14. Margesin, R., F. Schinner and A. Zimmerbauer. 2000. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. Chemosphere 40:339-345.
15. Margesin, R. and F. Schinner. 1999. Soil lipase activity - a useful indicator of oil biodegradation. Biotechnol.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]

Techniques. 13: 859–863.
16. Margesin, R. and F. Schinner. 2005. Manual for Soil Analysis –Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Springer Pub., USA.
17. Mohn, W.W and G. R. Stewart. 2000. Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. Soil Biol. and Biochem. 32: 1161– 1172.
18. page, A.L., R.H, Miller and D.R. Keeny. 1982. Methods of soil analysis. Part2. Chemical and Biological Properties. 2nd ed., soil sci. Amer. Inc. Pub., USA.
19. Schwab, A.P. and M. Banks. 1994. Biologically mediated dissipution of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. Bioremediation throgh Rhizosphere Technol. pp:132-141.
20. Sextone, A.J., K. Everett Jenkins and R. Atlas. 1978. Fate of crude and refned oils in north slope soils. Arctic. 31: 339-347.
21. Song, H.G. and R. Bartha. 1990. Effects of jet fuel on the microbial community of soil. Appl. Environ. Microbiol. 56:646-651.
22. Van der Waarde, J.J., E.J. Dijkhuis, M.J.C. Henssen and S. Keuning. 1995. PP: 59–63. *In*: Hinchee, R.E., Douglas, G.S., Ong, S.K. (Eds.), Monitoring and Verification of Bioremediation. Battelle Press, Columbus, OH.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.56.8.8]