



## بررسی اثر pH روی باکتریهای جداسازی شده تجزیه کننده مواد نفتی از خاکهای استان بوشهر

زهرا یاراحمدی<sup>۱</sup>، حسین بشارتی<sup>۲</sup>، علیرضا فلاح<sup>۳</sup> و محمدرضا ساریخانی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد کرج نویسنده مسئول، ۲- اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب ۳- عضو هیات

علمی دانشگاه تبریز

نویسنده مسئول: زهرا یاراحمدی

Email: zhr\_yarahmadi63@yahoo.com

### چکیده:

امروزه آلودگی های ناشی از تصادفات تانکر های نفتکش، جنگ، صنایع وابسته به نفت و غیره مشکلات زیادی را در زمینه محیط زیست کشورهای جهان به وجود آورده است. تلاش برای رفع این آلودگی های نفتی خاک با استفاده از روش های مختلف، بخصوص بوسیله میکروارگانیسم های تجزیه کننده مواد نفتی، وسیع و روز افزون است و تلاش های زیادی در جهت رفع این آلودگی ها در کشور های مختلف جهان صورت گرفته است. یکی از این روش ها که هم از لحاظ اقتصادی کم هزینه و هم از لحاظ زیست محیطی مناسب می باشد، استفاده از باکتری ها در جهت رفع آلودگی های نفتی خاک می باشد، از خاک منطقه بوشهر کشور در این مطالعه چهار سویه باکتریایی غربال سازی شد، این باکتری ها از لحاظ تاثیر فاکتور pH مورد بررسی قرار گرفتند، نتیجه بدست آمده حاکی از آن است که این باکتری ها قادرند ترکیبات نفتی را به طور موثری معدنی نمایند، سویه های مذکور تحت عنوان سودوموناس استاتزری، کریزو باکتریوم، اسیتو باکترجانسونی، سودوموناس آئروجینوس نامگذاری شدند. بررسی اثر pH بر روی رشد باکتری ها نشان داد که هر 4 سویه جداسازی شده در pH 7.5 قادر به رشد و تجزیه نفت بودند و نسبت به تغییرات pH حساس می باشند.

واژگان کلیدی: زیست پالایی، آلودگی خاک، pH، عوامل محیطی

### مقدمه

خاک اساس هستی، تولید و انبار مواد خام است، نقش عمومی خاک نسبت به آب و هوا از اهمیت بیشتری برخوردار است، هر گونه تغییر در ویژگی های اجزای تشکیلی دهنده خاک به طوری که استفاده از آن ناممکن گردد آلودگی خاک نامیده می شود، زیست پالایی یک اصطلاح کلی در جهت رفع آلودگی های زیست محیطی اعم از آلودگی های خاک بوسیله فرآیند های بیولوژیکی و توسط میکروارگانیسم ها خصوصا باکتری ها در خاک ها و آب های آلوده می باشد (Anonymous, 2004). در ضمن عمل زیست پالایی با کنترل و بهینه سازی بعضی فاکتورهای محیطی می توان میزان و سرعت تجزیه زیستی را به گونه دلخواه افزایش می دهد (Parrish, 2005). میکروارگانیسم ها نیاز به شرایط مناسبی برای رشد و زنده ماندن خود دارند این فاکتورها شامل pH مناسب، دما، اکسیژن و عناصر غذایی می باشد (Cookson, 1995).



# پنجمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشکده کشاورزی  
۲۸-۲۷ بهمن ماه ۱۳۸۹



همایش ملی  
ایده های نو در کشاورزی

## مواد و روش ها

جهت انجام این مرحله از آزمایش ابتدا محیط کشت پایه معدنی مایع CFMM که یک محیط حداقل می باشد تهیه و pH محیط ها قبل از اتوکلاو بر روی ۹/۵، ۷/۵، ۵/۵ تنظیم شد سپس عمل تلقیح باکتری ها در داخل محیط نوتریت براس صورت گرفت، سپس از هر کدام از باکتری ها و در دو تکرار به مقدار ۱/۵ میلی لیتر بداخل ویال های استریل ریخته شد، سپس ویال ها سانتریفوژ گردیدند، رسوب باقی مانده داخل ویال ها به ارلن های شیاردار 250 میلی لیتری حاوی محیط و ۰/۰۱ گازوئیل خالی گردید، سپس ارلن ها روی شیکر قرار داده شدند تا رشد باکتری ها حاصل گردد و روزانه به منظور تعیین pH، OD600 نانومتر و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محیط کشت CFMM (carbon frace minral medium) شامل:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  3gr،  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2/75 gr،  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0/8gr،  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0/005gr،  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0/01gr،  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0/005gr می باشد.

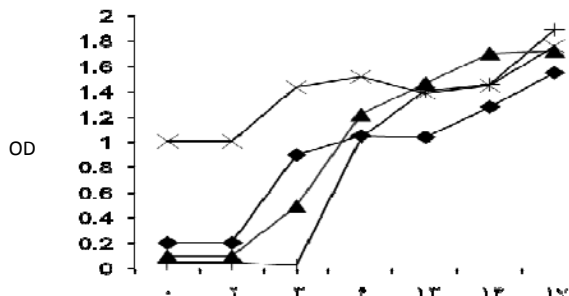
## نتایج

۴ نمونه سویه باکتری از نمونه خاک های استان بوشهر جداسازی گردید، سویه های جدا شده از نظر بررسی اثر pH (در سه سطح ۷/۵، ۵/۵، ۹/۵، در تجزیه ماده نفتی (گازوئیل) بصورت طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند مرحله ای دانکن در سطح احتمال ۰/۱۰ انجام پذیرفت و نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که میزان  $\text{pr}$  برای pH, bacteria و اثر متقابل باکتری با pH تماماً در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار شده است.

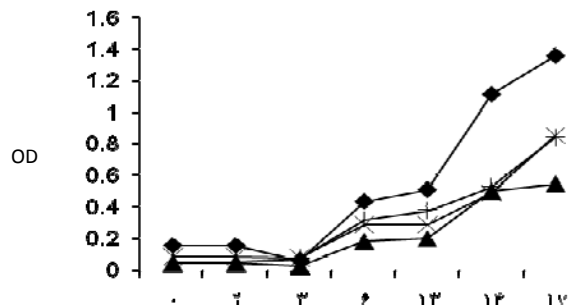
جدول ۱ تجزیه واریانس تیمار های باکتری، pH و اثر متقابل آنها

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	Pr
باکتری	۳	۱/۱۲	۰/۳۷۴	۱۴/۷۹	کمتر از ۰/۰۰۰۱
pH	۲	۱۶/۷۰۴	۸/۳۵	۳۲۹/۷۱	کمتر از ۰/۰۰۰۱
pH*باکتری	۶	۱/۴۹	۰/۲۴	۹/۸۶	کمتر از ۰/۰۰۰۱

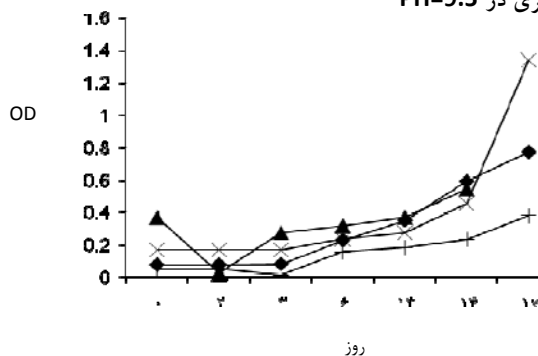
مقایسه میانگین تیمار باکتری ها با آزمون چند مرحله ای دانکن در سطح احتمال 0.05 صورت پذیرفت و نشان داد که حداقل بین دو باکتری از باکتریهای مورد آزمایش در سطح احتمال 0.01 اختلاف معنی داری وجود دارد، از نظر pH مقدار ۷/۵، بهترین حالت بود و در اولویتهای بعدی بترتیب مقادیر ۹/۵ و ۵/۵ قرار می گیرد. همچنین از نظر اثر متقابل باکتری و pH، باکتری ۴ و pH= ۷/۵ بهترین شرایط برای تجزیه بود.



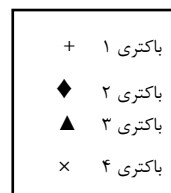
نمودار ۲ مقایسه رشد ۴ باکتری در PH=7.5



نمودار ۱ مقایسه رشد ۴ باکتری در PH=9.5



نمودار ۳ مقایسه رشد ۴ باکتری در PH=5.5



در نمودار ۲ باکتری ۴ از ابتدا میزان بالاتری از OD را نشان داد و این سطح بتدریج افزایش پیدا کرد و در سطح مطلوبی ثابت ماند.

جدول ۲ مقایسه میانگین OD چهار نوع باکتری به روش دانکن در سطح ۵ درصد

باکتری ۱	باکتری ۲	باکتری ۳	باکتری ۴
۰/۴۳C	۰/۵۶B	۰/۴۶C	۰/۶۴A

جدول ۳ مقایسه میانگین OD ۳ سطح PH به روش دانکن در سطح ۵ درصد

PH=5.5	PH=9.5	PH=7.7
۰/۲۶C	۰/۳۵B	۰/۹۷A

جدول ۴ مقایسه میانگین OD ترکیبات چهار نوع باکتری با سه سطح PH به روش دانکن در سطح ۵ درصد

باکتری ۱	باکتری ۲	باکتری ۳	باکتری ۴	
۰/۱۴F	۰/۲۸DE	۰/۲۲EF	۰/۳۸D	PH=5.5
۰/۸۳B	۰/۸۵B	۰/۹۵B	۱/۲۲A	PH=7.5
۰/۳۱DE	۰/۵۶C	۰/۲۲EF	۰/۳۱DE	PH=9.5



## نتیجه گیری کلی

با بررسی انجام شده مشخص می شود که PH مطلوب برای رشد و تجزیه نفت توسط سویه های نامبرده حدود 7.5 می باشد، در مطالعه ای که توسط (vyas and Dave(2006 نیز در زمینه اثر PH بر رشد و تجزیه نفت خام توسط باکتری ها صورت پذیرفت، مقادیر ۶ تا ۹ بهینه و مطلوب عنوان شد و مقدار ۷ بهترین مقدار تشخیص داده شد. در پایان پیشنهاد می گردد سویه های بیشتری از باکتریها برای بررسی انتخاب و همچنین در زمان بیشتری مطالعه انجام شود.

## منابع

1. Anonimous . 2004. Enhanced Bioremidation. ([www.cpeo.Org](http://www.cpeo.Org))
2. Cookson , J.T.1995. Bioremidation Engineering Designe and Application. Mc Gran – Hill , New York , ny , USA.
3. Parrish , Zakia D., Banks , M.Katherine , schwab, A.Paul. 2005. Assessment of contaminant liability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. Environment pollution. 137. 187 – 197.
4. Vyas , T., Dave , B.P. effect of crude oil concentrations temperature and PH on growth and degradation of crade oil by marine bacteria , 36 (1) , 2007 , PP : 76 – 87.