



## ارزیابی توانایی قارچ های *Acromonium sp.* *Aspergillus sp.* در زیست پالایی آلودگی

### های نفتی در شرایط آزمایشگاهی

<sup>۱</sup> مهرانگیز اکبری، <sup>۲</sup> عبدالکریم چهرگانی، <sup>۳</sup> فریبا محسن زاده،

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد. <sup>۲</sup> گروه زیست شناسی دانشگاه بوعلی سینا همدان.

#### چکیده

اگر چه نفت یکی از منابع اصلی تأمین انرژی در جهان محسوب می شود اما آلودگی های ناشی از آن در بسیاری از کشورها مشکلات فراوانی را به همراه دارد، امروزه زیست پالایش به عنوان یک تکنولوژی سبز، اقتصادی و با کارایی بالا مورد توجه قرار گرفته است. در یک مطالعه میدانی در منطقه آلوده به نفت پالایشگاه اراک تعدادی قارچ از جمله *Acromonium sp.*, *Aspergillus sp.* از خاکهای آلوده به نفت جداسازی شد. هدف این پژوهش ارزیابی عملکرد این قارچ در حذف آلودگی نفتی در شرایط آزمایشگاهی است. قارچ را در محیط های PDA با غلظت های ( ۲٪ تا ۱۰٪) نفت کشت داده، نتایج حاصله نشان داد که قارچ های *Acromonium sp.* *Aspergillus sp.* نسبت به غلظت های ذکر شده نفت مقاوم می باشد و حتی قادر به رشد در غلظت ۱۰٪ نفت نیز می باشد به منظور آزمون زیست پالایش، پس از رشد قارچ ها در محیط های حاوی نفت در پایان دوره رشد، به وسیله دستگاه سوکسوله میزان نفت باقی مانده در محیط کشت استخراج و با مقدار اولیه آن مقایسه گردید و نتایج نشان داد این قارچ ها قادر به کاهش نفت در محیط کشت می باشد و بیشترین میزان کاهش و حذف نفت برای قارچ *Aspergillus sp.* در محیط کشت ۱۰٪ نفت و برای قارچ *Acromonium sp.* در محیط کشت ۲٪ نفت مشاهده گردید. از این رو به نظر می رسد که استفاده از آن ها برای زیست پالایش آلودگی های نفتی بسیار مناسب می باشد. نتایج حاصله دلالت دارد که قارچ های *Aspergillus sp.*, *Acromonium sp.* نقش مهمی در زیست پالایش آلودگی نفتی دارد و قادر به تجزیه نفت خام می باشد. بنابر این پیشنهاد می شود از آن ها در زیست پالایش محیط های آلوده به نفت استفاده گردد.

واژگان کلیدی: آلودگی نفتی، زیست پالایش، *Acromonium sp.*، *Aspergillus sp.*

#### مقدمه

خاک اساس هستی است از این رو حفاظت آن یک وظیفه محسوب می شود. خاک پالاینده طبیعی می باشد که علاوه بر تأمین مواد غذایی، ویژگی تصفیه کنندگی نیز دارد اما مدت هاست که مواد نفتی و مشتقات آن در اثر حمل و نقل و یا ذخیره سازی موجب آلودگی خاک می شود. این در حالی است که هر چقدر مواد نفتی به عمق بیشتری از خاک نفوذ کند رفع آلودگی آن مشکل تر و پرهزینه تر خواهد شد. در دنیا سالانه حدود شش میلیون تن نفت وارد محیط زیست می شود. این آمار حقیقتی است که با کمی دقت ابعاد فاجعه آمیز آن مشخص می شود. روش های مختلفی برای پاک سازی مناطق آلوده به نفت ارائه شده که شامل روش های فیزیکی مانند سوزاندن، افزایش تهویه، جذب دمایی، روش های شیمیایی شامل رسوب دادن، استخراج از طریق حلال ها، اکسایش و احیا می باشد. در مقابل، زیست پالایی خاک های آلوده یعنی کاربرد گیاهان سبز و میکرو ارگانیسم در اصلاح خاک و حذف آلاینده های زیست محیطی (Cunningham et al., 1996) یک روش کم هزینه و بدون آسیب به بیولوژی خاک و اکوسیستم است. این رویکرد به دلایل ارزانی، سادگی، عدم تأثیر سوء بر خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک، افزایش پوشش گیاهی و پیامد های مثبت آن در سال های اخیر روز به روز رو به افزایش می باشد. قارچ ها می توانند با تجزیه مواد نفتی موجب کاهش آلودگی نفتی شوند آنها می توانند مواد مضر خاک را تثبیت، تغییر و یا از بین ببرند و در نتیجه آن ها را از دسترس سایر موجودات خارج نموده و سبب کاهش مخاطرات زیست محیطی شود. در طی زیست پالایش مناطق آلوده به نفت، ترکیبات مضر می توانند توسط آنزیم ها در داخل قارچ یا خاک متابولیزه شوند گیاه باعث افزایش اکسیژن خاک می شود اکسیژن یک عامل



تعیین کننده در رشد و فعالیت میکروارگانیسم های هوازی خاک و همچنین عامل تعیین کننده در اولین مرحله از تجزیه تعداد زیادی از ترکیبات شیمیایی از جمله ترکیبات آروماتیک است. بیشتر مطالعات زیست پالایش آلودگی های نفتی در مناطق حاره و مناطق بیابانی کویت (Hashem, 2007) صورت گرفته است.

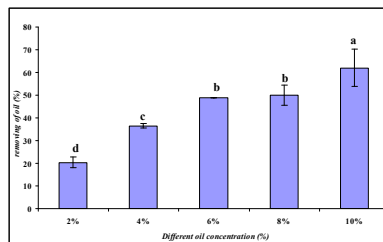
در این پژوهش قارچ های *Acromonium sp.*, *Aspergillus sp.* که از جمله قارچ های جداسازی شده از منطقه آلوده به نفت پالایشگاه اراک است که مشکلات زیست محیطی عمده ای را به همراه داشته، انتخاب شده است، که شاید بتوان از آن در شرایط محیطی برای حذف آلودگی نفتی بهره برد.

### مواد و روش ها

قارچ های *Acromonium sp.* *Aspergillus sp.* جداسازی شده از منطقه آلوده به نفت را در پتری دیش های محتوی محیط کشت PDA دارای درصد های مختلف نفت خام کشت داده شد. ابتدا محیط کشت PDA حاوی نفت خام با غلظت های (۰.۲٪/۰.۴٪/۰.۶٪/۰.۸٪/۱.۰٪) نفت خام را تهیه کرده و سپس با کمک قالب استریل از قارچ های *Acromonium sp.* *Aspergillus sp.* به طور جداگانه به اندازه مساوی درون هریک از محیط های فوق کشت داده شد. هر گروه تیماری شامل ۴ تکرار بوده پس از پر شدن پتری ها توسط کلنی قارچ، میزان کل نفت باقیمانده در محیط کشت اندازه گیری شد. برای این منظور از دستگاه سوکسوله و روش شرح داده شده توسط Merkel (2004) استفاده شد. سپس مقدار نفت با مقدار اولیه آن مقایسه و درصد حذف نفت توسط قارچ ها در محیط کشت های دارای غلظت های مختلف با یکدیگر مقایسه گردید.

### نتایج اندازه گیری میزان حذف نفت

پس از تکمیل رشد قارچ، میزان نفت باقی مانده با غلظت اولیه آن مقایسه گردید. درصد حذف نفت توسط قارچ در نمودار ۱،۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان دهنده آن است که در مورد قارچ *Aspergillus sp.* با افزایش غلظت نفت میزان حذف نفت توسط کلنی های قارچی رشد کرده در پلیت ها افزایش یافته بیشترین میزان حذف در تیمار ۱۰٪ به مقدار ۶۳٪ و کمترین میزان حذف در تیمار ۲٪ نفت به مقدار ۲۰٪ مشاهده شد. بررسی های آماری که میزان حذف نفت در سطح احتمالی ( $P < 0.01$ ) معنی دار می باشد. در مورد قارچ *Acromonium sp.* حذف در تیمار ۲٪ به مقدار ۶۸٪ و کمترین میزان حذف در تیمار ۱۰٪ نفت به مقدار ۲۷٪ مشاهده شد.



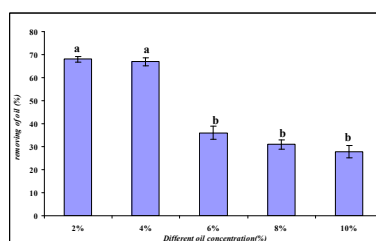
شده. بررسی های آماری که میزان حذف نفت در سطح احتمالی ( $P < 0.01$ ) معنی دار می باشد. نمودار ۱: میزان حذف نفت توسط قارچ *Aspergillus sp.* از محیط کشت PDA در غلظت های مختلف

#### نفت خام

نتایج نشان داد با افزایش میزان نفت محیط کشت میزان حذف نفت توسط قارچ افزایش می یابد هر داده معرف میانگین  $\pm$  انحراف معیار ۳ تکرار (نمونه) است. اختلاف بین گروه ها در سطح احتمالی ۱٪ معنی دار است ( $P < 0.01$ ). طبق آزمون مقایسه ای دانکن (حروف مربوط به ستون هر تیمار) در صورت نامشابه بودن هر تیمار با تیمار دیگر اختلاف آن ها معنی دار در صورت مشابه بودن اختلاف معنی دار نیست.

نمودار ۲: میزان حذف نفت توسط قارچ *Acromonium sp.* از محیط کشت PDA در غلظت های مختلف

#### نفت خام





نتایج نشان داد با افزایش میزان حذف نفت توسط قارچ کاهش می یابد هر داده معرف میانگین  $\pm$  انحراف معیار ۳ تکرار (نمونه) است. اختلاف بین گروه ها در سطح احتمالی ۱٪ معنی دار است ( $P < 0.01$ ). طبق آزمون مقایسه ای دانکن (حروف مربوط به ستون هر تیمار) در صورت نامشابه بودن حروف هر تیمار با تیمار دیگر اختلاف آن ها معنی دار در صورت مشابه بودن اختلاف معنی دار نیست.

#### بحث

نتایج حاکی از آن است که قارچ های *Aspergillus sp.* و *Acromonium sp.* مقاوم به آلودگی نفتی هستند که قادر به رشد در محیط کشت های دارای غلظت های مختلف نفت بوده و حتی در محیط دارای غلظت ۱۰٪ نفت نیز رشد نموده که با محدود گزارش های قبلی همسو است (محسن زاده، ۱۳۸۸). نتایج اندازه گیری میزان حذف نفت نشان داد که قارچ های مورد مطالعه قادر به حذف نفت بوده و در مورد قارچ *Aspergillus sp.* بیشترین میزان مصرف نفت در غلظت ۱۰٪ نفت دیده شد و در مورد قارچ *Acromonium sp.* بیشترین میزان مصرف نفت در غلظت ۲٪ نفت دیده شد. مفهوم آن این است که می توان از قارچ *Aspergillus sp.* مورد مطالعه برای زیست پالایش خاک های با آلودگی نفتی بالا و از قارچ *Acromonium sp.* در مناطق با آلودگی پایین استفاده نمود. اگر چه نتایج مشابهی در مورد عملکرد برخی دیگر از قارچ ها در حذف نفت در دسترس است (Hashem, 2007)، اما گزارش حاضر اولین گزارش در مورد توان حذف نفت توسط قارچ های *Aspergillus sp.* و *Acromonium sp.* در محیط های با آلودگی نفتی در شرایط آزمایشگاهی است. نتایج مشابهی در یک پالایشگاه در لاگوس گزارش شده، همچنین در مورد مناطق حاره ای ونزوئلا نیز نتایجی موید نتایج ما وجود دارد که نشان دهنده دخالت و تاثیر گیاهان و میکروفلورای رایزوسفری در کاهش آلودگی نفتی و حذف ترکیبات نفتی از خاک آلوده می باشد (Cunningham et al., 1996).

بر اساس مطالعات مرجع شناختی ما، گزارش حاضر اولین گزارش در این مورد است و هیچ گزارش قبلی در این مورد در دسترس نیست.

#### منابع

- ۱ - محسن زاده ، فریبا ، ۱۳۸۸ . بررسی کارایی زیست پالایش خاک های آلوده به نفت با استفاده از رایزوسفر گیاهان بومی . پایان نامه دکترا . دانشکده بهداشت . دانشگاه بوعلی سینا همدان
- 2- Cunningham S.D., Anderson T.A., Schwab P.A. and Hsu F. C. (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy* 56, 55-114.
- 3- Hashem A.R. 2007. Bioremediation of Petroleum Contaminated Soils in the Arabian Gulf Region: A Review. *J. Kuwait Sci.* 19, 81-91. Koroi, S.A.A., 1989, Gel elektrophoresis and spectral photometric change zone in response to temperature and structure peroxidase isoenzyme, *Physiol. V eg.* 20: 15-22.
- 4-Merkel, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C., 2004. Phytoremediation in the tropics the effect of crude oil on the growth of tropical plants. *Biorem, J.* 8:177-184.



## Evaluation of ability of *Aspergillus* sp. in bioremediation of petroleum pollution in In vitro condition.

Mehrangiz Akbari<sup>1</sup>, Abdolkarim Chehregani, Fariba Mohsenzadeh

<sup>1</sup>Department of Biology, Islamic Azad University, Broujerd Section. <sup>2</sup>Department of Biology, Bu-Ali Sina University

Although crude oil is the major energy resource in the world but petroleum pollution is a common disaster in many countries. Bioremediation is a green and high effective technology that was interested in recent years. In a field study that was conducted in a petroleum contaminated site of Arak refinery, some petroleum-resistant fungal strains including *Aspergillus sp* *Acromonium sp*. were collected. The aim of this research was to evaluate the ability of the fungus in the removing of petroleum pollution in experimental conditions. Culturing of the fungus in oil-contaminated media, in different concentration, showed that both fungi were resistant to petroleum pollution (2% - 10% v/v). For bioremediation tests the remained oil in the petri dishes after the growth of colony were extracted and compared with the primary amounts of oil and results showed that the fungus is effective in removing of crude oil and the highest removal efficiency for *Aspergillus* was in 10% petroleum pollution and for *Acromonium* was in 2% petroleum pollution. Results indicated that *Aspergillus* and *Acromonium* have significant role in bioremediation of petroleum pollution. So, they are suggested to use for bioremediation of petroleum polluted environments.

**Keywords:** Petroleum pollution, , Bioremediation, *Aspergillus* sp. *Acromonium* sp.