

دور نسب الخلط الفيزيائي للترب كطريقة لاستصلاح الترب الملوثة بالنفط
الخام و أثره في بعض خواص التربة

**The Role Of The Physical Mix Rates Of Soils as A
Method Of Reclamation Of Petroleum Polluted Soils
and Its Effect On Some Soil Characteristics**

الملخص :

جرى تنفيذ هذه الدراسة لبيان إمكانية الخلط الفيزيائي للترب الملوثة بالترب النظيفة في حل مشكلة التلوث النفطي في التربة من خلال تقدير بعض الأنشطة الحيوية لميكروبات التربة. إذ تم تنفيذ تجربة أصص بسعة 6 كغ من خلطة ترابية مكونة من التراب و الرمل النهري بنسبة (1:3) (Sand:Soil) ثم خلطت ترب الأصص بنسب مختلفة من تربة ملوثة بالنفط الخام (شاهد ، 20% و 30% ، 40% ، 50%) و زرعت بذور الشعير بواقع / 30 / بذرة في الأصيص الواحد و وتمت التحاليل الميكروبيولوجية الكيميائية و الحيوية في ثلاث مراحل زمنية وكان النتائج كمايلي :

إن نسبة الخلط 20% تربة ملوثة و كذلك النسبة 30% اعتبرت في نتائج هذه التجربة تراكيز منشطة لأعدا البكتريا و الفطريات في التربة و اعتبرت نسبة الخلط 40% ، 50% نسب مثبطة للنمو البكتيري و الفطر ، و قدرة الفطريات على تحليل النفط مع مرور الزمن حتى التركيز 40% للقياس . وقد أثبتت الاكتينومايس دوراً فعالاً في استصلاح الترب الملوثة و ازدادت حتى في نسب الخلط 40% ، 50%

كما تتشكل الفينولات في ترب التجربة بشكل مطرد مع زيادة نسب الخلط و بفروق معنوية ذات دلالة إحصائية مقارنة مع الشاهد و انخفاض تركيز الاندول أستيك أسيد بشكل عكسي مع الفينولات مع زيادة نسب الخلط

.....

كلمات مفتاحية : التلوث النفطي ، الخلط الفيزيائي ، الفينولات الكلية ، أندول أستيك

1- المقدمة : Introduction:

يعتبر التلوث البيئي من أهم المشكلات البيئية التي تواجه الإنسان في العصر الحديث ، ولعل أبرز التحديات من قبل الإنسان على البيئة كان في حق التربة من خلال استغلالها بشكل غير منظم و غير معقول.

ولعل النظرة الخاطئة إلى التربة كمستودع كيميائي و ماني يتألف من تركيب فيزيائي لحبيبات متفاوتة الحجم (رمل ، سلت ، طين) قادت إلى تلوثها دون الأخذ بعين الاعتبار أنها وسط حيوي يعج بالكائنات الحية الدقيقة و غير الدقيقة وأنها الحيز الطبيعي الذي يكفل الحياة للنباتات بأنواعها المختلفة وأنها من أكثر الأوساط البيئية في الطبيعة ديناميكية في العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية و مكونات التربة الفيزيائية و الكيميائية و الحيوية مما يجعلها أكثر مرونة بيئية في التفاعل مع الملوثات التي تصل إليها و لعل الملوثات النفطية أحد أهم هذه الكيماويات التي تجد طريقها إلى التربة بشكل مباشر نتيجة التوسع الكبير في استعمالات النفط و مستوياته مما يقود إلى أن هناك ملايين الأطنان من الملوثات و المخلفات العضوية النفطية الخاسية و غيرها تجد طريقها إلى التربة أو إلى مياه المحيطات سنوياً بالصدفة أو الإهمال أو عن طريق صرف بقايا النفط و مشتقاته المختلفة في مواقع استخراج و المناطق المحيطة به .

ومباحثنا هذا إلا لتسلط الضوء على إمكانية استخدام أحد الحلول الفيزيائية لاستصلاح التربة الملوثة بالنفط الخام بالمناطق المحيطة في مراكز استخراج و التي تلوثت بدرجات متفاوتة حسب قربها و بعدها من مراكز البئر أو الاستخراج و ذلك من خلال خلطها مع تربة نظيفة غير ملوثة و دراسة النشاط الحيوي للتربة بعد خلطها بنسب محددة من تربة ملوثة بهدف التوصل إلى حل مشكلة بيئية مصاحبة لاستخراج النفط تؤثر على حيوية التربة المجاورة لها .

2- أهمية البحث

يعتبر النشاط الحيوي أهم المؤشرات الحيوية التي تتأثر في حالات تلوث التربة بالكيمائيات بأشكالها المختلفة ، والتي يعتبر النفط الخام أحد أهمها تأثيراً على ميكروبات التربة و نشاطها ، لذا يعتبر مجموع النشاط الحيوي في التربة منعكساً ايجابياً في حال زوال العامل الملوث أو انخفاض تأثيره .
لذا جاءت هذه الدراسة لبيان إمكانية الخلط الفيزيائي للترب الملوثة بالترب النظيفة في حل مشكلة التلوث النفطي في التربة من خلال تقدير بعض الأنشطة الحيوية لميكروبات هذه التربة .

3-الهدف من البحث:

- 1 - دراسة تأثير التلوث بالنفط الخام في بعض مجاميع الأحياء الدقيقة (بكتريا - فطر - أكتينومايسس) للتربة .
- 2 - دراسة أثر عملية الخلط في تغيير بعض الخواص الحيوية (الفينولات الكلية - الإندول أسيتيك أسيد) للترب الملوثة بالنفط الخام .

4- الدراسات المرجعية :

النفط هو خليط معقد من الهيدروكربونات والمركبات العضوية الأخرى، بما في ذلك بعض المكونات العضوية الفلزية (Butler and Mason, 1997) والمركبات الأليفاتية، والهيدروكربونات العطرية (Prince, 1993; Wang et al., 1998) ومعظمها سامة للكائنات الحية (ATSDR, 1995) .

هذا النفط يجعل البيئة ملوثة ويشكل خطراً محتملاً على البشر والحيوانات والنباتات (Edewor et al., 2004) .

ومن آثاره على التربة الهجرة فيعد تسمره عادة ما يخرق سطح التربة ويبدأ بالهبوط عمودياً في باطن الأرض تحت تأثير قوى الجاذبية الأرضية ، والضغط الشعري.

(Raisbeck and Mohtadi., 1974)

درجة و مدى الهجرة الرأسية للنفط في التربة تعتمد أساساً على نوع التربة ونوع وكمية النفط المتسرب (Harris and McGill, 1980) .

و من آثاره الفيزيائية يتغير محتوى الرطوبة في التربة بعد التلوث بالنفط إما زيادة أو نقصان اعتماداً على الموقع (McGill,1980) ففي المناطق المنخفضة يتجمع النفط بشكل طبيعي ويؤدي إلى سوء التصريف في حين على المناطق المنحدرة فإن حركة النفط على سطح التربة يجعل التربة الجافة غير قابلة للبلل.

عادة التربة الملوثة سوف يكون لديها ميل لتجف و تكون أكثر عرضة للتآكل .

ومن أهم الآثار الكيميائية الرئيسية للنفط على التربة هو تثبيط عملية النتجة من الأمونيوم إلى نترات . (Udo and Fayemi, 1975 ; McGill, 1977) .

وارتفاع في الطلب على الأكسجين في التربة من الكائنات الدقيقة ، مما يؤدي إلى انخفاض كميات الأوكسجين في التربة حيث أفادت العديد من الدراسات أن الظروف اللاهوائية يمكن أن تؤدي إلى زيادة درجات الذوبان من المنغنيز والحديد في التربة الملوثة بالنفط (Giddens, 1976; McGill, 1977).

كماتين أن هناك زيادة في مجموع النيتروجين والكربون العضوي و المواد العضوية و زيادة في نسبة C: N في الترب الملوثة (Udo and Fayemi, 1975) . بالإضافة إلى ذلك، التسربات النفطية عادة ما تؤدي إلى زيادة درجة حرارة التربة

(McGill, 1980) ويعتقد أن لهذا صلة بقتامة لون التربة الملوثة بالنفط (Johnston, 1970; Raymond et al 1976) و عدم وجود الغطاء النباتي الذي يضل التربة.

ومن أهم عمليات التدهور غير البيولوجية التي تحدث في التربة الملوثة بالنفط التطاير و ذكرت الدراسات أن خصائص التطاير تصل إلى 40% في التربة الملوثة بالنفط.

تجارب أجريت في البريا تبين أنه عندما أضيف النفط للتربة في الحقل أن حوالي 30% من النفط المضاف فقد بالتطاير (Rowell, 1975).

وخسائر التطاير قد تصل إلى ما يقرب من 20-40% من الوزن الطازج للنفط الخفيف (McGill; 1977)، وهذه العملية سريعة نسبيا إذا تمت تهوية التربة و من المتوقع أن تنتهي خلال شهر واحد في 20°C في الطبقة السطحية من التربة (0-10 سم).

تعتبر الأكسدة بواسطة الكائنات المجهرية في التربة الآلية الأساسية لتحلل النفط في التربة (Schwendinger, 1968; McGill, 1977) وقد أفادت الدراسات أنه يمكن للعديد من أجناس من البكتيريا، والأكتينومييسس والفطريات الموجودة في التربة أيضاً أن تحلل الهيدروكربونات بدءاً من النفط الخفيف إلى زيوت التشحيم الثقيلة والإسفلت والقطران (Schwendinger, 1968). و يبدو أن البكتيريا الهوائية والفطريات تلعب دوراً أكثر أهمية في عملية تحلل النفط (Jones and Edington, 1968; Jensen, 1975; Vanlooche et al, 1975; Llanos, 1976). وبعد التسرب النفطي، يمكن للميكروبات في التربة أن تمر بفترة قصيرة من التكيف أو تأخر في مرحلة التحلل إلى مراحل مختلفة (Rowell, 1975; Vanlooche et al, 1975) ويعود ذلك إلى السمية المنخفضة للهيدروكربونات وأيدت الكثير من الدراسات جانب السمية حيث تحتاج الميكروبات إلى فاصل زمني لتوليف الأنزيمات اللازمة لتحلل النفط. فترة تأخر تتراوح من 1-3 أيام قبل حدوث أي نشاط (يتم كشفه في ارتفاع إنتاج ثاني أكسيد الكربون في التربة). على أساس هذه التقارير، يبدو أن وقت التكيف يعتمد إلى حد كبير على الميكروبات الموجودة في التربة والموقع والظروف المناخية، ونوع وكمية النفط. وقد أظهر العديد من الباحثين الزيادات في النشاط الميكروبي بعد إضافة النفط إلى التربة عن طريق قياس إما امتصاص الأوكسجين أو تطور ثاني أكسيد الكربون في التربة الملوثة بالنفط (Eriksson et al., 1999; Barathi and Vasudevan, 2001; Mishra et al 2001). وقد تم عزل عدد كبير من السلالات القادرة على

الحد من تدهور التربة والمياه الجوفية بالمواد الهيدروكربونية البترولية .
(Kiyohara et al., 1992; Pathak et al., 2008) ومن أمثلة هذه السلالات :

Alcaligenes sp., Flavobacter sp., Corynebacterium sp.
Streptococcus sp., Moraxella sp., Bacillus sp. and Enterobacter
sp.,

كائنات حية أخرى مثل (Bhattacharya et al., 2002; Jain et al., 2010)

الفطريات Aspergillus sp., Penicillium sp., Fusarium sp., هي أيضا

قادرة على تقليل التلوث بالهدروكربونات إلى حد معين (Brito et al., 2006) .

ومع ذلك، فإنها تأخذ فترات أطول من الوقت لتنمو بالمقارنة مع نظرائها البكتيرية.

(Prenafeta-Boldu et al., 2001) وتتوزع كذلك البكتيريا والفطريات التي تحلل

المواد الهيدروكربونية إضافة للتربة في البيئات البحرية والمياه العذبة ، تم الإشارة

إلى البكتيريا الخضراء المزرقة والقادرة أيضاً على الحد من التلوث بالنفط والغاز .

(Lliros et al., 2003; Chaillan et al., 2004)

5- مواد وطرائق البحث :

- موقع الدراسة :نفذت تجربة أصص بسعة / 6 / كغ في كلية الزراعة بدير الزور

- جامعة الفرات و نفذت التحاليل المخبرية (الفيزيائية و الكيماوية و الميكروبيولوجية

و البيوكيماوية) في مخابر قسم التربة و استصلاح الأراضي بجامعة الفرات كلية

الزراعة .

- مواد العمل :

- التربة : لقد تم جلب تربة زراعية بهدف استخدامها في تنفيذ الدراسة و الجدول رقم

/ 1 / يوضح أهم الخواص الفيزيائية و الكيماوية للتربة المستخدمة في التجربة قبل

الزراعة .

التركيب الميكانيكي %			مادة عضوية	كربونات كلية	K ₂ O	P ₂ O ₅	N	PH	Ec مليلموز / سم	العمق / سم
طين	صلت	رمل	p.p.m							
			%							
39.75	36.16	24.09	0.9	24.2	82.0	13,9	20,9	7.92	0.85	20-0

- النبات المدروس : الشعير .

- الزراعة :

نفذت تجربة وفقاً لقواعد تنفيذ الخلطات الترابية الخاصة بالأصص حيث جرى تحضير خلطة ترابية مكونة من التراب و الرمل النهري بنسبة (1:3) (Sand:Soil) و زرعت بذور الشعير بواقع / 30 / بذرة في الأصيص الواحد بتاريخ 2013/12/24 م سبق ذلك خلط التربة بنسب مختلفة من التربة الملوثة (شاهد ، 20 % و 30 % ، 40 % ، 50 %)

أخذت العينات الترابية الخاصة بإجراء التحاليل الميكروبيولوجية من كافة المعاملات لثلاث مكررات في ثلاث مواعيد زمنية :

الموعد الأول : 2014/1/7 م .

الموعد الثاني : 2014/2/2 م .

الموعد الثالث : 2014/4/11 م .

لعمق (5-10 سم) ومن داخل الأصيص دون قلع النبات و بواقع / 200 / غ لكل عينة أو معاملة ووضعت العينات في عبوات زجاجية معقمة لدراستها مباشرة .

6- تصميم التجربة :

لقد تم تنفيذ تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل و بعامل واحد (تربة ملوثة) (إذ تم خلط تربة نظيفة مع تربة ملوثة بهدف استصلاحها و بواقع (وزن / وزن) في أصص بسعة / 6 / كغ كمايلي :

المعاملة الأولى : شاهد تربة نظيفة / تربة نظيفة

المعاملة الثانية : 20 % تربة ملوثة + 80 % تربة نظيفة .

المعاملة الثالثة : 30 % تربة ملوثة + 70 % تربة نظيفة .

المعاملة الرابعة : 40 % تربة ملوثة + 60 % تربة نظيفة .

المعاملة الخامسة : 50 % تربة ملوثة + 50 % تربة نظيفة .

ملاحظة : التربة الملوثة التي استعملت في عملية الخلط بهدف استصلاحها تم تلويثها صناعياً بالنفط الخام بنسبة / 25 % (وزن / وزن) (نفط / تربة) .

7-التحليل الإحصائي :أجري التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام برنامج (SAS

(مع حساب قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى (1 %) .

8-طرائق العمل :

التحاليل الفيزيائية و الكيميائية للتربة :

أجريت التحاليل التالية قبل الزراعة :

1 - التحليل الميكانيكي لتحديد قوام التربة بطريقة الهدروميتر (Hedrometer) .

2 - تقدير درجة PH في مستخلص العجينة المشبعة باستخدام جهاز PH meter .

3 - تقدير الناقلية الكهربائية Ec في مستخلص العجينة المشبعة باستخدام جهاز الناقلية الكهربائية .

4- تقدير المادة العضوية بطريقة الأوكسدة الرطبة وفقاً لطريقة (Walkels - Blak)

5 - تقدير الأزوت وفقاً لطريقة (Chapman and Pratt (1978) .

6 - تقدير الكربون وفقاً لطريقة (Chapman and Pratt (1978) .

- الاختبارات الميكروبيولوجية :

لقد تم أخذ العينات الميكروبيولوجية الخاصة بتقدير المحتوى الكلي للميكروبات في عينات التربة (Total count) ثم تقدير المحتوى البكتيري و الفطري و محتوى

التربة من الاكتينومايس

-العزل الميكروبيولوجي :

لقد جرى العزل وفقاً لطريقة روبرت كوخ للتخفيف و الصب في الأطباق مع الأخذ بعين الاعتبار الفارق في التخفيف عند دراسة تقدير الفطر و البكتريا

الاختبارات البيوكيماوية :

1-تقدير الفينولات الكلية : Total phenol

جرى تقدير الفينولات الكلية وفقاً لطريقة (Mc- growth 1982) المعدلة بواسطة Sabra 1993 (Ashraf and Harris, 2004) في التربة من خلال قياس الامتصاصية باستخدام جهاز Spectro photometer على طول موجة / 660 / نانوميتر .

2- تقدير كمية الاندول استيك اسيد (IAA) وفقاً لطريقة (Salkowski)

(Iqbal and Vaid, 2009) في التربة ومن خلال قياس الامتصاصية في جهاز Spectro photometer على طول موجة / 530 / نانوميتر .

9-النتائج و المناقشةResults & Discussion

تعتبر البكتريا من أكثر الميكروبات عدداً في التربة و تقدر أعدادها بالملايين في الغرام الواحد من التربة إذا كانت التربة معاقاة بيئياً و خصبة و لكن عند التعرض لإجهاد بيئي مثل التلوث النفطي الخام ، فإن هذا الأخير بتركيبه الكيماوي المعقد يمكن أن يتحلل بفعل البكتريا إلى مركبات أقل أو تستهلكه البكتريا كمصدر للكربون في حالة النمو و التكاثر و الجدول رقم / 2 / يبين أعداد البكتريا تحت تأثير نسب مختلفة من الخلط (شاهد ، 20% ، 30% ، 40% ، 50%)

الجدول / 2 / أعداد البكتريا مقدرة بالمليون / غرام تربة ($\times 10^6$)

L.S.D 1 %	50%	40%	30%	20%	شاهد	
0.441	2.15	2.45	3.56	3.04	4.0	موعد 1
0.204	1.00	1.32	1.76	1.44	1.76	موعد 2
0.814	2.33	1.81	3.66	2.80	1.80	موعد 3

ولدى دراسة أرقام هذا الجدول / 2 / نجد أن أعداد البكتريا في المعاملة الشاهد في الموعد الأول بلغت / 4.0 (أربع ملايين خلية بكتيرية في الغرام الواحد و انخفضت في الموعد الثاني إلى / 1.76 / مليون و هذا يعود إلى طبيعة التغيرات الكيماوية و الغذائية التي طرأت على النبات المزروع في هذه التربة مما أفقر التربة و أثر بشكل سلبي على الميكروبات (إجهاد غذائي تم ممارسته على ميكروبات التربة لأن التربة غير مسمدة) .

ولدى المقارنة بين الشاهد و المعاملات الأخرى (20 ، % 30 ، % 40 ، % 50 و في الموعد الأول نجد أن أعداد البكتريا إذا ما قورنت مع الشاهد فهي أقل في جميع المعاملات ، وإذا ما تمت المقارنة بين نسب الخلط (20 ، % 30 ، % 40 ، % 50) نجد أن أعداد البكتريا وصلت إلى أعلى مستوى لها و بلغت (3.56) مليون عند نسبة الخلط (30) % ثم انخفضت مع زيادة نسب الخلط 40 ، % 50 ، % وها يقودنا إلى الاستنتاج بأن التركيز 20،% 30 % تعد تراكيز منشطة للنمو البكتيري مقارنة مع التركيز 40 ، % 50 ، % و التي عملت على تثبيط النمو البكتيري و الذي انعكس على أعداد هذه المجموعات الميكروبية الهامة في التربة . و يمكن أن نخلص إلى نتيجة من هذا الجدول أن النسبة 40% ، % 50 أثرت بشكل سلبي على نمو البكتريا في التربة

و لدى الانتقال إلى الجدول رقم / 3 / و الذي يتضمن تقدير أعداد الفطور بشكل عام في ترب معاملات التجريبية مقدرة ($\times 10^4$) بالعشرة آلاف في الغرام من التربة .

جدول / 3 / أعداد الفطريات مقدره بمئات الأنوف / غرام تربة ($\times 10^5$)

L.S.D 1 %	50%	40%	30%	20%	شاهد	
0.57	1.63	1.03	2.35	2.5	8.6	موعد 1
0.61	1.25	1.32	2.76	2.4	7.6	موعد 2
0.52	1	1.3	2.66	2.10	7.3	موعد 3

و من خلال قراءة الجدول / 3 / نجد أن أعداد الفطريات في المعاملة (20 %) بالمقارنة مع الشاهد قد انخفضت بفرق معنوي واضح و التأثير ينساق على باقي المعاملات و ملاحظ أن النسبة 20 % - 30 % إذا ما قورنت مع 40 % ، 50 % نجد أن هناك فروق في أعداد الفطريات مما يؤكد النتيجة ذاتها التي تم الحصول عليها في الجدول / 2 / وهي أن التركيز 40 % ، 50 % قد مارس إجهاداً بيئياً كبيراً على فطريات التربة و بالتالي نستنتج أنه لا يصلح كنسبة خلط عند إصلاح الترب الملوثة ، و النتيجة ذاتها تقريباً نجدها في الموعدين الثاني و الثالث وبخاصة في الموعد الثاني نجد أن أعداد الفطريات بدأت ترتفع مما يؤكد أن هذه الكتلة الفطرية استطاعت أن تفكك الكتلة النفطية المتواجدة في التربة و بخاصة في النسب الأولى مما أدى إلى ارتفاع طفيف في أعدادها و هذا ما يشير إلى قدرة الفطريات على استهلاك الكميات من النفط المتمثلة في النسب 20 % ، 30 % و 40 % ، وهذا بحد ذاته استنتاج هام .

و استمراراً لدراسة أهم مجاميع الأحياء النقيطة الناشطة في تحلل المركبات الكربوهيدراتية في التربة كان ولا بد من دراسة الاكتتومايس و هذه المجموعة هي بكتريا و لكنها تدرس بشكل مستقل لأهميتها في تحلل المركبات العضوية صعبة التحلل مثل

السيلولوز و اللجنين و الكيتين و المركبات البلاستيكية و اللدائن لذا وجودها مؤشر حيوي على التحلل الصعب لهذه المركبات و الجدول / 4 / يبين ذلك بوضوح تام .
 الجدول / 4 / أعداد الاكتينومايس مقدرة بعشرات الألوفا ($\times 10^4$)

L.S.D	% 50	% 40	% 30	% 20	شاهد	
2.42	20.0	9.6	8.0	3.5	3.5	موعد 1
0.28	3.6	3.1	3.1	4.3	3.5	موعد 2
0.32	3.3	4.1	3.2	3.4	3.2	موعد 3

ولدى دراسة نتائج هذا الجدول بدقة و بخاصة في الموعد الأول نجد أن إضافة النفط الخام إلى التربة في المعاملات (20% ، 30% ، 40% ، 50%) قد بلغت أعداد الاكتينومايس على التوالي (3.5 ، 8.0 ، 9.6 ، 20.0) و جميع هذه القيم تفوقت على الشاهد و البالغ (3.5) بفروق معنوية واضحة و ذات دلالة إحصائية عالية عند المستوى (1 %) وهذا يؤكد ماتم التقدم له أن هذه الاكتينومايس وجدت في المركبات النفطية الخام مادة كربوهيدراتية أولية خامية صعبة التحلل فعملت على تفكيكها مما زاد من أعداد هذه المجموعات الميكروبية و انعكس هذا التحلل بشكل إيجابي على أعداد البكتريا و الفطريات لأنها وجدت مواد عضوية مفككة و سهلة الاستقلاب نتجت عن تفكيك الاكتينومايس لها و من هنا نستنتج الدور الفعال للاكتينومايس في استصلاح الترب الملوثة بالنفط و التي يجب أن تعار أهمية جديدة في الدراسات القادمة و هذا يعتبر من أهم الاستنتاجات الميكروبية لهذه الدراسة .
 و عند الانتقال إلى الموعد الثاني نجد أن أعداد الاكتينومايس قد انخفضت و هذا يمكن تفسيره إلى أن نور هذه الميكروبات التنافسي مع البكتريا و الفطريات على الغذاء ضعيف و يعود إلى الأعداد الهائلة للبكتريا مقابل الأعداد القليلة للاكتينومايس مما يجعلها في علاقة تضاد غذائية مع باقي المجموعات الميكروبية

- تقدير الفينولات الكلية في التربة :

بعد أن تمت دراسة الميكروبات (أعداداً و نشاطاً) في التربة و مدى انعكاس تأثير نسب الخلط المختلفة على أعداد هذه الميكروبات و نشاطها أثناء استصلاحها حيويًا كان لابد من معرفة آلية المقاومة التي أبدتها هذه المجاميع الميكروبية لمقاومة الإجهاد البيئي المتمثل في عملية الخلط للتربة الملوثة على هذه الميكروبات من خلال تقدير مؤشر حيوي هام هو الفينولات الكلية و الجدول رقم / 5 / يبين نتائج هذه الدراسة .

الجدول (5) يبين كمية الفينولات المتواجدة في التربة مقدر (ملغ / 100 غ)تربة

L.S.D 1 %	% 50	% 40	% 30	% 20	شاهد	
	10.42	9.43	6.83	5.14	4.63	موعد 1
	11.04	10.22	7.72	6.22	4.86	موعد 2
	10.88	8.86	7.68	5.05	5.52	موعد 3
1.83	10.78	9.43	7.41	5.47	4.67	X

تظهر أرقام هذا الجدول أن القيم المتوسطة للفينولات في معاملة الشاهد و التي بلغت (4.67) ملغ / 100 غرام تربة بينما لوحظ ارتفاع في متوسطات قيم الفينولات (3 مكررات) بفارق غير معنوي عند المعاملة (20 %) كنسبة خلط في حين أن المعاملات (30 % ، 40 % ، 50 %) قد أبدت ارتفاعاً في قيم الفينولات الكلية في التربة مقارنة مع الشاهد و بفروق معنوية ذات دلالات إحصائية واضحة و هذا يقودنا إلى استنتاج هام مفاده أن الفينولات التي تتشكل كنتيجة لرد فعل الميكروبات على الإجهاد الكيماوي المتمثل في التربة الملوثة بالنفط الخام قد كانت مستويات إنتاجها من قبل الميكروبات في التربة مرتفعة و ذات دلالة إحصائية .

وهذه النتيجة متفقة مع قيم الجدول (3) (4) و التي أبدت نشاطاً ملحوظاً للميكروبات مما رافقها ارتفاع في إنتاج الفينولات للحد من تأثير العامل الكيماوي و خاصة في التراكيز العالية 40 % ، 50 %

التقدير الكمي للاندول أستيك أسيد (IAA):

لقد تم تقدير الاندول أستيك أسيد كمحفز نمو للبكتريا يمكن أن تفرزه البكتريا خارج تأثير الاجهادات أي أن هذا المركب يتأثر بشكل سلبي تحت تأثير الاجهادات حيث ثبت أن الميكروبات يمكنها أن تنتج الاندول استيك اسيد لكن تحت ظروف مثالية للنمو و التي أثبتت قدرة بعض الاجناس البكتيرية في تربة الريزوسفير على إنتاج منظم النمو (IAA) و الذي أثبت في بعض الحالات حفز البكتريا على مقاومة الاجهاد و استمرار النمو و التكاثر و أرقام الجدول / 6 / تبين هذه النتيجة .

لجدول رقم / 6 / يوضح كمية الاندول استيك اسيد في التربة مقدرة بالملغ / 100 غم تربة

L.S.D 1 %	% 50	% 40	% 30	% 20	شاهد	
	0.66	0.79	0.93	1.22	1.96	موعد 1
	0.59	0.81	0.86	1.13	1.73	موعد 2
	0.61	0.78	0.95	1.33	1.81	موعد 3
0.13	0.62	0.79	0.91	1.22	1.83	X

مانلاحظه في نتائج هذا الجدول أن قيم الاندول استيك اسيد مرتفعة في معاملة الشاهد و بلغت القيمة المتوسطة (1.83) ملغ / 100 غ تربة و انخفضت عند خلط التربة النظيفة بالتربة الملوثة بالنفط عند نسبة الخلط (20 %) و بلغت قيم (1.22) و بفارق معنوي ذي دلالة إحصائية واضحة و توالت الانخفاضات في قيم الاندول استيك

اسيد مع زيادة نسب الخلط بالتربة الملوثة من 20 % إلى 30 % وحتى 50 % و بلغت أقل قيمة متوسطة (0.62) منع / 100 غ تربة عندما كانت نسبة الخلط بالتربة الملوثة بالنفط الخام 50 % .

و هذا يقود إلى استنتاج هام أن قيم الاندول استيك أسيد و التي بلغت دور محفز لنمو البكتريا قد انخفضت بعكس الفينولات و بفروق معنوية واضحة مقارنة مع الشاهد .

قياس نسبة الكربون / الآزوت (C/N) :

تعتبر نسبة C/N مؤشراً خصوبياً حيوياً ذا دلالة (ميكروبيولوجية - عضوية) و هذا المؤشر يعتبر الميزان الحقيقي للميكروبات سواء زيادة أو نقصاناً تبعاً لنوع الإضافة العضوية و هنا يعتبر النفط الخام إضافة عضوية (كونه مركب كربوهيدراتي) و الجدول رقم (7) يعبر عن قيم (C/N) للتربة وفقاً لمعاملات التجربة .

الجدول (7) نسبة الكربون إلى الآزوت في تربة التجربة (C/N)

L.S.D 1 %	% 50	% 40	% 30	% 20	شاهد	
0.007	0.044	0.039	0.038	0.029	0.023	N
0.121	2.43	2.28	1.98	1.84	0.83	C
—	1:54	1:58	1:52	1:63	1:36	C/N

نلاحظ من خلال قيم هذا الجدول أن النفط الخام الذي لوث التربة لم يستطع رفع نسبة (C/N) إلى قيم عالية إذا ما قورن كسماد عضوي مع قش قمح أو سماد عضوي غير متخمّر بل لعبت المركبات الكربوهيدراتية دوراً غير سلبي في رفع نسبة (C/N) لأن هذه النسبة إذا ارتفعت في التربة سوف تؤدي إلى خلل حيوي في أعداد و نشاط الميكروبات و هذا ما لم تتم ملاحظته في هذه التجربة و بقيت نسبة (C/N) في الحدود المعقولة للترب و خصوصاً إذا كانت في مرحلة الاستصلاح .

الاستنتاجات:

- إن مثل هذه الدراسة التي اعتمدت على خلط تربة ملوثة / وزن إلى تربة نظيفة / وزن و لكن بنسب متباينة (20 % ، 30 % ، 40 % ، 50 %) بهدف استصلاح هذه التربة الملوثة بالنفط الخام اعتمد على أسس حيوية هامة أفادت بجملة من النتائج
- 1 - إن نسبة الخلط 20 % تربة ملوثة و كذلك النسبة 30 % اعتبرت في نتائج هذه التجربة تراكيز منشطة لأعدا البكتريا و الفطريات في التربة .
 - 2 - اعتبرت نسبة الخلط 40 % ، 50 % نسب منشطة للنمو البكتيري و الفطري .
 - 3 - قدرة الفطريات على تحليل النفط مع مرور الزمن حتى التركيز 40 % إذ أبدت الفطريات قدرة أكبر على تحمل التراكيز العالية من الخلط 40 % ولكن في الموعد الثاني للقياس .
 - 4 - أثبتت الاكتينومايس دوراً فعالاً في استصلاح الترب الملوثة و ازدادت حتى في نسب الخلط 40 % ، 50 % و هذا استنتاج هام مسبقاً للاستصلاح الفيزيائي أي يمكن استخدامها بشكل مباشر في التربة بهدف الاستصلاح و التنقية .
 - 5 - تتشكل الفينولات في ترب التجربة بشكل مطرد مع زيادة نسب الخلط و بفروق معنوية ذات دلالة إحصائية مقارنة مع الشاهد . وهي تعمل كرد فعل ميكروبي للإجهاد الكيماوي .
 - 6 - انخفاض تراكيز الاندول اسيتك أسيد بشكل عكسي مع الفينولات مع زيادة نسب الخلط .
 - 7 - التأكيد على أهمية قياس الفينولات كمؤشر حيوي لبيان تأثير الإجهاد الكيماوي الذي مارسه النفط الخام على الجزء الحيوي من التربة .
 - 9 - بالرغم من زيادة كمية المادة الكربوهيدراتية فقد جاءت قيم C/N منخفضة مما أدى إلى زيادة في أعداد الميكروبات بسبب ضيق النسبة و التي تراوحت بين المعاملات 20 % - 50 % على التوالي (1:63 - 1:54) مقارنة مع الشاهد (1:36) .

التوصيات:

1 - إن نسب خلط تربة ملوثة بالمشتقات النفطية بهدف استصلاحها فيزيائياً بنسبة 20 % ، 30 % مع تربة زراعية نظيفة 80% ، 70 % على التسلسل تعتبر نسب غير ضارة بخصوبة التربة (حيوياً) مع التحفظ على التحليل الكيميائي (دراسة المعادن الثقيلة) .

2 - نوصي بدراسة مستقبلية تبين التباين بين مجاميع الأحياء الدقيقة (فطر ، بكتريا ، اكتينومايس) بشكل دقيق و بنسب أكثر تركيزاً وبخاصة على الأكتينومايس .

3- نوصي بقياس الفينولات الكلية كمؤشر على رد فعل الميكروبات للإجهاد الكيميائي الذي تمارسه المركبات النفطية على ميكروبات التربة إضافة إلى ما هو متبع في الدراسات السابقة و هو قياس CO_2 .

REFERENCES

- 1-Ashraf M and Harris PJC (2004) **Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants.** Plant Sci 166: 13-16.
- 2 - ATSDR, 1995. **Toxicological Profile for Fuel Oils.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia.
- 3- Barathi, S. and N. Vasudevan, 2001. **Utilization of petroleum hydrocarbons by Pseudomonas fluorescence isolated from a petroleum-contaminated soil.** Environ. Int., 26: 413-416.
- 4 - Bhattacharya, D., P.M. Sarma, S. Krishnan, S. Mishra and B. Lal, 2002. **Evaluation of genetic diversity among Pseudomonas citronellolis stains isolated from oily sludge contaminated sites.**
- 5 - Brito, E.M.S., R. Guyoneaud, M. Goni-Urriza, A. Ranchou-Peyruse and A. Verbaere et al., 2006. **Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil.** Res. Microbiol., 157: 752-762.
- 6 - Butler, C.S. and J.R. Mason, 1997. **Structure and function analysis of the bacterial aromatic ring-hydroxylating dioxygenases.** Adv. Microb. Physio., 38: 47-84.
- 7 - Chaillan, F., A. Le Fleche, E. Bury, Y. Phantavong, P. Grimont, A. Saliot and J. Oudot, 2004. **Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms.** Res. Microbiol., 155: 587-595.
- 8-Chapman HD and Pratt, PE (1978). **Methods of analysis for soil. Plant and waters** Uni of California, Div. Agr. Sc Priced publication L. 043.
- 9 - Edewor, T.L., O.O. Adelowo and T.J. Afolabi, 2004. **Preliminary studies into the biological activities of a broad spectrum disinfectant formulated from used engine oil.** Poll. Res., 234: 581-586.
- 10 - Eriksson, M., G. Dalhammer and A.K. Borg-Karlson, 1999. **Aerobic Degradation of A Hydrocarbon Mixture in Natural**

Uncontaminated potting Soil by Indigenous Microorganisms at 20C⁰ and 6C⁰ . Applied Microbiol. Biotechnol., 51: 532-535.

11 - Giddens, J. 1976. **Spent motor oil effects on soil and crops.** J. Environ. Qual. 5:179-181.

12 - Harris, J.O. **Petroleum Wastes in the Soil** (on file).

13-Iqbal A and Vaid F (2009) **Determination of benzoic acid and salicylic acid in commercial Benzoic and salicylic acid ointments by spectrophotometer method.** J Pharm Sci 22: 18-22.

14-Jackson, MI (1973) **Soil chemical analysis** constable and Co LTD. London .

15 - Jain, P.K., V. K. Gupta, H. Pathak, M. Lowry and D.P. Jaroli, 2010. **Characterization of 2T engine oil degrading indigenous bacteria, isolated from high altitude (Mussoorie) India.** World J. Microbiol. Biotechnol., 26: 1419-1426.

16 - Johnston, R. 1970. **The decomposition of crude oil residues in sand columns.** J. Mar. Biol. Ass. 50:925-937.

17- Jensen, V. 1975. **Decomposition of oily wastes in soil.** Proc. 1st Int. Conf. Biodegradation Humification, Nancy, 1974. pp. 278-287

18 - Jones, J.G. and M.A. Edington. 1968. **An ecological survey of hydrocarbon-oxidizing micro-organisms.** J. Gen. Microb. 52:381-390.

19 - Kiyohara, H., N. Takizawa and K. Nagao, 1992. **Natural distribution of bacteria metabolizing many kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons.** J. Ferment. Bioeng., 74: 49-51.

20 - Llanos, C. and A. Koller, 1976. **Changes in the flora of soil fungi following oil waste application.** OIKOS 27:377-382.

21 - Lliros, M.M., X. Munil, A. Sole, M. Martinez-Alonso, E. Diestra and I. Esteve, 2003. **Analysis of Cyanobacteria Biodiversity in**

Pristine and Polluted Microbial Mats in Microcosmos by Confocal Laser Scanning Microscopy CLSM. In: Science, Technology and Education of Microscopy: An Overview, Mendez-Vilas, A. (Ed.), Badjz. Formt., Madhu A, pp: 483- 489.

22- McGill, W.B. 1977. **Soil Restoration following oil spills - a review, J. of Can. Petrol. Techn.** April- June: 60-67.

23 - McGill, W.B. 1978. **Oil spills.** Crops and Soils Magazine , pp. 6-9.

24 - McGill, W.B., 1980. **Factors Affecting Oil Degradation Rates in Soil.** In: Disposal of Industrial and Oily Sludges by Land Cultivation, Shilesky, D.M. (Ed.). Resource Systems and Management Association, Northfield, New Jersey, pp: 103-122.

25 - Mishra, S., J. Jyot, R.C. Kuhad and B. Lal, 2001. **Evaluation of inoculum addition to stimulate in situ bioremediation of oily-sludge-contaminated soil.** Applied Environ. Microbiol., 67: 1675-1681

26 - Prince, R., 1993. **Petroleum spill bioremediation in marine environments.** Crit. Rev. Microbiol., 19: 217-242.

27 - Pathak, H., P.K. Jain, D.P. Jaroli and M. Lowry, 2008.

Degradation of phenanthrene and anthracene by Pseudomonas strain, isolated from coastal area. Bioremed. J., 12: 111-116.

28 - Prenafeta-Boldu, X.F., A. Kuhn, L. D. mam, H. Anke, J.W. Van Groenestijin and J.A.M. De Bont, 2001. **Isolation and characterization of fungi growing on volatile aromatic hydrocarbons as their sole carbon and energy source.** Mycol. Res., 4: 477-484.

29 - Raymond, R.L., Hudson, J.O. and V.W. Jamison, 1976. **Oil degradation in soil.** Appl. and Env. Microb. 31:522-535.

30 - Raisbeck, J.M. and M.E. Mohtadi. 1974. **The environmental impacts of oil spills on land in the arctic regions.** Water, Air and Soil Pollut. 3:195-208

- 31 - Rowell, M.J. 1975. **Restoration of soil spills on agricultural soils. In: Proc. conf. The Environmental Effects of Oil and Salt Water Spills on Land** . Alberta Environment Research Secretariat, Edmonton, 1975. pp. 250-276.
- 32- Schwendinger, R.B. 1968. **Reclamation of soil contaminated with oil.** J. Inst. of Petrol. 54:182-197.
- 33 - Udo, E.J. and A. A. A. Fayemi. 1975. **The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn.** J. Environ. Qual. 4:537-540.
- 34 - Vanlooche, R., DeBorger, R., Voets, J. P. and W. Verstraete. 1975. **Soil and groundwater contamination by oil spills; problems and remedies.** Int. J. Environ. Stud. 8:99-111.
- 35 - Wang, Z., M. Fingas, S. Blenkinsopp, G. Sergy and M. Landriault et al., 1998. **Comparison of oil composition changes due to biodegradation and physical weathering in different oils.** J. Chromatogr. A., 809: 89-107.

Abstract:

This study was carried out to demonstrate the possibility of physical mixing contaminated soils by estimating some vital activities of soil microbes . There has been implemented pots experience with a capacity of 6 kg of mixture dirt composed of soil and river sand by (1 : 3) (Sand: Soil) and then soils' pots were mixed at different rates from a crude oil contaminated soil (see 0.20 % and 30% .40 % .50 %) and the seeds sown barley by / 30 / seed per pot and microbiological, chemical, and vital laboratory in three time phases and the mixing ratio was of 20% contaminated soil , as well as the ratio of 30% seen in the results of this experiment concentrations doped for prepared bacteria and fungi in soil considered mixing ratio of 40 % , 50% inhibitor ratios of bacterial growth and mushrooms, and the ability of fungi to decompose over time even the condensation 40% for measurement. The Actinomays have proved an instrumental role in the reclamation of contaminated soil and grew up even in the mixing ratios of 40% and 50 % and this is an important future conclusion for physical reclamation . For it can be used directly in the soil for the purpose of reclamation and purification .

As phenols are steadily formed in the soils of the experience with the increase of the mixing ratios and significant differences were statistically significant compared with witness .

An additional concentration on Indole Acetic acid, unlike henols with increased mixing ratios.

.....
Keyword : Oil pollution , Physical mixing , Total phenols , Indole Acetic