وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه دامغان

دانشکده زیست شناسی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)

تاثیر متقابل گیاهان پوششی و باکتری نفت‌خوار *Rhodococcus ruber* بر پالایش خاکهای آلوده به نفت خام سنگین

توسط:

منیره ابوالحسنی سورکی

استاد راهنما:

دکتر وحید پوزش

استاد مشاور:

دکتر احمدرضا محرابیان

مهر ۹۲

تعهدنامه‌ی اصالت پایان نامه دانشگاه دامغان

اینجانب منیره ابوالحسنی سورکی دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی دانشکده‌ی زیست شناسی دانشگاه دامغان به شماره دانشجویی ۹۰۳۲۳۰۰۲ که در تاریخ ۱۳۹۲/۷/۸ از پایان نامه تحصیلی خود تحت عنوان تاثیر متقابل گیاهان پوششی و باکتری نفت‌خوار Rhodococcus ruber بر پالایش خاکهای آلوده به نفت خام سنگین دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان نامه را قبلاً برای دریافت هیچگونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.

۲) این پایان نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد و در موارد استفاده از نتایج دیگران به مرجع مورد استفاده استناد شده است.

۳) در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آن‌ها) استفاده شده است، ضوابط و اصول اخلاق علمی رعایت شده است.

۴) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و... از این پایان نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه دامغان، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.

۵) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه دامغان را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکرنمایم.

۶) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (من‌جمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه دامغان را مجاز میدانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

۷) مسئولیت صحت و سقم تمامی مندرجات پایان نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.

نام ونام خانوادگی دانشجو: منیره ابوالحسنی سورکی

امضاء:

تاریخ:

تمامی حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات، کتاب و نرم افزار حاصل از انجام این پایان نامه، متعلق به **دانشگاه دامغان** میباشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و ذکر منبع بلامانع است.

به نام خدا

تاثیر متقابل گیاهان پوششی و باکتری نفت‌خوار *Rhodococcus ruber* بر پالایش خاکهای آلوده به نفت خام سنگین

به وسیله:

منیره ابوالحسنی سورکی

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

زیست شناسی (گرایش فیزیولوژی گیاهی)

از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تأیید شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

دکتر وحید پوزش، استادیار زیست شناسی اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (استاد راهنما).....

دکتر احمدرضا محرابیان، استادیار زیست شناسی سیستماتیک- اکولوژی گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی (استاد مشاور).....

دکتر تقی لشکربلوکی، استادیار زیست شناسی بیوشیمی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (استاد داور).....

دکتر شهرام رضوان بیدختی، استادیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد دامغان (استاد داور).....

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی، استادیار زیست شناسی علوم تشریحی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (نماینده تحصیلات تکمیلی).....

مهر ۱۳۹۲

تقدیم به:

پدر و مادر مهربانم

سپاسگزاری

سپاس و آفرین ایزد جهان آفرین را، آنکه اختران رخشان به پرتو روشنی و پاکی او تابنده‌اند و چرخ گردون به خواست و فرمان او پاینده. آفریننده‌ای که پرستیدن اوست سزاوار، بخشنده‌ای که خواستن جز او نیست خوشگوار. خدایی اوراست زیبنده و پادشاهی اوراست درخورنده.

پس از سپاس از پروردگار منّان، بر خود لازم می‌دانم از همه عزیزانی که در به ثمر رسیدن این پژوهش مرا یاری کرده‌اند، قدردانی نمایم.

از پدر و مادر مهربانم که هر چه دارم از گرمی وجودشان است و خانواده مهربانم که پشت و پناهم بودند.

از استاد بزرگوارم آقای دکتر پوزش، که دانش و تجربه خود را در اختیارم قرار دادند و بدون راهنمایی‌های ایشان تامین این پایان نامه بسیار مشکل می‌نمود.

از آقای دکتر محرابیان، که با مشورت گرفتن از ایشان، بهتر انجام شدن این پایان نامه میسر شد.

از اساتید بزرگوارم آقای دکتر خورشیدی، خانم دکتر بهنام نیا، آقای دکتر لشکربلوکی که در طی این دوران از محضرشان ادب و دانش آموختم.

از خانم عالمی، خانم شاکری که با یاری‌ها و راهنمایی‌های بی چشمداشتشان بسیاری از سختیها را برایم آسانتر نمودند.

از دوستان عزیزم ، خانم‌ها چشم آذر و رازقندی که همیشه کنارم بودند.

و در پایان از اساتید دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان، مسئولین محترم آزمایشگاه‌ها و تمامی کسانی که مرا در این عرصه یاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

چکیده

تاثیر متقابل گیاهان پوششی و باکتری نفت‌خوار *Rhodococcus ruber* بر پالایش خاکهای آلوده به نفت خام سنگین

توسط:

منیره ابوالحسنی سورکی

ایران یکی از کشورهای نفت خیز جهان است که هر سال مقدار زیادی نفت خام از نقاط مختلف آن استخراج و پالایش میشود. رها شدن نفت خام در خاک به هنگام استخراج، حمل و پالایش سبب آلودگی خاک و سفره های آب زیرزمینی می‌شود. روش‌های مختلفی برای کاهش آلودگی نفتی وجود دارد که در این میان روش زیستی از جمله روشهای ارزان و مناسب در این زمینه می‌باشد. گیاه پالایی فناوری مبتنی بر تلفیق فعالیت گیاهان و جامعه میکروبی همراه آن برای تجزیه، غیرفعال کردن و تثبیت آلاینده هیدروکربنی است. در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ درصد) بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو نمونه چمن شامل Festuca rubra rubra و lolium perenne و همچنین میزان پالایش نفت توسط این دو نمونه مورد بررسی قرار گرفت. برای هر نمونه دو تیمار، یکی پوشانده شده با باکتری نفت خوار Rhodococcus ruber و دیگری بدون باکتری، درنظر گرفته شد. این طرح در ۳ تکرار به صورت یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب فاکتوریل و به‌صورت طرح بلوک‌های کاملا تصادفی انجام شد و پس از ۴۵ روز نتایج مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش نمونه‌های چمن استفاده شده در این آزمایش به آلودگی نفت خام مقاوم بودند و پالایش نفت از خاک توسط گونه‌های گیاهی مورد مطالعه قابل توجه بود. حضور باکتری باعث افزایش پالایش نفت از خاک شد و اثرات سمی نفت بر گیاه را کاهش داد.

کلمات کلیدی: گیاه پالایی، باکتری نفت خوار، نفت خام، گیاهان پوششی.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱- نفت خام و اجزای تشکیل دهنده آن ۲

۱-۲- آثار فعالیت‌های نفتی بر محیط زیست ۵

۱-۳- تاثیر آلودگی‌های نفتی بر روی گیاهان ۷

۱-۴- گیاه پالایی ۸

۱-۴-۱- استخراج گیاهی یا جمع آوری گیاهی ۹

۱-۴-۲- ریزوفیلتراسیون ۱۰

۱-۴-۳- تثبیت گیاهی ۱۱

۱-۴-۴- تجزیه یا تبدیل گیاهی ۱۱

۱-۴-۵- تجزیه ریزوسفری ۱۳

۱-۴-۶- تبخیر گیاهی ۱۳

۱-۵ تجزیه زیستی نفت خام ۱۴

۱-۶- تاثیر متقابل گیاه و باکتری در کاهش آلودگی‌های نفتی ۱۵

۱-۷- انتخاب گیاه ۱۷

۱-۷-۱- چمن ۱۸

۱-۸- باکتری نفت خوار ۲۰

۱-۸-۱-*Rhodococcus ruber* ۲۰

۱-۹- اهداف ۲۱

فصل دوم: مواد و روشها ۲۲

۲-۱- دستگاهها و تجهیزات مورد استفاده ۲۳

۲-۲- مواد و محیطهای کشت ۲۴

۲-۳- انتخاب بذر ۲۶

۲-۴- تست جوانه زنی ۲۷

۲-۵- آماده کردن خاک ۲۷

۲-۵-۱- تهیه و الک کردن خاک ۲۷

۲-۵-۲- آنالیز خاک پیش از آزمایش ۲۷
۲-۵-۳- آلوده کردن خاک به نفت خام ۲۸
۲-۶- سویه‌ی باکتری نفت خوار ۲۹
۲-۶-۱- تهیه محیط‌های کشت، کشت اولیه و انکوباسیون ۲۹
۲-۶-۲- نگهداری سویه‌ها: تهیه گلیسرول استوک و فریز نمودن (۸۰- درجه سانتیگراد) ۲۹
۲-۷- تهیه بذر و آماده کردن آن برای کشت ۳۰
۲-۸- مطالعات مورفولوژیکی ۳۱
۲-۸-۱- اندازه گیری طول بخش هوایی و ریشه (ارتفاع) ۳۱
۲-۸-۲- اندازه گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه ۳۱
۲-۹- مطالعات بیوشیمیایی ۳۱
۲-۹-۱- سنجش کلروفیل ۳۱
۲-۹-۲- سنجش قند ۳۲
۲-۹-۳- سنجش پروتئین ۳۲
۲-۱۰- شمارش باکتری پیش و پس از آزمایش ۳۳
۲-۱۰-۱- تهیه محیط کشت پایه معدنی ۳۴
۲-۱۱- اندازه گیری درصد هیدروکربن خاک نمونه ها ۳۴
۲-۱۲- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۳۴
فصل سوم: بحث و نتایج ۳۵
۳-۱- تست جوانه زنی ۳۶
۳-۱-۱- در صد جوانه زنی ۳۷
۳-۱-۲- طول ریشه چه ۴۰
۳-۲- مطالعات مورفولوژیکی ۴۳
۳-۲-۱- اندازه گیری طول بخش هوایی و ارتفاع ریشه ۴۳
۳-۲-۲- اندازه گیری وزن خشک بخش هوایی وریشه ۴۷
۳-۳- مطالعات بیوشیمیایی ۵۳
۳-۳-۱- سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی ۵۳
۳-۳-۱-۱- کلروفیل a ۵۵
۳-۳-۱-۲- کلروفیل b ۵۷
۳-۳-۱-۳- کلروفیل کل ۵۹
۳-۳-۱-۴- کارتنوئید ۶۰
۳-۳-۲- سنجش قند ۶۲
۳-۳-۳- سنجش پروتئین کل ۶۵
۳-۴- جمعیت باکتری تجزیه کننده نفت در خاک گلدان‌ها ۶۸

۳-۵- تجزیه نفت توسط گونه‌های گیاهی ۷۱
۳-۶- آنالیز کروماتوگرافی گازی ۷۵
۳-۷- نتیجه‌گیری کلی ۷۸
۳-۸- پیشنهادها ۷۹
منابع ۸۰
پیوست ۸۹

فهرست جداول

جدول ۱-۱- بررسی آماری آلودگی‌های نفتی ناشی از تصادفات تانکرهای نفت کش بین سالهای ۱۹۷۰ تا ۲۰۱۳ میلادی (ITOPF, 2013). ۶
جدول ۲-۱- فهرست دستگاه‌ها و تجهیزات ۲۳
جدول ۲-۲- محیط کشت نوترینت براث ۲۴
جدول ۲-۳- محیط کشت MS ۲۵
جدول ۲-۴- آنالیز بافت خاک ۲۸
جدول ۳-۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی... ۳۷
جدول ۳-۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) طول بخش هوایی و ارتفاع ریشه نمونه‌ها..... ۴۳
جدول ۳-۳- درصد کاهش ارتفاع بخش هوایی نمونه‌های رشد یافته در غلظت‌های مختلف نفت خام (۰٪، ۰/۵٪، ۱٪، ۳٪، ۵٪ وزنی/ وزنی) نسبت به نمونه شاهد. ۴۵
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) وزن خشک بخش هوایی و ریشه نمونه‌ها..... ۴۸
جدول ۳-۵- مقایسه میانگین غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در گونه‌های گیاهی ۵۳
جدول ۳-۶- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی فستوکا روبرا... ۵۴
جدول ۳-۷- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی لولیوم پرن..... ۵۴
جدول۳-۸- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) غلظت قند در دو گونه مورد مطالعه. ۶۲
جدول ۳-۹- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) غلظت پروتئین. ۶۵
جدول ۳-۱۰- مقایسه میانگین تعداد باکتری قبل و بعد از آزمایش در خاک گیاه فستوکا روبرا. ۶۸
جدول ۳-۱۱- مقایسه میانگین تعداد باکتری قبل و بعد از آزمایش در خاک گیاه لولیوم پرن. ۶۸
جدول ۳-۱۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده های حاصل از سنجش نفت باقی مانده در خاک. ۷۱

فهرست شکلها و تصاویر

شکل ۱-۱- هیدروکربن‌های معروف نفت. ۴
شکل ۲-۱- میکروتیوب‌های حاوی گلیسرول استوک باکتری ۳۰
شکل ۳-۱- پلیت‌های تهیه شده جهت انجام آزمایش جوانه زنی. ۳۶
شکل ۳-۲- اثر غلظت‌های مختلف نفت خام بر درصد جوانه زنی فستوکا روبرا روبرا. ۳۸
شکل ۳-۳- اثر غلظت‌های مختلف نفت خام بر درصد جوانه زنی لولیوم پرن. ۳۹
شکل ۳-۴- مقایسه درصد جوانه زنی گیاه لولیوم پرن و گیاه فستوکا روبرا. ۳۹
شکل ۳-۵- اثر غلظت‌های مختلف نفت خام بر طول ریشه چه (سانتی متر) فستوکا روبرا..... ۴۰
شکل ۳-۶- اثر غلظت‌های مختلف نفت خام بر طول ریشه چه (سانتی متر) لولیوم پرن. ۴۱
شکل ۳-۷- تاثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر ارتفاع بخش هوایی (سانتی متر) فستوکا روبرا. ۴۴
شکل ۳-۸- تاثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر ارتفاع بخش هوایی (سانتی متر) لولیوم پرن. ۴۴
شکل ۳-۹- تاثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر رشد ریشه فستوکا روبرا. ۴۶
شکل ۳-۱۰- تاثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر رشد ریشه لولیوم پرن. ۴۶
شکل۳-۱۱- اثر سطوح مختلف آلودگی بر وزن خشک (گرم) بخش هوایی فستوکا روبرا روبرا. ۴۸
شکل۳-۱۲- اثر سطوح مختلف آلودگی بر وزن خشک (گرم) بخش هوایی لولیوم پرن..... ۴۹
شکل ۳-۱۳- مقایسه وزن خشک بخش هوایی فستوکا روبرا و لولیوم پرن در تیمارهای مختلف نفت. ۴۹
شکل ۳-۱۴- اثر سطوح مختلف آلودگی بر وزن خشک (گرم) ریشه فستوکا روبرا روبرا. ۵۰
شکل ۳-۱۵- اثر سطوح مختلف آلودگی بر وزن خشک ریشه (گرم) لولیوم پرن. ۵۰
شکل ۳-۱۶- نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک بخش هوایی فستوکا روبرا. ۵۲
شکل ۳-۱۷- نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک بخش هوایی لولیوم پرن. ۵۲
شکل ۳-۱۸- تغییر محتوای کلروفیل a فستوکا روبرا روبرا با افزایش غلظت نفت خام (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه). ۵۵

شکل ۳-۱۹- تغییر محتوای کلروفیل a لولیوم پرن با افزایش غلظت نفت خام (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه). ۵۶
شکل ۳-۲۰- مقایسه غلظت کلروفیل a در نمونه‌های رشد کرده در تیمار ۳درصد نفت. ۵۷
شکل ۳-۲۱- تغییر محتوای کلروفیل b فستوکا روبرا روبرا با افزایش غلظت نفت خام (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه). ۵۸
شکل ۳-۲۲- تغییر محتوای کلروفیل b لولیوم پرن با افزایش غلظت نفت خام (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه). ۵۸
شکل ۳-۲۳- تغییر کلروفیل کل فستوکا روبرا روبرا با افزایش غلظت نفت خام. ۵۹
شکل ۳-۲۴- تغییر کلروفیل کل لولیوم پرن با افزایش غلظت نفت خام. ۵۹
شکل ۳-۲۵- مقایسه میانگین میزان کارتنوئید فستوکا روبرا در غلظت‌های مختلف نفت خام. ۶۰
شکل ۳-۲۶- مقایسه میانگین میزان کارتنوئید لولیوم پرن در غلظت‌های مختلف نفت خام. ۶۱
شکل ۳-۲۷- افزایش غلظت قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه) فستوکا روبرا روبرا در پاسخ به افزایش درصد آلودگی نفتی. ۶۳
شکل ۳-۲۸- افزایش غلظت قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) لولیوم پرن در پاسخ به افزایش آلودگی نفتی. ۶۳
شکل ۳-۲۹- مقایسه غلظت پروتئین کل بافت تر ریشه گیاهان فستوکا روبرا روبرا شاهد و گیاهان رشدیافته در خاک آلوده به غلظتهای مختلف نفت خام. ۶۶
شکل ۳-۳۰- مقایسه غلظت پروتئین کل (میلی گرم بر گرم) بافت تر ریشه گیاهان لولیوم پرن شاهد و گیاهان رشدیافته در خاک آلوده به غلظت‌های مختلف نفت خام. ۶۷
شکل ۳-۳۱- تعداد باکتری‌های تجزیه کننده نفت (CFU/g soil) در خاک آلوده به نفت خام (گیاه فستوکا روبرا روبرا). ۶۹
شکل ۳-۳۲- تعداد باکتری‌های تجزیه کننده نفت (CFU/g soil) در خاک آلوده به نفت خام (گیاه لولیوم پرن). ۷۰
شکل ۳-۳۳- مقایسه تعداد باکتری قبل و بعد از آزمایش در تیمار ۳ درصد نفت گونه‌های گیاهی. ۷۱
شکل ۳-۳۴- مقدار نفت خام باقی مانده در هر گرم خاک تیمارهای نفتی مختلف گیاه فستوکا روبرا روبرا پس از ۴۰ روز. ۷۲
شکل ۳-۳۵- مقدار نفت خام باقی مانده در هر گرم خاک تیمارهای نفتی مختلف گیاه لولیوم پرن پس از ۴۰ روز. ۷۳
شکل۳-۳۶- مقایسه درصد نفت باقی مانده در خاک گلدان تیمارهای دارای باکتری و بدون باکتری گیاه لولیوم پرن با نمونه شاهد. ۷۵

شکل ۳-۳۷- درصد ترکیبات نفتی باقی مانده در خاک نمونه شاهد. ۷۶
شکل ۳-۳۸- درصد ترکیبات نفتی باقی مانده در خاک دارای گیاه لولیوم پرن. ۷۶
شکل۳-۳۹- درصد ترکیبات نفتی باقیمانده در خاک دارای گیاه لولیوم پرن و باکتری نفت خوار. ۷۷

فصل اول: مقدمه

فرآورده های نفتی یکی از منابع عمده انـرژی در رشـد و توسـعه ی اقتصـادی و اجتمـاعی کشورها هستند [۱]. آلودگی‌های زیستی ناشی از فعالیت‌های نفتی در کشورهای تولید کننـده نفت اجتناب‌ناپذیر است. چنین آلودگی‌های نفتی، سمی، جهش زا و سرطان زا بوده و علاوه بـر آن تأثیر گسترده‌ای هم بر زیست بوم منطقه دارند، بطوریکه با گذشت زمـان، مـواد نفتـی وارد چرخه های غذایی شده و به این ترتیب سلامت انسان، گیاهان و جانوران را به خطر انداختـه و باعث آلودگی های زیست محیطی از جمله آلـودگی آب‌هـای سـطحی و زیرزمینـی و تولیـدات کشاورزی می‌شوند [۲]. از جمله این آلاینده‌های نفتی می‌توان به هیدروکربن‌هـای نفـت خـام، هیدروکربن‌های پلی سیکلیک آروماتیک، هیدروکربن‌های هالوژنه، آفت کش‌ها، حلال‌ها و فلزات سنگین موجود در نفت خام اشاره کرد [۳].

حذف آلودگی‌های نفتی از خاک همواره از مهم‌ترین مسائل زیست محیطـی بـوده و روش-های مختلفی در این رابطه پیشهاد می‌شود؛ از جمله می‌توان به روش‌های شیمیایی، فیزیکـی و زیستی اشاره کرد. روش‌های فیزیکی و شیمیایی از روش‌های پر هزینه و گران بوده که معمـولا برای خاک‌هایی که آلودگی شدید دارند، پیشنهاد می‌شوند در حالیکه روش زیستی از روش‌های ارزان و مناسب برای کاهش آلودگی‌های نفتی خـاک اسـت [۴]. در میـان روش‌هـای زیسـتی، کاربرد باکتری‌ها، بازدهی بسیار خوبی داشته و مطالعه های فراوانی دراین‌بـاره صـورت گرفتـه است [۵]. از طرف دیگر، کاربرد گیاه یا گیاه پـالایی کـه فـن اسـتفاده از گیاهـان مقـاوم بـرای پالایش و پاکسازی خاک‌های آلوده به ترکیبات مختلف می‌باشد نیز در کنـار تجزیـه میکروبـی توجه خاصی را به خود معطوف داشته است [۶].

۱-۱- نفت خام و اجزای تشکیل دهنده آن

تمام فراورده‌های نفتی، از نفت خام مشتق می شـوند کـه مهـم‌تـرین اجـزای سـازنده آن را هیدروکربن‌ها تشـکیل مـی‌دهنـد. اجـزای تشـکیل دهنـده نفـت خـام را مـی‌تـوان بـر اسـاس کروماتوگرافی جذب سطحی به چهار جزء[۱] اشباع شده، آروماتیک، رزین و آسفالتن تفکیک کرد. هر کدام از این چهار گروه، تعداد زیادی از ترکیبات مختلف را شامل می شوند [۷].

هیدروکربن‌های اشباع شده، ترکیباتی هستند که هـیچ پیونـد دوگانـه‌ای در سـاختار خـود ندارند. این هیدروکربن‌ها را می توان بر اساس ساختار شیمیایی به دو گروه آلکان‌هـا (پـارافین-

[۱] Fraction

ها[1]) و سیکلوآلکان‌ها (نفتن‌ها[2]) تقسیم بندی کرد. آلکان‌ها، خود می‌توانند زنجیره‌های انشعاب‌دار یا بدون انشعاب (نرمال) باشند و فرمول کلی C_nH_{2n+2} را دارند. سیکلوآلکان‌ها دارای یک یا تعدادی حلقه کربنی (معمولاً سیکلوپنتان یا سیکلوهگزان) در ساختار خود هستند و فرمول کلی C_nH_{2n} دارند. اغلب آلکان‌های موجود در نفت خام دارای استخلاف آلکیل می‌باشند (شکل ۱-۱).

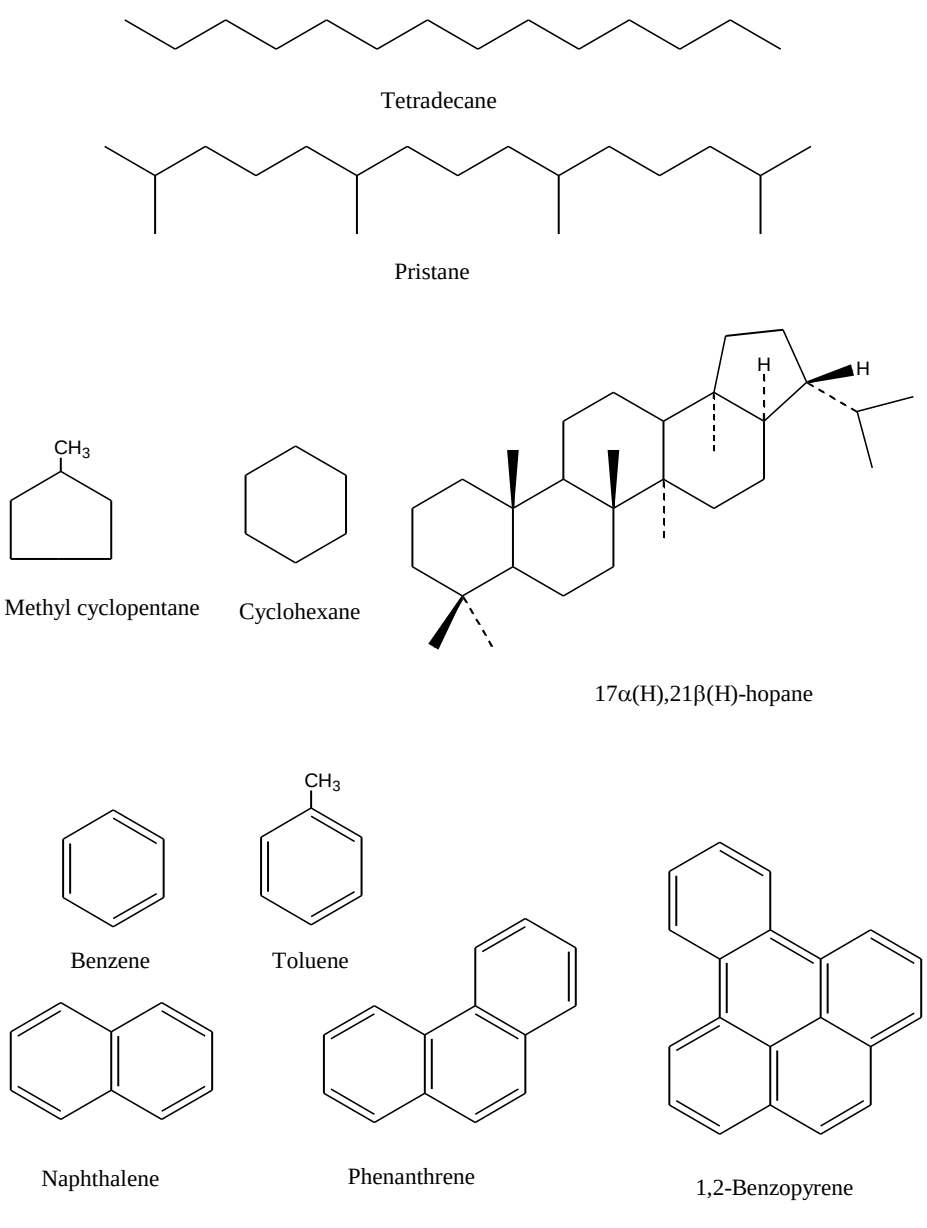
آروماتیک‌ها یک یا چند حلقه آروماتیک با/یا بدون استخلاف آلکیل دارند. بنزن ساده‌ترین آنهاست (شکل ۱-۱) ولی در نفت خام، ترکیبات آروماتیک حاوی استخلاف آلکیل، عموماً از انواع بدون استخلاف بیشتر هستند [۸]. بر خلاف هیدروکربن‌های اشباع شده و آروماتیک، آسفالتن‌ها و رزین‌ها هردو در ساختارشان دارای گروه‌های قطبی غیر هیدروکربنی هستند و عناصر سازنده آنها علاوه بر کربن و هیدروژن، شامل مقادیر ناچیزی از ازت، گوگرد، و (یا) اکسیژن نیز می‌باشد. این گروه‌ها اغلب با فلزات سنگین کمپلکس می‌دهند. آسفالتن‌ها از ترکیبات سنگین ملکولی تشکیل شده اند که در حلال‌هایی نظیر n- هپتان حل نمی شوند، درحالیکه رزین‌ها ملکول‌های قطبی محلول در n- هپتان می‌باشند. رزین‌ها شامل ترکیبات ناجور حلقه[3]، اسیدها و سولفونیک‌ها هستند.

انواعی از محصولات نفتی، بوسیله فرآوری نفت خام تولید می‌شوند. این فرآوری اساساً یک فرآیند تقطیر جزء به جزء است که بوسیله آن اجزاء یا بخش‌های مختلف نفتی تولید می‌شوند. آلکن‌ها که یک گروه از هیدروکربن‌های غیر اشباع شده هستند، در نفت خام یافت نمی‌شوند، ولی در حین جزء جزء کردن آن تولید می‌شوند.

[1] Paraffins

[2] Naphthens

[3] Heterocyclic



شکل ۱-۱- هیدروکربن‌های معروف نفت.

تترادکان (یک *n*-آلکان)، پریستان (یک آلکان شاخه دار)، و متیل سیکلوپنتان، سیکلوهگزان و ۱۷ α [H]، ۲۱ β [H]-هوپان (ترکیبات سیکلوآلکان) در جزء اشباع شده نفت خام حضور دارند. بقیه ترکیبات در جزء آروماتیک یافت می‌شوند [۹].

۱-۲- آثار فعالیت‌های نفتی بر محیط زیست

در دهه‌های اخیر و هم‌زمان با تولید روز افزون نفت در دنیا و در نتیجه افزایش حمل و نقل آن از مسیرهای آبی، آلودگی‌های نفتی بسیاری را در خیلی از نقاط دنیا شاهد هستیم. از طرف دیگر باد و پدیده‌های دیگر جوی به پخش و گسترش این آلودگی‌ها کمک می‌کند. یک حادثه نفتی می تواند نفت را بدرون دریا جاری نماید، لکه‌های بزرگ نفتی ایجاد شده که این لکه‌ها با جریان‌های دریایی همراه شده و در مسیر خود می‌توانند هزاران کیلومتر از کرانه‌های دریایی را آلوده کنند. بدین جهت نگرانی ناشی از این آلودگی‌ها، تنها منحصر به کشورهای تولید کننده و مصرف کننده نفت نمی‌شود، بلکه تمام نقاط دنیا می‌توانند به نحوی تحت تأثیر این آلودگی‌ها قرار گیرند (جدول ۱-۱).

در جدول ۱-۱، چند مورد از بزرگ‌ترین آلودگی‌های نفتی رخ داده ارائه شده است. تعدادی از این موارد علی‌رغم مقدار زیاد نفت تخلیه شده، به‌دلیل این‌که با خطوط ساحلی تماس پیدا نکردند، باعث آسیب زیست محیطی ناچیزی شده‌اند. همان‌طور که در جدول نیز مشاهده می‌شود، تعداد آلودگی‌های بزرگ (بیش از ۷۰۰ تن)، بطور قابل توجهی در سی سال اخیر کاهش یافته است. تعداد آلودگی‌های بزرگ در سال، در طول دهه ۱۹۹۰ تقریباً یک‌سوم تعداد مربوط به دهه ۱۹۷۰ بوده است.

اثر مخرب سکوهای نفتی، نه به‌دلیل نشت نفت در عملیات، بلکه به دلیل حوادثی است که بعضاً اتفاق می‌افتد. مقدار نفتی که از این طریق وارد دریا می شود بجز در مواردی که حادثه رخ دهد، نسبتا اندک است. این حوادث غالبا بر اثر آسیب دیدگی سکوها و تجهیزات رخ می‌دهد. در کلیه مراحل حفاری و استخراج، اقداماتی جهت کنترل فشار بالای مخزن انجام می‌گیرد به این نحو که چاه توسط درپوشی بنام جلوگیری کننده فوران[۱] به پوسته محکم شده، کنترل می‌گردد و جریان چاه را در حالت اضطراری کاملا قطع می‌کند.

هنگام عملیات حفاری چاه‌های نفت، مقداری گل و لای وارد آب می‌شود. این مواد شامل خاک رس و آب، توام با سولفات باریم می‌باشد. بسیاری از این مواد و اجزاء آنها برای ارگانیزم‌های دریایی سمی می‌باشند و اغلب از مقدار BOD[۲] و غلظت‌های نیتروژن، کربن و مواد فسفر بالایی بر خوردارند و تجمع این مواد در اطراف سکوهای حفاری ممکن است آسیب جدی به موجودات دریایی وارد سازد.

تقریبا تمام نفت خام دنیا، توسط مخازن متحرک در دریا حمل می‌گردند. با توجه به تعداد اندک سکوهای بارگیری نسبت به حجم زیاد نفت و تعدد نفت‌کش‌های مورد نیاز و رقابت آنها

---

[۱] BOP

[۲] **نرخ مصرف اکسیژن در داخل آب توسط ارگانیزمها**

جهت استفاده از تسهیلات بارگیری، حوادث مربوط بـه کشـتی‌هـای نفـت‌کـش از رقـم بـالایی برخوردار است.

سوراخ شدن تانکرهای ذخیره زیرزمینی و روان‌آب‌های آلـوده بـه نفـت کـه از خیابـان‌هـا و پارکینگ‌های شهری همراه به آب باران وارد رودخانه‌ها وسپس به دریاها و اقیانوس‌ها می‌رسند نیز از سطوح آلودگی محیط‌های آبی است.

نشت ترکیبات نفتی تحت تأثیر نیروهای مـوئینگی و ثقلـی منجـر بـه حرکـت عمـودی، در خاک‌های غیر اشباع شده و خلل و فرج خاک را پر می‌کند. درصورت زیاد بودن مقدار نشتی فاز مایع به سطح آب رسیده و در آنجا تجمع می‌یابد و از آنجا به همراه آب‌های زیر زمینی حرکـت کرده و به دلیل وزن مخصوص کمتر نسبت به آب در سطح آب شناور باقی می‌ماند [۱۰].

جدول ۱-۱- بررسی آماری آلودگیهای نفتی ناشی از تصادفات تانکرهای نفت‌کش بین سالهای ۱۹۷۰ تا ۲۰۱۳ میلادی (ITOPF, 2013).

سال	۷۰۰-۷ تن	بیش از ۷۰۰ تن	مقدار نفت تخلیه شده (هزار تن)	موارد برگزیده (محل، نام نفت‌کش و مقدار نفت تخلیه شده (تن))
۱۹۷۰	۶	۲۹	۳۰۱	
۱۹۷۱	۱۸	۱۴	۱۶۷	Wafra, South Africa، ۴۰۰۰۰
۱۹۷۲	۴۹	۲۴	۳۱۱	
۱۹۷۳	۲۵	۳۲	۱۶۶	
۱۹۷۴	۹۱	۲۶	۱۶۹	Metula, Chile، ۵۰۰۰۰
۱۹۷۵	۹۷	۱۹	۳۴۲	Jakob Maersk, Portugal، ۸۸۰۰۰
۱۹۷۶	۶۷	۲۵	۳۶۹	Urquiola, Spain، ۱۰۰۰۰۰
۱۹۷۷	۶۵	۱۶	۲۹۸	Hawaiian Patriot, Honolulu، ۹۵۰۰۰
۱۹۷۸	۵۴	۲۳	۳۹۵	Amoco Cadiz, France، ۲۲۳۰۰۰
۱۹۷۹	۵۹	۳۴	۶۰۸	Atlantic Empress, West Indies، ۲۸۷۰۰۰
۱۹۸۰	۵۱	۱۳	۱۰۳	
۱۹۸۱	۴۹	۶	۴۴	
۱۹۸۲	۴۴	۳	۱۱	
۱۹۸۳	۵۲	۱۱	۳۸۴	Castillo de Bellver, South Africa، ۲۵۲۰۰۰
۱۹۸۴	۲۵	۸	۲۸	
۱۹۸۵	۲۹	۸	۸۸	
۱۹۸۶	۲۵	۷	۱۹	