Journal of Water and Soil
https://jsw.um.ac.ir

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 1, Mar.-Apr. 2023, p. 31-43

Comparison of the Efficiency of Different Plants to Remove Total Petroleum Hydrocarbons from Oilfield Soils

N. Yari Nilavareh [1], A. Beheshti Ale Agha [*2], M. Karami [3], M. Sadeghi [4]

Received: 31-05-2022
Revised: 30-09-2022
Accepted: 30-11-2022
Available Online: 30-11-2022

How to cite this article:
Yari Nilavareh, N., Beheshti Ale Agha, A., Karami, M., & Sadeghi, M. (2023). Comparison of the Efficiency of different Plants to Remove Total Petroleum Hydrocarbons from Oilfield Soils. *Journal of Water and Soil 37*(1): 31-43. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.2022.76982.1172

Introduction

Crude oil is a complex combination of many hydrocarbon and non-hydrocarbon compounds, including heavy metals, which affect the physical and chemical properties of the soil, cause the soil particles to stick and connect and then cause the soil to become stiff and impenetrable. Contamination of soil with petroleum hydrocarbons is a significant environmental problem, which has received remarkable attention in recent decades. Petroleum hydrocarbons are resistant and hazardous pollutants. Some petroleum hydrocarbons such as benzene are mutagenic and carcinogenic materials for humans. There are many physical and chemical methods to remediate oil-contaminated soils. Phytoremediation is a relatively new technology for refining contaminated soils in which resistant plants are used to remove or reduce the concentration of inorganic, radioactive, and organic pollutants, especially petroleum compounds, from the environment.

Materials and Methods

Sufficient amounts of about 50 kg of soil contaminated with petroleum hydrocarbons were collected from regions (0-30 cm soil depth) adjacent to the oil wells west of Kermanshah province. Uncontaminated soil samples were also taken from sites at the lowest distance to the contaminated sites. The aim of this study was to compare the efficiency of different plants to remove total petroleum hydrocarbons from oilfield soils. In this study, after determining the total amount of petroleum hydrocarbons, the contaminated and uncontaminated soils were mixed in 4 treatments with different weight ratios (0, 10, 25, and 35%). This experiment was established as completely randomized design with 3 replications for 6 different plants (Barley, Grass, Alfalfa, Hemp, Camelina, and Vicia ervilia). One treatment without plant was considered to remove soil matrix effects on petroleum hydrocarbon concentrations. Plants were harvested at the end of their growing season (90-120 days). Soils and plant samples from the experimental pots were analyzed for their important properties (including some physiological characteristics of the plants, as well as the percentage of reduced petroleum hydrocarbons in the soils). The gravimetric method was used to determine the concentration of petroleum hydrocarbons in the soil. After measuring the properties of the soil and plant, the normality of the data was checked by the Anderson–Darling test, and the homogeneity of the variance of the treatments was checked by using Levene's test. Analysis of data variance was done using ANOVA and average data comparison was done using LSD test at 5 and 1 percent probability levels (SAS 9.4 and SPSS 26).

Results and Discussion

In general, the growth of most plants showed a decreasing trend in proportion to the increase in soil pollution levels. However, the growth decline rates of different plants were not similar. Camelina was very sensitive to oil pollution and the plant could not tolerate pollution even at 10% level. After camelina, alfalfa was highly sensitive

1 and 2- Master's Degree in Soil Resources Management and Associate Professor, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: beheshtiali97@gmail.com)
3- Ph.D. in Soil Sciences, Department of Soil Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Analytical Chemistry, Razi University, Kermanshah, Iran

to oil pollution. The highest dry weight of the aerial parts of the hemp plant in the soil without oil contamination was observed at the rate of 111.22 grams in the pot. The leaf area of all studied plants in contaminated soils decreased compared to the control treatment (without contamination) so with the increase in the percentage of contamination, the leaf area of the plants was significantly reduced. The highest amount of leaf surface was observed in unpolluted soil and in the hemp plant. Except for the Camelina plant, which was completely destroyed at different levels of pollution, the rest of the plants showed a noticeable decrease in growth. The total petroleum hydrocarbons in soil were measured again 120 days after the start of cultivation, and its difference with the total amount of petroleum hydrocarbons at the beginning of cultivation was determined as the reduction of petroleum hydrocarbons and reported as a percentage. According to the mean comparison results, the percentage of reduced petroleum hydrocarbons was not significantly different among cultivated and non-cultivated treatments, although, it was significantly affected by soil pollution levels. Since all the studied soils contained natural bacteria and were not sterilized, the eliminated part of petroleum hydrocarbons is probably decomposed and removed by native bacteria in the soils. Therefore, the strengthening of native bacteria in these soils may increase the decomposition and degradation of petroleum hydrocarbons.

Conclusion

The results of this research show that the presence of petroleum hydrocarbons in the soil caused a decrease in growth and other physiological characteristics in all studied plants. Although the Camelina was able to germinate in soils contaminated with petroleum hydrocarbons, the presence of these pollutants in the soil prevented the optimum growth of the plant, so its use in subsequent studies of phytoremediation of oil-contaminated soils, was not recommended. The results showed that there is no statistically significant difference between cultivated and non-cultivated treatments at different pollution levels, and the reduction of the total petroleum hydrocarbons in the soil was probably done by native microorganisms in the soil. It is recommended to take into consideration the efficiency of the plant species used, the type of polluting hydrocarbons, and the duration of contamination in future research to obtain better results.

Keywords: Alfalfa, Bioremediation, Grass, Oil, Phytoremediation, Pollutants

نشریه آب و خاک
https://jsw.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۲، ص ۴۳-۳۱

مقایسه کارایی گیاهان مختلف در حذف هیدروکربن‌های نفتی کل از خاک‌های مناطق نفت‌خیز

نقشینه یاری نیلاوره[۱]- علی بهشتی آل آقا[۲*]- مهین کرمی[۳]- مرضیه صادقی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۹

چکیده

آلودگی خاک با هیدروکربن‌های نفتی یک مشکل زیست‌محیطی مهم است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی برای مقابله با آلودگی‌های نفتی در خاک وجود دارد. گیاه‌پالایی یک فناوری نسبتاً نوین پالایش خاک‌های آلوده است که در آن از گیاهان مقاوم و مناسب جهت حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌ها از محیط‌زیست استفاده می شود. در این پژوهش، خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از اطراف چاه‌های استخراج نفت غرب استان کرمانشاه برداشت شد. محل نمونه‌برداری خاک غیر آلوده کم‌ترین فاصله را با محل نمونه‌برداری خاک آلوده داشت. پس از تعیین مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک‌های آلوده، خاک‌های آلوده با خاک غیر آلوده در ۴ نسبت وزنی مختلف (صفر، ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درصد آلودگی) با یکدیگر مخلوط شدند. سپس بذر ۶ گیاه مختلف (جو، چمن، یونجه، شاهدانه، گاودانه و کاملینا) در ۳ تکرار در گلدان‌ها کشت شدند. پس از اتمام دوره کشت، گیاهان برداشت و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهان و همچنین درصد کاهش هیدروکربن‌های نفتی در خاک اندازه‌گیری شدند. به‌طورکلی رشد اکثر گیاهان روند کاهشی متناسب با افزایش میزان آلودگی خاک از خود نشان داد، اما این کاهش رشد در گیاهان مختلف، متفاوت بود. گیاه کاملینا اگرچه قادر به جوانه‌زنی در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی بود اما وجود این آلاینده‌ها در خاک مانع از رشد و عملکرد مناسب گیاه شد، بنابراین استفاده از آن در مطالعات بعدی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به نفت، توصیه نمی شود. طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، درصد هیدروکربن‌های نفتی در تیمارهای کشت شده، تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار بدون کشت نداشت و از آنجایی که کل خاک‌های مورد بررسی استریل نشده و دارای باکتری‌های بومی بودند پس احتمالاً تجزیه و حذف هیدروکربن‌ها توسط باکتری‌های بومی موجود در خاک صورت گرفته است. از این‌رو احتمال می‌رود که تقویت باکتری‌های بومی در این گونه خاک‌ها باعث افزایش تجزیه و تخریب هیدروکربن‌های نفتی شود.

واژه‌های کلیدی: آلاینده، چمن، زیست پالایی، گیاه‌پالایی، نفت، یونجه

مقدمه

آلودگی خاک با مجموعه هیدروکربن های نفتی (TPHs[۲]) یک مسئله زیست محیطی بسیار مهم به‌ویژه در اطراف پالایشگاه‌ها و ایستگاه‌های بهره‌برداری از نفت می‌باشد که در چند دهه اخیر به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است (Kamath *et al.*, 2004). آلودگی خاک به نفت به دلایل مختلف مانند استخراج، حمل‌ونقل، قطع و شکستگی خطوط لوله نفت، پالایش و مصرف رخ می‌دهد (Scott, 2003; Peng *et al.*, 2009; Budhadev *et al.*, 2012). هیدروکربن‌های نفتی مخلوطی از مواد شیمیایی هستند که در اثر فعالیت‌های انسانی در طی فرایندهای نفتی در صنعت و حمل و نقل ایجاد می‌شوند که تعدادی از آن‌ها از دو یا بیش از دو حلقه بنزنی تشکیل شده‌اند. هیدروکربن‌های نفتی یکی از آلودگی‌های عمده در محیط زیست مناطق نفتی بوده هستند و بر زندگی بسیاری از موجودات زنده تاثیرگذار است (Huang *et al.*, 2005)، وجود این نوع آلاینده‌ها در طبیعت به دلیل سمی بودن، سرطان‌زایی و ایجاد تغییرات جهش‌زایی در ژن، نگرانی‌های بسیاری را سبب شده است (Cupers

۱ و ۲- به‌ترتیب کارشناسی ارشد مدیریت منابع خاک و دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: beheshtiali97@gmail.com)
۳- دکتری علوم خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
۴- استادیار گروه شیمی تجزیه، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

DOI: 10.22067/jsw.2022.76982.1172
2- Total Petroleum Hydrocarbons

et al., 2002). این دسته از آلاینده‌های آلی دوام بالایی در خاک دارند و وجود آن‌ها در خاک، خطر انتقال به منابع آب، مسمومیت و بیماری انسان و سایر موجودات زنده را به در پی خواهد داشت (Besalatpour *et al.*, 2008).

نفت خام ترکیبی پیچیده از هزاران ترکیب هیدروکربنی (Peng *et al.*, 2009) و غیر هیدروکربنی ازجمله فلزات سنگین (Akaninwor *et al.*, 2007) است که بر خواص فیزیکی و شیمیایی خاک به‌ویژه آب خاک تأثیر گذاشته (Chupakhina and Maslennikov, 2004; Gaskin and Bentham, 2010) و سبب چسبندگی و اتصال ذرات خاک می‌شود و به دنبال آن موجب سخت و غیرقابل نفوذ شدن خاک، کاهش زهکشی آب و انتشار اکسیژن می‌گردد (Luepromchai *et al.*, 2007; Anigboro and Tonukari, 2008; Baek *et al.*, 2004). ازجمله اختلالات خاک به دلیل تهویه ناقص (Victor and Sadiq, 2004) ناشی از جایگزینی هوای خاک با نفت، فعالیت ریزجانداران غیر هوازی، اختلال در توازن آب در سیستم خاک-گیاه، سمیت ناشی از سولفیدها و زیادی منگنز آزاد شده در تجزیه هیدروکربن‌ها می‌باشد. این اختلالات منجر به تغییر ویژگی‌های فیزیکی، مورفولوژیک و شیمیایی خاک می‌شود که در نتیجه آن نیترات، فسفر قابل دسترس و کلسیم کاهش می‌یابد (Chupakhina and Maslennikov, 2004).

به طور معمول فناوری هایی که برای اصلاح خاک استفاده میشوند شامل موارد زیر هستند: روش های فیزیکی (سوزاندن، ابزارهای جمع کننده و غیره) و شیمیایی (ا ستخراج از طریق حلال ها و غیره) که جهت حذف سریع آلاینده ها به کار برده می شود به دلیل گران قیمت بودن و تجزیه ناقص آلاینده ها، کارایی محدود دارند. و بیشتر توجهات به روش زیستی (تهویه زیستی، افزایش زیست توده میکروبی و غیره) برای حذف آلاینده های آلی در خاک معطوف است (Shekoohiyan *et al.*, 2016; García-Sánchez *et al.*, 2018).

اگرچه گیاهان و ریزجانداران می‌توانند هیدروکربن‌های نفتی را مستقل از یکدیگر تجزیه کنند ولی تحقیقات نشان می‌دهد که تعامل بین گیاهان و ریزجانداران (ریزوسفر) همواره به‌عنوان مکانیسم اولیه تجزیه در فرآیند گیاه‌پالایی مطرح است (Hutchinson *et al.*, 2001). مطالعات نشان می‌دهند که تخریب هیدروکربن‌های نفتی در ناحیه ریزوسفر نسبت به سایر قسمت‌های خاک بیش‌تر است و گیاهان با سیستم ریشه‌ای گسترده برای تجزیه زیستی این ترکیبات مفید می باشند. وجود پوشش گیاهی به علت بهبود ویژگی های خاک به‌وسیله ریشه گیاه و افزایش فعالیت میکروبی خاک، ممکن است باعث افزایش فرآیند پالایش گردد (Jussila, 2006; Smits, 2005). گیاهان نه تنها سوبسترا و ساختار خاک را تحت تاثیر قرار میدهند بلکه میتوا نند ترکیبات نفتی را در خاک تجزیه کنند (Caudle and Maricle, 2014). گیاهان با مکانیسم های مختلف مانند تحریک ریزجانداران، جذب ترکیبات نفتی، ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده میتوانند باعث کاهش نفت از خاک شوند (Martin *et al.*, 2014).

نی و همکاران (Nie *et al.*, 2009) مشاهده کردند که ریشه گیاهان با افزایش تعداد و تنوع جمعیت میکروبی تجزیه کننده هیدروکربن های نفتی در ناحیه ریزوسفر، باعث افزایش تجزیه این آلاینده‌ها می‌شوند. علاوه بر این، جمعیت‌های میکروبی از طریق چرخه عناصر و انحلال برخی عناصر و هم‌چنین تأمین ویتامین ها، اسیدهای آمینه و برخی هورمون های محرک رشد، رشد گیاه را تحریک می نما یند. این برهم‌کنش متقابل و مثبت بین گیاه و میکروب ها پدیده‌ای کاملاً شناخته شده در روابط خاک- گیاه است (Rajaei *et al.*, 2012). شیم و همکاران (Shim *et al.*, 2000) نیز با مطالعات خود این نتایج را تأیید و دلیل این امر را ترشحات ریشه گیاهان دانستند که حاوی ترکیبات آلی مانند گلوکز، آنزیم و کربوهیدرات های پیچیده و منبعی مناسب از کربن و انرژی برای میکروارگانیسم‌های ناحیه ریشه است و بدین طریق تجزیه ترکیبات نفتی افزایش می‌یابد.

زو و همکاران (Xu *et al.*, 2005) در مطالعات خود به نقش مؤثر حضور پوشش گیاهی ذرت و رای‌گراس در کاهش ۹۸ و ۹۵ درصدی غلظت فنانترن و پایرن در خاک آلوده طی یک دوره ۶۰ روزه اشاره کردند. در مطالعه دی‌اورازیو و همکاران (Dorazio *et al.*, 2013) بر روی گیاه‌پالایی خاک آلوده به پیرن با استفاده از ۳ گونه گیاهی مختلف، مشخص شد میزان حذف پیرن در خاک کشت شده با گیاهان ۳۰ درصد و در خاک شاهد (بدون گیاه) فقط ۱۸ درصد بود. نتایج مطالعات شهریاری و همکاران (Shahriari *et al.*, 2006) نشان داد که حضور گیاه توانسته است در تجزیه زیستی نفت مؤثر باشد. این تأثیر در نمو نه هایی که غلظت نفت در آن ها کمتر بود با بازدهی بهتری انجام شد و با توجه به کاهش بیش‌تر نفت در نمونه‌ها در ۳۰ روز اول نسبت به ۶۰ و ۱۲۰ روز چنین پیشنهاد کردند که عامل تبخیر ترکیبات فرار موجود در نفت و تجزیه زیستی دو عاملی هستند که سبب کاهش نفت در ۳۰ روز اول شدند، ولی عامل تبخیر در روزهای ۶۰ و ۱۲۰ آن‌چنان مؤثر نبود و تجزیه زیستی عامل اصلی کاهش نفت از خاک گردید. کشت گیاه *Bassia scoparia* L. موجب کاهش ۵۷/۷ درصدی نفت خام در خاک هایی با آلودگی ۱ درصد نفت خام شد (Moubasher *et al.*, 2015).

هاتچینسون و همکاران (Hutchinson *et al.*, 2000) میزان حذف TPHs در تیمارهای کشت شده با گیاه و بدون گیاه تال‌فستوکا (خانواده گیاهان چمنی) را به ترتیب ۳۵ و ۱۸ درصد گزارش کردند. در مطالعه سدریک و همکاران (Cedric *et al.*, 2007) مشخص شد که چمن بیش‌ترین و وسیع‌ترین بیوماس ریشه و بیش‌ترین مقدار سطح تماس ریشه در واحد حجم را دارد. گونه‌های گیاهی مثل یونجه،

شبدر و فستوکا نیز به دلیل داشتن همین ویژگی‌ها نقش زیادی در فرآیند تجزیه آلاینده‌های نفتی دارند. نتایج حاصل از کشت دو گیاه لگومی باقلا و لوپین سفید و گیاه غیر لگومی بادمجان در خاک بیابان‌های آلوده به نفت در کویت نشان داد که دو گیاه لگومی باقلا و لوپین سفید کارایی بیش‌تری در حذف آلودگی نفتی نسبت به گیاه غیر لگوم داشتند. در خاک‌های کشت شده با باقلا، لوپین سفید و بادمجان به ترتیب ۷۷، ۸۵ و ۵۵ درصد از آلودگی نفتی کاسته شد. هم‌چنین حذف و برداشت نفت در آب اطراف ریشه های گره‌دار نسبت به ریشه‌های بدون گره بیش‌تر است. به‌علاوه باکتری‌های *ریزوبیوم* که باکتری هم‌زیست با لگوم‌ها می‌باشد مقدار وسیعی از هیدروکربن‌های آروماتیک و آلیفاتیک نفت خام را به‌عنوان منبع کربن و انرژی مصرف می‌کنند (Dashti *et al*., 2009).

با توجه به این‌که ایران یکی از کشورهای نفت‌خیز جهان است. هر سال مقدار زیادی نفت از مخازن نفتی استخراج و در مناطق دیگر پالایش می‌گردد که معمولاً در نزدیکی زمین های کشاورزی است. ورود هیدروکربن‌های نفتی به خاک یک محرک منفی برای رشد و نمو گیاهان و جانوران بوده و بر سلامت انسان تأثیر نامطلوبی دارد. با توجه به فعالیت‌های گسترده صنایع نفت در استان کرمانشاه ضرورت انجام مطالعات زیست‌محیطی جهت پالایش خاک‌های آلوده در این منطقه احساس شده و استفاده از فناوری‌های جدید مانند گیاه‌پالایی می‌تواند در کاهش یا حذف این ترکیبات از خاک مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

خاک آلوده به هیدروکربن های نفتی (با توجه به عمق معمول مؤثر در فرآیند گیاه‌پالایی) از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک اطراف چاه‌های استخراج نفت منطقه نفت‌خیز غرب استان کرمانشاه با سابقه طولانی مدت آلودگی با مختصات جغرافیایی ۳۳/۹۸ درجه شمالی و ۴۵/۵۰ درجه شرقی برداشت گردید. محل نمونه‌برداری خاک غیر آلوده به نحوی انتخاب شد که کم‌ترین فاصله را تا محل نمونه‌برداری خاک آلوده داشته باشد تا بافت و سایر ویژگی‌های دو نمونه بیش‌ترین شباهت را با یکدیگر دارا باشند (جدول ۱). خاک آلوده دارای ۲۱/۰۵ درصد آلودگی و خاک غیر آلوده فاقد آلودگی نفتی بود. نمونه خاک‌ها پس از هوا خشک شدن به‌منظور تعیین سطوح آلودگی مختلف در ۴ تیمار با ۴ نسبت وزنی مختلف با هم مخلوط گردیدند. این تیمارها به ترتیب شامل، تیمار صفر ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درصد (به ترتیب C1، C2، C3 و C4) مخلوط وزنی خاک آلوده (با ۲۱/۰۵ درصد آلودگی نفتی) به علاوه خاک بدون آلودگی بودند. توده خاک مورد نظر به‌خوبی به هم زده شد تا آلودگی نقاط مختلف آن تا حد ممکن همگن گردد. بعد از مخلوط کردن کامل خاک‌های بدون آلودگی و آلوده با نسبت‌های مختلف، اجازه داده شد تا این تیمارها به مدت ۴ هفته در هوای آزاد باقی بمانند و میزان رطوبت نیز ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه نگه‌داشته شد تا خاک‌ها به‌طور کامل با یکدیگر برهمکنش داده و به تعادل برسند.

در نمونه‌های خاک، بافت به روش پیپت (Dewis and Freitas, 1984)، قابلیت هدایت الکتریکی و واکنش خاک در عصاره گل اشباع (Rhoades, 1982)، درصد کربن آلی به روش اکسیداسیون تر (Walkley and Black, 1974)، فسفر قابل‌جذب به روش اولسن (Olsen and Sommers, 1982)، پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و قرائت با فلیم فتومتر (Oster and Garrison, 1980)، نیتروژن کل به روش کلدال (Bremner and Mulvaney, 1982) و آهک به روش تیتراسیون با سود (Black *et al*., 1965) تعیین شدند. اندازه‌گیری غلظت قابل‌جذب عناصر آهن، روی، مس و منگنز به روش عصاره گیری با DTPA (Lindsay and Norvell, 1978) و تعیین کل هیدروکربن های نفتی در خاک به روش گراویمتری (Villalobos *et al*., 2008) قبل از کاشت انجام گردید. مقدار کربن آلی خاک پس از کسر کردن هیدروکربن‌های نفتی از مقدار کربن آلی به‌صورت درصد گزارش گردید.

این آزمایش در گلدان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با داشتن ۴ تیمار آلودگی نفتی (سطوح صفر، ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درصد) و برای ۶ گیاه (جو، چمن، یونجه، شاهدانه، گاودانه و کاملینا) و ۱ تیمار بدون گیاه و در ۳ تکرار انجام شد. خاک آماده شده تیمارها در گلدان ریخته شده و سپس بذر گیاهان در عمق ۱ تا ۳ سانتی‌متری بسته به نوع گیاه کشت شدند. آبیاری به‌طور مرتب ۲ بار در هفته به‌طوری‌که آب از ته گلدان‌ها خارج نشود و با حجم یکسان انجام شد. برای هریک از سطوح آلودگی خاک مورد مطالعه، خاک بدون کشت گیاه نیز جهت حذف اثرات محیطی بر غلظت آلاینده‌های نفتی در نظر گرفته شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از کشت

Table 1- Physical and chemical properties of the soil before cultivation

خاک Soil	Sand	Silt	Clay	Texture	P	K	N	EC	pH	OC	$CaCO_3$	Zn	Cu	Fe	Mn
	%			-	mg kg^{-1}		%	dS m^{-1}	-	%		mg kg^{-1}			
غیر آلوده Non-contaminated	62.2	33.9	3.9	sandy loam	14	80	0.17	2.5	7.3	0.17	26.5	0.52	0.36	20.4	22.6
آلوده Contaminated	61.5	34	4.5	sandy loam	28	60	0.18	5	6.65	0.18	14.5	0.34	0.28	23.16	8.6

کود کامل (۲۰-۲۰-۲۰)، ۳ مرتبه در طول دوره با غلظت ۳ گرم در لیتر همراه با آب آبیاری برای همه گلدان‌ها (کشت شده و کشت نشده) مورد استفاده قرار گرفت. دوره کشت گیاهان ۳ الی ۴ ماه به طول انجامید و پس از پایان این دوره بـه منظور انـدازه گیری وزن خشک گیاه، اندام هوایی و ریشه، گیاهان از خاک خارج و ریـ شه‌ها با آب شستشو داده شدند تا خاک از ریشه جدا گردد. سپس شستشوی مجدد با آب مقطر انجام شد. اندام هوایی و ریشه به‌طور جداگانه به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در آون فن دار خشک و توزین شدند. صفات فیزیولوژیک، سطح برگ و محتوای نـ سبی آب برگ به روش دیازپرز و همکاران (Diaz-Perez *et al.*, 2006) تعیین شـــدند. برای تعیین غلظت هیدروکربن های نفتی خاک به روش گراویمتری (Villalobos *et al.*, 2008) عـمل شـــد. مـقدار نـفت اســتخراج شــده از هر نمونه با مقدار نفت اولیه خاک قبل از کاشـت مقایســه شــده و کاهش آن به‌صــورت درصــد تعیین شــد. پس از تجزیه‌های آزمایشـگاهی، داده‌های حاصـل با اسـتفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.4 و SPSS 26 پس از احراز و تأمین پیش‌شـرط‌های تجزیه واریانس (توزیع نرمال داده‌ها با ا ستفاده از آزمون اندر سون- دارلینگ[1] و همگن بودن واریانس تیمارها با استفاده از آزمون له ون[2] بررسی شد) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. میانگین‌ها با ا ستفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تاثیر آلاینده‌های نفتی بر صفات فیزیولوژیک گیاهان مورد مطالعه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشـان داد که تاثیر نوع گیاه و سـطح آلودگی و اثرات متقابل تیمارها بر صــفات فیزیولوژیک گیاه شــامل محتوای نسبی آب برگ، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، ارتفاع گیاه و قطر سـاقه در سـطح احتمال پنج و یک درصـد معنی‌دار بودند (جدول ۲).

نتایج نشــان داد که بیشــترین محتوای آب برگ در گیاه چمن و کمترین محتوای آب برگ در گیاه کاملینا مـشاهده شد. گیاه کاملینا به سـطوح آلودگی مقاوم نبوده و در طی دوره کشـت از بین رفت. پس از آن گیاه گاودانه کمترین محتوای آب برگ را در سطوح مختلف آلودگی نشان داد (جدول ۳). در اغلب گیاهان با افزایش سطح آلودگی محتوای آب برگ گیاهان مختلف کاهش یافت ولی گیاه گاودانه نـسبت به بقیه گیاهان مقاوم تر بوده و تا سـطح ۲۵ درصـد توانایی تحمل آلودگی را دارد (جدول ۳).

با افزایش سـطح آلودگی نفتی در خاک میزان وزن خشـک اندام هوایی و ریـشه کاهش یافت و این کاهش در سطوح ۲۵ و ۳۵ در صد سطح آلودگی در همه گیاهان بی شتر بود همچنین گیاه کاملینا بـ سیار حســاس به آلودگی نفتی بود و گیاه توانایی تحمل آلودگی حتی در سـطح ۱۰ درصـد را نداشـت. پس از کاملینا گیاه یونجه به شـدت به آلودگی نفتی حساسیت نشان داد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در گیاه شــاهدانه در خاک بدون آلودگی نفتی به میزان ۱۱۱/۲۲ گرم در گلدان مشــاهده گردید (جدول ۳). نتایج تحقیقات اداوی (Adavi, 2011) در گـیاه پالایی خاک های آلوده به ضــایعات نفتی اطراف پالایشگاه نفت اصفهان توسط ده رقم چمن برموداگراس نشان داد که کاهش وزن خـ شک اندام هوایی در همه ارقام چمن برموداگراس مورد مطالعه در تیمارهای آلوده نسـبت به تیمار شـاهد وجود داشـت و با افزایش غلظت آلودگی روند کاهش وزن خـ شک اندام هوایی مـ شاهده شـد. همچنین بینت و پورتال (Bint and Portal, 2000) با بررسـی وزن خشک اندام هوایی گیاه و ریشه گیاه علف چاودار در خاک آغشته به ترکیبات نفتی دریافتند که وجود این ترکیبات در خاک باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاه و ریشه می‌شود.

چمن گیاهی با ریشه افشان بوده و بیشترین میزان خشک ریشه در گیاه چمن در سـطوح صـفر و ۱۰ درصـد آلودگی مشـاهده شـد. با افزایش آلودگی میزان وزن خشـک ریشـه کاهش یافت (جدول ۳). در سـطح آلودگی کم برای گیاهان چمن و گاودانه تفاوت معنی‌دار در مقایسه با تیمار فاقد آلودگی مشاهده نشد اما در سطوح بالاتر آلودگی همانند مابقی گیاهان روند کاهش وزن خشک ریشه به‌طور چشم‌گیری مـ شهود بود (جدول ۳). به نظر می‌ر سد که مـ سمومیت نا شی از وجود ترکیبات نفتی در خاک از یک سـو و اثر این آلاینده‌ها بر قابلیت جذب آب و عنا صر غذایی از سوی دیگر، مانع از ر شد منا سب و تفاوت ر شد ریـ شه و اندام هوایی گیاهان مورد مطالعه شده ا ست (Chaineau *et al.*, 1997). فرزامی سـپهر و همکاران (Farzami Spehr *et al.*, 2013) در مطالعه گیاه‌پالایی گیاه علف داســه در پالایش خاک‌های آلوده به نفت نـشان دادندکه وزن خـشک ریـشه در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ در صد خاک آلوده تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار شاهد ندا شته اما در ســطوح بالاتر آلودگی این تـفاوت معنی‌دار بود. همچنین تحقیـقات مر کل و همـکاران (Merkel *et al.*, 2005) در ارز یابی گیاه پالایی گیاهان چمنی و لگومی برای پالایش خاک‌های آلوده به نفت بعد از گذ شت ۱۸۰ روز نشان داد که تولید ماده خشک ریشه گیاهان به طور چ شم‌گیری در خاک‌های آلوده به نفت نـ سبت به خاک شاهد کاهش یافت.

1. Anderson-Darling Test

2- Levene's Test

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس داده ها بر صفات فیزیولوژیک گیاهان

Table 2- The analysis of variance of data on physiological traits of plants

منابع تغییرات Sources of variance	df	میانگین مربعات (MS)					
		محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of aerial parts	وزن خشک ریشه Dry weight of roots	سطح برگ Leaf surface	ارتفاع گیاه Plant height	قطر ساقه Stem diameter
سطوح آلودگی Pollution levels	3	780.68 *	2623.92 **	45.27 **	254084.786 **	1232.57 **	135.99 **
نوع گیاه Plant type	5	9878.03 *	1478.58 **	92.87 **	193897.689 **	2439.57 **	204.95 **
سطوح آلودگی × نوع گیاه Pollution levels × plant type	15	640.98 *	1377.98 **	16.31 **	187973.358 **	202.53 **	26.46 **
خطای آزمایشی Error	47	9.64	0.73	0.10	92.978	0.96	0.22

** و * به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار و ns اختلاف معنی‌دار نیست.

**and * significant at 1% and 5% and ns, not significant respectively.

جدول ۳- اثرات متقابل تیمارهای آزمایش بر صفات مروفولوژیک گیاهان

Table 3– Interaction of treatments on physiological traits of plants

اثرات متقابل تیمارها Interaction of treatments		محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of aerial parts	وزن خشک ریشه Dry weight of roots	سطح برگ Leaf surface	ارتفاع گیاه Plant height	قطر ساقه Stem diameter
		%	g/pot		cm^2	cm	mm
جو Barley	0	93.04 a	28.52 a	4.93 a	206.67 a	53.77 a	14.15 a
	10	92.15 ab	17.31 b	3.93 b	159 b	43.88 b	10.32 b
	25	90.54 b	14.20 c	3.82 b	157.67 b	42.11 bc	6.07 c
	35	90.16 b	12.43 d	3.51 b	131.33 c	40.11 c	5.25 c
چمن Grass	0	94.34 ab	18.73 a	11.96 a	99.67 a	35 a	17.80 a
	10	95.70 a	13.51 b	11.14 a	73.50 b	33.5 a	15.45 b
	25	94.24 ab	4.96 c	3.64 b	21.33 c	21.83 b	4.41 c
	35	93.15 b	3.60 d	1.85 c	18 c	12.02 c	3.57 c
یونجه Alfalfa	0	88.62 a	0.87 a	0.83 a	15 a	7.66 a	2.47 a
	10	86.91 a	0.55 b	0.45 b	10.73 b	7.41 a	1.85 b
	25	88.33 a	0.14 c	0.26 c	6.93 c	6.07 b	1.59 c
	35	86.92 a	0.08 d	0.13 c	4.5 d	4.65 c	1.14 d
شاهدانه Hemp	0	87.09 a	11.22 a	7.93 a	1272 a	43 a	9.64 a
	10	82.85 ab	0.69 b	0.19 b	19.33 b	8.61 b	1.80 b
	25	79.06 ab	0.58 b	0.16 b	14.43 b	6.13 c	1.71 b
	35	74.93 b	0.69 b	0.15 b	11.17 b	7.5 bc	1.30 b
گاودانه *Vicia evilia*	0	80.75 b	3.80 a	0.25 a	28 a	15.61 a	1.69 a
	10	82.99 ab	2.99 b	0.21 ab	26.17 ab	15.08 a	1.65 ab
	25	84.17 a	2.22 c	0.17 bc	24.83 b	13.99 b	1.40 ab
	35	80.33 b	1.54 d	0.15 c	24 b	13.40 b	1.42 b
کاملینا Camellina	0	72.78 a	6.29 a	1 a	36.31 a	33.2 a	2.57 a
	10	0 b	0 b	0 b	0 b	0 a	0 b
	25	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b
	35	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means with similar letters don't have significantly different in probability level of 5%, from the LSD tests.
Pollution levels (C1 = 0, C2 = 10, C3 = 25 and C4 = 35%)

سطح برگ در همه گیاهان مورد مطالعه در خاک‌های آلوده نسبت به تیمار شـــاهد (بدون آلودگی) کاهش یافت به طوری که با افزایش درصد آلودگی سطح برگ گیاهان کاهش محسوسی داشت. بیشترین مقدار سـطح برگ در خاک بدون آلودگی و در گیاه شـاهدانه مشـاهده

شد. به جز گیاه کاملینا که در سطوح مختلف آلودگی به طور کامل از بین رفت بقیه گیاهان کاهش محسوسی در رشد نشان دادند. کمترین سطح برگ برای گیاه چمن و در آلودگی ۳۵ در صد اندازه‌گیری گردید (جدول ۳). اومسون و همکاران (Omosun *et al.*, 2008) گزارش کردند که آلودگی نفت خام باعث کاهش شاخص‌های رشد گیاه مثل ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک و تر گیاه و بیومس ریشه شده است.

با افزایش سطح آلودگی نفتی ارتفاع همه گیاهان به طور معنی‌داری کاهش یافت. در گیاهان چمن، یونجه و گاودانه در سطح آلودگی کم (۱۰ درصد) تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار شاهد (فاقد آلودگی) مشاهده نشد اما در سطوح بالاتر آلودگی (۳۵ درصد) این تفاوت نمایان بود. کاملینا توانایی مقاومت در برابر آلودگی را نداشت. ارتفاع گیاه شاهدانه بیشترین تاثیر را نسبت به سطوح آلودگی نشان داد و بین تیمارهای آلودگی و شاهد اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول ۳). پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2009) در گیاه پالایی خاک‌های آلوده به نفت با کشت گیاه لاله عباسی شاهد روند کاهش رشد گیاه با افزایش درصد آلودگی نفتی خاک بودند. مطالعات بودهاو و همکاران (Budhadev *et al.*, 2012) نیز نشان داد بین ارتفاع گیاه و همچنین زیست توده گیاهی در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی و خاک غیر آلوده در سراسر طول دوره ۳۶۰ روزه کشت، اختلاف چشم‌گیری وجود دارد.

نتایج نشان می‌دهد که تیمار شاهد از لحاظ قطر ساقه در همه گیاهان (به جز گاودانه) تفاوت آماری معنی‌داری با تیمارهای آلوده داشته و نسبت به آن‌ها قطر بیش‌تری دارند. اندازه قطر ساقه گیاه گاودانه در تیمارهای آلودگی نسبت به تیمار شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت اما در سایر گیاهان روند کاهشی مشاهده شد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات بسالت‌پور و همکاران (Besalatpour *et al.*, 2008) در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی اطراف پالایشگاه تهران مطابقت داشته و کاهش رشد گیاهان کشت شده (پوکسنلیا) در سطوح آلودگی نفتی خاک مشاهده شد. مرکل و همکاران (Merkel *et al.*, 2005) نیز به تأخیر افتادن رشد گیاهان در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی و همچنین زمان گل‌دهی و رسیدن میوه‌ها را مشاهده کردند. به‌طورکلی رشد اکثر گیاهان روند کاهشی متناسب با افزایش میزان آلودگی از خود نشان داده که این به دلیل تنش ناشی از آلودگی نفت قابل پیش‌بینی است؛ اما برای برخی از گیاهان در غلظت کم آلودگی، تفاوت آماری معنی‌داری در رشد گیاهان در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد که به نظر می‌رسد که در غلظت کم TPHs به سبب اثرات سمیتی کم‌تر، امکان رشد و نمو و استقرار گیاه فراهم می‌باشد. مطالعات فرزامی سپهر و همکاران (Farzami Spehr *et al.*, 2013) در گیاه‌پالایی علف داسه در پالایش خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی اطراف دریاچه پسماند و ضایعات پالایشگاه نفت تهران نشان داد که در تیمارهای ۱۰ الی ۳۰ درصد خاک آلوده، این گیاه از لحاظ ارتفاع اندام هوایی دارای افزایش نسبت به تیمار شاهد (فاقد آلودگی) بود. این امر نشان می‌دهد که ریزجانداران ریزوسفری در این تیمارها باعث تجزیه هیدروکربن‌های نفتی شده و از آن‌ها به عنوان منبع کربن و انرژی سود می‌برند و در نتیجه باعث افزایش ارتفاع اندام هوایی گردیده‌اند اما در غلظت‌های ۴۰ و ۵۰ درصد خاک آلوده، کاهش رشد گیاه احتمالاً به علت سمیت هیدروکربن‌های نفتی برای گیاه و ریزجانداران ریزوسفری می‌باشد.

هیدروکربن‌های نفتی خاک

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار نفت خام کل خاک کاملاً آلوده نشان داد که خاک برداشته شده از منطقه آلوده به ترکیبات نفتی، به طور میانگین حاوی ۲۱/۰۵ درصد TPHs بر اساس وزن خاک خشک می‌باشد. میزان کل هیدروکربن‌های نفتی موجود در خاک، ۱۲۰ روز پس از شروع کشت مجدداً اندازه‌گیری شد و تفاوت آن با مقدار کل هیدروکربن های نفتی در شروع کشت به عنوان مقدار کاهش هیدروکربن‌های نفتی مشخص و به صورت درصد گزارش شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد آلودگی نفتی حذف شده در تیمارهای تحت کشت و بدون کشت در جدول ۴ نشان داده شده است. به دلیل آن که گیاه کاملینا فاقد عملکرد زیست توده گیاهی بود از بررسی اثر کشت این گیاه بر کاهش غلظت TPHs در تیمارهای آلوده صرف نظر شد. نتایج تجزیه واریانس درصد تجزیه و تخریب TPHs در تیمارهای خاک های آلوده بیان‌گر نقش مؤثر سطح آلودگی بر افزایش میزان تجزیه و تخریب TPHs و عدم تأثیر پوشش گیاهی بر کاهش این آلاینده‌ها در خاک بوده است.

اثر متقابل سطح آلودگی و نوع گیاهان بر افزایش تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک نیز معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که میانگین در صد TPHs کاهش یافته خاک در ناحیه ریشه در تیمارهای تحت کشت با گیاهان، در مقایسه با تیمارهای بدون کشت بعد از دوره ۱۲۰ روزه کشت تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نداشته است. نتایج نشان می‌دهد که تیمارهای با آلودگی کمتر در مقایسه با تیمارهای با آلودگی شدیدتر، درصد نفت حذف شده بیش‌تری داشته است.

همچنین کم‌ترین درصد حذف نفت در تیمارهایی با آلودگی شدید بود. به عبارتی با افزایش غلظت آلودگی نفتی، میزان تجزیه آن نیز کاهش می‌یابد. بیش‌ترین درصد کاهش هیدروکربن‌های نفتی در تیمار با آلودگی کم و تحت کشت جو و کم‌ترین درصد کاهش آلودگی در تیمار با آلودگی شدید و تحت کشت یونجه بوده است (جدول ۵).

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس داده ها بر درصد هیدروکربن‌های کاهش یافته

Table 4- The analysis of variance of data on the percentage of reduced hydrocarbons

منابع تغییرات Sources of variance	df	میانگین مربعات (MS) Reduced TPHs
سطوح آلودگی Pollution levels	2	513.09 **
نوع گیاه Plant type	5	49.80 ns
سطوح آلودگی × نوع گیاه Pollution levels × plant type	10	24.20 ns
خطای آزمایشی Error	35	36.44

** و * به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار و ns اختلاف معنی‌دار نیست.

**and * significant at 1% and 5% and ns, not significant respectively.

با توجه به این که تجزیه و تخریب هیدروکربن های نفتی در تیمارهای کشت شده تفاوت آماری معنی‌دار با تیمارهای بدون کشت نداشته و همچنین کل خاک‌های مورد بررسی دارای باکتری‌های بومی بوده و استریل نشده بودند پس احتمالاً تجزیه و حذف هیدروکربن‌ها عمدتاً توسط باکتری‌های بومی موجود در خاک صورت گرفته است. از این‌رو احتمال می‌رود تقویت باکتری های بومی در این‌گونه خاک‌ها باعث افزایش تجزیه و تخریب هیدروکربن‌های نفتی شود. در سطح بالاتر غلظت آلاینده‌های نفتی خاک (سطح ۳۵ درصد) جو و چمن نسبت به سایر گیاهان توانایی بیش‌تری در تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی داشتند. به نظر می‌رسد که این گیاهان به دلیل داشتن ریشه‌های افشان و با ایجاد تهویه بیش‌تر در خاک، موجب تحریک فعالیت میکروبی شده و زمینه را برای تجزیه بیش‌تر هیدروکربن‌های نفتی فراهم می‌آورند.

ریشه‌های افشان نسبت به سایر ریشه‌ها، محیط مناسب‌تر و با سطح ویژه بالاتری را برای فعالیت و توسعه جمعیت میکروبی فراهم می‌کنند و جمعیت میکروبی بزرگ‌تری در محیط ریزوسفری آن‌ها به وجود می‌آید (Aprill and Sims, 1990). به نظر می‌رسد که زیست توده تولیدی ریشه کمتر، نوع و میزان ترشحات ریشه گیاهان شاهدانه، گاودانه و یونجه در تشدید فعالیت میکروبی و در نتیجه تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی موجود در خاک، نقش مؤثری نداشته است.

جدول ٥- اثرات متقابل تیمارهای آزمایش بر درصد هیدروکربن‌های کاهش یافته

Table 5– Interaction of treatments on the percentage of reduced hydrocarbons

نوع گیاه Plant type	درصد سطوح آلودگی Pollution levels percentage		
	10	25	35
جو Barley	59.63 a	52.85 abcd	52.09 abcd
چمن Grass	59.09 a	52.58 abcd	56.49 abc
یونجه Alfalfa	58.64 ab	45.93 d	44.04 d
شاهدانه Hemp	58.48 ab	48.38 cd	50.44 bcd
گاودانه *Vicia evilia*	53.28 abcd	48.92 bcd	47.38 def
بدون کشت Non- cultivated	58.33 ab	47.67 cd	47.77 cd

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means with similar letters don't have significantly different in probability level of 5%, from the LSD tests.
Pollution levels (C1 = 0, C2 = 10, C3 = 25 and C4 = 35%)

مرکل و همکاران (Merkel *et al.*, 2005) چنین عنوان کردند که زیست توده ریشه بیشتر، یک محیط ریزوسفری بزرگتر برای جمعیت میکروبی است و با تجزیه بیشتر هیدروکربن‌ها در خاک همبستگی دارد. آنان در آزمایشات گیاه‌پالایی خود افزایش بیشتر تجزیه و تخریب هیدروکربن های نفتی در خاک را در نیمه دوم آزمایش خود با افزایش یافتن زیست توده ریشه توجیه کردند. لی و همکاران (Lee *et al.*, 2008) بیان نمودند که محدوده توسعه ریشه یعنی ریزوسفر، دارای جمعیت میکروبی بیشتر و فعال‌تری نسبت به خاک بدون ریشه است. گیاهان قادر هستند از طریق رها سازی عناصر غذایی و ترشحات خود در خاک و انتقال اکسیژن در ناحیه ریشه‌ی خود، موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکروبی تخریب کننده آلاینده‌های نفتی شوند؛ اما همواره افزایش زیست توده و تراکم ریشه گیاهان با افزایش تجزیه و تخریب هیدروکربن‌های نفتی آلاینده خاک همبستگی مثبت ندارد.

در آزمایش گیاه‌پالایی کایمی و همکاران (Kaimi *et al.*, 2006 and 2007) بر روی ۱۲ گونه گیاهی در خاک‌های با ۲ درصد وزنی آلوده به روغن دیزل، با وجود بالاتر بودن تراکم ریشه فیبری گیاه کرابگراس (پنجه کلاغی از خانواده گندمیان) نسبت به سایر گونه‌های مورد مطالعه کاهش آلودگی نفتی خاک در تیمار کشت شده با این گیاه کم‌تر از سایر گونه‌ها بود. این امر نشان می‌دهد که به طور فیزیکی تراکم بالای سیستم ریشه‌ای همیشه تضمین کننده تأثیر جمعیت میکروبی در تجزیه ریزوسفری نیست؛ بنابراین به نظر می‌رسد که کیفیت ترشحات ریشه یا عوامل دیگر در کنار ویژگی‌های فیزیکی ریشه در تجزیه ریزوسفری مشارکت دارند.

جدول تجزیه واریانس در صد TPHs کاهش یافته نشان می‌دهد که غلظت آلودگی اولیه خاک بر افزایش تجزیه و تخریب TPHs مؤثر می‌باشد. هرچه مقدار هیدروکربن‌های آلاینده در خاک کم‌تر باشد مقدار تجزیه و تخریب آن بیش‌تر است. مطالعه تحقیقات گذشته نشان می‌دهد که بیش‌ترین کارایی گیاه پالایی در سطوح پایین غلظت آلودگی است. مطالعات عابدی کوپایی و همکاران (Abedi-Koupai *et al.*, 2007) در بررسی اثرات جمعیت میکروبی بر گیاه‌پالایی خاک آلوده به ترکیبات نفتی با استفاده از گیاهان بومی اگروپایرون[1]، تال‌فسکیو، لولیوم[2] و پانیکوکلیا[3] به مدت ۹۰ روز نشان داد که گیاهان مورد مطالعه جهت گیاه‌پالایی خاک‌های دارای سطح آلودگی نسبتاً پایین مناسب هستند. همچنین بسالت‌پور و همکاران (Besalatpour *et al.*, 2008) طی مطالعات گیاه‌پالایی گیاهان آفتابگردان، گلرنگ، کلزا، شبدر، پوک سنلیا، اگروپایرون و تال‌فسیکو در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی بیان کردند که بیش‌ترین میزان کاهش غلظت TPHs مربوط به سطح ریزو سفری اگروپایرون و تال فسیکو به ویژه در سطح پایین‌تر غلظت آلودگی است.

تحقیقات زیادی تأثیر مثبت کشت گیاهان در افزایش تجزیه و تخریب هیدروکربن های نفتی را تأیید می‌کند که در بیش‌تر این تحقیقات، خاک را به صورت مصنوعی با نفت خام آلوده کرده‌اند و این آلودگی به مدت طولانی طی چندین سال رخ نداده است. نوع هیدروکربن‌های آلاینده خاک نیز در توانایی گیاه‌پالایی گیاهان تأثیر زیادی دارد. آلودگی طولانی مدت باعث تبخیر هیدروکربن‌های فرار و به جای ماندن هیدروکربن‌های سنگین و جذب آن‌ها روی ذرات خاک می‌شود. بودهادو و همکاران (Budhadev *et al.*, 2012) با ایجاد آلودگی هیدروکربن‌های نفتی خاک، توانایی گیاه‌پالایی گیاه اویار سلام بومی منطقه آسام هندوستان را آزمایش کرده و اظهار داشتند که کاهش هیدروکربن‌های نفتی در تیمارهای آلوده به نفت تحت کشت گیاه تقریباً دو برابر تیمار بدون کشت بوده است. هاتچینسون و همکاران (Hutchinson *et al.*, 2001) گیاه‌پالایی را به عنوان یک روش مفید برای حذف هیدروکربن‌های نفتی در خاک معرفی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که مقدار تجزیه هیدروکربن های نفتی در ریزو سفر گیاه برموداگراس ۶۸ در صد و در ریزو سفر گیاه فسکیو ۶۲ درصد بود.

به‌طورکلی گیاهان به تنهایی برای پالایش خاک‌های آلوده به هیدروکربن های نفتی که در طولانی مدت آلوده شده‌اند توصیه نمی‌شود به نظر می‌رسد که کشت گیاهان همراه با تلقیح باکتریایی بتواند برای پالایش این نوع از آلودگی نفتی خاک مناسب باشد. در یک آزمایش گیاه‌پالایی اسکالنت و همکاران (Escalante *et al.*, 2005) گزارش کردند بیش‌ترین میزان کاهش TPHs در خاک‌های زیرکشت که توسط باکتری‌های تجزیه کننده هیدروکربن‌های نفتی تلقیح شده بودند، مشاهده گردید. این میزان تجزیه TPHs درحضور گیاه تلقیح شده ۲ برابر گیاه تلقیح نشده بود. رامیرز و همکاران (Ramirez *et al.*, 2009) نشان دادند بین میزان TPHs تجزیه شده وکربن زیست توده میکروبی در انتهای آزمایش همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. یکی از شرایط اولیه و لازم برای تجزیه هیدروکربن ها کافی بودن زیست توده میکروبی برای تجزیه این ترکیبات می‌باشد. رجایی و همکاران (Rajaei *et al.*, 2012) طی مطالعات زیست پالایی خاک آلوده به نفت خام مسن چنین بیان داشتند که ترکیب گیاه و باکتری بهترین گزینه برای زیست پالایی می‌باشد.

1- Agropyron
2- Lolium
3- Punicocellia

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش گویای آن اســـت که وجود هیدروکربن‌های نفتی متناسـب با غلظت آن‌ها در خاک، موجب کاهش رشـد و سـایر ویژگی‌های فیزیولوژیک در همه گیاهان مورد مطالعه شد. گیاه کاملینا اگرچه قادر به جوانه‌زنی در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی بود اما وجود این آلاینده‌ها در خاک مانع از رشد و عملکرد مناسب گیاه شـد، بنابراین اسـتفاده از آن در مطالعات بعدی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به نفت، توصـیه نمی‌شـود. نتایج نشـان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای تحت کشت و بدون کشت در سطوح مختلف آلودگی وجود ندارد و کاهش مقدار هیدروکربن های نفتی خاک نیز احتمالاً توسـط ریزجانداران بومی موجود در خاک انجام گرفته اسـت. توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی برای حصول نتیجه بهتر، کارایی گونه گیاهی مورد اسـتفاده، نوع هیدروکربن‌های آلاینده و مدت زمان آلودگی مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1. Abedi-Koupa, J., Ezzatian, R., Vossoughi-Shavari, M., Yaghmaei, S., & Borghei, M. (2007). The effects of microbial population on phytoremediation of petroleum contaminated soils using tall fescue. *International Journal of Agriculture and Biology* 9: 242-246. https://doi.org/1560-8530/2007/09-2-242-246.
2. Adavi, Z. (2011). Phytoremediation of oil contaminated soils by *Bermudagrass* varieties, *Journal of Environmental Science and Engineering* 48: 13-19. (In Persian with English abstract)
3. Akaninwor, J.O., Ayeleso, A.O., & Monago, C.C. (2007). Effect of different concentrations of crude oil (*Bonny light*) on major food reserves in guinea corn during germination and growth. *Journal of Science Research and Essay 2*(4): 127-131.
4. Anigboro, A., & Tonukari, N. (2008). Effect of crude oil on invertase and amylase activities in cassava leaf extract and germinating cowpea seedlings. *Asian Journal of Biological Science* 1: 56-60.
5. Aprill, W., & Sims, R.C. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soils. *Chemosphere* 20: 253-265. https://doi.org/10.1016/0045-6535(90)90100-8.
6. Baek, K.H., Kim, H.S., Oh, H.M., & Yoon, B.K. (2004). Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. *Journal of Environmental Science and Health, Part A. 39*(9): 2465-2472. https://doi.org/10.1081/ESE-200026309.
7. Besalatpour, A.A., Hajabbasi, M.A., Khoshgoftarmanesh, A.M., & Afyuni, M. (2008). Remediation of petroleum contaminated soils around the Tehran oil refinery using Phytostimulation method. *Journal of Agriculture Resources 15*(4): 22-35. (In Persian with English abstract)
8. Bint, P., & Portal, J.M. (2000). Dissipation of 3-6 ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Journal of Soil Biology and Biochemistry* 32: 2077-2077. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00100-0.
9. Black, C.A., Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., & Clark, F.E. (1965). *Methods of soil analysis*: Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison Inc., Madison, Wisconsin. p. 1569
10. Bremner, J.M., & Mulvaney, C.S. (1982). *Nitrogen-total. In: Methods of soil analysis*, Part 2. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. pp: 595-624.
11. Budhadev, B., Sabitry, B., & Hari, P. (2012). Crude oil contaminated soil phytoremediation by using *Cyperus brevifolius* (*Rottb.*) Hassk. *Water, Air, and Soil Pollution* 233: 3373-3383. https://doi.org/10.1007/s11270-012-1116-6.
12. Caudle, K.L., & Maricle, B.R. (2014). Physiological relationship between oil tolerance and flooding tolerance in marsh plants. *Environmental and Experimental Botany* 107: 7–14. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.05.003.
13. Cedric, K., Pettersson, K., Leeds, P., Harrison, R.L., & Ledin, S. (2007). Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers. *Environmental Pollution* 145: 68-74. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.039.
14. Chaineau, C.H., Morel, J.L., & Oudot, J. (1997). Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Environmental Pollution* 26: 1478-1483. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.039.
15. Chupakhina, G.N., & Maslennikov, P.V. (2004). Plant adaptation to oil stress. *Russian Journal of Ecology* 35: 290-295. https://doi.org/10.1023/B:RUSE.0000040681.75339.59.
16. Cupers, C., Pancras, T., Grotenhuis, T., & Rulkens, W. (2002). The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropy1-B-cylodextrin and triton x-100 extraction techniques. *Chemosphere* 46: 1235-1245. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00199-0.
17. Dashti, N., Khanafer, M., El-Nemr, I., & Sorkhoh, N. (2009). The potential of oil-utilizing bacterial consortia associated with legume root nodules for cleaning oily soils. *Chemosphere* 74: 1354-1359.

https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.028.
18. Dewis, J., & Freitas, F. (1984). *Physical and chemical methods of soil and water Analysis*. FAO soil bulletin 10, Oxford and 1BH publishing CO. PVT. LTD. New Delhi Bombay Calcutta.
19. Diaz-Perez, J.C., Shckel, K.L., & Sutter, E.G. (2006). Relative water content. *Annals of Botany* 97: 85-96.
20. Dorazio, V., Ghanem, A., & Senesi, N. (2013). Phytoremediation of pyrene contaminated soils by different plant species. *Journal of Clean (Soil, Air, Water) 41*(4): 377-382. https://doi.org/10.1002/clen.201100653.
21. Escalante, E.E., Gallegos-Martinez, M.E., Favela-Torres, E., & Gutierrez-Rojas, M. (2005). Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. Inoculated with a microbial consortium in a model system. *Chemosphere* 59: 405-413. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.034.
22. Farzami Spehr, M., Nowruzi Haji Abdal, F., & Farj Zadeh, M.A. (2013). Phytoremediation ability of *Polypogon monspeliensis* L. in refining oil contaminated soils. *Journal of Plant Science Research 29*(1): 75-86. (In Persian with English abstract)
23. García-Sánchez, M., Košnář, Z., Mercl, F., Aranda, E., & Tlustoš, P. (2018). A comparative study to evaluate natural attenuation, mycoaugmentation, phytoremediation, and microbial- assisted phytoremediation strategies for the bioremediation of an aged PAH-polluted soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147: 165–174. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.012.
24. Gaskin, S.E., & Bentham, R.H. (2010). Rhizoremediation of hydrocarbon contaminated soil using Australian native grasses. *Science of the Total Environment* 408: 3683-3688. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.004.
25. Huang, X.D., Alawi, Y.E., Gurska, J., Glick, B.R., & Greenberg, B.M. (2005). A multiprocessor phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soil. *Microchemical Journal* 81: 139-147. https://doi.org/10.1016/j.microc.2005.01.009.
26. Hutchinson, S.L., Banks, M.K., & Schwab, A.P. (2001). Phytoremediation of aged petroleum sludge: effect of inorganic fertilizer. *Journal of Environmental Quality* 30: 395-403. https://doi.org/10.2134/jeq2001.302395x.
27. Jussila, M.M. (2006). *Molecular biomonitoring during rhizoremediation of oil contaminated soil*. Ph.D thesis. Department of applied chemistry and microbiology division of microbiology. University of Helsinki. Finland.
28. Kaimi, E., Mukaidani, T., & Tamaki, M. (2007). Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Journal of Plant Production Science 10*(2): 211-218. https://doi.org/10.1626/pps.10.211.
29. Kaimi, E., Mukaidani, T., Miyoshi, S., & Tamaki, M. 2006. Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil. *Environmental and Experimental Botany* 55: 110-119. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.005.
30. Kamath, R., Rentz, J.A., Schnoor, J.L., & Alvarez, P.J.J. (2004). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and application. Chapter 16. Petroleum Biotechnology: Developments and Perspectives. *Studies in Surface Science and Catalysis* 151: 447-478. https://doi.org/10.1016/S0167-2991(04)80157-5.
31. Lee, S.H., Lee, W.S., Lee, C.H., & Kim, J.G. (2008). Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. *Journal of Hazardous Materials* 153: 892-898. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.041.
32. Lindsay, W.L., & Norvell, W.A. (1978). Development of a DTPA Soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society American Journal* 42: 421-428. https://doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x.
33. Luepromchai, E., Lertthamrongsak, W., Pinphanichakarn, P., & Thaniyavarn, S. (2007). Biodegradation of PAHs in petroleum-contaminated soil using tamarind leaves as microbial inoculums. *Biodegradation* 29: 515-527.
34. Martin, B.C., George, S.J., & Price, C.A. (2014). The role of root exuded low molecular weight organic anions in facilitating petroleum hydrocarbon degradation: current knowledge and future directions. *Science of the Total Environmental* 472: 642–653. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.050.
35. Merkel, N., Schultze-Kraft, R., & Infant, C. (2005). Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Journal of Water, Air and Soil Pollution* 165: 195-209. https://doi.org/10.1007/s11270-005-4979-y.
36. Moubasher, H.A., Hegazy, A.K., Mohamed, N.H., Moustafa, Y.M., Kabiel, H.F., & Hamad, A.A. (2015). Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms. *International Biodeterioration and Biodegradation* 98: 113-120. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.11.019.
37. Nie, M., Zhang, X., Wang, J., Jiang, L., Yang, J., Quan, Z., Cui, Q., Fang, C., & Li, B. (2009). Rhizosphere effects on soil bacterial abundance and diversity in the Yellow River Deltaic ecosystem as influenced by petroleum contamination and soil salinization. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2535-2542. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.09.012.
38. Olsen, S.R., & Sommers, L.E. (1982). *Phosphorus. In: methods of soil analysis*, Part2. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. pp: 403-431.
39. Omosun, G., Markson, A., & Mbanasor, O. (2008). Growth and anatomy *Amaranthus hybridus* as affected different crude oil concentration. *American-Eurasian Journal of Scientific Research 3*(1): 70-74.
40. Oster, J.D., & Garrison, S. (1980). The Gapon coefficient and the exchangeable sodium percentage sodium

adsorption ratio relation. *Soil Science Society American Journal* 44: 258-260. https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400020011x.

41. Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z., & Zhang, Z. (2009). Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis jalapa* L. in greenhouse plot experiment. *Journal of Hazardous Materials* 168: 1490-1496. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.036.
42. Rajaei, S., Raiesi, F., & Seyedi, S. (2012). The Bioremediation of an aged petroleum contaminated soil using bioaugmentation and phytoremediation techniques. *Water and Soil 26*(4): 908-921. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.v0i0.15295.
43. Ramirez, M.E., Zapien, B., Zegrra, H.G., Rojas, N.G., & Fernandez, L.C. (2009). Assessment of hydrocarbon biodegradability in clayed and weathered polluted soils. *Journal International Biodeterioration and Biodegradation* 63: 347-353. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.11.010.
44. Rhoades, J.D. (1982). *Soluble salts*. In: Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. (eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Mineralogical Properties (2nd edition). Agronomy series No.9. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 167-179.
45. Shekoohiyan, S., Moussavi, G., & Naddafi, K. (2016). The peroxidase- mediated biodegradation of petroleum hydrocarbons in a H_2O_2-induced SBR using in-situ production of peroxidase: biodegradation experiments and bacterial identification. *Journal of Hazardous Materials* 313: 170–178. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.081.
46. Scott, S. (2003). *Biodegradation and toxicity of total petroleum hydrocarbon leachate from land treatment units.* Department of Engineering. California Polytechnic State University.
47. Shahriari, M.H., Savaghebi Firrozabadi, G., Minai-Tehrani, D., & Padidaran, M. (2006). The effect of mixed plants alfalfa (*Medicago sativa*) and fescue (*Festuca arundinacea*) on the phytoremediation of light crude oil in soil. *Environmental Sciences 4*(13): 33-40. (In Persian with English abstract)
48. Shim, H., Chauhan, S., Ryoo, D., Bowers, K., Thomas, S.M., & Burken, J.G. (2000). Rhizosphere competitiveness of trichloroethylene-degrading, poplar-colonizing recombinant bacteria. *Applied and Environmental Microbiology 66*(11): 4673-4678. https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.4673-4678.2000
49. Smits, P.E. (2005). Phytoremediation. *Annual Reviews of Plant Biology* 56: 15-39.
50. Victor, J., & Sadiq, A. (2002). Effects of spent engine oil on the growth parameters chlorophyll and protein level of *Amaranthus hybridus* L. *Environmentalist* 22: 23-28. https://doi.org/10.1023/A:1014515924037.
51. Villalobos, M., Avila-Forcada, A.P., & Gutierrez-Ruiz, M.E. (2008). An improved gravimetric method to determine total petroleum hydrocarbons in contaminated soils. *Journal of Water, Air and Soil Pollution* 194: 151-161. https://doi.org/10.1007/s11270-008-9704-1.
52. Walkley, A., & Black, I.A. (1974). An examination of the digestion method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of in organic soil constituents. *Soil Science* 63: 251-263.
53. Xu, S.Y., Chen, Y.X., Wu, W.X., Wang, K.X., Lin, Q., & Liang, X.Q. (2005). Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. *Science of the Total Environment* 1-10. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.05.030.