

امکان سنجی حذف زیستی غلظت‌های مختلف نفت خام توسط قارچ‌های ریزوسفری جدا شده از منطقه‌ی پالایشگاه تهران

فربیا محسن زاده Ph.D.*، بهروز عشقی ملایری Ph.D.، زهره شیرخانی M.Sc.

- دانشگاه بوعلی سینا همدان، گروه زیست شناسی، همدان، ایران
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: fmohsenzade@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۳

چکیده

هدف: آلودگی نفتی از مشکلات مهم محیط زیست است. اخیراً زیست پالائی به‌عنوان روشی کم هزینه جهت پاکسازی آلاینده‌ها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی حذف زیستی نفت خام توسط گونه‌های مختلف قارچی جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان رویش یافته در منطقه آلوده مورد بررسی در غلظت‌های مختلف آلاینده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه قارچ‌های ریزوسفری از گیاهان رویش یافته در منطقه پالایشگاه تهران جداسازی و در محیط کشت PDA حاوی مقادیر مختلف نفت خام (۱ تا ۱۵ درصد)، کشت داده شدند. راندمان حذف بعد از گذشت یک ماه برای هر گونه قارچی اندازه‌گیری گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان حذف نفت خام در غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد در سطح احتمال ($P \leq 0/01$) برای همه قارچ‌های مورد بررسی و در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۵ درصد برای همه قارچ‌های بررسی شده به جز قارچ‌های *Diplosporium sp.* و *Penicillium sp.* در سطح احتمال ($P \leq 0/05$) معنی‌دار می‌باشد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق همه قارچ‌های مورد مطالعه توان حذف نفت خام را دارند. از آنجا که قارچ *Aspergillus sp.* کارایی نسبی بیشتری در حذف نفت از محیط را داشت، این قارچ بیشترین پتانسیل زیست‌پالایی محیط‌های آلوده به نفت را دارد.

واژگان کلیدی: آلودگی نفتی، قارچ‌های ریزوسفری، نفت خام، *Aspergillus sp.*

مقدمه

نفت خام ترکیبی پیچیده از هزاران ترکیب هیدروکربنی و غیرهیدروکربنی از جمله فلزات سنگین است. هیدروکربن‌های نفتی، عموماً جزء آلاینده‌های آلی شناخته می‌شوند و حضور آن‌ها در محیط زیست نامطلوب می‌باشد (۱). امروزه با توجه به بافت خاک، ماهیت و غلظت آلاینده‌ها، جهت کاهش و یا حذف آن‌ها از خاک، از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی به صورت مجزا یا توأم استفاده می‌شود (۲).

در خاک، میکروارگانیسم‌های مختلفی وجود دارند که قادرند در اثر تماس طولانی مدت با مشتقات نفتی، از هیدروکربن‌های آلیفاتیک و آروماتیک به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده نموده و آن‌ها را به مواد مفید و مورد نیاز گیاهان تبدیل نمایند. در این میان، قارچ‌ها نقشی اساسی را در تغذیه گیاه و تحمل تنش‌هایی که به وسیله آلاینده‌های هیدروکربنه آروماتیک نفتی PAHs (Petroleum Aromatic Hydrocarbons) بر آنان وارد می‌شود را دارند. مکانیسم‌هایی که سبب کاهش استرس توسط قارچ‌های میکوریز می‌شود شناخته نشده، اما ممکن است به بیان آنزیم‌های اکسیداتیو متنوع، مرتبط باشد. تجزیه PAHs به وسیله آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز مختلف (پراکسیدازها، لاکتازها، دی‌اکسیژنازها، مونوفنل‌ها و مونواکسیژنازها) انجام می‌شود؛ در واقع با افزایش فعالیت اکسیدوردوکتازی توسط میکوریزها، اثرات نامطلوب PAHs روی رشد و بقا گیاهی کمتر می‌شود (۳، ۴ و ۵). سمیت هیدروکربن‌های نفتی برای گیاهان، به اثر منفی آن‌ها بر ظرفیت آبی خاک نسبت داده می‌شود. در چنین شرایطی، قارچ‌های ریزوسفری، جذب آب و مواد غذایی توسط گیاهان را بهبود می‌بخشند. کاهش جذب هیدروکربن‌های نفتی و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه‌هایی که دارای قارچ هستند می‌تواند دلیل مقاومت و بقای گیاهان در خاک‌های آلوده به نفت باشد (۶ و ۷).

پژوهش‌های متعددی نشان داده که گونه‌های قارچی به آلودگی نفتی مقاوم هستند و قادرند موجب حذف آلودگی نفتی از خاک شوند. برخی از گونه‌های قارچی نظیر *Alternaria alternate*، *Fusarium*، *Curvularia lunata*، *Aspergillus flavus* و *Ulocladium atrum*، *Mucor racemosus*، *solani* و *Penicillium notatum* از خاک‌های آلوده به نفت عربستان سعودی جداسازی شده‌اند (۸). نتایج Ulfing و همکاران (۹)

نشان داد که *Trichophyton ajelloi* پتانسیل زیست پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی را دارد.

از آنجائی که خاک‌های آلوده به نفت در جهان و به‌ویژه در ایران بسیار وسیع است و با توجه به لزوم پاکسازی محیط‌های آلوده، می‌توان با مطالعات کافی بر روی میکروارگانیسم‌ها، از توانایی آن‌ها در حذف آلودگی‌ها بهره برد. این پژوهش به منظور شناسایی قارچ‌های ریزوسفری با توان حذف غلظت‌های مختلف نفت خام جهت زیست‌پالایش خاک‌های آلوده صورت گرفته است، زیرا بر اساس پژوهش‌های پیشین قارچ‌های ریزوسفری نقش عمده‌ای در تجزیه و حذف آلاینده‌های نفتی دارند (۱۰).

مواد و روش‌ها

منطقه مورد بررسی: منطقه مورد بررسی، محل متروکه حوضچه تجمع ضایعات نفتی پالایشگاه تهران بود. این منطقه در موقعیت جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۵ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۳۱ دقیقه عرض شمالی واقع و ارتفاع مؤثر آن از سطح دریا ۱۰۱۰ متر می‌باشد. تخلیه ضایعات در حوضچه مورد بررسی طی سال‌های اخیر متوقف شده و در بستر آن مجموعه‌ای از گیاهان مقاوم به آلودگی‌های نفتی اکوسیستم منحصر به فردی ایجاد نموده‌اند.

جمع‌آوری نمونه‌ها: جمع‌آوری نمونه‌ها در فصول تابستان و اوایل پاییز انجام گرفت. نمونه‌های ریشه و خاک همراه ریشه‌ی گیاهان آلوده به نفت و غیر آلوده به نفت (به‌عنوان شاهد) که در مناطق مورد مطالعه رویش یافته بودند، به‌طور تصادفی جمع‌آوری شد؛ به این صورت که ریشه‌ها از چند نقطه‌ی خاک خارج و در پاکت‌های یک‌بار مصرف قرار داده شدند و سپس به آزمایشگاه انتقال یافتند.

جداسازی و شناسایی قارچ‌های ریزوسفری: به منظور جداسازی قارچ‌های ریزوسفری، قطعات ریشه و خاک اطراف آن را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون آغشته و ۲۰ دقیقه روی شیکر گذاشته شد تا خوب مخلوط شود. سپس ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف سوسپانسیون حاصله را در محیط کشت PDA (Potato dextrose Agar) حاوی رزبنگال، اسید لاکتیک و آنتی‌بیوتیک، به روش سطحی کشت داده و پلیت‌ها به مدت ۴ روز در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در گرماخانه قرار داده شدند. پس از رشد و تشکیل پرگنه‌های قارچی مختلف، هر

نتایج

جداسازی و شناسایی قارچ‌های ریزوسفر

بعد از کشت نمونه‌های قارچی ریشه‌ی همراه خاک گیاهان رویش یافته در محل‌های آلوده به نفت مناطق مورد مطالعه، کلنی‌های قارچی جداسازی شده و سپس خالص سازی کلنی‌ها با روش واکشت پی در پی انجام گرفت. در نهایت شناسایی قارچ‌های جداسازی شده با استفاده کلیدهای شناسایی و فلورهای قارچی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که در مجموع ۷ گونه قارچی در منطقه آلوده به نفت وجود دارد. گونه‌های قارچی *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Diplosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Stemphylium sp.* و *Ulocladium sp.* جداسازی و شناسایی گردیدند (شکل ۱).

نتایج بررسی راندمان حذف نفت خام

پس از کشت قارچ‌های رایزوسفری جدا شده از گیاهان رویش یافته در مناطق آلوده به نفت پالایشگاه تهران، در محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف نفت خام، میزان نفت باقیمانده اندازه‌گیری و با داشتن وزن اولیه‌ی نفت افزوده شده به هر پلیت و وزن هر پلیت، میزان حذف نفت خام در غلظت‌های مختلف محاسبه گردید. درصد نفت حذف شده بین قارچ‌های متفاوت و پلیت شاهد (پلیت حاوی محیط کشت و نفت خام بدون حضور قارچ) مقایسه شد. نتایج توسط آزمون مقایسه‌ای دانکن، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج حذف نفت خام در غلظت ۱ درصد

در این غلظت، در محیط‌های شاهد، حذف نفت به‌طور طبیعی به مقدار ۵۴/۳۰ درصد صورت گرفت. کم‌ترین میزان حذف نفت، مربوط به قارچ *Penicillium sp.* به مقدار ۶۷/۱۳ درصد و بیش‌ترین میزان، مربوط به قارچ *Aspergillus sp.* به مقدار ۸۱/۷۷ درصد است. بر اساس نتایج حاصله، تمام قارچ‌های مورد مطالعه در غلظت ۱ درصد قادر به حذف نفت خام از محیط کشت خود بودند (شکل ۲).

نتایج حذف نفت خام در غلظت ۲ درصد

حذف نفت خام در غلظت ۲ درصد محیط‌های شاهد، به‌طور طبیعی ۶۶/۱۹ درصد بود. کم‌ترین میزان حذف نفت مربوط به قارچ *Diplosporium sp.* به مقدار ۸۰/۴۱ درصد و بیش‌ترین

جدایه بر روی محیط خالص PDA، منتقل گردید. بخش‌های مختلف رویشی و زایشی جدایه‌های قارچی بعد از انتقال به لام، به‌وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند و با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و کلیدهای تاکسونومیک، تا حد امکان در حد گونه و در حداقل در حد جنس شناسایی گردیدند (۱۱، ۱۲ و ۱۳).

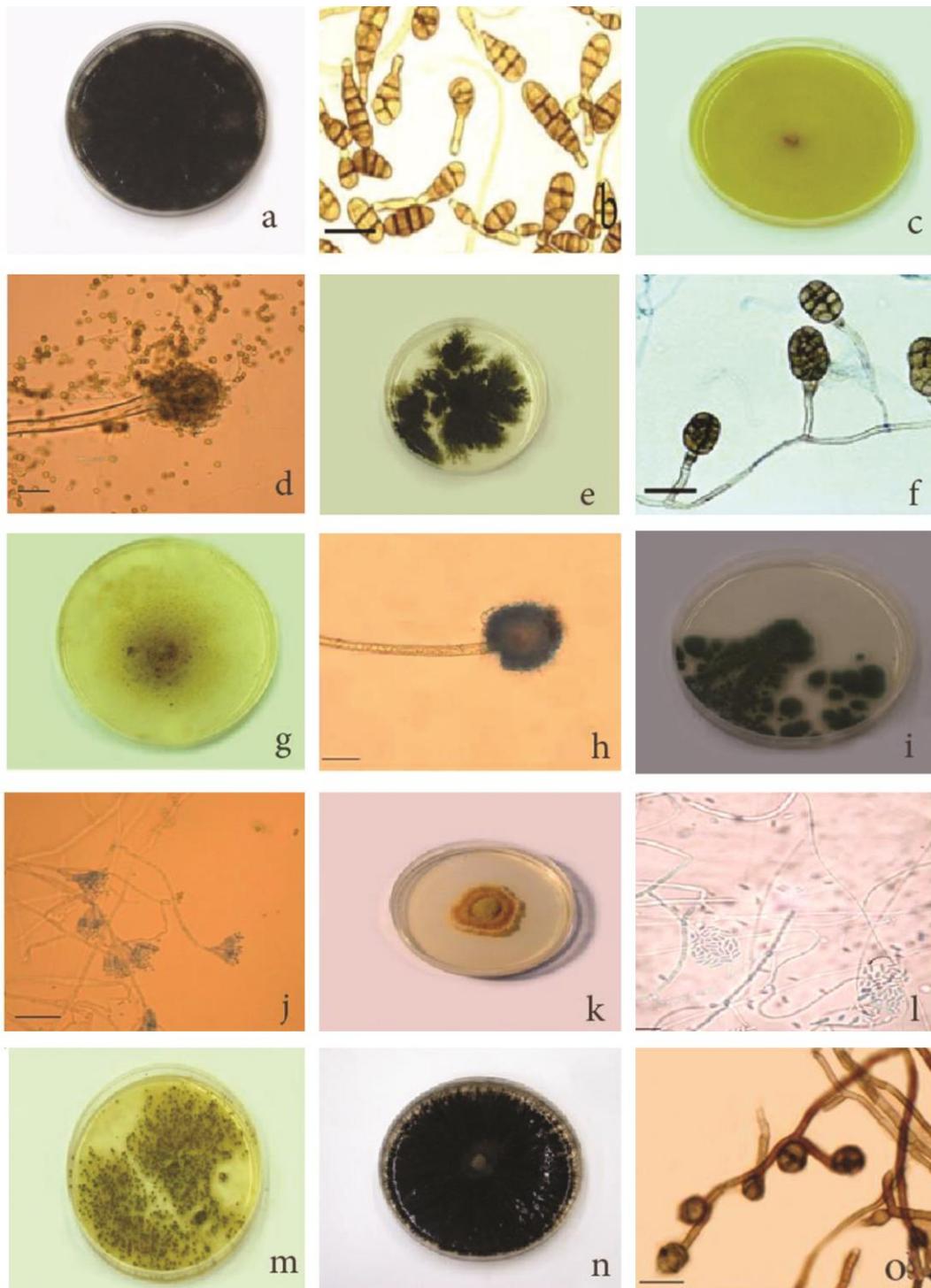
بررسی راندمان حذف نفت خام توسط قارچ‌های

رایزوسفر: بعد از جداسازی قارچ‌های رایزوسفر، هر گونه قارچی در پتری‌های محتوی محیط کشت PDA حاوی غلظت‌های مختلف نفت خام (۱ تا ۱۵ درصد) کشت داده شدند و به‌مدت ۱ ماه در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در گرماخانه قرار گرفتند. از محیط‌های فاقد قارچ در هر غلظت به‌عنوان شاهد استفاده گردید. هر تیمار در ۳ تا ۵ تکرار انجام شد. بعد از این مدت، به‌منظور اندازه‌گیری میزان نفت باقیمانده در محیط‌های کشت، محتویات پلیت‌ها شامل محیط کشت حاوی قارچ و نفت را پس از جداسازی از پلیت خرد و همگن نموده، ۲ گرم از آن‌را در ویال‌های ۲ میلی‌لیتری شیشه‌ای ریخته و به‌هر یک ۱۰۰ میکرولیتر تتراکوزان و ۱۰ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان افزودیم. بعد از مخلوط کردن در ورتکس، آن‌ها را در شیکری با نوسان ۴۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه قرار دادیم. سپس هر نمونه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و مواد شناور آن دکانتره‌شد. دو مرحله سانتریفیوژ و دکانتره کردن، ۳ تا ۵ بار تکرار شد. سپس عصاره‌های حاصله از هر تکرار، ترکیب و جهت آب‌گیری به آن ۷ گرم سولفات سدیم خشک افزوده گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ی آبگیری شده را در ویال‌های ۲۰ میلی‌لیتری ریخته و جهت تبخیر دی‌کلرومتان به‌مدت ۱۲ ساعت در هود قرار دادیم. بعد از مراحل فوق وزن خشک عصاره باقیمانده اندازه‌گیری گردید و راندمان حذف با مقایسه این میزان با میزان نفت اولیه محاسبه گردید (۱۴ و ۱۵).

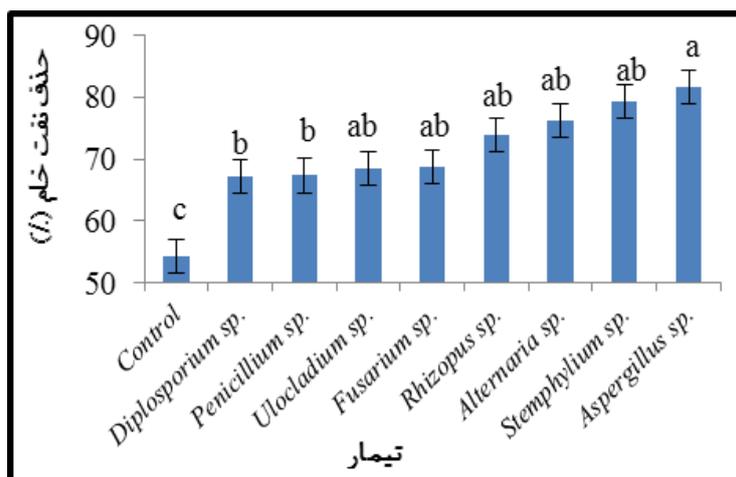
بررسی‌های آماری

در این پژوهش، تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.1) توسط آزمون دانکن بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارهای مربوط به نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار Excell 2007 رسم گردید.

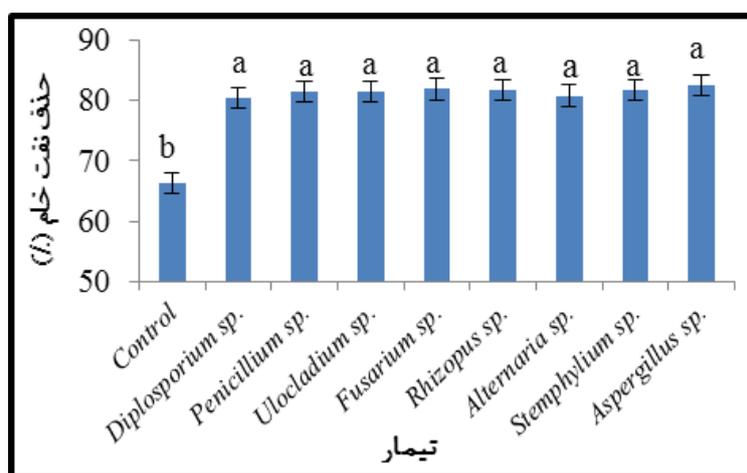
میزان مربوط به قارچ *Aspergillus sp.* به مقدار ۸۲/۳۹ درصد غلظت ۲ درصد قادر به حذف نفت خام از محیط کشت خود است. براساس نتایج به‌دست آمده تمام قارچ‌های مورد مطالعه در هستند (شکل ۳).



شکل ۱: نمونه‌های قارچی جدا شده از منطقه آلوده به نفت پالایشگاه تهران. (a) پرگنه و (b) اسپورها و میسلیم قارچ *Alternaria sp.*؛ (c) پرگنه و (d) کنیدیوفور و اسپورها در قارچ *Aspergillus sp.*؛ (e) پرگنه و (f) کنیدیوفور و کنیدی در قارچ *Stemphylium sp.*؛ (g) پرگنه و (h) اسپورانژیوفور؛ قارچ *Rhizopus sp.*؛ (i) پرگنه و (j) کنیدیوفور و اسپورها قارچ *Penicillium sp.*؛ (k) پرگنه و (l) میکروکنیدیوفور و میکروسپور قارچ *Fusarium sp.*؛ (m) پرگنه قارچ *Diplosporium sp.*؛ (n) پرگنه و (o) کنیدیوفور و کنیدی قارچ *Ulocladium sp.* شاخص در تصاویر ۳۰ میکرومتر است.



شکل ۲: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در آلودگی با غلظت ۱ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۳: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در آلودگی با غلظت ۲ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

نتایج حذف نفت خام در غلظت ۴ درصد

در غلظت ۴ درصد در محیط‌های شاهد، مقدار حذف نفت به‌طور طبیعی ۷۰/۲۷ درصد بود. در این غلظت *Diplosporium sp.* به مقدار ۸۱/۶۴ درصد کم‌ترین و *Aspergillus sp.* به مقدار ۸۸/۹۲ درصد بیش‌ترین درصد حذف نفت را به‌خود اختصاص دادند. نتایج نشان داد که تمام قارچ‌ها قادر به حذف نفت خام در محیط کشت حاوی ۴ درصد نفت هستند (شکل ۴).

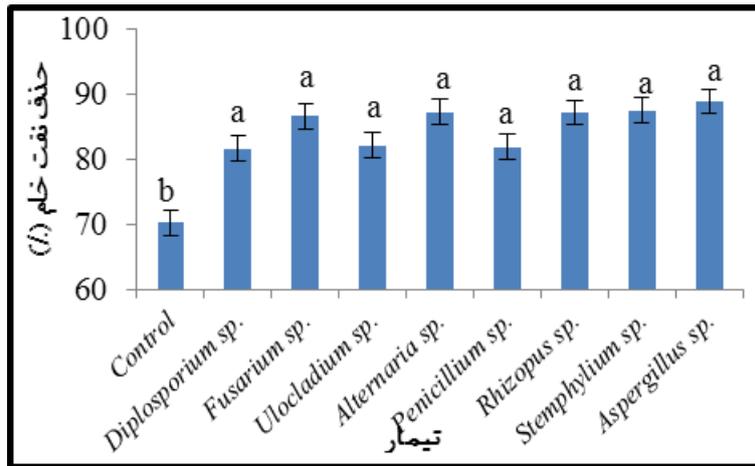
نتایج حذف نفت خام در غلظت ۶ درصد

در این غلظت مقدار حذف نفت در محیط‌های شاهد ۷۴/۳۱ درصد بود. کم‌ترین حذف نفت در *Diplosporium sp.* به مقدار

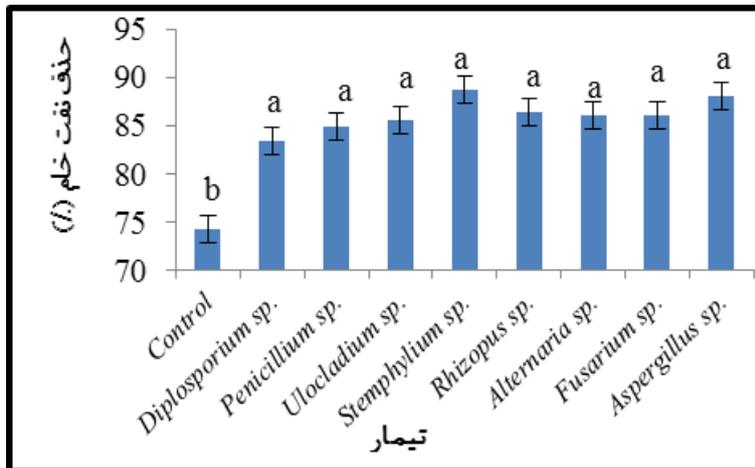
۸۳/۴۰ درصد و بیش‌ترین حذف نفت در *Stemphylium sp.* به مقدار ۸۸/۷۳ درصد مشاهده شد. تمام قارچ‌ها، توانایی حذف نفت خام در این غلظت را دارند (شکل ۵).

نتایج حذف نفت خام در غلظت ۸ درصد

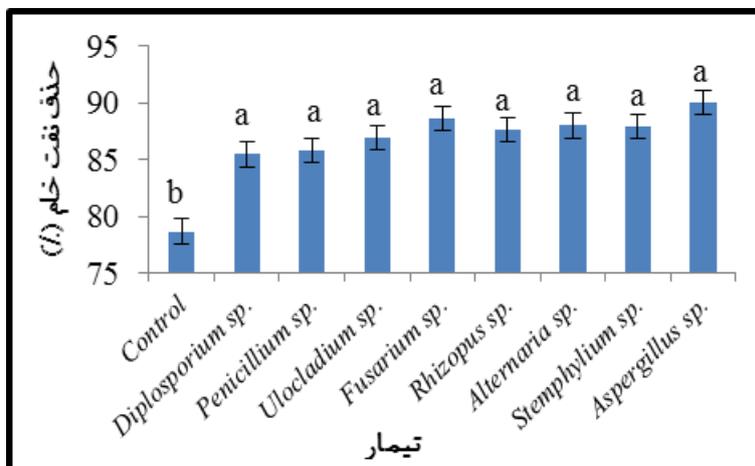
در غلظت ۸ درصد میزان حذف نفت خام در پلیت‌های شاهد، ۷۸/۷۲ درصد بود. کم‌ترین مقدار حذف نفت مربوط به *Diplosporium sp.* به میزان ۸۵/۵۱ درصد و بیش‌ترین مقدار مربوط به *Aspergillus sp.* به میزان ۹۰/۰۹ درصد است. در این غلظت تمام قارچ‌ها قادر به حذف نفت بودند (شکل ۶).



شکل ۴: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در محیط‌های کشت با آلودگی نفت خام ۴ درصد. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۵: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در غلظت ۶ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۶: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در غلظت ۸ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

نتایج حذف نفت خام در غلظت ۱۰ درصد

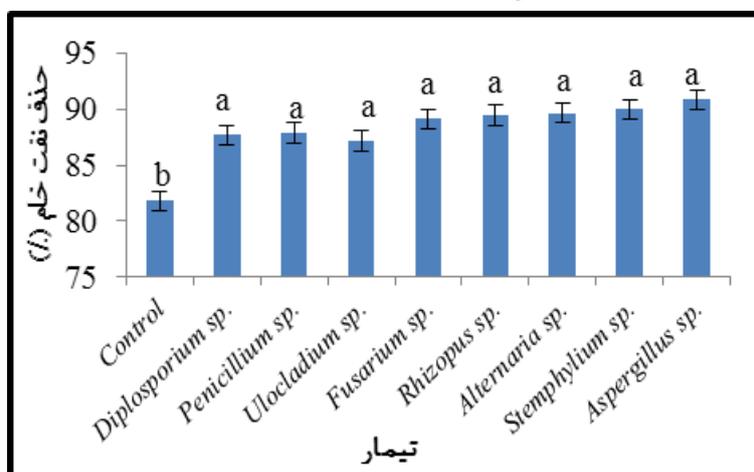
در غلظت ۱۰ درصد در محیط شاهد، مقدار حذف نفت به‌طور طبیعی ۸۱/۸۱ درصد بود. کم‌ترین حذف نفت توسط *Ulocladium sp.* به مقدار ۸۷/۱۵ درصد و بیش‌ترین مقدار توسط *Aspergillus sp.* به‌میزان ۹۰/۸۱ درصد صورت گرفت. نتایج نشان داد که تمام قارچ‌ها در این غلظت توانایی حذف نفت را دارند (شکل ۷).

نتایج حذف نفت خام، در غلظت ۱۵ درصد

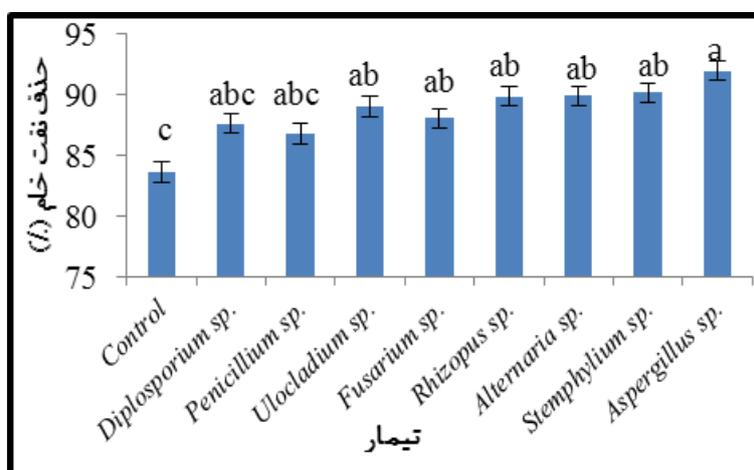
در غلظت ۱۵ درصد میزان حذف نفت در پلیت شاهد ۸۳/۶۶ درصد است. تمامی قارچ‌ها قادر به حذف نفت از محیط خود بودند اما حذف نفت توسط قارچ‌های *Penicillium sp.* و *Diplosporium sp.* نسبت به پلیت شاهد معنی‌دار نبود.

بیش‌ترین مقدار حذف نفت توسط *Aspergillus sp.* به‌میزان ۹۲ درصد صورت گرفت (شکل ۸).

بررسی‌های آماری نشان داد که میزان حذف نفت خام در غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد در سطح احتمال (P ≤ ۰/۰۱) و در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۵ درصد در سطح احتمال (P ≤ ۰/۰۵) معنی‌دار می‌باشد. تمامی قارچ‌های نامبرده در غلظت‌های مذکور قادر به حذف نفت خام هستند. با ذکر این نکته که در غلظت ۱۵ درصد، میزان حذف نفت خام توسط قارچ‌های *Diplosporium sp.* و *Penicillium sp.* دارای اختلاف معنی‌داری با نمونه‌ی شاهد نبود. طبق آزمون مقایسه‌ای دانکن، ستون‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند.



شکل ۷: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در غلظت ۱۰ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵). حروف متفاوت نمایندگان گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۸: مقایسه میزان حذف نفت خام توسط ۸ نمونه‌ی قارچی با نمونه‌ی شاهد در غلظت ۱۵ درصد نفت خام. براساس نتایج میزان حذف نفت در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵). حروف متفاوت نمایندگان گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

بحث

نقش مساعدتی در فرایند حذف نفت توسط قارچ‌ها بر عهده دارند (۱۵ و ۲۵).

نتایج ارزیابی حذف نفت خام در پژوهش حاضر در راستای تحقیقات آزوماکا (۲۶)، گونگ و همکاران (۲۷) و مانسرا لویز و همکاران (۲۸) می‌باشد. سروانتس-گونزالس و همکاران (۲۹) قارچ‌های *Penicillium funiculosum*, *Aspergillus sydowii* و *Rhizopus sp.* را از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی جدا کردند و همچنین نشان دادند که این قارچ‌ها قادر به حذف ترکیبات نفتی به ترتیب به میزان ۶۷، ۸۱ و ۸۶ درصد هستند که با یافته‌های این پژوهش همسویی دارد.

در مطالعات ایبینه و همکاران (۳۰)، بر روی خاک‌های آلوده به نفت نیجریه قارچ‌های *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* و *Penicillium* به عنوان حذف کننده‌های نفت خام معرفی شده‌اند که در این پژوهش نیز به عنوان تجزیه کننده‌ی هیدروکربن‌های نفتی معرفی شده‌اند. بر اساس یافته‌های این پژوهش قارچ‌های *Aspergillus flavus*, *Alternaria sp.*, *Diplosporium sp.*, *Stemphylium sp.* و *Ulocladium sp.* به عنوان حذف کننده‌های نفت خام معرفی می‌شوند که موفق‌ترین آن‌ها در حذف نفت در بین قارچ‌های مورد مطالعه *Aspergillus sp.* بود.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش آلودگی نفتی نمی‌تواند مانع از رشد و تکثیر میکرو ارگانیسم‌هایی نظیر قارچ‌ها گردد و حتی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قارچ‌ها قادرند از ترکیبات نفتی به عنوان منبع غذایی استفاده کنند. بر اساس نتایج به دست آمده کلیه سویه‌های قارچی جداسازی شده از منطقه آلوده به نفت پالایشگاه نفت تهران قادر به رشد در غلظت‌های آلودگی نفتی مورد مطالعه بودند و علاوه بر این قادر به تجزیه و حذف آلودگی نفتی می‌باشند و برای استفاده در مطالعات و شرایط میدانی به منظور بررسی امکان حذف آلودگی نفتی پیشنهاد می‌شوند. در بین قارچ‌های مورد مطالعه *Aspergillus sp.* بیشترین راندمان را در حذف آلودگی نفتی نشان داد و می‌تواند در حذف آلودگی‌های سنگین نفتی مورد نظر قرار گیرد.

منابع

1. Peng S, Zhou Q, Cai Z, Zhang Z. Phytoremediation of petroleum contaminated soils

آلودگی خاک‌ها با نفت یک آلودگی عمده زیست محیطی در بسیاری از کشورها است (۱۶). با آلودگی نفتی خاک‌ها مخاطرات متعددی بر سلامت موجودات زنده و افراد جامعه به دنبال دارد (۱۷ و ۱۸). نتایج این پژوهش نشان داد که در فلور میکروبی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی پالایشگاه تهران، میکروارگانیسم‌های با قابلیت سازگار شدن با نفت خام وجود دارد و این بدین معنی است که آلودگی با ترکیبات نفتی مانع رشد همه میکروارگانیسم‌های خاک در محیط‌های آلوده نیست. نتایج حاصله از پژوهش جاری، با نتایج به دست آمده توسط پژوهشگران متعدد پیشین همسو است و آن‌ها نیز توانسته‌اند از خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی، برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها را جداسازی کنند (۳، ۴، ۶، ۱۰ و ۱۵).

نتایج بررسی حذف نفت خام نشان داد که تمام قارچ‌های مورد مطالعه قادر به حذف نفت خام در محیط‌های حاوی نفت تا غلظت ۱۰ درصد هستند. به نظر می‌رسد غلظت ۱۰ درصد آلودگی نفتی میزان بیشینه قابل تحمل توسط اغلب قارچ‌ها است (۱۹). بر اساس نتایج حاصله در غلظت ۱۵ درصد نیز تمام قارچ‌های مورد مطالعه قادر به حذف نفت بودند اما میزان حذف نفت توسط دو قارچ *Penicillium sp.* و *Diplosporium sp.* نسبت به گروه شاهد در سطح معنی داری نبود. موفق‌ترین قارچ در حذف نفت در بین قارچ‌های مورد مطالعه *Aspergillus sp.* بود. با توجه به توانایی بالای قارچ *Aspergillus sp.* در حذف نفت خام، این قارچ ریزوسفری جهت حذف آلودگی‌های نفتی پیشنهاد می‌شود.

یافته‌های حاصل از ارزیابی حذف نفت خام توسط قارچ‌های مورد مطالعه در این پژوهش با تحقیقات انجام گرفته توسط مانسرا-لویز و همکاران (۲۰) در یک راستا می‌باشد. این محقق در مطالعه‌ای بر روی یک مخزن قدیمی نفت قارچ‌های *Rhizopus sp.*، *Penicillium funiculosum* و *Aspergillus sydowii* را شناسایی نمود که قادر به زیست در شرایط آلوده به ترکیبات نفتی بوده و توانستند به ترتیب موجب کاهش ۱۷، ۳۰ و ۳۶ درصد در ترکیبات PAH گردند. پژوهش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند قارچ‌ها می‌توانند در محیط آلوده به نفت رشد کنند و موجب تجزیه‌ی نفت و مشتقات نفتی شوند (۱۹-۲۴) و ریشه گیاهان مقاوم به آلودگی نفتی با مکانیسم‌های سازگاری

- by *Mirabilis Jalapa* L. in greenhouse plot experiment. *J Hazardous Mater.* 2009; 168(2): 1490-1496.
2. Lundstedt, S. Analysis of PAHs and their transformation products in contaminated soil and remedial processes. Nederland: Solfädern Offset AB; 2003.
 3. Capotorti G, Digianvincenzo P, Cesti P, Bernardi A, et al. Pyrene and benzo (a) pyrene metabolism by an *Aspergillus terreus* strain isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soil. *Biodegradation*, 2004; 15 (2): 79-85.
 4. Hong HH, Chong YS, Choi SD, Park Y. Degradation of dibenzofuran by *Pseudomonas putida*. *Water Res.* 2000; 34(8): 2404- 2407.
 5. Leung M. Bioremediation: Techniques for cleaning up a mess. 2003; 2 (1): 18-22.
 6. Joner EJ, Leyval C. Influence of *arbuscular mycorrhizal* on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mycorrhiza*. 2001; 10: 155-159.
 7. Salzer P, Corbiere H, Boller T. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus *Glomus intraradices*. *Planta*. 1999; 208: 319-325.
 8. Hashem AR. Bioremediation of petroleum contaminated soils in the Persian gulf region: a review. *J Kuwait Sci.* 2007, 19: 81-91.
 9. Ulfig K, Plaza G, Worsztynowicz A, Manko T, et al. Keratinolytic fungi as indicators of hydrocarbon contamination and bioremediation progress in a petroleum refinery. *Polish J Environ Studies.* 2003; 12: 245-250.
 10. Mohsenzadeh F, Nasser S, Mesdaghinia A, Nabizadeh R, et al. Identification of petroleum resistant plants and rhizospheral fungi for phytoremediation for contaminated soils. *J Japan petrol Inst.* 2009; 52 (4): 198-204.
 11. Watanabe, T. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphology and key to species. 2th Ed. India: CRC Press; 2002.
 12. Gilman JC. A manual of soil fungi. India: Daya publishing house; 1998.
 13. Nelson, P.E, Tousooun, T.A, Marasas, W.F.O. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania, USA: The Pennsylvania State University Press; 1983.
 14. API US. Oil and Natural Gas Industry's Environmental Expenditures 1992-2001. American Petroleum Institute, Washington DC. 2003; 1-17.
 15. Mohsenzadeh F, Nasser S, Mesdaghinia A, Nabizadeh R, et al. Phytoremediation of petroleum-polluted soils: application of *Polygonum aviculare* and its root-associated (penetrated) fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. *Ecotox Environ Safe.* 2010; 73(4): 613-9.
 16. Klokk M. Effects of oil pollution on the germination and vegetative growth of five species of vascular plant. *Oil Petrochem Pollution.* 1984; 21: 25-30.
 17. Nicolotti G, Egli S. Soil contamination by crude oil: Impact on the mycorrhizosphere and on the revegetation potential of forest trees. *Environ Pollution.* 1998; 99: 37-43.
 18. Schroder P, Harve PJ, Schwitzguebel JP. Prospects for the phytoremediation of organic pollutants in Europe. *Environ Sci Pollution Res.* 2002; 9(1): 1-3.
 19. Mohsenzadeh F, Nasser SM, Mesdaghinia A, Nabizadeh R, et al. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: Pre-screening forsuitable plants and rhizospheral fungi, *J Toxicol Environ Chem.* 2009; 91(8): 1443-1453.
 20. Dritsa V, Rigas F, Natsis K, Marchant R. Characterization of a fungal strain isolated from a polyphenol polluted site. *Biores Technol.* 2007; 98(18): 1741-1747.
 21. Eggen T, Majcherczykb A. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Inter. Biodeter Biodeg.* 1998; 4: 111-117.
 22. Nicolotti G, Egli S. Soil contamination by crude oil: impact on the mycorrhizosphere and on the revegetation potential of forest trees. *Environ. Pollution.* 1998; 99: 37-43.
 23. Obuekwe CO, Badrudeen AM, Al-Saleh E, Mulder JL. Growth and hydrocarbon degradation by three desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress, *Intern Biodeter Biodeg.* 2005; 56: 197-206.
 24. Yateem A, Balba MT, AI-Awadhi N. White rot fungi and their role in remediating oil-contaminated soil. *Environ Intern.* 1997; 24: 181-187.
 25. Askary M, Noori M, Biegi F, Amini F. Evaluation of the Phytoremediation of *Robinia pseudoacacia* L. in Petroleum- contaminated Soils with Emphasis on the Some Heavy Metals. *J Cell Tissue .* 2012; 2(4): 437-442
 26. Uzoamaka G, Floretta T, Florence M. Hydrocarbon degradation potentials of indigenous fungal isolates from petroleum contaminated soil. *J Physic Natural Sci.* 2009; 3(1): 1-6.

27. Gong ZP, Li S, Guo X, Jing X, et al. Bioslurry remediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Huan Jing Ke Xue (China environmental science)*. 2001; 22 (5): 112-116.
28. Mancera-López ME, Esparza-García F, Chávez-Gómez B, Rodríguez-Vázquez R, et al. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with filamentous fungi. *Int Biorem Biodeg*. 2008; 61: 151-160.
29. Cervantes-Gonzalez E, Rojas-Avelizapa LI, Cruz-Camarillo R, Rojas-Avelizapa NG, et al. Isolation and identification by 16S rDNA partial sequencing of hydrocarbon-chitinolytic bacteria involved in hydrocarbon removal process,” *Progress Environ Sci Technol*. 2007; 1: 1143-1149.
30. Ibiene AA, Orji FA, Ezidi CO, Ngwobia CL. Bioremediation of hydrocarbon contaminated soil in the Niger delta using spent mushroom compost and other organic wastes. *Nigerian J Agri, Food Environ*. 2011; 7(3): 1-7.

Assessment of Possible Biological Removal of Different Concentration of Crude Oil by Rhizospheral Fungal Strains Isolated from Tehran Refinery Area

Mohsenzadeh F, Ph.D. *, Eshghy Mlayeri B, Ph.D., Shirkhani Z, M.Sc.

- Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

* Email corresponding author: fmohsenzade@gmail.com

Received: 14 Aug. 2013

Accepted: 26 Nov. 2013

Abstract

Aim: The contamination of soil by crude oil is an important environmental problem. Bioremediation have gained more attention in recent years as a low-cost technique for pollutant removal. The aim of this research was to investigate the ability of rhizospheral fungal strains collected from plants grown in a petroleum-polluted soil using different concentrations of pollutant.

Material and Methods: In this research rhizospheral fungal strains were collected from the plants grown in the Tehran refinery area and cultured on the PDA media containing different concentrations (0-15%) of crude oil. Efficiency of removal for each isolated fungi was determined after one month.

Results: Results showed that, all fungi were able to remove petroleum at the concentrations of 1, 2, 4 and 6% ($P \leq 0.01$). In addition all the fungi except *Diplosporium sp.* and *Penicillium sp.*, were able to decrease crude oil at the concentrations of 8, 10 and 15% ($P \leq 0.05$).

Conclusion: It was concluded that the studied fungi were able to remove the crude oil from the growth media. Since *Aspergillus sp.* was relatively more effective therefore this fungus has the highest bioremediation potency of petroleum polluted environments.

Keywords: *Aspergillus sp.*, Petroleum, Petroleum pollution, Rhizospheral fungi